

AVANCES EN LOS MÉTODOS PARA DISMINUIR EL EFECTO DE FACTORES ANTINUTRICIONALES EN ALIMENTOS PARA ESPECIES MONOGÁSTRICAS

Lourdes Savón e Idania Scull

Instituto de Ciencia Animal. San José de las Lajas, apartado 24. La Habana, Cuba
email: lsavon@ica.co.cu ; idascull@ica.co.cu

RESUMEN

Los países tropicales presentan una biodiversidad de especies tropicales, entre las que se encuentran principalmente las leguminosas, árboles forrajeros y arbustos como fuentes alimentarias alternativas para los animales. Sin embargo, estas leguminosas no se pueden utilizar en todo su potencial nutritivo debido a la presencia de factores antinutricionales que limitan su inclusión en las raciones de las especies monogástricas. Se han ensayado varios métodos mecánicos, físicos, químicos, biológicos y biotecnológicos para disminuir o remover estas sustancias antinutritivas o factores antinutricionales (FAN) e incrementar la eficiencia de utilización de nutrientes en estos recursos vegetales y ello constituye el principal objetivo de esta revisión.

Como recomendaciones, se pudiera sugerir que se debe trabajar hacia el mantener el potencial nutritivo del alimento combinando adecuadamente los procesos de desintoxicación. Igualmente, se debiera identificar los niveles umbrales de acción de los FAN en los animales de interés económico (particularmente el cerdo como modelo animal más semejante al hombre), ya que se debe conocer qué nivel de FAN se puede tolerar sin causar un efecto negativo en el animal.

Palabras clave: factores antinutricionales, fuentes alimentarias, árboles y arbustos, especies monogástricas

Título corto: Factores antinutricionales en alimentos para monogástricas

ADVANCES IN THE METHODS FOR LOW THE EFFECTS OF ANTINUTRITIONAL FACTORS IN FEEDS FOR MONOGASTRIC SPECIES

SUMMARY

Tropical countries show a biodiversity in tropical species, among them legumes, trees and shrubs mainly, as feed resources as alternative for animals. However, these legumes can no be used in its entire nutritive potential as alternative sources due to the presence of antinutritional factors which constraint its inclusion in rations for monogastric animal species. It has been assayed several mechanical, physical, chemical, biological and biotechnological methods to decrease or remove these antinutritive or antinutritional (ANF) substances and increase the efficiency in the utilization of nutrients in the plant resources, which is the main subject of this review.

As recommendation, it could be suggested that it must search to keep the nutritive potential of the feed in adequate combination with the detoxification processes. At the same time, it should identify action thresholds of ANF in animals of economical interest, in particular pigs as animal model similar to man, since it must be known can be tolerated without negative effect in animals.

Key words: antinutritional factors, feed sources, trees and shrubs, monogastrics species

Short title: Antinutritional factors in feeds for monogastric animals

Tabla de contenido

Introducción,	26
¿Qué son los factores antinutricionales?,	26
Efectos biológicos de los factores antinutricionales en los animales monogástricos,	26
Métodos para eliminar los factores antinutricionales,	27
Ensayos prácticos utilizados en la eliminación de factores nutricionales,	27
Conclusiones,	28
Referencias,	28

INTRODUCCIÓN

En el trópico existe una gran disponibilidad de recursos vegetales que propugna las investigaciones orientadas a la mejor utilización de éstos para la producción de animales monogástricos (Sarmiento et al 2005). Sin embargo, esa aparente gran disponibilidad de alimentos de origen vegetal para el consumo humano y animal, principalmente leguminosas, con un buen contenido y balance de proteína y energía, no se pueden aprovechar en toda su potencialidad por el efecto limitante que imponen los denominados factores antinutricionales (FAN). Este efecto se agrava especialmente en los animales monogástricos, por carecer de la acción protectora que brinda una degradación bacteriana como la ruminal (Belmar y Nava 2005).

La acción de los FAN, no sólo interfiere en el aprovechamiento de nutrientes, sino que pueden ocasionar pérdida de proteína endógena, que a veces produce daños al animal que los consume. Manifestaciones de toxicidad pueden acompañar el efecto antinutricional de estos compuestos, con efecto hepatotóxico, neurotóxico e inclusive letal (Liener 1989; Liener 1988, 1994 citado por Díaz 2000).

