

EFFECTO DE DIFERENTES TIPOS DE TRATAMIENTO TERMICO SOBRE LA CALIDAD PROTEINICA DEL FRIJOL GANDUL (*Cajanus cajan*)¹

Ma. Ester Li*
Carlos Campabadal*
Jilma Rodríguez*
Emilio Vargas**

ABSTRACT

The effect of various types of heat treatment on protein quality of pigeon pea (*Cajanus cajan*). The objective of the present study was to evaluate, in laboratory animals, the effect of two heat treatments and three cooking times on the biological value of protein from pigeon pea (*Cajanus cajan*) and to evaluate the mineral content of three Costa Rican cultivars. The results showed that the heat treatment, under environmental pressure conditions at three different cooking times (30, 45 and 60 minutes) produced better performance in comparison with the autoclaved treatment (15, 20 and 25 minutes).

The animals fed the pigeon pea cooked at environmental pressure conditions for 60 minutes, obtained a weight gain, feed conversion, crude protein digestibility (CPD) and PER of 2.14 g/day, 5.08, 57 o/o and 1.56, respectively, in comparison with 0.85 g/day, 9.77, 47 o/o and 0.96 for the same parameters for the animals fed the pigeon pea cooked for 25 minutes in an autoclave.

The results showed that 60 minutes of cooking at environmental pressure conditions are necessary to destroy the toxic substances and improve performance. The information indicates that autoclaving at the times studied here are too drastic for the protein from pigeon pea and not only destroys toxic substances but the protein of this legume. There are some differences in the mineral composition between the cultivars studied, mainly for iron, calcium and magnesium contents. Besides, pigeon pea is a good source of phosphorus and trace minerals.

INTRODUCCION

Uno de los problemas más serios que afronta la humanidad, especialmente los países subdesarrollados, es la escasez de alimentos. Es de primordial interés incrementar las investigaciones con el fin de buscar nuevas fuentes de alimentos que llenen las necesidades tanto del hombre como de los animales domésticos.

Una alternativa que ayudaría a solucionar en parte este problema, es el uso de leguminosas de grano no tradicionales como el gandul (*Cajanus cajan*), que es una importante fuente proteica de relativo bajo costo de producción, con una amplia gama de adaptabilidad a diferentes suelos y sistemas de cultivo, así como resistencia a la sequía (12, 15). Sin embargo, el gandul, al igual que las demás leguminosas, contiene proteínas de baja digestibilidad, deficientes en aminoácidos azufrados totales y, en este caso específico, triptófano (2, 4, 5, 12, 15).

Otras de las limitaciones de las leguminosas, es la presencia de sustancias tóxicas tales como inhibidores de la tripsina, las hemagglutininas, etc., las cuales se pueden eliminar total o parcialmente con una cocción apropiada (2, 4, 7).

¹ Recibido para su publicación el 21 de marzo de 1982.

* Escuela de Zootecnia, Universidad de Costa Rica.

** Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud (INCIENSA), Tres Ríos, Costa Rica.

El propósito de la presente investigación fue determinar el punto óptimo de cocción del gandul, empleando dos métodos de tratamiento térmico (cocción por autoclave y cocción a presión normal) y tres tiempos de calentamiento; se determinó también el contenido mineral de tres cultivares de esta leguminosa cultivados en Costa Rica.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron tres cultivares de gandul (*cajanus cajan*) provenientes de la Estación Experimental Fabio Baudrit de la Universidad de Costa Rica. La variedad conocida como UCR 64-2B se utilizó en todos los estudios biológicos. Las variedades UCR 64-16A y UCR 64-8AB10, y UCR 64-2B, se utilizaron para los estudios de composición mineral.

