



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"EVALUACION NUTRICIONAL DE TRES DIFERENTES
RAICES COMESTIBLES"

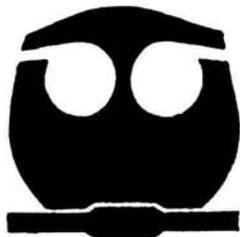
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A :

MARIA FERNANDA PEREZ SANDOVAL



MEXICO, D. F. **EXAMENES PROFESIONALES**
FACULTAD DE QUIMICA

2004



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 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.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

JURADO ASIGNADO

Presidente: Angela Sotelo López
Vocal: Lucía Gabriela Bascuñan Termini
Secretario: Lucía Cornejo Barrera
1er. Sup. Inés Miranda Martínez
2do. Sup. Iliana Elvira González Hernández

Sitio en donde se desarrolló el tema:

UNAM, Edificio "E" de la Facultad de Química, Lab. 111

Departamento de Farmacia



Asesor
M. en C. Angela Sotelo López



Asesor Técnico
M. en C. Rosa María Argote Espinosa



Sustentante
María Fernanda Pérez Sandoval

AGRADECIMIENTOS

A mi querida UNAM por darme la oportunidad de estudiar una carrera, de tener experiencias maravillosas, de aprender y conocer a diario cosas y gente nueva.

A la maestra Angela Sotelo por creer en mí y ayudarme a lo largo de este proyecto, pero sobretodo por su apoyo y cariño.

A las maestras Lucía Cornejo y Lucía Bascuñan por su apoyo, enseñanza y comprensión a lo largo de mi tesis y mi carrera.

A Rosita por su ternura, comprensión, ayuda y alegría en todo momento.

Al Profesor Bernardo por su consejo, detalles y apoyo, gracias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-Sistema Nacional de Investigadores por el apoyo económico otorgado en la realización de este proyecto.

A Agustín Reyó por su apoyo en las determinaciones mediante Cromatografía de Líquidos.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: María Fernanda
Pérez Sandoval
FECHA: 11 - Mayo - 2004
FIRMA: 

A todos con los que conviví en el Laboratorio 111, gracias por su ayuda, sus pláticas y los momentos que vivimos, porque de cada uno hay algo en esta tesis: Toño, Gaby, Nor, Claudia, Arge, Lety, Ili, Sra. Vicky , Héctor, etc.

A Toño, Gaby y Nor por su valiosa amistad, su ayuda, comprensión, esas pláticas tan divertidas y por el apoyo en todo momento, mil GRACIAS, los quiero mucho.

A todas las personas que no mencioné pero que a lo largo de mi carrera dejaron una huella en mí además de mis profesores y amigos, y que hicieron posible que hoy estuviera aquí.

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis antes que a nadie a DIOS porque sin él simplemente no estaría yo aquí.

Por todo lo que me has dado.

A mis PADRES por darme la vida, por ser mi apoyo desde siempre, por su amor, enseñanzas y comprensión a lo largo de mi vida como estudiante. Los adoro y me siento muy feliz y orgullosa de ustedes.

A mis SISTERS porque son las mejores, gracias por su paciencia, saben que las adoro, sin ustedes no sería lo mismo.

A mis ABUELAS: Tere y Emita, a mis ABUELOS: Jorge y Pedro, porque aunque ya no están físicamente se que lo están de una u otra manera, por todo lo que me dieron y me enseñaron, por sus consejos, su amor incondicional y su enseñanza de fortaleza, los admiraré y tendré siempre en mi corazón.

A ti TOÑO, por ser mi amigo, ni novio, por estar siempre conmigo incondicionalmente, por tu sinceridad, tus consejos, tu motivación, tu amor y todas las cosas que hemos vivido desde que te conozco, sabes lo mucho que significas para mí.

A mis TIAS: Pepita, Paty, Llemis y Lety, por ser más que eso, a mis TIOS, PRIMOS, PRIMAS, por su amor y los momentos juntos. A TODA MI FAMILIA MUCHAS GRACIAS. Odi no me olvido de ti ya sabes que se te quiere.

A mis AMIGAS: Natsheli, Moni V., Moni F., Karen, Raquel, Gaby, Nor *por ser las mejores y estar siempre conmigo en todo momento*, a Tony, Liliana, Gaby L., Blanca, Jessica, Argelia, Marcela, saben cuanto las quiero y vale su amistad para mí.

Arely, Bety, Nanyely por esa amistad de hace años, que atesoro con mucho cariño.

Claudia, Güero, Aron, Johan, por su cariño, amistad y porque sin ustedes la universidad no hubiera sido lo mismo.

NO HAY PALABRAS QUE PUEDAN EXPRESAR LO QUE SIENTO POR CADA UNO DE

USTEDES Y LO FELIZ QUE ESTOY DE DAR ESTE PASO EN MI VIDA.

SIMPLEMENTE LES DEDICO ESTA TESIS CON TODO MI CARIÑO. GRACIAS A

TODOS POR ESTAR EN MI VIDA. LOS AMO.

Si dejas de dar, renuncias a vivir.

Sabiduría es conocer lo que debe hacerse,

Habilidad es saber como debe hacerse y

Virtud hacerlo.

Por mi raza hablará mi espíritu.

ÍNDICE.