En el Instituto de Ciencia Animal, desde hace algunos años, se llevan a cabo varios proyectos de investigación con el objetivo de evaluar la composición bromatológica, la matriz fibrosa y los factores antinutricionales presentes en la harinas de granos, de forrajes y de forrajes integrales de leguminosas temporales, así como en las harinas de árboles y arbustos tropicales con potencialidades de uso en la alimentación animal. El objetivo de esta revisión es brindar información general acerca de los factores antinutricionales presentes en granos, follajes y alimentos tropicales y sus efectos en el metabolismo de especies monogástricas, enfatizando en los métodos más propicios para su disminución o remoción.

¿QUÉ SON LOS FACTORES ANTINUTRICIONALES?

Los FAN son sustancias que se generan por el metabolismo secundario de las plantas para protegerse de depredadores como bacterias, hongos e insectos y otros animales. Pueden aparecer en cualquier parte de la planta incluyendo los frutos y sus raíces. Estos compuestos producen en general una disminución en el consumo voluntario, interfieren en los procesos digestivos con la utilización de los alimentos y comprometen la salud y el potencial productivo de los animales que los consumen.

Estas consideraciones no pueden ser absolutas, ya que varias plantas que se consumen tradicionalmente poseen factores tóxicos.

Es importante por lo tanto conocer su origen y en algunos casos sus mecanismos de formación. Se debe tener en cuenta también la concentración, frecuencia y tipo de alimento al que se hallan asociados, de manera que sea posible controlar su presencia para que ésta sea mínima o proponer límites de ingestión de las dietas permisibles. Podemos clasificar los FAN según muestra la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los factores antinutricionales

Grupo	Ejemplos
Compuestos fenolicos	Taninos, fitoestrógenos, Cumarinas
Toxinas nitrogenadas	Alcaloides, glicósidos cianogénicos, glucosinolatos, aminoácidos tóxicos, lectinas e inhibidores de proteasas
Terpenos	Lactosas sequiterpénicas, glicósidos cardiotónicos, saponinas
Hidrocarburos	
Poliacetilénicos	
Oxalatos	
Fitatos	

Las harinas foliares de leguminosas y de cultivos con alta producción de biomasa presentan una combinación diversa de factores antinutricionales, pero de todas las sustancias, los taninos y saponinas son los más abundantes. Scull (2004) determinó mediante el tamizado fitoquímico la presencia de FAN en varias harinas de follajes de leguminosas tropicales y halló que el 100% de las plantas contenían polifenoles (taninos), alcaloides y azúcares reductores, y en el 75% de ellas se encontró la presencia de saponinas y grupos alfa-amino.

EFFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS FACTORES ANTINUTRICIONALES EN LOS ANIMALES MONOGÁSTRICOS

Los efectos negativos en el animal no se puede atribuir a un FAN en particular, es más, los diferentes FAN presentes en los alimentos tienen sus efectos específicos (tabla 2).

Tabla 2. Efectos principales de algunos factores antinutricional presentes en granos de leguminosas para distintas especies monogástricas

Factores antinutricionales	Efectos en animales
Lectina y proteínas antigénicas	Ocasiona daños en la pared intestinal Reacción inmunológica
Inhibidores de proteasa	Reduce la actividad de la quimotripsina Origina hipertrofia del páncreas Disminuye la digestión de los nutrientes
Taninos y polifenoles	Forma complejos con las enzimas y proteínas Reduce la digestibilidad de la proteína
Inhibidores de α -amilasa	Reduce la disponibilidad del almidón Forma complejos con la amilasa salivar y el jugo pancreático
Saponinas y alcaloides	Disminución en el consumo de los alimentos Retardo en el crecimiento
Fitatos	Disminución en la biodisponibilidad de minerales Forma complejos con enzimas digestivas
Factores de flatulencia	Problemas gastrointestinales

MÉTODOS PARA ELIMINAR LOS FACTORES ANTINUTRICIONALES

Existen un gran número de métodos disponibles para la inactivación o remoción de los factores antinutricionales en las harinas de follajes y granos de leguminosas tropicales. La aplicación de uno u otro método está en función de las características físico-químicas del FAN, localización en la planta y la sensibilidad a factores físicos, químicos, así como a procesos tecnológicos (Van der Poel y Melcion 1995).