Para la evaluación del efecto del tipo de tratamiento térmico y tiempo de cocción, el grano de gandul se trató como sigue: tres muestras del grano entero se colocaron en recipientes apropiados y se agregó agua en la proporción de 3: 1 (agua: grano) y se cocinaron en una autoclave a 15 lb de presión y 121 C, durante 15, 20 y 25 minutos. Otras tres muestras se colocaron en recipientes apropiados y se les agregó agua en la proporción indicada anteriormente y se cocinaron a presión ambiente durante 30, 45 y 60 minutos. El tiempo de cocción se empezó a medir desde el momento en que el agua inició su ebullición. En todos los casos, el frijol cocido se deshidrató sin el caldo en un secador de bandejas a una temperatura de 70 C. Seguidamente se molió y analizó para determinar su composición (Cuadro 1). Con este material se prepararon dietas calculadas de tal forma que contenían 10 0/o de proteína aportada por el gandul, suplementándose cada dieta con 1 0/o de aceite de hígado de bacalao, 5 0/o de aceite de semilla de algodón, 4 0/o de minerales (10) y almidón de yuca para justar a 100 0/o. Además, se prepararon en la misma forma, dos dietas extra; una a base de gandul crudo y la otra con leche íntegra deshidratada, la cual sirvió como testigo. Todas las dietas se suplementaron con 5 ml/100 g de una solución completa de vitaminas (13) (Cuadro 2).

Para la evaluación biológica se utilizaron ratas recién destetadas de la raza Wistar, con un peso promedio de 48,8 g, las cuales se agruparon con base en su peso y sexo en tratamientos con 6 ani-

Cuadro 1. Análisis proximal del frijol gandul y leche íntegra deshidratada (0/o en base seca).

Nutriente	Gandul ¹	Leche ²
Materia seca	90,10	93,70
Proteína cruda (N x 6,25)	20,26	25,40
Extracto etéreo	1,36	26,40
Fibra cruda	7,48	0,20
Cenizas	4,44	5,40

1 Cultivar UCR 64-2B: Estación Experimental Fabio Baudrit, Universidad de Costa Rica.

2 Leche íntegra deshidratada producida por la Cooperativa de Productores de Leche, R.L. (Dos Pinos), San José, Costa Rica.

males cada uno (3 hembras y 3 machos) alojándolos en jaulas individuales de tela metálica con fondo levantado. El alimento y el agua se suministraron *ad libitum*. Las ratas se pesaron cada siete días por un periodo total de 28 días y se llevó también un registro del consumo de alimento. El contenido de proteína de las dietas se analizó por el método Kjeldahl (1), para calcular su índice de eficiencia proteínica (PER). Además, se hizo una prueba de digestibilidad que duró 22 días: 18 de adaptación y 4 de recolección total de materia fecal y consumo de alimento.

El contenido de calcio, magnesio, potasio, hierro, cobre, manganeso y zinc de los cultivares de gandul utilizados se determinó por absorción atómica siguiendo el método de Fick *et al* (8). El fósforo se analizó por el método colorimétrico de Fiske y Subbarow (9). El contenido de proteína y materia seca del gandul, la leche deshidratada, las dietas y los materiales fecales se determinó por los métodos de la AOAC (1).

Se utilizó un diseño completamente al azar. Para comparar las medias de los tratamientos, se utilizó la prueba de Duncan (16). Diferencias significativas fueron asociadas con un mínimo de probabilidad del 5 por ciento.

RESULTADOS

En el Cuadro 3 se muestran los valores promedio para el consumo de alimento, la ganancia de peso y la conversión alimenticia para todo el

Cuadro 2. Composición porcentual de las dietas elaboradas con harina de frijol gandul procesadas por diferentes tiempos y sistemas de cocción.

Ingrediente	Dietas							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Gandul cocido en autoclave 15 minutos	49,4	—	—	—	—	—	—	—
Gandul cocido en autoclave 20 minutos	—	49,4	—	—	—	—	—	—
Gandul cocido en autoclave 25 minutos	—	—	49,4	—	—	—	—	—
Gandul cocido 30 minutos	—	—	—	49,4	—	—	—	—
Gandul cocido 45 minutos	—	—	—	—	49,4	—	—	—
Gandul cocido 60 minutos	—	—	—	—	—	49,4	—	—
Gandul crudo	—	—	—	—	—	—	49,4	—
Leche íntegra	—	—	—	—	—	—	—	39,4
Almidón	40,6	40,6	40,6	40,6	40,6	40,6	40,6	50,6
Aceite vegetal, ml	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Aceite de bacalao, ml.	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Minerales	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Solución de vitaminas, ml	5	5	5	5	5	5	5	5
Proteína calculada, ‰	10	10	10	10	10	10	10	10
Proteína por análisis, ‰	10,0	10,6	10,6	9,9	12,2	12,6	10,4	10,7

