UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES

ESTUDIO QUIMICO DE LA SEMILLA DE JATROPHA CURCAS

TESIS

Que para obtener el Título de

QUIMICO - FARMACEUTICO - BIOLOGO

Presenta

Leticia M. Cano Asseleih

1 9 7 8

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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 esta 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.

Mt-774

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: PROFR. IGNACIO DIEZ DE URDANIVIA.
1° VOCAL: PROFRA. ANGELA SOTELO LOPEZ.
2° VOCAL: PROFRA. MA. TERESA REGUERO REZA.
1° SUPLENTE: PROFRA. BEATRIZ MEDINA JIMENEZ.
2° SUPLENTE: PROFRA. IRMA CASTAÑEDA DEL RIO.

Sitio donde se desarrolló el tema:

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES SOBRE RECURSOS BIOTICOS, A.C.
XALAPA, VERACRUZ.

Sustentante: LETICIA M. CANO ASSELEIH.

Asesor del tema: PROFRA. MA. TERESA REGUERO REZA.

A G R A D E C I M I E N T O S

Al Instituto de Investigaciones sobre Recursos Bióticos, A.C. por haberme brindado la oportunidad de realizar este estudio.

Al Departamento de Bromatología y Productos Naturales de la División de Estudios Superiores de la Facultad de Química de la U N A M, sin cuya ayuda en el desarrollo técnico de este trabajo, no hubiera sido posible concluírlo.

Agradezco a la Profra. Teresa Reguero Reza, por su confianza en mí.

Agradezco al Ing. Enrique Pardo Tejeda, a la Profra. Beatríz Medina, a la Profra. Angela Sotelo, al Dr. Renato Aguirre, a la Quím. Guadalupe Magaña, al Biól. Celso Hernández A., a la Srita. M. Esther León G., y a otras muchas personas que de una u otra manera contribuyeron para el desarrollo de este trabajo.

Agradezco a mis padres y hermanos, porque su estímulo me sirvió de apoyo en todo momento.

Por último agradezco al pueblo de México por haberme dado la oportunidad de cursar una carrera universitaria gratuitamente y por cuya superación continuaré preparándome.

C O N T E N I D O:

I.- OBJETIVO.

II.- INTRODUCCION.

III.- PARTE EXPERIMENTAL.

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION.

V.- CONCLUSIONES.

VI.- RECOMENDACIONES.

VII.- BIBLIOGRAFIA.

I. OBJETIVOS

Uno de los problemas derivados de la explosión demográfica en nuestro país, es el de encontrar soluciones al déficit de producción alimentaria, el cual está ligado íntimamente con el aprovechamiento racional y conservación de nuestros recursos naturales. Aún cuando existe en México una vasta zona tropical en la cual se localizan numerosas especies vegetales y algunas de éstas son aprovechadas localmente para diversos usos, muy poco se sabe sobre su composición química, siendo escasas las plantas del trópico del país de las que se tiene un conocimiento detallado de sus constituyentes químicos y la importancia que éstos revisten.

La *Jatropha curcas* o piñoncillo, nombre común con el que es conocida esta planta, es un arbusto nativo de América tropical y muy abundante en el Estado de Veracruz. Se emplea comúnmente para instalar cercas vivas por lo que es frecuente encontrarlo en los límites de los terrenos. Este arbusto es empleado en forma restringida y local para diversos usos y a pesar de que en estas localidades es conocido como un recurso cotidiano,no existe un trabajo científico que respalde alguno de los usos que actualmente se le da a esta especie.

Estos hechos han motivado a reconsiderar este arbusto como un tema interesante de estudio que podría enriquecer el conocimiento de nuestros recursos y su aplicación en una escala comercial. Sin embargo, un estudio de esta naturaleza requiere el concurso multidisciplinario, y puesto que una de las partes más empleada de esta planta, de acuerdo a las observaciones que hemos realizado, es el uso alimenticio de su semilla, nos ha parecido importante dirigir nuestra atención a ella, por lo que el trabajo que aquí se presenta está enfocado al conocimiento de los constituyentes químicos primarios de esta semilla que están relacionados muy estrechamente con la nutrición, citando además algunas referencias bibliográficas enfocadas a los aspectos botánicos y ecológicos de esta especie.

II. INTRODUCCION.

DESCRPCION BOTANICA

Jatropha curcas L. pertenece a la familia Euphorbiaceae. Es conocida en México con los nombres comúnes de piñoncillo, piñón purgante, cuipuy, zikil-te, sangregado, cuauhauohuachtli y almendra de calabaza arbórea.

Es un arbusto caducifolio de 4 a 6 m de altura. El tronco alcanza un diámetro de 14 a 18 cm. Los arbustos adultos presentan una corona de ramas muy redondeada y extendida, en los jóvenes ésta es irregular. Un látex blanquecino de sabor amargo y olor a hierba fresca emana del tallo al cortarse. La corteza externa del tallo es lisa, escamosa y muy delgada, de color pardo claro y con pequeñas lenticelas. La corteza interna es lisa, verrugosa, sin sabor y de color verde oscuro.

Presenta hojas alternas pentalobuladas delgadas y glabras. La superficie superior es de color verde claro, con los nervios mediales y secundarios de color amarillo y ligeramente hundidos. La superficie inferior es de color verde opaco con los nervios mediales muy pronunciados.

Es un arbusto polígamo con flores hermafroditas y flores masculinas. Las estructuras florales masculinas de la flor perfecta maduran antes que las femeninas, y el polen es difundido antes que el estigma esté en condiciones receptivas, propiciando así una polinización cruzada, no existiendo la autofecundación.

El fruto es una drupa oval, que cambia del verde al amarillo conforme madura. Mide de 4 a 5 cm de largo y de 3 a 4 cm de ancho. De sabor amargo. Contiene tres semillas ovoides de color negro mate. Las semillas, convexas en la parte dorsal y tectiforme en la ventral, tienen algunas líneas amarillentas. En uno de sus extremos presenta una línea blanquecina indicando la porción donde asentaba la carúncula. Contiene un grueso endospermo y un embrión con sus dos cotiledones foliáceos de color blanco crema (fig. 1). (1)

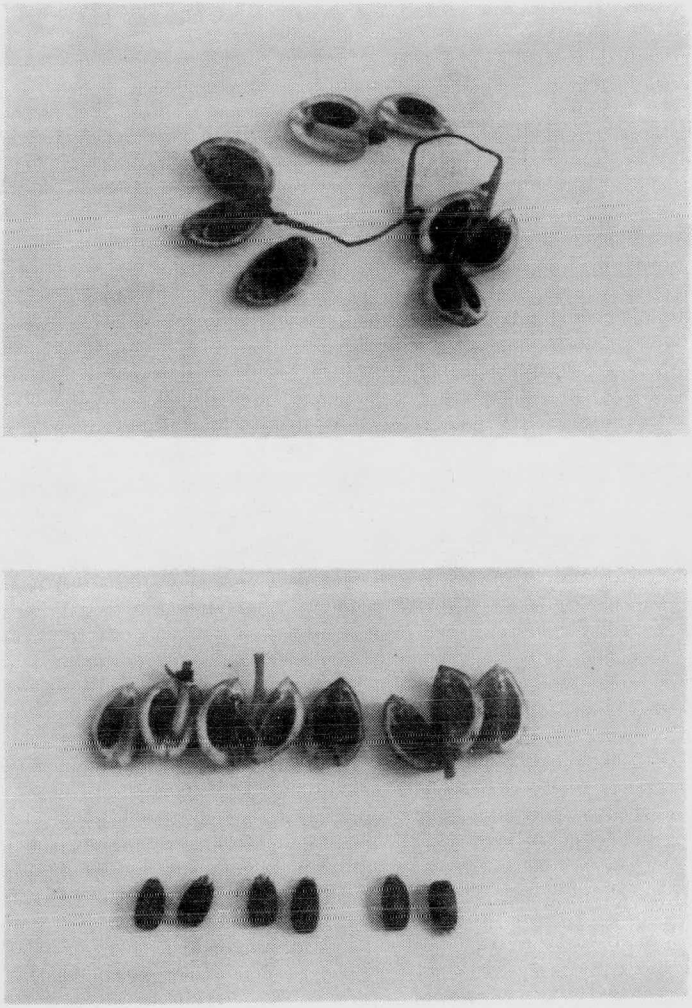


Fig. 1. Frutos maduros de *Jatropha curcas* conteniendo la semilla negro mate característica de esta especie.

