

18
24

Universidad Nacional Autónoma de México



FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO QUIMICO DE LAS
SEMILLAS DE
Jatropha mcvaughii

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C O
P R E S E N T A
FRANCO RODRIGUEZ JUAN ARMANDO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO. D. F.

1991



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Índice

Introducción	1
Antecedentes	4
Metodología	8
Resultados y Discusión	19
Conclusiones	35
Bibliografía	37

Manuel, Modesta, Juan, Petra,
mis abuelos

*Aunque no estén aquí, siguen estando
en la memoria de los que los vieron,
en quienes yo me sé, mis padres.*

Julia y Jorge
mis padres

*El éxito no tiene nada que ver
con lo que ganamos en la vida o
lo que logramos para nosotros.
Es lo que hacemos en bien de los
demás.*

Teresa, Jorge, Guadalupe, Angeles y Daniel
mis hermanos

*Poco importa cuántos cursos
o títulos universitarios tenga en
su haber una persona. Él es incapaz
de usar las palabras para mover
una idea de un punto a otro su
educación es incompleta.*

A la Dra. Elvira

*Es extraordinario lo útil que puede ser una
fórmula. Hasta que uno no transforma en palabras
una casa, nunca podrá llegar a conocerla a fondo.*

A mis amigos

*Hay una lógica práctica en la distribución
del tiempo de trabajo y en la diversificación
de las actividades. Pero esta se pone de manifiesto
solo si se conocen los objetivos finales de la
actividad productiva.*

A las otras familias

*En fin si estás de acuerdo conmigo,
yo tengo razón, si niegas lo que digo,
tu negación tiene el valor de una
afirmación de signo invertido; Por lo
tanto yo no puedo estar equivocado.*

A la mujer

*Hoy como ayer, mañana como hoy,
y ¡siempre igual!
Pasaba arrojadora en su hermosura,
y el paso te deje
ni aun a mirarla me volvi, y, no obstante
algo a mi oído murmuró ¡Ella es!.*

INTRODUCCION

En la urgente necesidad de cubrir los requerimientos nutricionales en grasa y proteínas en un país como el nuestro, las semillas de las plantas silvestres son recursos poco estudiados hasta la fecha.

Los lugareños de la zona costera del estado de Jalisco acostumbran incluir en su dieta alimentaria, sin presentar ningún tipo de malestar, las semillas de una planta conocida regionalmente como PINON TROPICAL; el ganado y animales de la misma region, la consumen de igual manera, sin presentar ningún problema de salud.

Durante mucho tiempo se clasificó al PINON TROPICAL como *Jatropha curcas* Linn, sin embargo, los artículos encontrados en relacion al aspecto farmacológico, sobre las semillas de *Jatropha curcas* Linn (1-6) son realmente sorprendentes, ya que en todos los casos las especies grandes y pequeñas de laboratorio, manifestaron intoxicaciones graves debidas a la ingestión de semilla de esta planta; (2-5,10-13), los trabajos químicos y farmacológicos hacen

responsable de estos efectos a la presencia de una mezcla de dos polipéptidos, la CURCINA y la EURCURCINA, (5, 11, 12).

Ante esta información se decidió verificar, en primer lugar, la clasificación botánica del "PINON TROPICAL", para lo cual la planta (semillas, hojas, flor, fruto y tallo) [1], se envió al Dr. Bijan Deqhan, de la Universidad de California quien amablemente y en forma totalmente gratuita, la clasificó y nos envió su dictamen, después de cultivarla en los invernaderos de dicha Universidad, en el sentido de que el PINON TROPICAL, es en realidad, la *Jatropha mcvaughii*, especie descrita por él por primera vez en 1978 (7).

Con esta información y sabiendo que esta variedad no se había estudiado químicamente, se llegó a la conclusión de que era conveniente iniciar el estudio de la *Jatropha mcvaughii*, PINON TROPICAL, desde el punto de vista químico, dicho estudio en esta primera etapa, se dirigió exclusivamente a la semilla, estudios de posteriores se dedicaran a las hojas, tallos etc.

El PINON TROPICAL, *Jatropha mcvaughii*, pertenece a la familia de las EUPORBEACEAS crece en forma de arbustos o árboles pequeños [1] [Proporcionada a nosotros para su estudio por el Lic. Ernesto Solte y la Sra. Mercedes Gargollo, propietarios del rancho "La Atlantida", en Jalisco, a quienes estamos profundamente agradecidos por habernos introducido al estudio de esta interesante planta.]

1.5 a 3.5 metros de altura, su tronco y su corteza son irregulares las ramas son alternadas, presentando cicatrices que dejan las hojas al caer por su suave corteza, las hojas son pubescentes, largamente pecioladas y prontamente caducas, sus flores son amarillo verdosas y se reproducen en panículas axilares o terminales; su fruto es oval y del tamaño de una nuez, el pericarpio es verde al principio, amarillo en la madurez y finalmente negrusco; posee tres cavidades, llevando en cada una de ellas uno o dos granos de semilla de unos 18mm de largo por 11mm de ancho. La semilla debajo de la corteza exterior, que es crustacea y de color oscuro (café-negro), lleva una delgada membrana que protege al núcleo, el cual es blanco, aceitoso y de sabor débilmente dulce, que recuerda al cacahuete crudo o al piñón.

Objetivos de la tesis

Realizar un estudio, químico en paralelo, de las semillas de *Jatropha curcas* Linn colectadas en el estado de Veracruz, por la Dra. Silvia del Amo, de la oficina de recursos bióticos del INEREB y de las semillas de *Jatropha mcvaughii*. PINON TROPICAL, proporcionadas por los propietarios del rancho "La Atlántida" municipio de la Huerta estado de Jalisco. Para establecer las posibilidades de uso de la *Jatropha mcvaughii*.

Este estudio inicial, comprenderá solamente el análisis del aceite y de la harina residual.

ANTECEDENTES

Las semillas de *Jatropha curcas* Linn, conocida en la República Mexicana como "Piñoncillo", planta de las regiones tropicales y subtropicales, es un arbusto de la familia de las EUFORBEACEAS, del género *Jatropha*; de tallos blandos y carnosos; hojas carnosas y caducas; fruto oval, verde al principio, amarillo en la madurez y negro al secarse, contiene tres semillas de tamaño mayor que el de la hiquerilla y de color negro o negrusco, con una cáscara semiblanda y quebradiza que protege a una almendra de color blanco, rica en aceite y de sabor parecido al del cacahuate crudo.

Esta planta se reproduce por semillas y por estacas, es muy conocida en toda América tropical, con los siguientes nombres; Piñón Botina, en Cuba; Piñón en Nicaragua, Guatemala, Honduras y Venezuela; Coquillo, en Panamá; Tartago, en Puerto Rico; etc. (17).

En general las semillas de *Jatropha curcas* Linn, poseen una toxicidad conocida desde hace mucho tiempo atribuida en parte a sus aceites irritantes, así como a algunos constituyentes

proteicos denominados Crotina, que inicialmente se asociaba con la ricina y la abrina, proteínas tóxicas del *Resinus communis* y de *Abrus precatorius*, estas tres proteínas inhiben la síntesis de proteínas en los ratones (6).

La toxicidad depende de las diferentes concentraciones de semilla utilizada en la dieta de los animales de laboratorio, en los que se observan lesiones en órganos importantes como: corazón, bazo, pulmones, hígado, riñón, páncreas y sobre todo en el intestino (2, 3, 4).

Recientemente se sabe que en la *Jatropha curcas* Linn, la actividad tóxica, es debida a la presencia de una toxábumina que recibe el nombre de Curcina o Eurcurcina (que es en realidad una mezcla de tres polipéptidos que no están actualmente plenamente caracterizados), y que se localizan en los granos de las semillas (5,15). Además de las proteínas mencionadas, la semilla contiene otro principio tóxico, que es una sustancia resinosa con propiedades purgantes (11, 12, 13). No identificados plenamente hasta la fecha.

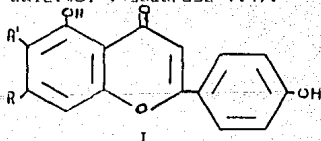
La ingestión de tres a cinco semillas es suficiente para causar catarsis, aunque no se producen náuseas ni vómito, generan un fuerte ardor estomacal.

La posible utilización del aceite obtenido por extracción de

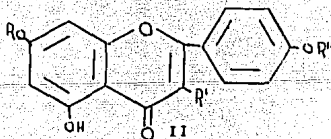
las semillas de *Jatropha curcas* Linn se a evaluado en forma comparativa, con las características de otros aceites comerciales (9). La composición química del aceite recuerda al resino silvestre, no mostrando valor de hidróxilo (10, 13). La proporción relativa de los ácidos saturados, mono y di insaturados no sufre cambios durante la maduración (19, 20).