El cruzamiento y la manipulación genética constituyen métodos cuyos resultados se alcanzan a largo plazo y se deben trabajar con cautela ya que los FAN representan una barrera de defensa ante el ataque de plagas y enfermedades. Sin embargo, es necesario tratar de lograr establecer el umbral óptimo de acción de estas sustancias. Los principales esfuerzos se han realizado en la obtención de variedades de bajo contenido de inhibidores de tripsina, taninos, lectinas y más recientemente de galactósidos. En la tabla 3 se reseñan algunos de los procedimientos o métodos utilizados para eliminar factores antinutricionales.

Tabla 3. Algunos procesos utilizados para la reducción o eliminación de los factores antinutricionales

Remojado en agua
Selección de ingredientes
Suplementación con aminoácidos
Tratamientos químicos: alcalis, ácidos y solventes
Tratamientos enzimáticos
Tratamientos físicos
Ruptura mecánica: molinado, descascarado, pulverización, granulación, picado
Extrusión
Calor húmedo o seco
Presión
Radiaciones
Procesos de germinación y fermentación
Cruzamiento y manipulación genética

Fuente: Van der Poel (1989), Nava y Belmar (1999)

ENSAYOS PRACTICOS UTILIZADOS EN LA ELIMINACIÓN DE FACTORES NUTRICIONALES

Se han realizado ensayos en los que se han logrado la disminución de los FAN con un proceso simple de remojado en agua. Desde 1975, Göhl halló que el grano de frijol de terciopelo después de un proceso de remojado en agua por 24 horas se podía incluir en la dieta de cerdos y aves hasta 25%. El L-dopa de la mucuna se remueve por simple extracción de agua, el quebrado del grano en 4-5 pedazos pequeños antes de remojarlo durante la noche, reduce los niveles de L-dopa al 0.50%. Scull (1996) observó una disminución entre 84-86% de la concentración inicial de la mimosina cuando remojaron hojas frescas de *Leucaena leucocephala* durante 36 horas en agua y se sometieron a un proceso posterior de secado solar.

Nava et al (1999), informaron que el remojado en agua con un 4% de cal hidratada de la harina de granos de mucuna, es efectivo para disminuir los contenidos de taninos, los cuales son lábiles en medio alcalino (McLeod 1974; Makkar 1993). El proceso de solubilización alcalina supera los resultados, en lo que se refiere a la disminución de los FAN en los frijoles de

mucuna, de otros trabajos anteriores en los que se utilizó sólo agua (Vijayakumari et al 1996; Trejo 1998; Trejo et al 2005) y los que se hicieron con bicarbonato de sodio (Vijayakumari et al 1996).

Emenalom et al (2004) demostraron que el molinado antes del remojo y cocción, reduce el tamaño de las partículas e incrementa el contenido de humedad de las semillas, lo cual reduce el tiempo de cocción a una hora, a diferencia de las 2 a 5 horas informadas por Wanjekeche (2001) cuando remojaron las semillas enteras. También la cocción con agua con o sin presión aumenta la calidad y digestibilidad de proteínas y carbohidratos e inactiva los inhibidores de proteasa y α amilasa, así como las lectinas, e igualmente reduce la concentración de taninos (Salas y Tepal 1992).

El tratamiento físico basado en la separación de las fracciones de la semilla es una posibilidad para reducir al menos una parte de los FAN. Estos procesos son eficaces en el caso de producir un mayor valor nutricional de la proteína y energía, con relación a los niveles de FAN en el material procesado. El más ampliamente utilizado en los granos es el tratamiento térmico por el calor aunque se emplean otras variantes como secado, tostado, extrusión). Al respecto, son notorios los buenos resultados en el comportamiento productivo de pollos de ceba obtenidos por el grupo de investigadores de la Universidad Central de Venezuela con los granos de canavalia sometida a estos procesamientos tecnológicos y también la experiencia en Cuba de Lon-Wo et al (2002). Según los primeros, el tostado es el método más efectivo, económico y versátil para inactivar los FAN presentes en esta leguminosa y puede utilizarse tanto en las pequeñas unidades de producción como en las grandes plantas industriales. Su principal desventaja se deriva de las acciones del calor seco sobre la disponibilidad de nutrientes del grano, por lo que es necesario obtener un equilibrio entre la severidad del tostado de los granos para minimizar la acción de los FAN y el mantenimiento del valor nutricional de las harinas resultantes. En el caso de los cerdos los resultados no fueron satisfactorios, ya que se produjo una disminución en el consumo aún con el primer nivel de inclusión de canavalia tostada. Esto demuestra que los cerdos son más sensibles a los efectos tóxicos de estas leguminosas en forma cruda o tratada que las aves.