HABITAT

Se localiza desde los 10 m hasta los 1350 m s.n.m. en climas cálido húmedo y semicálido húmedo, soporta temperaturas medias anuales de 19 a 26°C, presentándose en lugares cuya temperatura media mensual del mes más frío está sobre 19°C, y la temperatura media mensual del mes más caliente sobre 28°C. (1)

DISTRIBUCION

Se distribuye en la República Mexicana a lo largo de la vertiente del Golfo, desde Tamaulipas y el norte de San Luis Potosí, pasando por los Estados de Hidalgo, Puebla, Veracruz, hasta el norte de Chiapas. En la vertiente del Pacífico se encuentra en la Sierra Madre del Sur, Oaxaca, y en la Sierra del Soconusco, Chiapas. También se localiza en los Estados de Tabasco, Yucatán, Michoacán, Sonora y Guerrero.

En el Estado de Veracruz se distribuye en los siguientes Municipios: Pánuco, Papantla, Nautla, Tecolutla, Vega de la Torre, Juchique de Ferrer, Colipa, Yecuatla, Misantla, Martínez de la Torre, San Rafael, Actopan, El Carrizal, Alvarado, Santiago Tuxtla, Tuxpan. (1)

USOS

Los arbustos se utilizan frecuentemente como cercas vivas y como fijadores de dunas móviles cercanas a las playas. El látex que emana de los tallos es utilizado en algunas zonas para curar infecciones bucales en los niños.

Las semillas maduras y tostadas se usan como alimento, y su sabor es semejante al de la pepita de calabaza. Se comen preparándolas en jamoncillo, y como condimento de ciertos platillos regionales como mole, tamales y otros.

Cuando la semilla es ingerida verde o madura sin el proceso de tostado, produce en muchos casos efectos laxantes, vómito, náuseas, diarrea, - síntomas que se agudizan en los niños (2) (comunicación personal). Se han reportado algunos casos en que la ingestión de sólo tres semillas ha producido síntomas tóxicos, mientras que en otros, el consumo hasta de 50 semillas, ha provocado transtornos muy leves (3). West (4) en sus experiencias de casos - en Florida, indica que hay dos variedades de esta especie, una con semillas tóxicas y otra con semillas no venenosas. Sin embargo, en el estudio taxonómico reciente hecho por Hernández (1) se habla de una sola variedad y se infiere una posible confusión debido a un error repetitivo que ha aparecido desde el siglo pasado al confundir a *Jatropha curcas* con *García nutans*, una planta tóxica.

CONSTITUYENTES QUIMICOS DE LA SEMILLA

El componente principal es el aceite que llega a constituir hasta el 52% de la semilla. Ha sido investigado profusamente en el pasado conociéndose muchas de sus características fisicoquímicas así como su composición en ácidos grasos (5) (6) (7) (8) (9).

La proteína es el segundo componente en proporción encontrado en la semilla, que le da un gran valor desde el punto de vista nutricional. Los estudios sobre la calidad de la proteína son limitados (10) (11) (12). La pasta resultante de la extracción del aceite, rica en proteínas, ha sido utilizada como una fuente alternativa de la proteína de soya en los medios de fermentación microbiológica para la obtención de estreptomicina (12).

Se ha detectado la presencia de alcaloides pero éstos no han sido caracterizados (13). No contiene sapogeninas esteroidales (15). Está constituída en mínimas cantidades por β-sitosterol, el cual se encuentra esterificado a una molécula de glucosa; azúcares del tipo sacarosa (dímero de glucosa y -- fructosa) y dulcitol, y una resina de composición desconocida (12) (16).

FARMACOLOGIA DE LA SEMILLA

La proteína es el único constituyente químico de la semilla del que se han efectuado estudios farmacológicos. Bose y colaboradores (14) demostraron la presencia de dos principios antagonistas en la fracción protéica afectando el tiempo de protrombina en pruebas hechas in vitro. También comprobaron que el extracto acuoso de la cáscara produce una acción depresora máxima de los sistemas cardiovascular y respiratorio en perros, mientras que es estimulante del músculo liso del intestino, de lo que "esta última acción puede ser parcialmente responsable de la acción purgante de la droga".

Mediante curvas de solubilidad se observó la presencia de dos toxalbúminas que causan el 100% de mortalidad en ratones a los nueve días del suministro por vía intraperitonial de 1600 γ (17).

Hasta ahora no se ha encontrado ningún trabajo que compruebe la aparición de efectos farmacológicos producidos por el aceite. Jumin (16) describe que las propiedades fisiológicas de la semilla no son debidas a la naturaleza del aceite ya que no está presente ningún ácido activo como ricinoleico en el aceite de ricino, y reporta la existencia de un material resinoso con un marcado efecto purgante, agarroso y nauseabundo.

III. PARTE EXPERIMENTAL.

MATERIAL

En este estudio se usó la semilla madura de *Jatropha curcas* colectada en el mes de Agosto de 1976, en la localidad de Santa Cruz Hidalgo y el Pozón, Municipio de Misantla, Estado de Veracruz. El peso promedio de la semilla es de 0.8776 g, el peso promedio del endospermo (parte comestible) es de 0.573 g.(Ejemplar de herbario, C. Hernández. 250. INIREB).

Todas las semillas se encontraron en buen estado por lo que no hubo necesidad de efectuar un proceso de selección. Las semillas se pelaron y se molieron en un mortero de porcelana obteniéndose una pasta grasosa que se utilizó para hacer las determinaciones siguientes: humedad, cenizas, fibra cruda, proteína cruda, grasa cruda, sodio, potasio, calcio, magnesio, fósforo y contenido de aminoácidos.

METODOS

La humedad se determinó de la siguiente manera (18): en un cristalizador tarado previamente a 60°C se pesaron 50 g de semillas peladas sin moler, manteniéndolas a esa temperatura durante tres días al cabo de los cuales se colocó el cristalizador en un desecador a que adquiriera la temperatura ambiente y se pesó. Se repitió la operación hasta obtener peso constante. La diferencia de peso en la muestra da directamente el contenido de humedad, calculando el porcentaje con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \frac{(A - B) \times 100}{C}$$

donde A es el peso del cristalizador más la muestra humeda, B es el peso del cristalizador más la muestra seca, y C es el peso de la muestra.