El estudio químico de las semillas de *Jatropha curcas* Linn, muestra que tiene un 45 % de aceite y un 58 % de proteína en la harina desengrasada (14); dicha semilla es rica en aminoácidos esenciales (15,16). Para la composición en ácidos grasos del aceite y de los aminoácidos de la harina desengrasada ver tablas III y V pags.26 y 28.

En la extracción sucesiva con disolventes de distinta polaridad de las hojas y de la corteza de la *Jatropha curcas* Linn, se han separado, β -amirina, β -sistosterol, α -D-glucosido del β -sistosterol, así como el dímero de un alcohol triterpénico ($C_{58}H_{117}O_8$) no caracterizado, así como dos nuevos flavonoides glucosídicos I y II (8). De la cáscara de la semilla se ha aislado dulcitol y sacarosa (14).



R y R' C-grupo glucosil



R, R' y R'' Rhamnosa

La semilla es utilizada en medicina popular en el tratamiento de algunas enfermedades como: artritis, gota e ictericia, y el aceite es usado como purgante energético en Africa y América (8); en Java se usa para estimular el crecimiento del cabello (12).

Otro aspecto de interés de la planta de la *Jatropha curcas* Linn, es que el extracto etanólico de las hojas, muestra actividad *in vivo* e *in vitro* contra linfocitos de la leucemia P-388 (6).

Los estudios realizados indican que es factible el uso de la harina desengrasada, de las semillas de *Jatropha curcas* Linn, como un complemento de aminoácidos en la alimentación de ganado y aves de corral (18).

En la República Mexicana el uso que se ha dado a las semillas de *Jatropha curcas* Linn, es para la extracción de pequeñas cantidades de aceite, que es utilizado en la elaboración de jabones y como combustible en lámparas abiertas (17).

semillas, con la siguiente fórmula: (26, 27)

$$\% \text{Aceite} = \frac{\text{peso del extracto hexánico}}{\text{peso de la muestra}} \cdot 100$$

Hidrólisis. Es la liberación de los ácidos grasos que se encuentran presentes en el aceite; esto es posible realizarlo mediante una saponificación, de la grasa cruda.

Pesar de 200 a 300 mg. de muestra en un matraz de bola de 25 ml. adicionar 10 ml. de potasa metanólica al 20% . calentar a reflujo durante 30 minutos con agitación magnética; al término de este tiempo se transfiere el contenido del matraz a un embudo de separación, se añaden 20 ml. de agua (con los cuales se lava el contenido del matraz) y 10 ml. de hexano, se separan las fases (en caso de que se forme una emulsión está se puede romper adicionando una pequeña cantidad de metanol), la operación se repite por tres veces. La fase acuosa se acidula con HCl concentrado a pH=3 con lo cual se liberan los ácidos grasos, estos se extraen con hexano, la operación se repite por tres veces se deshecha la fase acuosa y la orgánica se lava con agua para eliminar el exceso de HCl (pH neutro), la fase orgánica se seca con Na_2SO_4 anhidro; se filtra y se elimina el hexano. (26, 27)

Esterificación. Es la formación de ésteres metílicos de los ácidos grasos liberados en la hidrólisis del aceite. Los métodos más frecuentemente usados para este propósito son: $\text{CH}_3\text{OH}-\text{HCl}$.

$$I.a. = \frac{(V_m - V_b) * 56.108 * N}{\text{peso muestra}}$$

V_m = volumen muestra

V_b = volumen blanco

N = normalidad de KOH

56.108 = equivalente de KOH

Indice de saponificación. (I.s.). Es el número de mg. de hidróxido de potasio necesario para neutralizar y saponificar los ácidos grasos libres y ésteres de un gramo de grasa. (26, 27)

Pesar de 0.2 a 0.3 g de muestra en un matraz bola de 25 ml., adicionar 10 ml. de solución de hidróxido de potasio etanólico (0.1 N), calentar a reflujo durante 30 minutos con agitación magnética; pasado este tiempo se espera a que enfrie un poco y se lavan las paredes del condensador con un poco de alcohol neutro que contenga fenoftaleína como indicador, lo mismo se hace con el matraz. El contenido del matraz y los lavados son transferidos a un matraz erlenmeyer y se valora con HCl (0.5 N) hasta la desaparición del color rosa.

$$I.s. = \frac{(V_b - V_m) * N * 56.108}{\text{peso muestra}}$$

V_b = volumen blanco

V_m = volumen muestra

N = normalidad de HCl

56.108 = equivalente de KOH

Equivalente de saponificación. (Eq.s.). Es el peso molecular promedio del material que se está examinando, siempre y cuando consista de ácidos grasos o ésteres de alcoholes monohídricos. En

el caso de los triglicéridos, para obtener el peso molecular, se multiplica el equivalente por tres. Si se encuentran ácidos dibásicos o materias no saponificables el equivalente del peso molecular será diferente. (26, 27)

El equivalente de saponificación es calculado del índice de saponificación.

$$\text{Eq. 5.}^{\text{a}} = \frac{56108}{\text{índice de saponificación}}$$

Índice de Yodo. (I.I.). Se refiere al número de gramos de yodo que se combinan con 100 gramos de grasa, en condiciones específicas. El índice de yodo está relacionado con el mayor o menor grado de insaturación. (26, 27)

Se filtra la muestra para eliminar cualquier impureza sólida. La muestra debe de estar absolutamente seca.

Pesar de 0.25 a 0.35 g. de muestra y colocarla en un matraz seco de 500 ml., adicionar 20 ml. de tetracloruro de carbono. Con una pipeta se añaden 25 ml. de mezcla $I_2/HgCl_2$ (yodo-cloruro mercurico), se agita con cuidado y se tapa el matraz dejando reposar de 4 a 6 horas en un sitio oscuro y fresco, en casos de aceites altamente insaturados con índice de yodo superior a 130, el tiempo de reposo deberá ser de aproximadamente de 24 horas, después de este tiempo se agregan al matraz 15 ml. de solución de

yoduro de potasio y 200 ml. de agua destilada, con la que debe de lavarse el tapón esmerilado y la boca del matraz; se valora el exceso de yodo con solución de tiosulfato de sodio (0.1 N) usando como indicador una disolución de almidón, la titulación se realiza con agitación vigorosa para que el yodo que se encuentra en la fase orgánica, pase rápida y totalmente a la fase acuosa; al mismo tiempo se realiza un blanco de reactivos que sirve de referencia de la cantidad de yodo presente en la muestra.

$$I_2 \text{ absorbido} = \frac{(\text{ml. del blanco} - \text{ml. de la muestra}) * N * 12.69}{\text{peso de muestra}}$$

N=normalidad del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

12.69=deciequivalente de I_2

ANALISIS BROMATOLOGICO DE LA HARINA DESENGRASADA.

% Húmedad. Es la cantidad de agua que contiene la harina desengrasada. Es indispensable conocer este dato en la muestra para darle un valor real a la cantidad de otros componentes, por otro lado, este dato de humedad está relacionado con la edad y/o estado de conservación de la muestra en cuestión. (26)

Pesar de 2 a 3 g. de harina en un pesafiltros, previamente preparado a peso constante, secar en la estufa de 100 a 110 °C durante 3 horas, enfriar en un desecador y pesar; volver a meter a la estufa y repetir hasta obtener un peso constante.

$$\% \text{Humedad} = \frac{(\text{peso de la muestra húmeda} - \text{peso de la muestra seca})}{\text{peso inicial de la muestra}} \cdot 100$$

% Cenizas. Incluye todos los compuestos inorgánicos y no volátiles a 550 °C en la muestra, tanto los originales como los de contaminación. (26)

Pesar de 3 a 5 g. de harina desengrasada en una cápsula de porcelana, previamente a peso constante a 600 °C. Primero se carboniza la muestra con mechero y después se calcina en la mufla a 550 °C, para evitar que volatilicen los cloruros. La calcinación debe durar aproximadamente 1 hora, momento en el cual las cenizas deben estar blancas o grises (si se observan puntos negros, se humedece con unas gotas de agua destilada, se seca en la estufa a 110 °C y se vuelve a calcinar). Enfriar en desecador.

$$\% \text{Cenizas} = \frac{(\text{peso cápsula} + \text{ceniza}) - (\text{peso cápsula vacía})}{\text{peso muestra}} \cdot 100$$

% de Nitrógeno. Las proteínas y demás materias orgánicas se oxidan por el ácido sulfúrico, y el nitrógeno que se encuentra en forma orgánica se fija como sulfato de amonio. Al hacer reaccionar esta sal con una base fuerte se desprende amoníaco que es recibido en un volumen de ácido clorhídrico y por titulación del ácido no neutralizado se calcula la cantidad de nitrógeno en la muestra. (26)

Se pesan en una balanza analítica aproximadamente 1 g. de

muestra y con todo y papel se introducen en un matraz de Kjendahl se agregan 0.3 g. de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 10 g. de K_2SO_4 y 25 ml. de H_2SO_4 concentrado, añadir trozos de vidrio poroso para regular la ebullición en la digestión. Se coloca el matraz en posición inclinada, mediante pinzas y soporte y se calienta dentro de la campana con mechero, primero lentamente hasta que cesen los humos blancos. Se coloca un embudo de tallo corto en la boca del matraz y se sigue calentando, aumentando la llama del mechero hasta la total destrucción de la materia orgánica. La solución debe quedar completamente clara. Enfriar y diluir a 350 ml. con agua destilada enfriando sobre hielo, añadir una solución concentrada de hipóxido de sodio (40 g. en 40 ml de agua), que también ha sido enfriada sobre hielo, haciendolo lentamente, por las paredes del matraz de manera que se estratifiquen las dos soluciones. Adicionar 0.5 g. de Zn. en polvo y conectar el matraz inmediatamente a la alargadera de Kjendahl, unida al refrigerante, que va a su vez conectado a la alargadera que esta introducida en la solución de ácido valorado (75 ml. de HCl 0.1 N), contenido en un matraz erlenmeyer de 500 ml., adicionados de 0.5 ml. de indicador rojo de metilo. Las conexiones deben ser de hule para dar un ajuste perfecto y evitar las fugas, una vez conectado el matraz, agitar para mezclar las dos capas e inmediatamente colocar en la parrilla de calentamiento del aparato, regulando la ebullición agitando de vez en vez.