período experimental. Las ganancias de peso de los animales alimentados con dietas a base de gandul cocido a presión ambiental fueron superiores a las mostradas para los animales con las dietas a base de la misma leguminosa cocinada en autoclave. Se observó una disminución en la ganancia de peso, aunque no significativa, cuando se aumentó el tiempo de 15 a 25 minutos en la autoclave; así, la ganancia de peso de los animales de la dieta cocida en autoclave durante 15 minutos, fue, en promedio, de 1,15 g/día, comparada con 0,85 g/día para los animales con la dieta en la cual el gandul había sido sometido a 25 minutos de cocción por este mismo proceso.

Un comportamiento diferente fue observado en los animales con dietas a base de gandul cocido a presión ambiental. En este caso, la ganancia de peso de los animales con la dieta de 30 minutos de cocción fue de 1,60 g/día en comparación a 2,14 g/día para los animales con la dieta de 60 minutos de cocción, presentándose diferencias significativas.

En relación con el consumo de alimento, se observó un patrón semejante, sin embargo, en este caso no se presentaron diferencias estadísticas entre las cantidades de alimento ingeridas por las ratas que consumieron dietas a base de gandul cocido a presión ambiental, (10,46 g en promedio) y las del grupo testigo (10,83 g). La conversión alimenticia siguió un patrón similar al encontrado para los otros dos parámetros evaluados. En este caso, al igual que con la ganancia de peso, los animales del grupo testigo presentaron un comportamiento significativamente mejor que el de los demás grupos experimentales. Cabe señalar, que todos los animales de la dieta a base de gandul crudo, murieron durante la segunda y tercera semanas de experimentación.

Los resultados de digestibilidad y eficiencia de utilización de la proteína se dan a conocer en el Cuadro 4. Se puede observar que los animales del grupo testigo (leche) tuvieron un comportamiento significativamente mejor, con respecto a la digestibilidad de la materia seca y la proteína cruda de

Cuadro 3. Rendimiento de ratas alimentadas con dietas a base de frijol gandul procesada por diferentes tratamientos térmicos.

Tratamientos	Autoclave			Presión ambiental			Testigos	
	A	B	C	D	E	F	G*	H
Peso inicial, g	48,83	48,83	48,83	48,83	48,83	48,83	48,83	48,83
Peso final, g	81,16	83,33	72,83	93,50	105,16	109,00	-	128,50
Ganancia de peso, g/día	1,15 ^{e**}	1,23 ^{de}	0,85 ^e	1,60 ^{cd}	2,01 ^{bc}	2,14 ^b	-	2,88 ^a
Consumo de alimento, g/día	9,10 ^{bcd}	9,00 ^{cd}	8,31 ^d	10,02 ^{abc}	10,26 ^{ab}	10,89 ^a	-	10,83 ^a
Conversión alimenticia***	7,91 ^a	7,31 ^b	9,77 ^a	6,26 ^{bc}	5,20 ^c	5,08 ^{cd}	-	3,81 ^d
Mortalidad, %	0	0	0	0	0	0	100	0

* Todas las ratas del tratamiento G murieron durante la 2a y 3a semana de experimentación.

** Medias en la misma línea con diferente letra difieren significativamente ($P \leq 0,05$).

*** Gramos de alimento consumido por gramos de aumento de peso.

- A Gandul autoclavado por 15 minutos.
 B Gandul autoclavado por 20 minutos.
 C Gandul autoclavado por 25 minutos.
 D Gandul cocido a hervor por 30 minutos.
 E Gandul cocido a hervor por 45 minutos.
 F Gandul cocido a hervor por 60 minutos.
 G Gandul crudo.
 H Control (leche íntegra).

las dietas, así como con el índice de eficiencia proteínica (PER), en relación con los demás grupos experimentales.