El contenido de cenizas (18) se obtuvo pesando 2 g de semilla seca y colocándola en un crisol de porcelana tarado, en el que se precalcinó la muestra con mechero adicionando 5 ml de H_2SO_4 en etanol al 5 %

y encendiendo con la punta de una pipeta que contenía un poco de alcohol para evitar la contaminación por cationes al encender con cerillo ya que estas cenizas se utilizan después en la determinación de sodio, potasio, calcio y magnesio.

Terminada la combustión se colocó el crisol en la mufla a 550°C durante 5 a 7 hrs. hasta que las cenizas tomaron un color gris claro uniforme. Entonces se puso el crisol en un desecador y a la media hora se pesó. La siguiente fórmula expresa el porciento de cenizas en la muestra.

$$\% \text{ cenizas} = \frac{(A - B) \times 100}{C}$$

donde A es el peso del crisol más la muestra calcinada, B es el peso del crisol a peso constante y C el peso de la muestra.

En la determinación de fibra cruda (18) se pesaron 2 g de material seco, se extrajeron con éter etílico y se transfirió el residuo a un matraz erlemeyer de 1 l,al que se adaptó un refrigerante. Se adicionaron 200 ml de H_2SO_4 al 1.25% (P/V), e inmediatamente se conectó el refrigerante y se calentó. Es esencial que el contenido del matraz empiece a hervir en un minuto. Se dejó hirviendo durante 30 min. Se agitó el matraz aproximadamente cada 5 min. Al final de los 30 min. se filtró en un Buchner a través de una tela de algodón y se lavó con agua hirviendo hasta que el agua de lavado no dió reacción ácida. Se regresó el residuo al matraz agregando 200 ml de solución de NaOH al 1.25% (P/V) hirviendo, manteniéndose a ebullición exactamente por 30 min. Al final de este tiempo se filtró inmediatamente, lavando con agua hirviendo y por último con alcohol de 95%. Se transfirió el residuo a un crisol y se secó a 110°C a peso constante. Entonces se pesó. Se calcinó en la mufla y se tomó el peso. La pérdida en peso corresponde a la fibra cruda.

$$\% \text{ fibra cruda} = \frac{(A - B) \times 100}{C}$$

donde A es el peso del crisol después de colocado en la estufa a 110°C, B es el peso del crisol después de calcinada la muestra, y C es el peso de la muestra.

La proteína se determinó por el método de Kjeldahl, modificado por Winkler (19). Se pesaron muestras entre 0.2 y 0.6 g de semilla y se transfirieron a un matraz de digestión Kjeldahl. Se pesaron y adicionaron 0.5 g de $CuSO_4.5H_2O$, 6 g de K_2SO_4 y 7 ml de H_2SO_4 concentrado. Se calentó la mezcla con mechero en una campana extractora agitando esporádicamente. Cuando la mezcla se aclaró y tomó un color azul verdoso, se dejó 1:30 hr. a que la digestión fuera completa. Se dejó enfriar y se agregaron piedras de ebullición y 100 ml de agua destilada, haciendo la mezcla fuertemente alcalina por adición de NaOH al 40%. Se conectó el matraz a un refrigerante para iniciar la destilación del amoniaco, recibiendo el destilado en un matraz que contenía 50 ml de ácido bórico al 4% al que se agregaron 3 gotas de solución indicadora de verde bromocresol-rojo de metilo.

El porciento de proteína cruda en la muestra se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{V\ H_2SO_4 \times N\ H_2SO_4 \times 0.014 \times 100}{C}$$

$$\% \text{ de proteína cruda} = \% \text{ de nitrógeno} \times 6.25$$

donde C es el peso de la muestra, 0.014 es el peso equivalente del nitrógeno y 6.25 es el factor de conversión de nitrógeno en proteína.

La grasa cruda se determinó utilizando extractores de Soxhlet. Se prepararon cartuchos de papel filtro conteniendo de 40 a 50 g de muestra (semilla pelada y molida), se adaptaron en los aparatos de Soxhlet y se efectuó la extracción del aceite utilizando 300 ml de éter de petróleo. Se calentaron durante dos horas a 70°C. El matraz que contenía el disolvente se pesó antes de efectuar la extracción. Una vez que la extracción fue total, se evaporó el disolvente y se colocó el matraz en una estufa

de vacío a 70°C durante dos horas. Al cabo de este tiempo, se puso en un desecador a que adquiriera la temperatura ambiente y entonces se pesó. El contenido de grasa cruda se obtuvo sustituyendo los valores en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de grasa cruda} = \frac{(A - B) \times 100}{C}$$

donde A es el peso del matraz con aceite, B es el peso del matraz y C es el peso de la muestra.

El cálculo de la determinación de carbohidratos solubles es el resultado de la diferencia a 100 de la suma de los porcientos obtenidos de humedad, cenizas, fibra cruda, proteína cruda y grasa cruda.

En la determinación de minerales se hizo el análisis de 5 elementos: sodio, potasio, calcio, magnesio y fósforo. Las cenizas obtenidas en la determinación anterior se trataron con 2.5 ml de HCl aproximadamente 3N, calentando de 8 a 10 min. a 80°C. La solución anterior se filtró sobre un matraz volumétrico de 50 ml, y se aforó con agua desmineralizada. Con esta solución se hizo la determinación de sodio, potasio, calcio y magnesio.

Sodio y potasio se obtuvieron haciendo las lecturas directamente en un flamómetro CORNING-EEL (20) cuya calibración se hizo utilizando como referencia soluciones patrón de 25ppm para potasio y 20ppm para sodio. Se desarrolló una curva standard para ambos en un rango de 0 a 20ppm del elemento, interpolando las lecturas obtenidas para la solución problema. Los cálculos que se hacen para obtener el porciento de sodio y potasio en la muestra son los siguientes:

$$\% \text{ de sodio} \frac{\text{Lectura en la muestra} \times \text{meq Na} \times 50 \times 100}{C \times 1000}$$

$$\% \text{ de potasio} = \frac{\text{Lectura en la muestra} \times \text{meq K} \times 50 \times 100}{C \times 1000}$$

donde C es los gramos de muestra.

Calcio y magnesio se determinaron por complejometría usando el método indirecto de Urlich (21). Para la determinación de calcio se hizo lo siguiente: a una alícuota de 5 ml de solución problema se agregaron 5 ml de trietanolamina, 3 ml de solución de NaOH-NaCN pH 12, y una gota de solución indicadora de calceína. Se tituló con solución de EDTA 0.01N hasta que la solución cambió de verde a café claro. Se agregó entonces aproximadamente 1 ml más de EDTA y se tituló el exceso con solución 0.01N de solución de calcio hasta el punto final exacto de la titulación. La siguiente fórmula expresa los miliequivalentes de calcio en la muestra:

meq calcio = ml totales de EDTA x N EDTA - ml de Ca x N Ca

En la determinación de magnesio a una alícuota de 5 ml de solución problema se añadieron 0.5 ml de solución amortiguadora de NH_4Cl-NH_4OH de pH 10, y cinco gotas de indicador negro de Eriocromo T. Se tituló habiendo un exceso de EDTA con solución de calcio y con EDTA otra vez como en la determinación de calcio. El cambio de color es de rojo vino a azul oscuro. Esta determinación mide el total de magnesio y calcio. El cálculo siguiente expresa los miliequivalentes de magnesio en la muestra:

meq magnesio = (ml EDTA totales x N EDTA - ml Ca x N Ca) - meq Ca

Fósforo se hizo por colorimetría con reactivo molibdato-vanadato, utilizando el método de Urlich (21). Primero se calcinó la muestra pesando 0.2 g y colocándola en un crisol al que se añadieron 5 ml de $Mg(OAc)_2$ 0.25N y 5 ml de agua bidestilada. Se calentó con temperatura baja y constante hasta que evaporó el agua completamente de la mezcla. Se calcinaron las muestras en la mufla a 600°C hasta que el residuo tomó un color gris uniforme. Se dejaron enfriar y se añadieron 2.5 ml de H_2SO_4 aproximadamen-

te 2N dejando que toda la ceniza estuviera en contacto con el ácido. Se añadieron 7.5 ml de agua y se dejó enfriar la solución. Una vez fría se filtró a matraces volumétricos de 50 ml. Se aforaron y en estas soluciones se realizó el análisis de fósforo.