Destilar aproximadamente 250 ml., suspender la destilación,

retirando primero el matraz con el destilado, antes de apagar la parrilla dejar destilar unos minutos más con objeto de lavar la alargadera por dentro y después lavarla por fuera recogiendo los lavados en el mismo matraz.

Titular el exceso de ácido con una solución valorada de sosa 0.1 Normal, hasta el virre amarillo del indicador.

Corregir mediante una determinación de blanco de reactivos, empleando 1 gramo de sacarosa en lugar de muestra y utilizando la misma cantidad de papel.

$$\% \text{ NITROGENO} = \frac{(\text{ml. blanco} - \text{ml. muestra}) * N * 0.014 * 100}{\text{peso muestra en gramos}}$$

N=normalidad de NaOH

0.014=miliequivalente de N_2

Proteína cruda. Este dato se obtiene del % de nitrógeno de la muestra; suponiendo que las proteínas tienen un contenido invariable de nitrógeno, el factor que resulta de $100/16=6.25$.(26)

$$\% \text{ PROTEINA} = \% \text{ NITROGENO} * 6.25$$

% de Fibra cruda. Es la fracción orgánica de la muestra que resiste un tratamiento alternado de H_2SO_4 Y NaOH hirvientes al 1.25 % . (26)

Pesar de 3 a 5 g. de harina desengrasada, y colocarla en un vaso digestor, añadir 0.5 g. de asbesto preparado y 200 ml. de solución de H_2SO_4 al 1.25 %, calentando inmediatamente, ya que debe de empezar a hervir antes de 1 minuto, refluja durante 30 minutos, rotando el vaso de vez en cuando, para incorporar las partículas que se adhieren a las paredes del vaso. Filtrar a través de una tela usando vacío y lavar con agua destilada caliente hasta que no de reacción ácida al rojo de metilo. El residuo que queda en la tela se pasa con una espátula a un vaso digestor limpio y se repite la operación con NaOH al 1.25 % hirviendo.

Pasar cuantitativamente el residuo a un vaso de precipitados limpio, lavando con agua, y filtrar sobre un crisol gooch que lleva una capa delgada de asbesto y que ha sido calcinado a $900^{\circ}C$ durante 1 hora; se lleva a la estufa a $130-3^{\circ}C$ durante 2 horas, enfriar y pesar, llevar a la mufla y calcinar a $900^{\circ}C$ durante 30 minutos. Determinar un blanco tratando 1 g. de asbesto preparado con alcali en la misma forma que se procedió con la muestra.

$$\% \text{ FIBRA CRUDA} = \frac{A - B}{m} \times 100$$

A = g. de muestra tratada y seca.

B = g. de muestra calcinada.

m = peso de muestra original.

% Carbohidratos Asimilables. Son iguales a la muestra seca menos la suma de los porcentajes de grasa cruda, humedad,

cenizas, nitrógeno y fibra cruda, esta diferencia se reporta como por ciento de carbohidratos asimilables. (26)

Determinación de Aminoácidos. La harina previamente desengrasada, se hidroliza con HCl 6 N., conteniendo 5% de fenol, a 110°C durante 24 horas. La hidrólisis completa produce una mezcla de aminoácidos libres y sus productos de descomposición, la mayoría de los aminoácidos se recuperan en forma L, aunque se pueden producir también racematos. La hidrólisis ácida destruye por completo el triptófano y aproximadamente el 10 % de la serina y de la treonina, cuando se lleva a cabo de esta manera. Los aminoácidos encontrados en la muestra son cuantificados en un aparato de HPLC (Analizador de aminoácidos modelo Beckman) en una columna de fase reversa para la separación e identificación de los diferentes aminoácidos.

La cromatografía en columna, en la que los aminoácidos son adsorbidos, es una columna de resina sintética, para luego ser eluidos haciendo pasar a través de la columna soluciones apropiadas (Se utilizan tres sistemas buffer de citrato de sodio pH = 3.25, pH = 4.25, y pH = 7.9). Las cantidades de aminoácidos, en una fracción dada, se determinan midiendo la intensidad de color a una longitud de onda de 570 nm.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se estudiaron las semillas de *Jatropha mcvaughii* y de *Jatropha curcas* Linn, y los resultados experimentales obtenidos para ambas semillas, se compararon con los datos descritos en la literatura para las semillas de *Jatropha curcas* Linn desde:

1.) Un punto de vista, macroscópico.

2.) Composición química: a)Del aceite, b) De la harina residual.

2a.1) Características físicas : color , olor , apariencia , densidad.

2a.2) Características químicas : (I.a.) , Índice de acidez , (I.s.) , Índice de saponificación : (I.l.) , Índice de yodo , (Eq.s.) , Equivalente de saponificación , % de acidez libre.

2a.3) Características espectroscópicas

2a.4) Determinación cualitativa y cuantitativa de la composición de los ácidos grasos que constituyen los glicéridos del aceite.

2b.1) Análisis bromatológico de la harina residual.

2b.2) Análisis cualitativo y cuantitativo de los aminoácidos de las proteínas contenidos en la harina desengrasada.

3.) Comparación de los resultados obtenidos en ambas semillas con los datos descritos en la literatura para otras semillas oleaginosas de uso comercial : a) aceite , b) proteína.

4.)Análisis toxicológico preeliminar de las semillas de *Jatropha mcvaughii* y de *Jatropha curcas* Linn. Estudio realizado en la Facultad de Medicina en el Departamento de Toxicología por el Dr Rodolfo Rodríguez Carranza, Dr Miguel Lujan, Q. F. B. Silvia García y Q. F. B. Maretha Medina.

La semilla de *Jatropha mcvaughii* Piñon Tropical es una de las tres nuevas variedades de *Jatropha* existentes en la República Mexicana, de las cuales no existe reporte alguno, hasta el momento, en la literatura sobre su composición química, en cambio la *Jatropha curcas* Linn es una variedad ampliamente descrita en la literatura y con la que comparamos los resultados obtenidos para ambas semillas, en lo referente únicamente a la semilla y principalmente al núcleo de esta.

1.-) Estudio macroscópico: Se midió la longitud y el ancho de las semillas, siendo estas de aproximadamente; 18 mm de largo por 10 mm de ancho, por lo que respecta a la almendra descascarada presenta una longitud cercana a los 15 mm por 8 mm de ancho, la semilla entera arroja un peso promedio de 0.6974 g., y la almendra de 0.4398 g., que representa un 63.06 % del peso total, ya que la cascara pesa en promedio 0.2558 g. o sea 36.94 % . (Para ambas *Jatrophas*.)