La digestibilidad de la materia seca y la proteína cruda de las dietas a base de gandul cocido en autoclave, aumentó en forma significativa al incrementar el tiempo de proceso. Para la materia seca se observa un aumento de 69,40 hasta 78,04 por ciento y para la proteína cruda de 30,61 hasta 46,97 por ciento para los tratamientos de 15 y 25 minutos en autoclave, respectivamente. Debe indicarse que los tratamientos de 20 y 25 minutos fueron estadísticamente iguales. En relación con los tratamientos en los cuales se incluyó harina de gandul cocido a presión ambiental, se encontró una disminución en la digestibilidad de la materia seca a medida que aumentó el tiempo de cocción.

La digestibilidad de la proteína permaneció constante para todos los tratamientos, con un valor promedio de 54,92 por ciento, lo cual es de sólo un 72,93 por ciento de la digestibilidad de la proteína de la leche que fue de 75,30 por ciento. El índice de eficiencia proteínica de las dietas de gandul cocido a presión ambiental, fue significativamente superior al observado en las dietas de gandul cocido en autoclave, y se observó que éste permaneció constante en los tratamientos de cocción a presión ambiental y disminuyó al aumentar el tiempo de tratamiento en autoclave. Cabe destacar que el PER de los mejores tratamientos (cocción a presión ambiental) de las dietas a base de gandul fue de sólo un 64 por ciento en relación con el PER de la leche que fue de 2,48.

En el Cuadro 5 se presentan los resultados de la composición mineral de tres cultivares de

Cuadro 4. Efecto de la cocción del frijol gandul sobre la digestibilidad de la materia seca, proteína cruda y relación de eficiencia proteica (PER) en ratas.

Tratamientos*	Autoclave			Presión ambiental			Testigos	
	A	B	C	D	E	F	G**	H
Digestibilidad de materia seca, o/o	69,40 ^{d***}	73,80 ^c	78,04 ^{bc}	82,21 ^b	76,19 ^c	75,95 ^c	-	88,28 ^a
Digestibilidad de proteína cruda (N x 6,25), o/o	30,61 ^c	44,21 ^b	46,97 ^b	55,90 ^b	51,90 ^b	56,97 ^b	-	75,30 ^a
Índice de eficiencia proteica****	1,26 ^c	1,29 ^c	0,96 ^d	1,62 ^b	1,58 ^b	1,56 ^b	-	2,48 ^a

* Indicados en el Cuadro 3.

** Todas las ratas murieron entre la 2a y 3a semana de experimentación.

*** Medias en la misma línea con diferentes letras difieren significativamente ($p < 0,05$).

**** Gramos de aumento de peso por gramo de proteína consumida.

Cuadro 5. Composición mineral de tres variedades de frijol gandul¹.

Componente	UCR 64-2B	UCR 64-16A	UCR 64-8AB10	\bar{x}
Calcio, o/o	0,115	0,067	0,122	0,101
Fósforo, o/o	0,260	0,246	0,280	0,262
Magnesio, o/o	0,110	0,058	0,127	0,098
Potasio, o/o	1,050	0,670	1,540	1,080
Cobre, ppm	18,000	18,000	19,000	18,000
Zinc, ppm	37,000	42,000	38,000	39,000
Hierro, ppm	60,000	157,000	67,000	95,000
Manganeso, ppm	14,000	15,000	13,000	14,000

1. Base seca.

gandul. Destaca el alto contenido de fósforo, potasio y hierro en los tres cultivares estudiados.

DISCUSION

La presencia de sustancias tóxicas en el gandul que afectan el rendimiento de los animales, ha sido encontrada por numerosos investigadores (2, 7, 14); este efecto se ve atenuado mediante la cocción del grano. Estos mismos autores han observado que la utilización de las leguminosas crudas causa una hiperactividad del páncreas, diarrea, apatía

y finalmente la muerte. Resultados similares se obtuvieron en la presente investigación, donde la utilización del gandul crudo produjo la muerte de todos los animales a partir de la segunda semana de investigación. Elías *et al* (5), informa que cocinando el gandul se mejoraron los rendimientos de los animales al destruirse las sustancias inhibidoras de la tripsina.

Es interesante observar (Cuadro 3), que conforme se aumentó el tiempo de cocción a hervor, tanto las ganancias de peso, como la conversión alimenticia mejoraron, demostrando que se requiere un mayor tiempo de cocción para destruir el inhibidor de la tripsina, o que con la cocción moderada aumenta la disponibilidad de aminoácidos, especialmente los azufrados, los cuales, están presentes en gran cantidad en los inhibidores de la tripsina (14).