Para la determinación colorimétrica se tomó una alícuota de 2 ml y se colocó en matraces volumétricos de 50 ml. Se diluyó el volumen a aproximadamente 25 ml y se añadieron 10 ml de reactivo de color (HNO_3-vanado-molibdato), aforando con agua bidestilada. Se mezcló perfectamente y se dejó reposando 10 min. a que desarrollara el color. Se determinó el porciento de transmisión a 440nm y se obtuvo la concentración de fósforo en la muestra por interpolación en una curva standard hecha en un rango de 0 a 20 ppm de fósforo.

En la determinación de aminoácidos (22) se pesaron 0.1 g de semilla desengrasada en un tubo de digestión al que se adicionaron 3 ml de HCN 6N. Se congeló la mezcla con un baño de hielo seco en acetona y se hizo pasar una corriente de nitrógeno en el interior del tubo. Se tapó perfectamente y se puso en el digestor a 145°C durante 4 horas. Al cabo de este tiempo, se dejó enfriar y se vació cuantitativamente a un matraz de fondo redondo lavando las paredes del tubo con agua caliente. Se evaporó a sequedad y se adicionó agua nuevamente repitiendo esta operación dos veces más, procurando que en la última quedara un residuo de 10 ml, el cual se filtró a un matraz aforado de 25 ml, lavando las paredes del matraz con agua desionizada.Se aforó a la marca y se tomó 1 ml de esta solución que se diluyó con 1 ml de amortiguador HCl-NaCl pH 1.5 en un tubo de ensaye. Se mezcló perfectamente y se inyectó 0.1 ml de esta solución en un autoanalizador TECHNICON II.

La figura 2 muestra el aminograma obtenido.

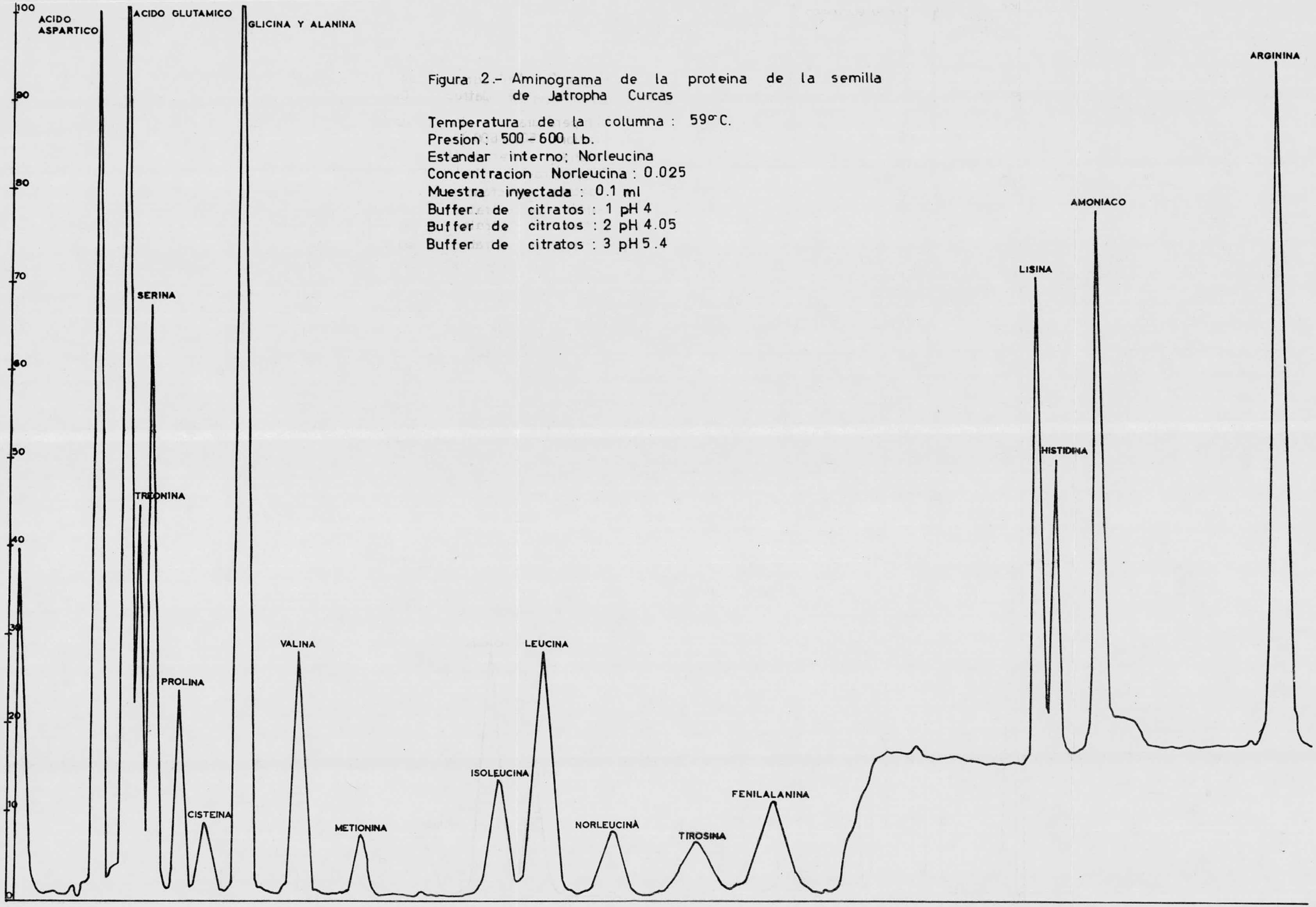


Figura 2.- Aminograma de la proteina de la semilla de Jatropha Curcas

Temperatura de la columna : 59°C.
Presion : 500 - 600 Lb.
Estandar interno; Norleucina
Concentracion Norleucina : 0.025
Muestra inyectada : 0.1 ml
Buffer de citratos : 1 pH 4
Buffer de citratos : 2 pH 4.05
Buffer de citratos : 3 pH 5.4

El estudio del aceite se hizo con una muestra extraída con éter de petróleo de la que se eliminó totalmente el éter y se filtró. Las determinaciones que se hicieron en el aceite fueron: densidad, punto de fusión, índice de refracción, índice de saponificación, índice de yodo y la composición de ácidos grasos.