2.-)Composición Química:

2a.1) Características físicas de los aceites de la *Jatropha mcvaughii* y de la *Jatropha curcas* Linn:

Tabla I

Propiedad	<i>J.mcvaughii</i> (*)	<i>J.curcas</i> Linn (**)	<i>J.curcas</i> Linn (***)
color	amarillo pálido	amarillo pálido	amarillo pálido
olor	característico	característico	característico
apariencia	líquido aceitoso	líquido aceitoso	líquido aceitoso
densidad	0.9235	0.9191	0.9081

(*) Semilla proporcionada por el rancho "La Atlantida"

(**) Semilla proporcionada por el INEREB

(***) Datos descritos en la literatura (25)

2a.2) Características Químicas de los aceites de la *Jatropha mcvaughii* y de la *Jatropha curcas* Linn:

Tabla II

Prop. quim.	<i>J. mcvaughii</i> (*)	<i>J. curcas</i> Linn (**)	<i>J. curcas</i> Linn (***)
(I.a.)	8.76	10.45	6.38-8.0
(I.s.)	214.03	198.36	192-204
(I.I.)	90.29	92.05	90.6-101
(Eq.s.)	262.16	282.87	282.6
% acidez	4.4	5.23	5.254

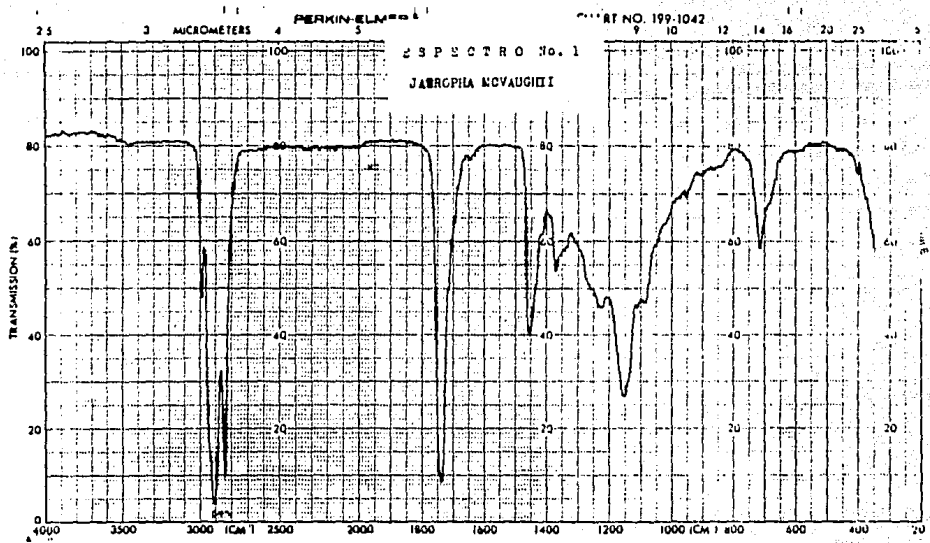
Propiedad Química (I.a.) Índice de acidez, (I.s.) Índice de saponificación, (I.I.) Índice de yodo, (Eq.s.) Equivalente de saponificación, % de acidez libre.

(*) y (**) Datos experimentales

(***) Datos de la literatura (9.11.25).

2a.3) Características espectroscópicas:

Tanto el aceite de *Jatropha mcvaughii* como el de *Jatropha curcas* Linn presentan los espectros de infrarrojo (espectros 1 y 3) y de resonancia magnética nuclear (espectros 2 y 4) característicos de los aceites de origen natural.

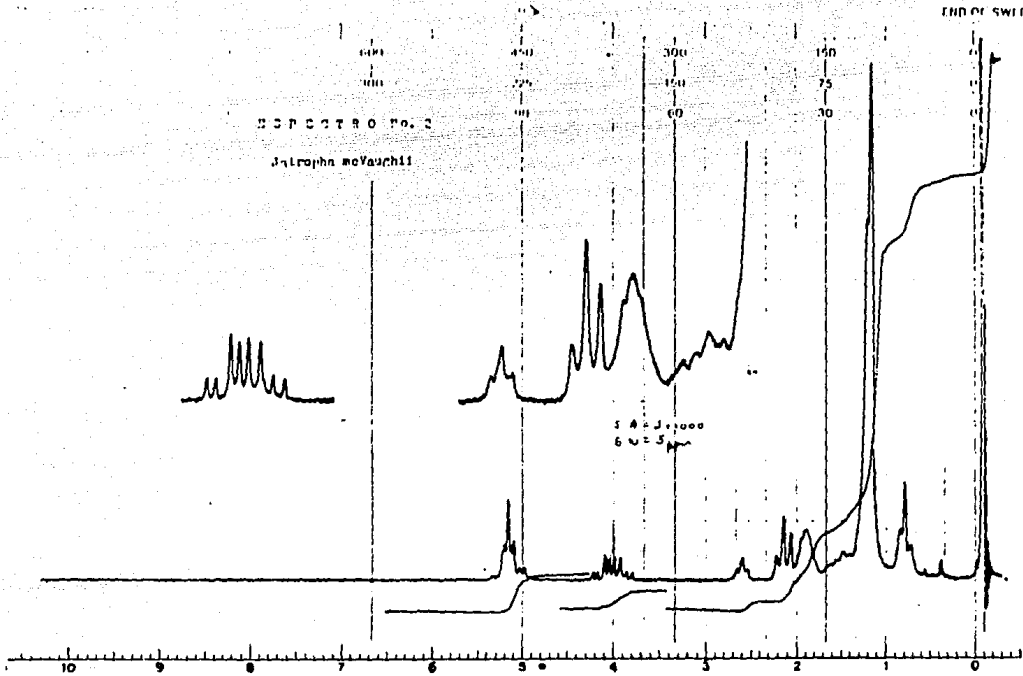


END OF SWEEP

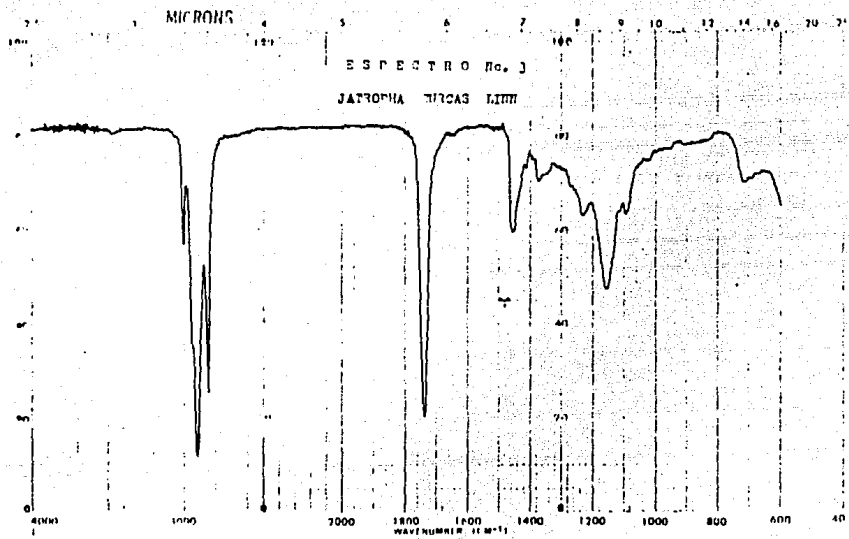
SPECTRO No. 2

Jatropha meVauchii

SA = 10,000
60 = 5 ppm



EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

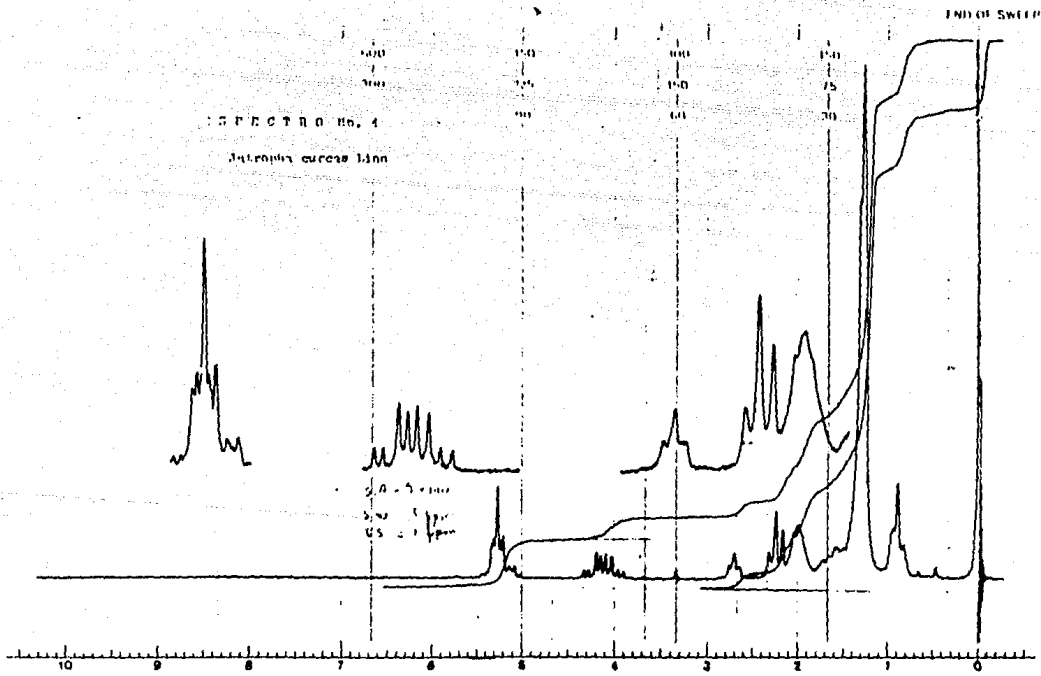


END OF SWEEP

SPECTRO No. 4

Hydrophyl curcas linn

$\Delta A = 5 \times 10^{-2}$
 $\Delta \nu = 1 \text{ cm}^{-1}$
 $\Delta S = 1 \text{ ppm}$



EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

Espectros 1 y 3	Espectros 2 y 4
<p data-bbox="222 214 357 235">INFRARROJO</p> $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}- \end{array} \quad 1740-1770$ $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{O}- \end{array} \quad 1150-1100$ $-\text{CH}_2- \quad 2900-2800$ $-\text{CH}=\text{CH}- \quad 3000-2990$	<p data-bbox="523 214 896 235">RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR.</p> <p data-bbox="533 257 844 321">$\delta=5.3$ protones vinílicos y metino del glicerol.</p> <p data-bbox="533 342 823 406">$\delta=4.2$ metilenos de la glicerina.</p> <p data-bbox="533 428 844 492">$\delta=2.7$ metilenos cercanos a carbonilo</p> <p data-bbox="533 514 885 578">$\delta=2.3$ protones alílicos cercanos a dobles ligaduras</p> <p data-bbox="533 599 730 621">$\delta=1.3$ metilenos</p> <p data-bbox="533 642 709 664">$\delta=0.9$ metilos.</p>

2a.4) Análisis cualitativo y cuantitativo de los ácidos grasos presentes en el aceite de *Jatropha mcvaughii* y *Jatropha curcas* Linn.