En cuanto al método de autoclave, la información indica que con este tratamiento, la ganancia de peso, el consumo de alimento, la conversión alimenticia y la utilización de la proteína (PER) disminuyeron al aumentar el tiempo de cocción. Esto, probablemente, se debe a que el tratamiento por autoclave fue demasiado drástico para las proteínas del gandul, produciendo una desnaturalización de las proteínas y destrucción de algunos aminoácidos, en los cuales esta proteína es limitante,

por lo que los animales en el tratamiento con 25 minutos de autoclave, crecieron y utilizaron la proteína en forma significativamente menor. Al respecto, Elías *et al* (7) encontraron que para el cowpea (*Vigna sinensis*) y el gandul (*Cajanus cajan*) un tiempo de cocción por autoclave mayor de 15 minutos disminuía el PER, mientras que para el frijol común (*Phaseolus vulgaris*) al aumentar el tiempo de cocción hasta 45 minutos se observaba un aumento en la ganancia de peso o el PER, lo cual, según los autores, era consecuencia de que para las dos primeras especies, 15 minutos de autoclave son suficientes para destruir los inhibidores de la tripsina, mientras que un tiempo mayor provocaba una disminución en la lisina disponible. El *Phaseolus vulgaris*, sin embargo, necesita un tiempo de cocción mayor (45 minutos) para que se destruyan los inhibidores, provocándose, consecuentemente, la destrucción de la lisina disponible, lo cual se reflejó en una ganancia de peso y PER bajo con respecto a las otras especies, pero sin la mortalidad de los animales.

En relación con la digestibilidad, el tratamiento térmico por autoclave, provocó un aumento en la digestibilidad de la materia seca y la proteína cruda de las dietas. Este efecto se podría deber a una posible acción del calor sobre la pared celular, haciendo el contenido celular más disponible para la acción enzimática, o, a que la fracción de carbohidratos se volvió más susceptible a la hidrólisis (3).

Al comparar los dos tipos de tratamiento térmico, se encontró, en todos los casos, que el tratamiento por cocción a hervor indujo el mejor comportamiento de los animales para cualquier parámetro evaluado. Todo esto hace pensar que para la proteína del gandul el tratamiento con autoclave es demasiado drástico, destruyendo no sólo inhibidores de la tripsina, las hemaglutininas y otras sustancias tóxicas, sino, que, además, destruye la proteína. Bressani (3), indica que en el caso del *Phaseolus vulgaris* la cocción a presión es más efectiva que la cocción a presión atmosférica para destruir los factores tóxicos, induciendo así una mayor digestibilidad del frijol. Asimismo, se indica que el tiempo óptimo de cocción a presión, varía para cada especie de leguminosa o cultivar dentro de una misma especie (6, 7), así como por las condiciones y tiempo de almacenamiento. Se ha demostrado

(14), que el tiempo óptimo de cocción por autoclave para frijoles negros (*Phaseolus vulgaris*) recién cosechados es de 10 minutos, mientras que se necesitan 20 a 30 minutos para cocinar la misma muestra almacenada por 3 meses en condiciones inapropiadas. Estos resultados indican que los frijoles almacenados en condiciones inadecuadas desarrollan un endurecimiento de la cáscara, lo cual hace que la capacidad de absorción de agua del frijol disminuya, por lo que necesita mayor tiempo de cocción. Lo anterior, pone de manifiesto la gran necesidad e importancia de conocer las condiciones óptimas de almacenamiento y de procesamiento bajo las cuales cada cultivar de leguminosa debe ser tratado con el fin de aprovechar al máximo su valor nutritivo.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue el de evaluar, en animales de laboratorio, el efecto de dos tipos de tratamiento térmico y tres tiempos de cocción, sobre la calidad biológica de la proteína del gandul (*Cajanus cajan*), así como cuantificar el contenido mineral de tres cultivares de esta leguminosa cultivados en Costa Rica. Los resultados indicaron que el tratamiento térmico por cocción a presión ambiental a cualquiera de los tres tiempos estudiados (30, 45 y 60 minutos), indujo un mejor comportamiento de los animales en todos los parámetros evaluados, al compararlo con el tratamiento por autoclave (15, 10 y 25 minutos).