La densidad del aceite se determinó por el método del picnómetro a 25/25°C (23). Se determinó el peso del agua contenida en el picnómetro empleado en la medición de la densidad de la muestra. El aceite se filtró a través de papel filtro para eliminar las últimas trazas de humedad. Se enfrió a 20 - 23°C y se llenó el frasco hasta desbordamiento evitando el embolsamiento de burbujas de aire cuando se está añadiendo la muestra. Se colocó el tapón en el frasco y se introdujo en un baño de agua manteniéndolo a 25°C durante 30 minutos. Se limpió cuidadosamente el frasco y se secó. Se pesó entonces el frasco conteniendo el aceite, y se calculó la densidad con la siguiente fórmula:

$$\text{Densidad a } 25°/25°C = \frac{\text{peso del picnómetro con aceite - peso del picnómetro}}{\text{peso del agua a } 25°C}$$

Para determinar el punto de fusión se preparó un baño con una mezcla sal-hielo produciendo una temperatura de -20°C. Con ayuda del baño se solidificó el aceite, aproximadamente 3 ml, contenido en un tubo de ensayo. Una vez solidificado el aceite, se sacó el tubo y se colocó en un baño de agua fría para que se elevara gradualmente la temperatura. Dentro del tubo con el aceite se colocó un termómetro con el que se tuvo el control de la temperatura en el seno del aceite al momento de cambiar de estado físico (24).

La lectura del índice de refracción se realizó en un refractómetro de Abbe a 25°C (18).

El índice de saponificación se obtuvo pesando una muestra (19) de 4 a 5 g de aceite en un matraz, al que se adicionaron 50 ml de potasa al-

cohólica al 4%. Al mismo tiempo se hizo la determinación de un blanco. Se hirvió a reflujo durante una hora y cuando la saponificación fue completa se enfrió un poco la solución lavando la superficie interna del refrigerante con una pequeña cantidad de agua destilada. Se adicionó 1 ml de solución de fenolftaleína, titulando esta solución con HCl 0.5N. Se calculó el índice de saponificación con la siguiente fórmula:

$$\text{Indice de saponificación} = \frac{(B - S) \times F}{C}$$

donde B son los mililitros del HCl 0.5N gastados en la titulación del blanco, S los mililitros de HCl 0.5N gastados en la titulación de la muestra, F es el producto de la normalidad del HCl y el miliequivalente de KOH igual a 28.4, y C es el peso de la muestra.

Para determinar el índice de acidez (18) se pesaron 10 g de aceite bien mezclado en un matraz. Se agregaron 50 ml de alcohol previamente neutralizado por adición de 2 ml de solución de fenolftaleína y suficiente NaOH 0.1N para producir un color rosa permanente. Se calentó a ebullición y se agitó el matraz cuidadosamente para disolver los ácidos grasos libres. Se tituló con NaOH 0.1N. El índice de acidez se expresa con la siguiente fórmula:

$$\text{Indice de acidez} = \frac{V_{NaOH} \times N_{NaOH} \times F}{C}$$

donde F es el miliequivalente de NaOH igual a 40 y C es el peso de la muestra.

En la determinación del índice de yodo (25), se pesó una muestra de 0.2 a 0.5 g de aceite y se colocó en un matraz. Se disolvió con 10 ml de cloroformo y se adicionaron 25 ml de solución de Hanus dejando en reposo en la oscuridad durante 30 min. y mezclando ocasionalmente. Se agregaron 10 ml de KI al 15% y 100 ml de agua destilada hervida y fresca, lavando con ésta las paredes del matraz y del tapón. Se pusieron unas gotas de solución de

almidón y se tituló el yodo con solución de tiosulfato de sodio 0.1N hasta que la mezcla quedó incolora. Se corrió un blanco junto con la muestra y se calculó el indice de yodo.

$$\text{Indice de yodo} = \frac{(B - S) \times N\ Na_2S_2O_3 \times F}{C}$$

donde B son los mililitros de $Na_2S_2O_3$ 0.1N requeridos para el blanco. S los mililitros de $Na_2S_2O_3$ 0.1N requeridos para la muestra, F es el miliequivalente de yodo multiplicado por 100, y C es el peso de la muestra.

La composición de los ácidos grasos presentes en el aceite se obtuvo por cromatografía de gases. Se hizo primeramente la transesterificación del aceite (26), la cual consiste en la formación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos por un proceso catalítico con potasa en metanol evitando cualquier rastro de humedad mientras ocurre la reacción. La técnica seguida emplea una solución 0.2N de KOH en metanol. Se pesó con exactitud una muestra de 5 g de aceite. Se adicionaron 25 ml de KOH 0.2N y se sometieron a calentamiento con reflujo en baño maría, durante 24 horas hasta que la muestra estuvo homogénea. Se dejó enfriar y se adicionó un volúmen igual de agua fría quedando una solución opalescente. Los ésteres metílicos formados se extrajeron con dos porciones de 25 ml de éter sulfúrico. Se reunieron los extractos etéreos y se lavaron hasta pH neutro con agua destilada.

El extracto etéreo obtenido se filtró sobre Na_2SO_4 anhidro para eliminar cualquier traza de humedad presente. El extracto etéreo se evaporó a sequedad, se colocó en una estufa a una temperatura de 50°C durante dos horas.

Los ésteres metílicos se sometieron a una cromatografía de gases en las condiciones siguientes: se inyectaron 3 microlitros de la sustancia completamente anhidra a un cromatógrafo de gases PERKIN-ELMER modelo 820, con las siguientes especificaciones: columna de acero inoxidable de 1/8

de pulgada empacada con cromosorb W-AW de 80/100 mallas, temperatura del horno 190°C, temperatura del detector 200°C, temperatura del inyector 210°C, flujo de nitrógeno 30 ml/ in, flujo del hidrógeno 28 ml /min, flujo del aire 300 ml/ in, velocidad de la carta 0.15 in/min. Se usó referencia interna de ésteres metílicos de ácidos grasos.