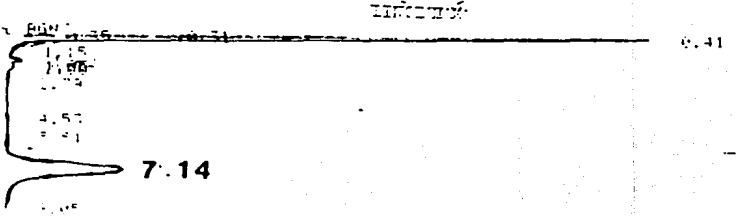
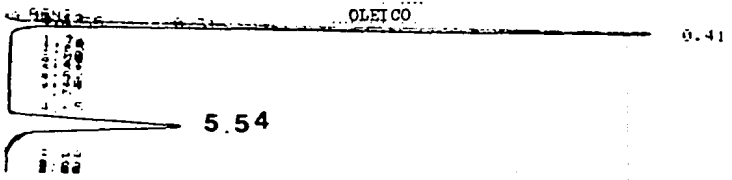
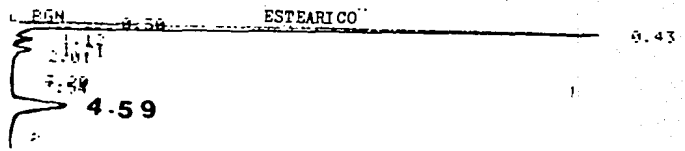
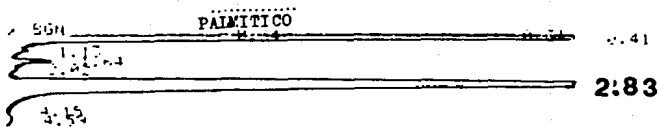
Para la obtención de los ácidos grasos se utilizó la hidrólisis básica, (ver metodología) que convierte los triglicéridos en jabones solubles en agua y en glicerol. Con la técnica que se describe en la metodología (KOH al 20 %) se logra un mayor rendimiento y eficacia en la hidrólisis de aceites en menos tiempo y a una menor temperatura, evitando así la polimerización de los ácidos grasos.

Para efectuar la esterificación de los ácidos grasos provenientes de la hidrólisis del aceite, se utilizó un procedimiento (ver metodología) que presenta la ventaja de usar reactivos de bajo costo, como son: acetato de cobre II monohidratado, ácido clorhídrico y metanol en comparación con el reactivo tradicional para este fin, trifluoruro de boro-metanol, (el cual no se tenía en el momento). Ambos métodos se efectuaron en un tiempo muy corto y dan buenos resultados, no ocurriendo en ambos casos reacciones colaterales (isomerización).

Para la determinación cualitativa de los ésters metílicos de los ácidos grasos presentes en los aceites de *Jatropha mcvaughii* y de *Jatropha curcas* Linn, se utilizan los tiempos de retención de estándares puros, cromatograma (1) en cromatografía de gases. Otro método utilizado para la identificación de los componentes de dichos aceites es la adición de estándares a la muestra, de los que se supone se encuentran contenidos dentro de la muestra, el pico del cromatograma correspondiente al estándar puro, aumenta de intensidad, cromatograma (2) existiendo un margen de seguridad mayor con este método los resultados obtenidos se dan a continuación.

CRONOMETRÍA No. 1

ESTANDARES TIEMPOS DE RETENCIÓN



PERKIN ELMER 301 1710

000

PINON TROPICAL JATROPHA MCVAUGHII

(2)

SIGN

11.49

2.78

3.85

4.58

5.49

7.09

88.51

END

TEMPERATURA DEL INYECTOR	190°
FASE LIQUIDA ESTACIONARIA	SUCCINATO DE ETILENGLICOL
FASE MOVIL GASEOSA	NITROGENO
TEMPERATURA DE INTERFASE	230°
TEMPERATURA DEL INYECTOR	250°

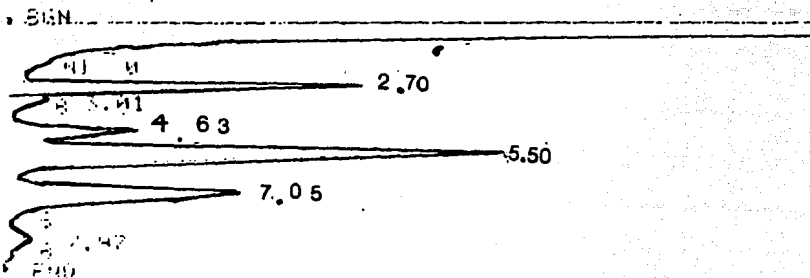
NET 2 METH 1 FIL

Wt 0 3.1

ANAL 100 40

AREA BC PPT SF C NAME

JATROPHA CURCAS LINN



PROCEDIMIENTO No. 2

TEMPERATURA DE LA COLUMNA	190°
FASE LIQUIDA ESTACIONARIA	SUCCINATO DE ETILENGLICOL
FASE MOVIL GASEOSA	NITROGENO
TEMPERATURA DE INTERFASE	230°
TEMPERATURA DEL INYECTOR	250°

JATROPHA MOVAUGHII + ESTANDARES

5000

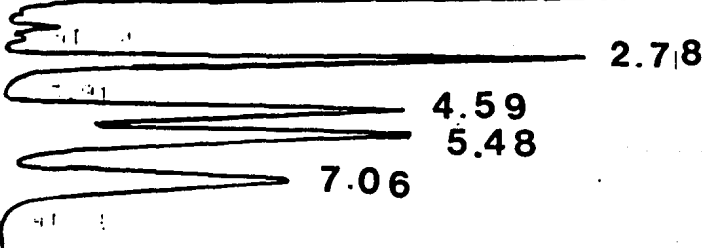


Tabla III Composición de los ácidos grasos que constituyen los aceites.

Ac. graso	<i>J. m. vaughii</i> . (*)	<i>J. curcas</i> Linn. (*)	<i>J. curcas</i> Linn. (10)
C ₁₂	0.3096	0.11	0.20
C ₁₄	0.0323	0.48	0.80
C ₁₆	10.6146	14.99	21.80
C _{16:1}	0.7054	---	0.80
C ₁₈	7.14	5.13	8.20
C _{18:1}	38.6681	35.39	41.00
C _{18:2}	42.5263	43.35	27.20
C _{18:3}		0.55	---

(*) Valores experimentales. En cantidad % presente en la muestra por cromatografía de gases.

(10) Datos descritos en la literatura.

2b.) Análisis Bromatológico de la harina residual libre de aceite.

Las determinaciones realizadas en la harina desengrasada comprenden lo que se denomina análisis bromatológico o proximal, el que está diseñado para simular el proceso de digestión, este tipo de análisis se emplea para hacer descripciones de los alimentos y la mayoría de los requerimientos legales para

productos alimenticios se basan en este sistema. Este análisis comprende las siguientes determinaciones: grasa cruda, humedad, cenizas, % de N_2 , fibra cruda y carbohidratos asimilables. Los resultados se muestran en la tabla IV.

Tabla IV Análisis proximal de la semilla (núcleo).

%	<i>J. mcvaughii</i> (*)	<i>J. curcas</i> Linn. (*)	<i>J. curcas</i> Linn. (**)
Grasa cruda	58.54	54	13-56
Humedad	8.58	8.32	3.8-5.2
Cenizas	5.78	12.06	2.1-3.23
% de N_2	9.468	9.25	3.16-9.28
% Proteína	59.175	57.8125	19.75-58.0
Fibra cruda	7.6	7.7	24.3
Carbohidratos asimilables	10.06	8.67	---

(*) Resultados experimentales.

(**) Datos descritos en la literatura. (9-12)

2b.2) Análisis cualitativo y cuantitativo de los aminoácidos de la proteína contenidos en la harina desengrasada.