El tratamiento térmico ha sido efectivo para inhibidores de proteasas y lectinas, sin embargo ha sido cuestionable para taninos y fitatos. Además, la inactivación de los FAN varía de acuerdo con el tratamiento térmico. D'Mello (1992a,b) halló que para el frijol alado la micronización infrarroja era mucho más efectiva que la microonda, tanto en la reducción de los niveles de FAN como en el aumento del valor dietario de este grano para las ratas. Según Ologhobo y Fetuga (1984a,b) el remojo y la germinación son métodos más adecuados para eliminar taninos y fitatos.

Los procesos de germinación y los de fermentación han demostrado producir una serie de cambios positivos en el contenido de nutrientes de las leguminosas como es el incremento en el contenido de aminoácidos esenciales, proteínas solubles y digestibilidad in vitro de la proteína (Urbano et al 1995), disminución significativa de los niveles de los galactósidos (Uwaegbute et al 2000), reducción de inhibidores de proteasa y lectinas, así como el grado de polimerización de los taninos (Vidal-Valverde et al 1998). También se ha demostrado que el proceso germinativo en las leguminosas incrementan el contenido de vitaminas B₁ y

B₂ (Blázquez 1999). Recientemente, Savón et al (2005) lograron mejorar la calidad proteica de los granos de *Vigna unguiculata* germinados en ratas en crecimiento, presumiblemente al disminuir los inhibidores de proteasas presentes en la semillas.

Uno de los métodos para atenuar o eliminar los factores antinutricionales presentes es utilizar compuestos que neutralicen sus efectos. Por ejemplo los glicósidos convicina y vicina que se hallan presentes en la *Vicia faba* y *Canavalia gladiata* pueden hidrolizarse por la flora intestinal hacia radicales libres altamente reactivos que causan peroxidación de los lípidos y alteran el metabolismo de grasas. Estos efectos adversos se neutralizan al aumentar la concentración de agentes secuestradores de radicales libres como las vitaminas A, C y E, y a través del uso de agentes formadores de quelatos, como el EDTA (Marquardt 1989 citado por Belmar y Nava 2005).

El uso de enzimas es una técnica que ha empezado a tener relevancia en la nutrición animal (van Hartingsveldt et al 1996). El éxito de la acción enzimática dependerá de las reacciones bioquímicas que desencadenan durante su actuación. Se han ensayado numerosas enzimas con el objetivo de actuar sobre los factores antinutricionales, entre ellas la adición de tanasas (Gustaffson y Sandberg 1995), celulasas que actúan sobre los polisacáridos no almidones y sobre todo las fitasas (Kornegay 1995; Rutherford et al 2004). También se ha estudiado el uso de un suplemento enzimático constituido por glucanasa, pectinasa, pentosanas y fitasas, que aumentan la capacidad digestiva, degradan los polisacáridos no almidones formadores de geles, y además facilitan el rompimiento de las sustancias antinutricionales (Bedford 1995; Flachowsky 1996). De los trabajos de la literatura se sabe que la suplementación enzimática mejora la conversión en un 4% en cerdos.

Valiño et al (2003) mostraron que la utilización del hongo mutante *Trichoderma viride* 137 MCX1 en la fermentación de combinaciones de harina de follaje de *Vigna unguiculata* y bagazo de caña, reduce a la mitad el contenido de taninos y disminuye el contenido de fibra. Iyayi y Adrolu (2004), también utilizaron *Trichoderma viride* para fermentar varios residuos agroindustriales que fueron evaluados en gallinas ponedoras con buenos resultados productivos y económicos.

CONCLUSIONES

La presencia de una amplia gama de factores antinutricionales sobre todo en los follajes y granos de leguminosas tropicales dificulta su remoción o eliminación mediante procesos simples. Además una buena parte de estos procesos tienen como un efecto colateral la disminución del potencial nutritivo de los alimentos.