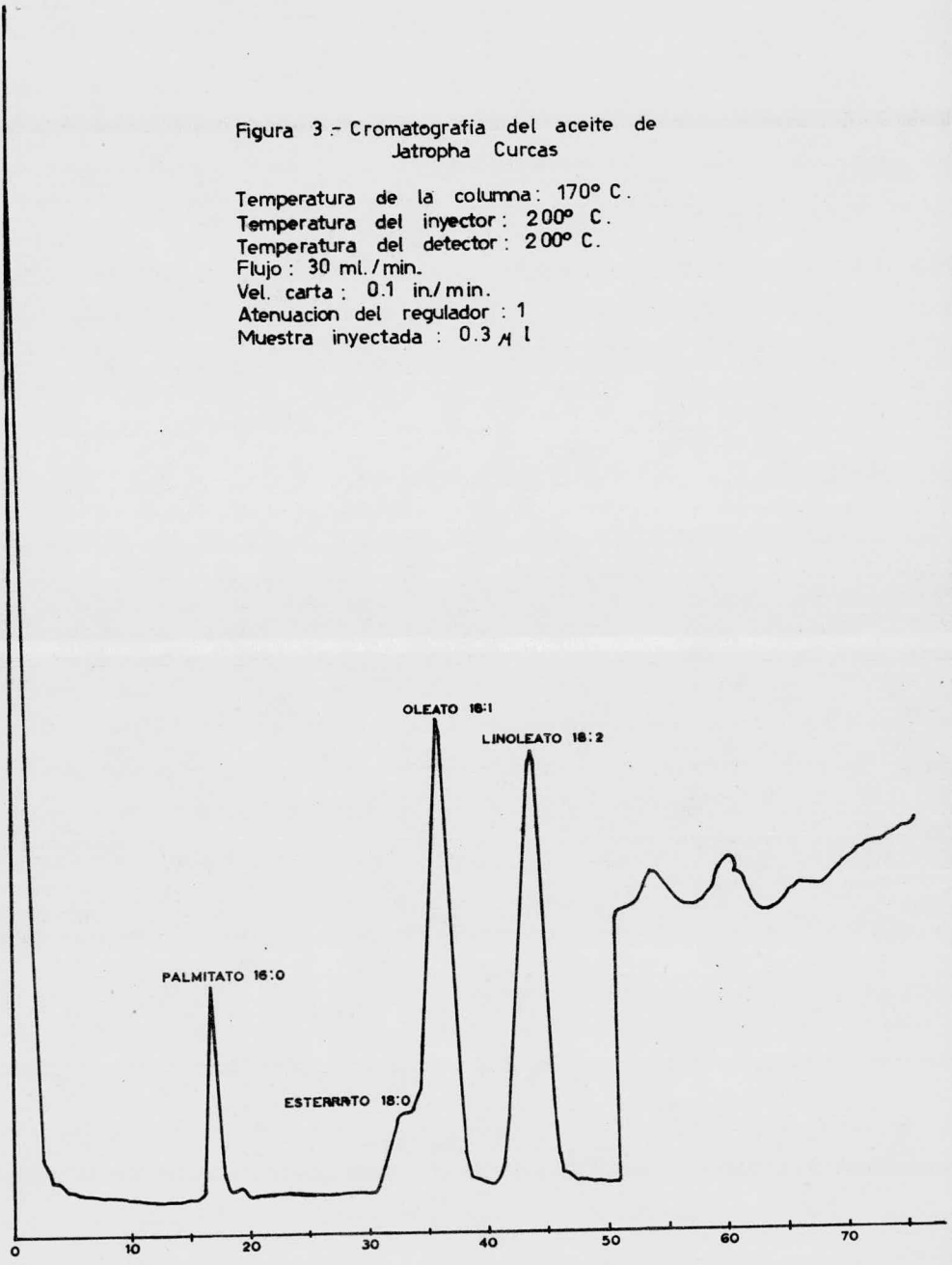
La figura 3 muestra el cromatograma obtenido para este aceite.

Se realizó un ensayo toxicológico preliminar del aceite utilizando ratones blancos, machos de 28 a 40 g de peso. Se separaron en 3 lotes de 4 ratones cada uno. El aceite filtrado sin ningún otro tratamiento fue suministrado por vía oral con ayuda de una jeringa para insulina. Se suministró una dosis por cada lote, las dosis fueron de 7, 12 y 27 mg de aceite por gramo de peso, estableciéndose la dosis menor en base a la dosis mínima purgante del aceite de ricino en el hombre, que corresponde a 40 g de aceite para un adulto de 70 K.

Durante el tiempo que duró el experimento, los ratones fueron alimentados con Purina, nombre comercial de un alimento en barras para perros. Se mantuvieron los ratones en observación constante las primeras 12 horas, y después diariamente durante un mes.

Figura 3.- Cromatografia del aceite de Jatropha Curcas

Temperatura de la columna: 170° C.
Temperatura del inyector: 200° C.
Temperatura del detector: 200° C.
Flujo: 30 ml./min.
Vel. carta: 0.1 in./min.
Atenuacion del regulador: 1
Muestra inyectada: 0.3 µl



IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Con el objeto de conocer la composición aproximada de los nutrientes de la semilla de *Jatropha curcas*, se efectuó un análisis bromatológico cuyos resultados se muestran en la tabla 1. Se puede observar que el contenido en humedad es de 4.08%, cenizas 4.98%, fibra cruda 5.12% carbohidratos solubles 8.36%, grasa 50.33% y proteína 27.13%. La elevada proporción en que se encuentran estos dos últimos componentes es comparable a la composición aproximada encontrada en otras semillas oleaginosas como la de ajonjolí (*Sesamun indicum*) calabaza (*Cucurbita pepo*) y la de girasol (*Helianthus annus*) (27).

Tabla 1.- Análisis bromatológicos de la semilla de *Jatropha curcas*.

Constituyentes químicos	Semilla de *Jatropha curcas* g/100 g de semilla
Humedad	4.08
Cenizas	4.98
Grasa cruda	50.33
Proteína cruda	27.13
Fibra cruda	5.12
Carbohidratos solubles	8.36

En base a estos resultados se calculó el valor energético teórico de esta semilla (que es la energía expresada en calorías que encierran los carbohidratos, las grasas y las proteínas en 100 g de muestra). Se consideraron los factores que aparecen en las tablas del Instituto Nacional de la Nutrición (28). Se obtuvo un valor de 570 lo que expresa un alto valor energético característico de las semillas oleaginosas.

Los minerales son también nutrientes indispensables para el hombre. Entre ellos el fósforo, calcio, magnesio, sodio y potasio son vitales y se presentan en mayor cantidad en el organismo. Particularmente el fósforo y calcio cuyos requerimientos diarios son de 1.23 g y 0.9 g, respectivamente. Con el objeto de ver el aporte de estos 5 elementos que la semilla de *Jatropha curcas* proporciona, se efectuó su análisis obteniéndose los resultados que se ilustran en la tabla 2.

Tabla 2.- Contenido de minerales en la semilla de *Jatropha curcas*.

Elemento determinado	Semilla de *Jatropha curcas*. g/100g de semilla
Fósforo	0.835
Calcio	0.560
Sodio	0.262
Potasio	0.794
Magnesio	0.060

Como se puede ver en esta tabla el contenido de fósforo en la semilla de *J. curcas* es de 0.835%, el de calcio 0.56%, sodio 0.262%, potasio 0.794% y magnesio 0.06%, observándose que el contenido de P y K son especialmente elevados. Estos resultados son similares a los encontrados para esta semilla por otros investigadores, excepto el valor obtenido para fósforo, que es mucho mayor al reportado por Soliven (8), y Sinha (28), aunque semejante al reportado por el INCAP-ICNND (27) para otras semillas oleaginosas.

El elevado contenido de proteína de esta semilla (aproximadamente del 27%) que resultó en el análisis bromatológico, nos motivó a conocer la ca-

lidad de dicha proteína por lo que se realizó el análisis de los aminoácidos en un autoanalizador y los resultados son los mostrados en la tabla 3.

Tabla 3.- Contenido de aminoácidos en la proteína de la semilla de *Jatropha curcas*.

Aminoácidos estudiados	Cromatografía de intercambio iónico (Autoanalizador). g de aminoácidos/ 100 g de proteína.
Metionina	2,2
Valina	5,9
Lisina	2,5
Isoleucina	4.2
Leucina	7.1
Histidina	2.0
Fenilalanina	4.6
Treonina	4.0
Ac. glutámico	17.4
Cisteína	1.9
Tirosina	2.8
Ac. aspártico	11.5
Prolina	5,5
Serina	6.0
Arginina	14,5
Glicina y Alanina	5.7

No se hizo el análisis de triptofano, uno de los aminoácidos esenciales más importantes, ya que éste es destruído en la hidrólisis ácida previa al desarrollo de la cromatografía. Sin embargo, como este aminoácido es necesario

para hacer la evaluación de proteína, se tomó como referencia el valor de triptofano reportado por C. Cuzzocrea y col. (12) empleando también el método de cromatografía de intercambio iónico después de la hidrólisis alcalina de la proteína.