Como el valor alimenticio de las semillas depende de los aminoácidos presentes en la proteína, se decidió determinar la naturaleza de los aminoácidos presentes en ellas.

Se procedió a determinarlos a través de una hidrólisis ácida, y a continuación se realizó un aminograma automatizado de los mismos; (ver metodología) los resultados se muestran en la tabla V.

Tabla V aminoácidos

% a.a.	<i>J.mcvaughii.</i>	<i>J.curcas Linn.</i>	<i>J.curcas Linn.(12,15,16)</i>
Lisina	2.7	2.1	5.6
Histidina	5.3	4.1	3.2
Valina	6.5	7.42	Het,Isoleu 7.6
Metionina	1.5	1.52	
Isoleucina	3.9	3.41	
Leucina	5.9	9.88	8.7
Fen ala.	4.9	4.51	4.9
Tirosina	3.2	2.27	3.8
Ac.Asp.	12.0	13.04	12.0
Ac.Glu.	21.0	21.45	9.4
Treonina	3.62	3.40	7.2
Serina	4.61	3.16	6.9
Prolina	13.6	10.31	6.7
Glicina	4.9	4.06	5.2
Alanina	5.13	5.23	6.7
Arginina	---	2.73	5.0
Cistina	---	---	2.8
Hidroxi Prolina	---	---	4.4

a a.a. = aminoácidos. Resultados Experimentales.

NITROGENO

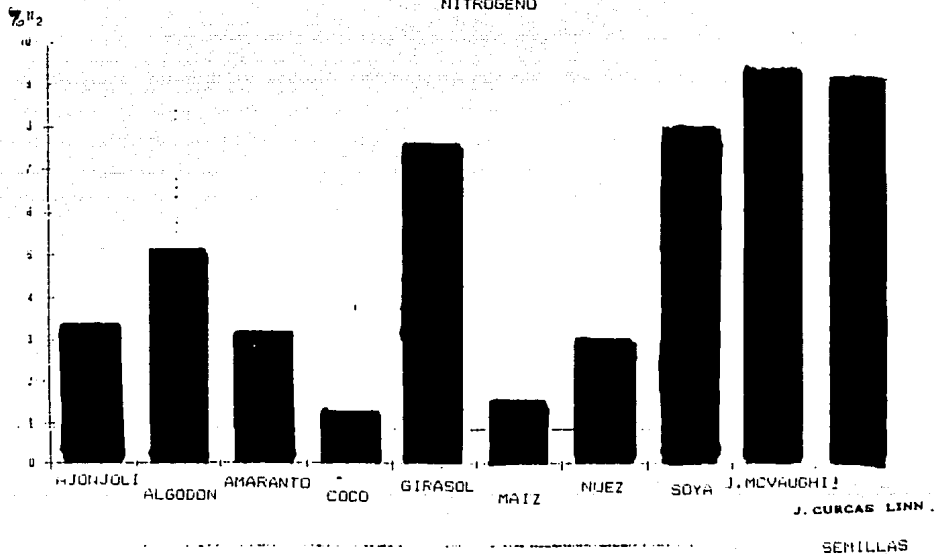
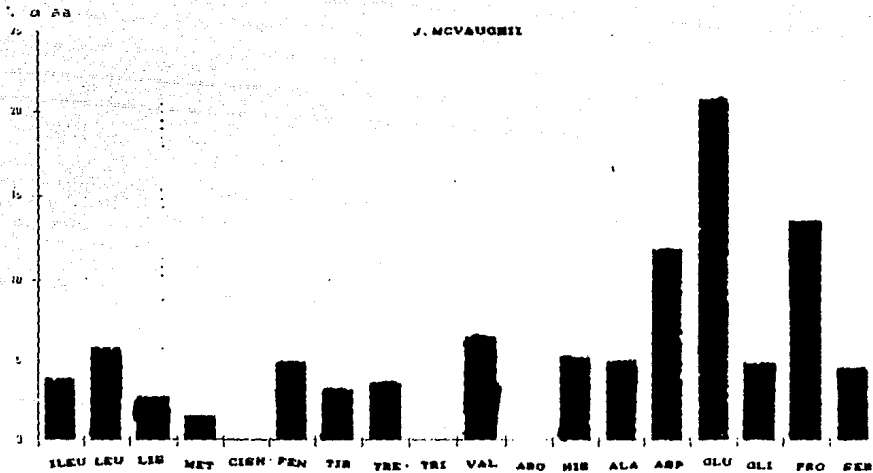


Chart 1

AMINOACIDOS

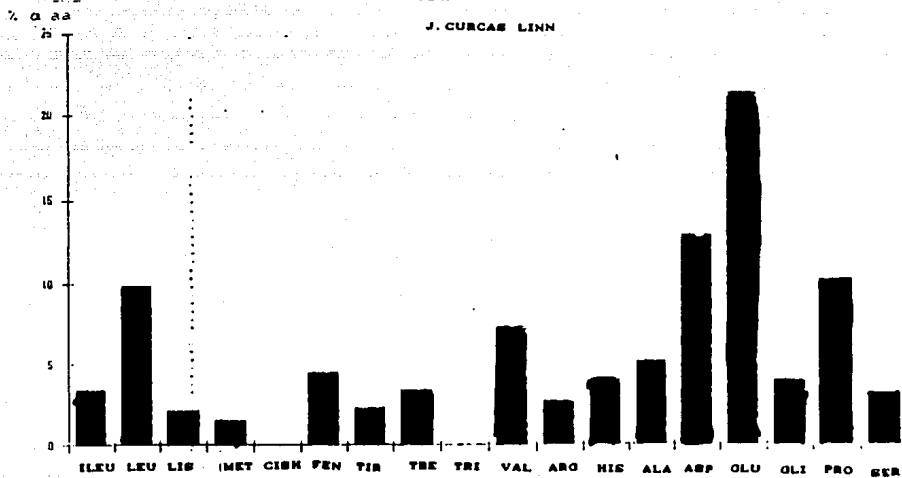
J. McVAUGHN



α AMINOACIDOS

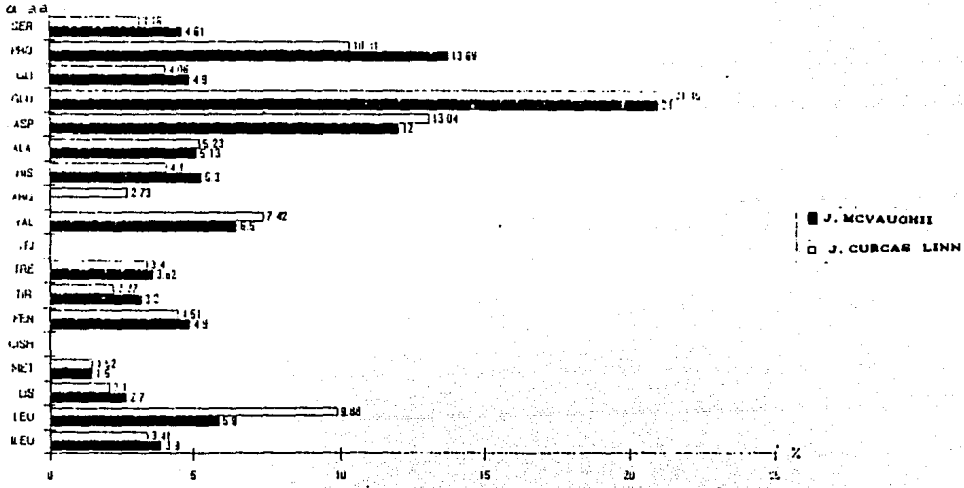
AMINOACIDOS

J. CURCAB LINN



a AMINOACIDOS

AMINOACIDOS



TRABAJO DE INVESTIGACION DE LA COMISIÓN NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
 DE LA MARINA DE GUERRA DE LAS FUERZAS ARMADAS ARGENTINAS

	LEU	LEU	LIS	NET	CASH	FEN	IR	IRE	ISI	VAL	ARG	HIS	ALA	APP	GLU	INA	PFO	SEP	
* URSOLI	3.42	3.87	7.13	2.93	3.01	1.93	4.74	3.3-	3.82	4.93	12.96	22.62	4.83	3.75	20.79	6.22	3.06	4.63	
* ALGODON	5.17	3.57	6.62	4.72	1.82	1.66	5.85	6.33	3.74	4.94	11.98	2.79	4.45	10.12	21	4.69	3.33	4.56	
* ANARANTO	3.13	4.11	6.09	5.73	2.03		4.18	3.63	3.99	4.56	6.57	2.66	3.94	3.3	17.77	10.37	4.16	3.76	
* COCO	1.23	4.17	7.19	3.75	2.05	1.29	4.84	2.05	3.12	5.79	14.05	2.18	4.77	9.44	20.81	4.79	1.79	5.42	
* GIRASOL	7.5	4.47	6.66	3.87	2.56	1.84	5.08	2.71	3.22	5.37	9.63	7.71	4.69	9.8	21.35	6.96	4.44	4.3	
* MAIZ	1.52	3.77	12.54	2.74	13.98	1.53	5	3.5	3.66	0.72	4.37	4.29	2.78	3.73	7.26	10.43	3.76	3.17	3.1
* NUEZ	2.94	3.95	13.1	3.95	3.43		13.45		6.86	2.56	11.23	31.39	4.98						
* SOYA	3.96	4.63	7.32	6.08	1.42	1.63	5.01	3.79	4.27	6.23	7.09	2.54	4.64	11.61	18.52	4.46	5.61	5.67	
** J. MOYAHUHI PINON TROPICAL	9.428	3.3	5.9	2.7	1.5		4.9	3.2	3.62	9.5		5.3	5.13	12	21	4.8	13.62	4.81	
** J. CURCAS LINA PINONCILLO	9.25	3.41	9.98	2.1	1.52		4.51	2.27	3.4	7.42	2.73	4.1	5.23	13.04	21.45	4.06	10.31	3.15	

* DATOS DESCRITOS EN LA LITERATURA (29)

** RESULTADOS EXPERIMENTALES

3.) Comparación de los resultados obtenidos con los descritos para otras oleaginosas de uso comercial.