Los animales alimentados con dietas a base de gandul cocinado a presión ambiental por 60 minutos alcanzaron una ganancia de peso, conversión alimenticia, digestibilidad de la proteína cruda y PER 2,14 g/día, 5,08, 57 % y 1,56, respectivamente; en comparación con 0,85 g/día, 9,77, 47 % y 0,96 para los mismos parámetros medidos en los animales alimentados con dietas a base de gandul cocido por 25 minutos en autoclave. Se encontró asimismo, que se necesitan alrededor de 60 minutos de cocción a presión ambiental para destruir todas las sustancias tóxicas e inducir, de esta manera, el mejor rendimiento de los animales. La información parece indicar, que el tratamiento en autoclave durante los tiempos aquí estudiados, es un proceso demasiado drástico para la proteína del gandul, ya que no sólo destruye

sustancias consideradas como tóxicas sino a la proteína de la leguminosa. La información recopilada sobre la composición mineral indica que existen algunas diferencias en el contenido mineral entre los cultivares estudiados, especialmente en lo referente al hierro, calcio y magnesio. Asimismo el gandul parece ser una fuente apropiada de elementos trazas y fósforo.

LITERATURA CITADA

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. Washington, D.C. Official methods of analysis of the A.O.A.C. 11 ed. Washington, D.C., 1970. 957 p.
2. BRAHAM, J.E., *et al.* Efecto de la cocción y de la suplementación con aminoácidos sobre el valor nutritivo de la proteína del gandul. Archivos Venezolanos de Nutrición 15: 19-32. 1965.
3. BRESSANI, R., ELIAS, L.G. The problem of legume protein digestibility. In Nutritional standards and methods of evaluation for food legume breeders. Edited by I.H. Hulse *et al.* International Research Center. Ottawa, Canadá. Publicación I.D.R.C., TS7e. 1977. 100 p.
4. CAMPABADAL, C.M., *et al.* Efecto de la suplementación con metionina y triptófano sobre el valor nutritivo del frijol (*Cajanus cajan*) utilizado como fuente de proteína. Agronomía Costarricense 2: 163-169. 1978.
5. ELIAS, L.G., *et al.* Composición química y valor nutritivo de algunas leguminosas de grano. Turrialba 26: 375-380. 1976.
6. ELIAS, L.G., COLINDRES, R. y BRESSANI, R. The nutritive value of eight varieties of cowpea (*Vigna signensis*). Journal of Food Science 29: 118-124. 1964.
7. ELIAS, L.G., HERNANDEZ, M. y BRESSANI, R. The nutritive value of precooked legume flours processed by different methods. Nutrition Reports International 14: 385-403. 1976.
8. FICK, K.R., *et al.* Methods of minerals analysis for plant and animal tissues. Gainesville, University of Florida, Animal Science Department, 1976. p. irr.
9. FISKE, C.H. y SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. Journal of Biological Chemistry 66: 375-378. 1925.
10. HEGSTED, D.M., *et al.* Choline in the nutrition of chicks. Journal of Biological Chemistry 138: 459-466. 1941.
11. JAFFE, W.G. Factores tóxicos en leguminosas. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 18: 203-218. 1968.
12. JOHNSON, R.M. y RAYMOND, W.D. The chemical composition of some tropical food plants. Pigeon Pea and Cowpea. Tropical Science 6: 68-75. 1964.
13. MANNA, L. y HANGE, S.M. A possible relationship of vitamin B13 to orotic acid. Journal of Biological Chemistry 202: 91-96. 1953.
14. MOLINA, M.R., DE LA FUENTE, G. y BRESSANI, R. Interrelationship between storage, soaking time, cooking time, nutritive value and other characteristics of black bean (*Phaseolus vulgaris*). Journal of Food Science 40: 587-591. 1975.
15. RACHIE, K.O. y ROBERTS, L.M. Grain legumes of the lowlands tropics. Pigeon Pea. Advances in Agronomy 26: 32-37. 1974.
16. SNEDECOR, G.W. y COCHRAN, W.G. Métodos Estadísticos. Primera edición en Español. México, Continental, 1978. 703 p.