El método que se utilizó para evaluar la calidad de la proteína consistió en medir ésta teniendo como referencia el patrón de aminoácidos del Comité Especial Mixto FAO/OMS en una publicación de 1973 (29), indicándolo preferible a la del huevo entero y la leche materna por ser menos exigente. Se consideran solamente las cantidades de lisina, aminoácidos totales que contienen azufre, metionina y cisteína y del triptofano, que son los más deficitarios en las dietas, haciendo la aclaración nuevamente que el dato de este último aminoácido fue tomado de la bibliografía. Las dosis propuestas para estos aminoácidos dadas en miligramos por gramo de proteína son: para lisina 55, metionina mas cisteína 35 y triptofano 10. Para realizar el cómputo se aplica la fórmula siguiente:

$$\text{Cómputo de aminoácidos} = \frac{\text{mg de aminoácidos en 1 g de proteína de ensayo}}{\text{mg de aminoácidos en 1 g de proteína de referencia}} \times 100$$

De acuerdo a esta idea y con los valores del contenido de aminoácidos se obtuvieron los resultados que se indican en la tabla 4, donde se comparan éstos con los del huevo, maíz, trigo, sorgo, lentejas y cacahuate.

Tabla 4.- Evaluación de la calidad de la proteína de la semilla de *Jatropha curcas* comparada con otros alimentos (en relación a los aminoácidos limitantes propuestos por FAO/OMS).

Aminoácidos Limitantes	Aminoácido limitante de la muestra / Aminoácido limitante de referencia X 100					
	Huevo	*J. curcas*	Maíz	Trigo	Sorgo	Lentejas
Lisina	100*	45	36	50	47	100*
Metionina más Cisteína	100*	89	100	100	92	44
Triptofano	100*	100	50	100*	97	85

* indica un cómputo superior a 100.

El cómputo más bajo obtenido para cada uno de los aminoácidos limitantes da el siguiente orden: 1.- Huevo, 100; 2.- Trigo, 50; 3.- Sorgo, 47; 4.- *J. curcas*, 45; 5.- Lentejas, 44; 6.- Maíz, 36. Se puede observar que la calidad de la proteína de *J. curcas* es relativamente igual a la del sorgo y las lentejas, ligeramente inferior a la del trigo, y superior a la del maíz.

Es importante hacer notar que el contenido de metionina que presenta la proteína de esta semilla de 2.2%, es alto en relación a otros granos y semillas usadas en la alimentación como el maíz, trigo, frijol, etc. Este aminoácido no sólo esencial sino limitante en la dieta humana proporciona a la semilla un gran valor desde el punto de vista nutricional.

La característica sobresaliente de la semilla de *J. curcas* fue su elevado contenido en grasas que la cataloga como una semilla oleaginosa poten-

cial. Por este motivo se extrajo el aceite y se analizó tanto en sus propiedades fisicoquímicas como en su composición de ácidos grasos, para evaluar su posible utilización como un aceite comestible.

El aceite extraído de la semilla de *Jatropha curcas* es liquido a temperatura ambiente, de color amarillo brillante y no presenta olor ni sabor peculiares. Las características fisicoquímicas resultado del análisis hecho en el laboratorio se resumen en la tabla 5, en donde se comparan con las de algunos aceites comestibles. Como se puede observar el punto de fusión que presenta este aceite de -8 a -6°C es muy bajo y lo diferencia notablemente de los aceites comestibles cuyo punto de fusión se halla comprendido en un rango de 14 a 37°C. Esto se podría explicar en base a la distribución de los ácidos grasos en los triglicéridos y a la conformación espacial de los ácidos insaturados, aunque no existen datos que podrían comprobarlo. Por lo que respecta a las otras características, éstas son similares a las de los otros aceites comestibles.

Tabla 5.- Comparación de las características fisicoquímicas del aceite de *Jatropha curcas* con las de algunos aceites comestibles.

		Datos obtenidos de Bailey's Industrial Oil and Fat Products. (30)				
	J. curcas	Ajonjolí	Algodón	Maíz	Girasol	Oliva
Densidad a 25°C	0.9172	0.916	0.917	0.922	0.917	0.912
Ind. Refracción a 25°C	1.470	1.472	1.466	1.472	1.467	1.462
Ind. de Yodo	112.51	109.5	106	115.5	130.5	84
Ind. Saponificación	190.47	191	193.5	190	193	192
Punto de fusión	-8 a 6°C	20-25°C	11°C	14-20°C	17-26°C	17-26°C

Observándose esta semejanza, el otro aspecto de interés fué conocer su composición en ácidos grasos por lo que se realizó la cromatografía de gases del aceite y los resultados fueron los siguientes: el 75.6% del total está constituído por los ácidos oleico y linoleico. Los ácidos saturados encontrados son palmítico en un 15% y esteárico en un 9%.

Conociendo el contenido de ácidos grasos fue posible hacer una comparación con varios aceites comestibles, la que se ilustra en la tabla 6. Se puede observar que tanto los ácidos encontrados como la proporción en que se distribuyen son similares a los demás aceites. Considerando estos resultados, el aceite de *Jatropha curcas* se puede clasificar dentro del grupo de aceites de ácidos oleico-linoleico, donde están incluídos el de algodón, ajonjolí, maíz, girasol, y el más apreciado por su calidad, olor y sabor natural, el de oliva, todos usados en la alimentación.

Aun cuando de acuerdo a las características fisicoquímicas y composición en ácidos grasos de este aceite, se podría pensar que es inocuo al hombre, sería muy arriesgado afirmar ésto. Un estudio toxicológico en animales de laboratorio y por último en el hombre, podría aportar datos concluyentes al respecto. Es por ésto que creímos de importancia, realizar un ensayo toxicológico preliminar en ratones, para lo cual se suministró el aceite crudo sin ningún tratamiento.

En la parte experimental se indica con detalle la metodología empleada para este ensayo.

Ninguna de las dosis provocaron vómito, diarrea o comportamiento extraño en los ratones, aunque podría mencionarse que el lote al que se suministró la dosis máxima manifestó mucha sed, síntoma que desapareció a las 3 o 4 horas después de que los ratones ingirieron el aceite. Los resultados indican que probablemente el aceite no tiene compuestos que provoquen efectos purgantes, cuando menos en los ratones.

Tabla 6.- Comparación del contenido en porciento de ácidos grasos en el aceite de *Jatropha curcas* con el de otros aceites comestibles.

Acidos Grasos	*Jatropha curcas*	Datos obtenidos de Bailey's Industrial Oil and Fat Products (30)				
		Ajonjolí	Algodón	Maíz	Girasol	Oliva
Mirístico	0.06	trazas	0.5-3	0.2-1.5		1
Palmítico	15.2	10	17-23	8-13	3-6	7-20
Palmitoleico			0.8-2.5	0.2-1.5		0.4-2.5
Esteárico	9.14	5	1-3	1-4	1-3	0-3
Oleico	37.6	40	14-44	24-46	14-43	65-86
Linoleico	38	43	34-55	34-61	44-75	5-15
Linolénico					2	
Araquídico	0.06	0.8	0.1-1.5	0.4-1.5	0.6-4	0.5-1.3
Araquidónico				1.5-2		
Lignocérido					0.4	
% de Ac. Saturados	24.4	16	18.6-30.5	9.8-20	4.6-13.4	7.5-25.3
% de Ac. Insaturados	75.6	84	69.5-81.4	80-90.2	86.6-95.4	74.7-92.5

Hemos querido encontrar una explicación entre la aparente contradicción que existe de aceptar en ciertas regiones el fruto de la *Jatropha curcas* como una semilla alimentaria, y el de ser rechazada en otras para los mismos fines. Este caso podría constituir toda una investigación en el campo de la Etnobotánica. Sin embargo, el tratamiento de tostado previo que se le practica a la semilla en aquellos lugares donde se consume, indica que al elevar la temperatura, podría destruirse la toxialbúmina mencionada en la literatura. No obstante lo interesante de este caso de correlación analítica y tradición, es importante hacer notar que no se debe descartar la posibilidad de que existan diferentes variedades para esta especie lo que constituiría en sí otro estudio especializado.