Para analizar en forma relativa los resultados obtenidos en su conjunto, se comparan a continuación con los obtenidos experimentalmente en ambas semillas, y con los de la literatura, para semillas de uso comercial y de interés para la industria alimentaria.

Tabla VI Características de diferentes aceites comerciales.

	% en grasa	I.S.	I.I.	densidad.
Algodón (a)	18-20	189-198	103-115	0.913-0.930
cacahuatera)	40-50	188-196	84-100	0.911-0.914
cartamo (a)	24-36	183-186	130-160	0.923-0.928
coco (a)	63-70	250-264	7.5-10.5	0.917-0.919
girasol (a)	22-32	188-194	125-136	0.920-0.926
maiz (a)	50	187-193	103-130	0.920-0.928
Oliva (a)	25-28	181-189	82-87	0.918-0.919
soya (a)	11-25	189-195	120-141	0.922-0.927
<i>J. mcvaughii</i>	58.54	214.03	90.29	0.9235
<i>PIÑON TROPICAL</i> (*)				
<i>J. curcas</i> Linn	54	198.36	92.05	0.9104
<i>PIÑONCILLO</i> (*)				

(a) Datos descritos en la literatura. (27,28)

(*) resultados experimentales.

Tabla VII Composición de los Ácidos grasos presentes en diferentes aceites

	acs. saturados	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
	%	%	%	%
• algodón	17-31	17-37	44-55	0-0.6
• cacahuete	16-26	30-58	21-37	0-0.5
• cartamo	5-7	16-23	69-73	0-0.3
• coco	86-91	6-8	0.9-2.0	0.1
• girasol	7-14.2	14.1-43.1	44.2-75.4	--
• maíz	9-15	25-37	50-55	0.1-0.
• oliva	11.21-21.0	64.6-72.8	7.5-15	--
• soya	14.0	23.0	55.0	8.0
• ajonjolí	12.0	47.0	40.0	0-1.0
•• <i>J. mevaughii</i>	18.10	38.67	42.53	
PINON TROPICAL				
•• <i>J. curcas</i> Linn	18.68	31.90	39.08	
PINONCILLO				

•• Resultados Experimentales.

* Datos descritos en la literatura. (27, 28)

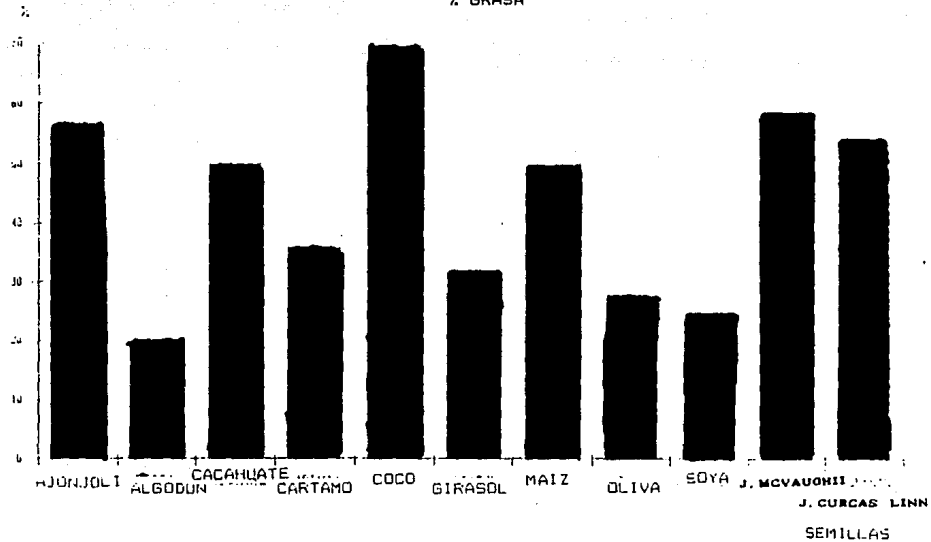
COMPOSICION DE LA GRASA DE DIVERSAS SEMILLAS.

	% G5184	AG SAT.	C18:1	C18:2	C19:3
* AMANOLI	57	12.4	45.3	41.2	1.1
* ALGODON	20	17.31	17.37	44.55	0.06
* CACAHUATE	50	16.26	30.56	21.37	0.05
* CARTAMO	36	5.7	16.23	66.63	0.03
* COCO	70	86.91	6.8	0.9-2.0	0.1
* GIRASOL	32	7.14.2	14.1-43.1	44.2-75.5	
* MAIZ	50	9.15	25.37	50.55	0.1-0.6
* OLIVA	28	11.21-21.0	64.6-70.8	7.5-15	
* SOYA	25	14	23	55	8
** J. MONTAÑOS	55.54	18.1	38.67	42.53	
** L. GARCIA L.	54	20.61	35.39	43.35	0.65

* DATOS DESCritos EN LA LITERATURA (27,28)

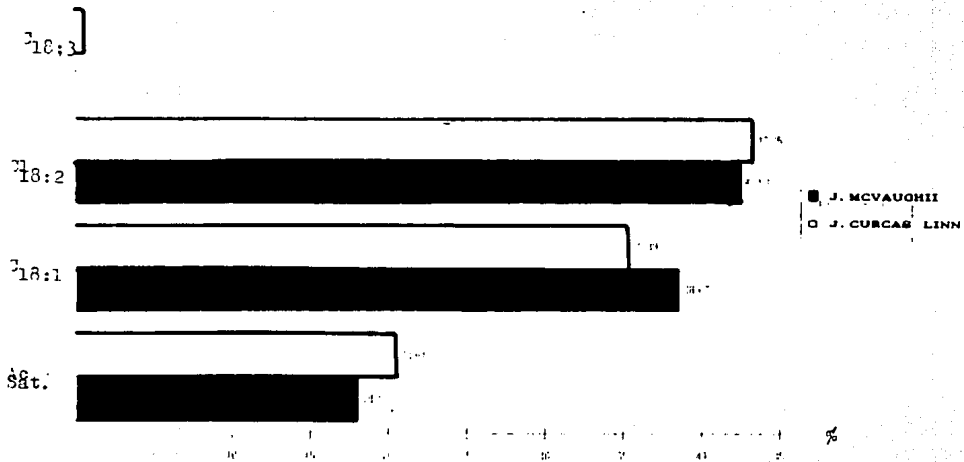
** RESULTADOS EXPERIMENTALES

% GRASA



% DE ACIDOS GRASOS

Ac: Grasos



4.-) Análisis Toxicológico.

Además del estudio químico de las semillas de *Jatropha mcvaughii* y *Jatropha curcas Linn.*, se realizó en el departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la UNAM; un estudio relacionado con las reacciones adversas o tóxicas asociadas a la administración única y repetida de ambas semillas. éstas pruebas se efectúan utilizando dos especies de animales, administrando la semilla entera inicialmente y posteriormente, distintos fragmentos de la misma: cáscara, núcleo, cáscara molida y desengrasada, núcleo molido, núcleo molido y desengrasado, etc.

Con el propósito de establecer los efectos indeseables o benéficos con una dieta a base de *Jatropha mcvaughii* y de *Jatropha curcas Linn.*, se llevaron a cabo dos tipos de estudio, uno animales en desarrollo y otro con animales adultos. En ambos casos las semillas de las *Jatrophas* sustituyeron por completo el alimento habitual de los animales en cautiverio.

Inicialmente para la prueba de toxicidad se utilizó el fruto de la semilla descascarada. En estas condiciones una vez que las semillas son reducidas a polvo este es suspendido en diferentes cantidades (300-3000 mg. en 10 ml. de metil celulosa al 0.2 % p/v) administrándose por medio de una sonda gástrica a diferentes dosis de semilla a un volumen fijo de 10 ml/Kg de peso.