Como recomendaciones, se pudiera sugerir que se debe trabajar hacia el mantener el potencial nutritivo del alimento combinando adecuadamente los procesos de desintoxicación. Igualmente, se debiera identificar los niveles umbrales de acción de los FAN en los animales de interés, particularmente el cerdo como modelo animal más semejante al hombre, ya que se debe conocer qué nivel de FAN se puede tolerar sin causar un efecto animal negativo.

REFERENCIAS

- Bedford, M.R. 1995. Mechanism of action and potential environmental benefits from the use of feed enzymes. *Animal Feed Science and Technology*, 53:145-155
- Belmar, R. y Nava, R. 2005. Factores antinutricionales en la alimentación de animales monogástricos. In: *Alimentación no Convencional para Animales Monogástricos en el Trópico*. Maracay, p 51
- Blázquez, J. 1999. Contenido de vitamina B₁ y vitamina B₂ en guisantes y lentejas. Efectos de los procesos de germinación y extracción alcohólica. Tesis de Licenciatura en Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid, pp
- Díaz, M.F. 2000. Producción y caracterización de forrajes y granos de leguminosas temporales para la alimentación animal. Tesis de Doctor en Ciencias. Instituto de Ciencia Animal. San José de las Lajas, pp 91
- D'Mello, J.P.F. 1992a. Nutritional potentialities of fodder trees and fodder shrubs as protein sources in monogastric nutrition. In: *Legume trees and other fodder trees as protein sources for livestock* (A. Speedy y P.L. Pugliese, editores). FAO Animal Production and Health Paper No. 102. Roma, p 115-127
- D'Mello, J.P.F. 1992b. Chemical constraints to the use of tropical legumes in animal nutrition. *Animal Feed Science and Technology*, 38:237-261
- Emenalom, O.O., Udedibie, A.B.I, Esonu, B.O., Etuk, E.B. y Emenike, H.I. 2004. Evaluation of unprocessed and cracked, soaked and cooked velvet beans (*Mucuna pruriens*) as feed ingredients for pigs. *Livestock Research for Rural Development*, 16(5): versión electrónica disponible in: <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd16/5/eme.html>
- Flachowsky, G. 1996. By-products of food industry and non food area: available quantities and their characterization under aspects of animal nutrition. *Landbauforschung Volkenrode*, 169:79-90
- Gohl, B.O. 1975. *Tropical Feeds. Feed Information Summaries and Nutritive Values*. FAO. Roma, pp 661
- Gustaffson, E.L. y Sandberg, A.S. 1995. Phytate reduction in brown beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Science*, 60:149-152
- Iyayi, E.A. y Adrolu, Z.A. 2004. Enhancement of the feeding value of some agro-industrial by-products for laying hens alter their solid state fermentation with *Trichoderma viride*. *African Journal of Biotechnology*, 3:182-185
- Kornegay, E.T. 1995. Important considerations for using microbial phytase in broiler and turkey diets. In: *Proceedings of the Second Symposium on Feed Enzymes* (W. Van Hartingsveldt, M. Hessing, J.P. Van der Lugt y W.A. Somers, editores). Noordwijkerhout, p 189-197
- Liener, I.E. 1989. Antinutritional factors in legume seeds. State of the art. In: *Recent Advances in Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds* (J. Huissman, A.F.B Van der Poel e I.E. Liener, editores). Pudoc. Wageningen, p 141-155