V. CONCLUSIONES.

Como se ha indicado en los objetivos de este trabajo, hemos dirigido nuestra atención principalmente, a estudiar el potencial de aprovechamiento de la semilla de *Jatropha curcas* en el área alimentaria, y las conclusiones que los resultados de los diversos análisis practicados nos permiten inferir, se enlistan a continuación:

1.- La semilla de *Jatropha curcas* tiene un elevado contenido en aceite, aproximadamente 50%, y proteína, aproximadamente 27%.

2.- El valor energético teórico obtenido para esta semilla es de 570 calorías por 100 g, lo que expresa un elevado valor característico de las semillas oleaginosas.

3.- Los niveles de fósforo, potasio, magnesio, calcio y sodio encontrados en esta semilla son consistentes en relación a otras semillas oleaginosas.

4.- La proteína que se encuentra en alta proporción es rica en metionina con respecto a otros granos comestibles.

5.- Este aceite es de muy buena calidad desde el punto de vista de su contenido en ácidos grasos y propiedades fisicoquímicas, por lo que podría clasificarse dentro del grupo de los aceites comestibles.

6.- Las pruebas preliminares de toxicidad del aceite en ratones fueron negativas.

7.- Su punto de fusión notoriamente bajo le imparte un carácter muy especial.

8.- Esta semilla representa una fuente potencial para la fabricación de aceite comestible, y la pasta resultante, muy rica en proteínas, podría ser utilizada después de un previo tratamiento de tostado, como complemento forrajero.

VI. RECOMENDACIONES.

De acuerdo a las inquietudes surgidas durante el transcurso de esta investigación, sería recomendable realizar estudios especializados tanto en el área básica como en la aplicada. En el área básica habría que estudiar las posibles variedades de esta especie, así como la estructura y naturaleza de los alcaloides mencionados en la bibliografía. En el área aplicada, las características fisicoquímicas del aceite, así como la calidad de la proteína, son lo suficientemente interesantes como para motivar su aplicación en la industria alimentaria.

VII. BIBLIOGRAFIA

1.- Hernández A. C.; Tesis "Estudio de *Jatropha curcas* como Recurso Biótico". Fac. de Biología, Universidad Veracruzana (1978).

2.- Dreisbach H. R.; Handbook of Poisoning; Fourth Ed.; Lang Medical Publications, Los Altos, Cal (1963).

3.- Kingsburg M. J.;Poisonous Plants of the United States and Canada; Inc. Engle W. Clibls, N. Y. (1964).

4.- West E.;Poisonous Plants around the Home; Flor. Agr. Expt. Sta; Circ. S - 100 (1957).

5.- Rodríguez E. M.; El aceite de *Jatropha curcas;* Agronomía, Perú 17, 70, 117-119 (1952).

6.- Desai M. C. y Vyas M. T.; Chemical Investigation of *Jatropha curcas;* Current Science (India) 18,49 (1949).

7.- Sinha A. y col.; Chemical Investigation of the Seeds of *Jatropha curcas;* J. Proc. Ins. Ch. (India) 31, 213-217 (1959)

8.- Soliven A. F.; The Seed and Oil of *Jatropha curcas;* Philipine Agronomy 16, 587 - 596 (1929).

9.- Steger A. y Loon J. V.; The Fatty Oil from the Seed of *Jatropha curcas;* Fette U. Seifen 49, 770 - 773 (1942).

10.- Stagno d'A. G.; The Chemical and Physicochemical Characteristics of Proteins Extracted from Seeds of *Jatropha curcas;* Attli. Soc. Piloritana Seis. Fis. Mat. e Nat. 2,71-84 (1955-1956).

11.- Mitra R. C. y Misra P. S.; Aminoacid of Processed Seed Meal Proteins; J. Agr. Foods Chemistry 15, 4, 597-700 (1967).

12.- Cuzzocrea G., Lamonica G.; Sugli Aminoacidi dei Semi di *Jatropha curcas;* Attli. Soc. Peloritana Scienze Fis. Mat. et Nat. XVII, 299-305 (1971).

13.- Mitra R. C., Bhatnagar S. C., Sinha M. K.; Chemical Examination of *Jatropha curcas;* Indian Journal Chemistry 8, 11, 1047 (1970).

14.- Bose B. C. Sepaha B. C.; Observations on the Pharmacological Action of *Jatropha curcas;* Arch. Int. Pharmacodyn. 12,28-31 (1961).

15.- Estores A. F., Marañon J. y Ancheta S.; Screening of Philippine Plants for Steroidal Sapogenins I; The Philippine Journal of Science 85, 3, 305-314 (1956).

16.- Jumin M. C., Katti R. L. y Bose B. C.; Chemical Examination of the Seeds of *Jatropha curcas* L.; J. University Bombay 14A, 34-36 (1945).

17.- Mourgue M., Delphant J.; Study of the Toxicity and Localization of the Toxalbumin of the Seeds of *Jatropha curcas*; Bull. Soc. Chim. Biol. 43, 517-531 (1961).

18.- Morris B. J.; The Chemical Analysis of Food and Food Products; Third Ed.; Robert E. Krieger Publishing C.; Huntington, N.Y. (1958).

19.- Howell F. N.; Standart Methods of Chemical Analysis; Sixth Ed.; Robert E. Kriger Publishing C., Huntington, N. Y. (1975).

20.- Chapman D. H. y Pratt F. P.; Métodos de Análisis para Suelos y Aguas; Ed. Trillas, México (1973).

21.- Ulrich A., Johnson C. M.; Analytical Methods; Div. Agr. Univ. California Bull. 766, 26-57 (1950).

22.- Don R., Gehrke W. Ch.; The Hydrolisis of Proteins; Journal of Chromatography 52,393-404 (1970).

- Mehlenbacher V. C.; Análisis de Grasas y Aceites; Ed. Urmo, Balboa, España (1970).

- Vogel A. E.: A Textbook of Practical Organic Chemistry. Third Ed.; Longman Ed.; Gran Bretaña. (1974).

- Horwitz W.; Oficial Methods of Analysis of A.O.A.C. Twelfth Ed.; A.O.A.C. Washingtong, D.C. (1975).

- Warth H. A.; The Chemistry and Tecnology of Waxes; Second Edition.; Reinhold Publishing Corporation, U.S.A. (1956).

- INCAP - ICNND; Tabla de Composición de Alimentos para Uso en América Latina (1961).

- Sinha A.; Chemical Examination of the Seeds of *Jatropha curcas*; J. Proc. Inst. Chem. (India) 31, 213-217 (1959).

- Informe de un Comité Mixto FAO/OMS de Expertos; Necesidades de Energía y de Proteínas; Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma (1973).

- Matil F. Karl.; Morris A. Frank; Bailey's Industrial Oil and Fat Products; Third Ed.; Interscience Publishers, U.S.A. (1964).