En las pruebas iniciales se utilizaron ratones macho de la cepa Taconic con un peso de 20 a 30 gramos, son divididos en lotes de dos animales y mantenidos en condiciones de agua y alimento *ad-libitum* con un regimen de luz oscuridad de 12 * 12 por lo menos 24 horas antes de la administración de la semilla. Esta es administrada por vía oral a diferentes dosis (300, 547.8, 1000, 1732 y 3000 mg/Kg.). Inmediatamente después de la administración fueron observados durante 24 horas para registrar el número de muertes, en vista de que con las diferentes dosis de prueba, en ambas semillas no se observaron muertes, se procedió a administrar ambas semillas a las mismas dosis a diferentes lotes de ratones (6 por lote) diariamente durante 15 días por vía oral. En estas condiciones el número de muertes fué semejante en ambas semillas (al rededor del 20 %) estas muertes son probablemente debidas a asfixia por broncoaspiración por la elaboración de preparados altamente concentrados de semilla, ya que esto se observo en los lotes de animales que recibieron las dosis más altas.

En un segundo grupo de experimentación se utilizan ratas macho cepa Wistar con un peso de 170 a 220 gramos, las ratas son divididas en lotes de dos y se administraron las mismas dosis descritas anteriormente utilizando el mismo vehiculo, a razón de 10ml/kg. de peso del animal en cuestión. Al igual que en los experimentos anteriores se realizó la administración aguda (dos animales por dosis) y cronica (seis animales por dosis administrada cada 24 horas, durante 15 días). Simultaneamente a la

administración de la semilla se realizó un control en el que se administró cacahuete a dosis semejantes .

Los resultados señalan que ni las semillas de *Jatropha* ni las de cacahuete producían la muerte, a excepción de las dosis mayores en donde la muerte fué semejante en los tres casos (al rededor del 20 %).

Pensando en que la cáscara debía ser la parte tóxica de las semillas esta se administró a ratas en las mismas condiciones de las pruebas anteriores solo que las dosis son menores (300, 547.8 y 1000 mg/Kg.). No observándose diferencia entre las dos cáscaras probadas, no observándose muertes aun con las dosis mayores.

Con estos resultados se procedió a probar los extractos alcohólicos del fruto de la semilla, en forma aguda por vía oral en ratas macho cepa Wistar (dos por dosis de 293 mg/Kg.) los resultados son negativos no observándose muerte en ninguno de los dos casos.

Por último se trató de probar la toxicidad del aceite obtenido de las semillas totales de ambas *Jatrophas*, se utilizarón ratas macho de la cepa Wistar, se dividieron en lotes de dos por jaula y se mantuvieron con comida y agua *ad-libitum* 24 horas antes de la administración del aceite. El aceite se administra durante cinco días por la vía oral o por la vía inta muscular a un volumen

de 10 ml/Kg. cada 24 horas. Observandose un ligero aumento en peso del animal.

Al término del estudio los animales fueron sacrificados y se llevó a cabo un examen macroscópico de los órganos primarios y estudios histológicos del intestino, hígado y riñón.

Los resultados de este último estudio no muestran alteraciones en los tejidos de intestino, hígado y riñón de los animales sacrificados después de 20 días de la administración.

Conclusiones

1.- En relación al contenido de aceite (58.54 %) y proteína (59.18 %) la semilla de *J. mcvaughii*, resulta una semilla atractiva para ser estudiada con vistas de su explotación a nivel comercial e industrial.

2.- En comparación con fuentes de uso comercial (tabla VI) e industrial el contenido en aceite en la semilla de *Jatropha mcvaughii* PINON TROPICAL resulta satisfactorio, aunque desde luego faltan por estudiarse muchos aspectos de su rendimiento bajo cultivo.

3.- La composición en ácidos grasos del aceite de *Jatropha mcvaughii*, PINON TROPICAL es similar a composiciones de aceites como: girasol, cártamo, soya y maíz (tabla VII), no así en su contenido en aceite, el cual varía de acuerdo a las semillas a que se hace referencia, ya que depende de diversos factores (fertilización, formas de cultivo, etc.) que influyen en el proceso de producción del aceite en cuestión.

4.-La harina desengrasada de la que el 59.58 % lo constituyen proteínas, constituidas por una amplia gama de aminoácidos esenciales y no esenciales (tabla VIII), puede ser utilizada como alimento o complemento alimenticio para humanos y animales.

5.-Las semillas de *Jatropha* tanto la curcas descrita en la literatura como la *mcvaughii*, PINON TROPICAL no son tóxicas.

6.-Será conveniente en el futuro estudiar si es factible domesticar esta planta silvestre y estudiar su rendimiento por hectarea, costos y la forma más adecuada de cultivo para determinar en forma definitiva si será una materia prima rentable para uso comercial.

Por lo antes expuesto la semilla de *Jatropha mcvaughii*, PINON TROPICAL, constituye una fuente potencial de aceite y proteína para uso comercial y/o industrial, aunado al hecho de que esta planta crece aun en terrenos rocosos y en lomerios, próximos a la orilla del mar, en zonas de baja humedad en el terreno, por lo que además no competiría por el uso de terrenos planos, dedicados a otros cultivos.

En forma adicional a diferencia de otros cultivos, este arbusto es perene, lo que hace una marcada diferencia con las oleaginosas fuentes convencionales de aceites comestibles, que se cultivan y se cortan por completo en cada ciclo agrícola.

Bibliografía

- 1.-Stirpe Fiorenzo, et al. Biochem.J. 156 (1-6) 1976
- 2.-Adam, S.E.I. Toxicology 2 (67-76) 1974
- 3.-Adam, S.E.I. Maqzoub M. Toxicology 4 (347-354) 1975
- 4.-Ahmed, O.M.M. Adam, S.E.I. Research in Veterinary Science 27 (89-96) 1979
- 5.-Mourgue, M. Delphaut, R. Baret y Kassab, R. Bull.Soc.Chim.Biol. 43 # 4 (517-531) 1961
- 6.-Hufford Charles D, Oguntimein Babajide O. Llogdia 41 # 2 (161-165)
- 7.-Deghan Bijan and Webster Grady L. MadroMo 25 (30-39) 1978
- 8.-Khafagy, S.M. et al Planta Médica 31 (274-277) 1977
- 9.-Franzke Cl. et al Fette Seifen Anstrichmittel 10 (639-642) 1971
- 10.-Siddiqui, I.A. Subbaram, M.R. Journal of the oil Technologists Association of India (8-9) enero-marzo 1973
- 11.-Kabele Ngiefu C. Paquot C. Vieux A. Oleagineux 32#12 (335-337) 1977
- 12.-Narayana C. et al The oil and oilseeds Journal noviembre (4-6) 1969.

- 13.-Neelakantan S.Manimegalai G. The Madras Agricultural Journal 64 #6 (419-420) 1977
- 14.-Mitra,C.R.Bhatnagar,S.C.Sinha,M.K. Short communications 1047 (1970)
- 15.-Mirsa,P.S.Progress in Plant Research-NBRI Silver Jubilee 2 (203-211)
- 16.-Mitra,C.R.Mirsa,P.S. J. Agr.Food Chem. 15 # 4 (697-700) 1967
- 17.-Cardenas Degoya M. Tesis E.N.A. Chapingo 1948
- 18.-Mirsa,P.S.Mitra,C.R. J.Agr.Food.Chem. 16 # 4 (701-703) 1968
- 19.-Upadhyya,G.S.Narayanaswamy,G.Karta,A.R.S. Indian J.Agr.Sci. 44 # 9 (620-622) 1974
- 20.-Upadhyya,G.S.Narayanaswamy,G.Karta,A.R.S.Indian J.Agr.Sci 44 # 12 (884-887) 1974
- 21.-Metcalf,L.D.Schmitz,A.A.Pelka,J.R. Analytical Chemistry 38 # 3 (514-515)
- 22.-Metcalf,L.D.Schmitz,A.A. Analytical Chemitry 33 #3 (363-364) 1961
- 23.-Lough,A.K. Biochem J. 90 (4C-5C) 1964
- 24.-Hoshi Motonori et al.Journal of Lipid Research 14 (599-601) 1973
- 25.-S.N.Koley,D.Battacharrya,A.Saha.Industie Chemieque Belge 34 # 4 (301-302) 1969
- 26.-Association of Official Agricultural Chemists 1980
- 27.-V.C.Mehlenbacher. Analisis de Grasas y Aceites

Enciclopedia de la Industria Química tomo 6 Ed.Urmo 1979

28.-H.G.Kirschenbauer. Grasas y Aceites Química y Tecnología
Reinhold Publishing Cor.N.Y.1964

29.-Aminoacid content of foods and biological data on
proteins.Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y
la Alimentación. Roma 1970.

INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
LA BARRIOBLANCO
NO SE PUEDE REPRODUCIR