- Lon-Wo, E., Beltrán, M., Camps, D.M., Rodríguez, B. y Dieppa, O. 2002. Extrusión, tostado o secado al sol de granos. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 36:149-152
- Makkar, H.P.S. 1993. Antinutritional factors in foods for livestock. In: *Animal Production in Developing Countries*. British Society of Animal Production Occasional Publication, 16:69-85
- McLeod, N.A. 1974. Plant tannins. Their role in forage quality. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 11:804-815
- Nava, R., Ruiz, B. y Belmar, R. 1999. Una reseña corta sobre el valor nutritivo y factores antinutricionales de follajes de canavalia y terciopelo dados a cerdos. *Revista Computadorizada de Producción Porcina*, 6(3):1-8
- Ologhobo, A.D. y Fetuga, B.L.. 1984a. Distribution of phosphorus and phytate in some Nigerian varieties of legumes and some effects of processing. *Journal of Food Science*, 49:199-201
- Ologhobo, A.D. y Fetuga, B.L. 1984b. Effect of processing on the trypsin inhibitor, haemagglutinin, tannic acid and phytic acid contents of seed of ten cowpea varieties. *Tropical Agriculture (Trinidad)*, 61:261-264
- Rutherford, S.M., Chung, T.K., Morel, P.C.H. y Moughan, P.J. 2004. Effect of microbial phytase on ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus, and amino acids in a low-phosphorus diet for broilers. *Poultry Science*, 83:61-68
- Salas, L.F. y Tepal, J.A. 1992. Valor alimenticio del frijol terciopelo (*Stizolobium deerigianum*) en dietas para pollos de engorde. In: *Reunión Nacional de Investigación Pecuaria*. Chihuahua, p 189
- Sarmiento, L., Santos, R. y Segura, J.C. 2005. Alimentación no convencional para monogástricos. Experiencias en el trópico mexicano. In: *Alimentación no Convencional para Animales Monogástricos en el Trópico*. Guanare, pp 10
- Savón, L., Gutiérrez, O. y Ojeda, F. 2005. Harinas de follajes tropicales. Una alternativa potencial para la alimentación de especies monogástricas. *Pastos y Forrajes*, 28:69-77
- Scull, I. 2004. Metodología para la determinación de taninos en forrajes de plantas tropicales con posibilidades de uso en la alimentación animal. Tesis de Maestra en Ciencias. Universidad de La Habana. La Habana, pp 79
- Scull, I. 1996. Estrudio de la degradación de mimosina en hojas de *Leucaena leucocephala*. In: *VII Exposición de Forjadores del Futuro*. San José de las Lajas, pp 9
- Trejo, W. 1998. Evaluación nutricional de frijol terciopelo (*Stizolobium deerigianum*) en la alimentación de pollos de engorde. Tesis de Maestro en Ciencias. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, pp 81
- Trejo, W., Santos, R., Hau, E., Olivera, L. y Belmar, R. 2005. Utilization of mucuna beans (*Mucuna pruriens* L. and *Stizolobium deerigianum*) to feed broilers. *Journal of Agricultural and Rural Development in the Tropics and Subtropics*, 105:155-164
- Urbano, G., López-Jurado, M., Hernández, J., Fernández, M., Moreu, M.C., Frías, J., Díaz-Pollan, A., Prodanov, M. y Vidal-Valverde, C. 1995. Nutricional assessment of raw heated and germinated lentils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68:141-146
- Uwaegbute, A.C., Iroegbu, C.U. y Eke, O. 2000. Chemical and sensory evaluation of germinated cowpeas (*Vigna unguiculata*) and their product. *Food Chemistry*, 68:141-146
- Valiño, E., Elías, A., Carrasco, T. y Albelo, N. 2003. Efecto de la inoculación de la cepa de *Trichoderma viride* 137 MCX1 en combinaciones de *Vigna unguiculata* y bagazo de caña de azúcar autofermentado. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 37:43-49
- Van der Poel, A.F.B. 1989. Effects of processing on antinutritional factors (ANF) and nutritional value of legume seeds for non-ruminant feeding. In: *Recent advances of researches on antinutritional factors in legume seeds*. Pudoc. Wageningen, p 213
- Van der Poel, A.F.B. y Melcion, J.P. 1995. Antinutritional factors and processor technology. Principles, adequacy and optimization. *International Feed and Nutrition Technology*, 3:17-
- Van Hartingsveldt, W., Hessign, M., Van der Lugt, J.P. y Somers, W.A.C. 1996. Feed enzymes for layer and breeders. *Poultry International*, 35:60-61
- Vidal-Valverde, C., Pascual, M., Díaz, D. y Vicente, G. 1998. Changes of antinutritional factors during germination of peas. In: *3rd. European Conference in Grain Legumes*. Valladolid, p 388
- Vijayakumari, K., Siddhuraju, P. y Janardhanan, K. 1996. Effect of different post-harvest treatments on antinutritional factors in seeds of the tribal pulse, *Mucuna pruriens* (L.) DC. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 47:263-272
- Wanjekeche, E. 2001. Evaluation of processing methods of mucuna for food in Kenya. In: *Mucuna News*. Bulletin of the Centre for Cover Crops Information and Seed Exchange in Africa (CIEPCA), 4:2