	Página
Introducción	4
Objetivos	6
General	6
Específicos	6
Hipótesis	7
Antecedentes	8
1. Verduras	8
1.1 Generalidades	8
1.2 Clasificación según el contenido de carbohidratos	9
1.3 Clasificación por el color	9
1.4 Principales componentes químicos	10
1.5 Factores Tóxicos y Antinutricionales	15
2. Generalidades de raíces a estudiar	19
2.1 Papa Voladora	19
2.1.1 Características Generales	19
2.1.2 Características botánicas	20
2.1.3 Planta y su cultivo	20
2.1.4 Perspectiva y mejoramiento de cultivo	21
2.1.5 Composición y usos	22
2.2 Camote	23
2.2.1 Características Generales	23

2.2.2	Características Botánicas	24
2.2.3	Composición y usos	25
2.3	Mafafa	27
2.3.1	Características Generales	27
2.3.2	Descripción botánica	28
2.3.3	Planta y su cultivo	28
2.3.4	Perspectiva del mejoramiento del cultivo	30
2.3.5	Composición y usos	31
Metodología		33
1.	Tratamiento de la muestra	33
2.	Diagrama General	34
3.	Información de la muestra	35
4.	Descripción de la metodología	36
4.1	Conservación de la muestra	36
4.2	Análisis proximal	38
4.3	Identificación y cuantificación de factores tóxicos y antinutricionales	48
4.4	Determinación de hidratos de carbono asimilables	78
Resultados y Discusiones		82
Conclusiones		93
Bibliografía		94
Anexo		98

INTRODUCCIÓN.

Las raíces y tubérculos, son los alimentos humanos más antiguos y de gran importancia, debido a sus fundamentos nutrimentales, ecológicos y económicos; algunas conforman la parte comestible de ciertas verduras. En los últimos años, el desarrollo de la agricultura moderna ha relegado y marginado la expansión de estas especies vegetales debido a que las prioridades en la producción de alimentos están siendo orientadas a los cereales.

Sin duda, una de las razones que han impedido que las raíces y tubérculos ocupen un lugar más preponderante entre otros cultivos alimenticios es la dificultad de su conservación, lo que ha influido, en el desarrollo de procesos industriales que permitan y faciliten la producción de harina y otros productos. Existe conciencia generalizada de que los cultivos de raíces y tubérculos aportan energía en gran cantidad y que la escasa proteína que producen es de menor calidad a la de origen animal. Su papel en la dieta es el ser fuente de energía en forma de almidón y representa, cuando menos, el 40% del peso de la dieta.

La Sierra Norte de Puebla es una región con gran diversidad ambiental propiciada por un gradiente altitudinal entre 200 y 2000m snm (sobre el nivel del mar), un empinado relieve y exposición directa a los Vientos Alisios, con climas templados húmedos y subhúmedos así como semicálidos y cálido húmedos y diversos tipos de vegetación, incluyendo bosque tropical perennifolio, bosque mesófilo de montaña y bosque de pino y encino.

Habitada desde tiempos precolombinos por totonacos, tepehuas, nahuas, otomfes y por mestizos luego de la conquista española, estos grupos humanos han tenido y tienen como principal actividad económica, la agricultura, con el maíz como principal cultivo, aunque en la actualidad este ha sido desplazado en varios sitios de la Sierra por el

establecimiento de potreros y cafetales. Esta forma de apropiación de la naturaleza, aunada a un relativo aislamiento causado por la falta de vías de comunicación hasta hace un par de décadas, ha generado en los habitantes de esta región del país un profundo conocimiento acerca de los recursos naturales de su entorno y el aprovechamiento de los mismos para satisfacer necesidades alimentarias, de medicinas, ornamentales, ceremoniales y de combustible entre otras.

En esta región del país, se han registrado más de 650 especies de plantas útiles de las cuales cerca de 250 se reportan comestibles, incluyendo frutas, verduras o rizomas, tubérculos, bulbos, bulbillos y semillas geocárpicas. Estos camotes representan entre un 5% y 10% del total de las especies comestibles en diversas comunidades estudiadas.

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Conocer la composición bromatológica en tres diferentes tipos de raíces (papa voladora, mafafa y camote) tanto crudas como cocidas, provenientes de la Sierra de Puebla, así como la existencia de algún factor antinutricional y/o tóxico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- ♣ Realizar el análisis proximal (bromatológico) de las raíces comestibles para conocer el contenido de humedad, grasa, proteína, fibra, cenizas (minerales), e hidratos de carbono.
- ♣ Identificar y cuantificar factores antinutricionales y tóxicos: taninos, inhibidores de tripsina, lectinas, saponinas, ácido fítico, glucósidos cianogénicos, alcaloides y oligosacáridos.
- ♣ Determinar el contenido de mono (glucosa y fructosa) y disacáridos (sacarosa y maltosa)

HIPOTESIS.

→ La composición bromatológica de las tres raíces nativas de nuestro país tienen una composición semejante a lo informado en estudios previos aunque en estos no se estudiaron aspectos toxicológicos ni tampoco las diferencias entre raíces crudas y cocidas.

ANTECEDENTES.

1. VERDURAS

1.1 GENERALIDADES

Con el nombre de hortalizas o verduras se designa a las plantas herbáceas que tienen partes comestibles. Son alimentos ricos en sales minerales asimilables, vitaminas y celulosa.

Son muy diversas las partes que se utilizan en las verduras:

Hojas: repollo (col), lechuga, espinaca, acelga, berro, escarola, hojas de nabo, perejil.

Tallos: apio, hinojo.

Brotos: espárragos, brotes de soya, de alfalfa etc.

Flores: coliflor, alcachofa, etc.

Frutos: jitomate, berenjena, pepinos, pimiento morrón, calabaza. etc.

Vainas: ejotes

Semillas: guisantes, elotes, etc.

Raíces: zanahoria, nabo etc.

Tubérculos: papa, camote.

Bulbos: cebolla, ajo etc.

Cogollos: palmitos

1.2 CLASIFICACIÓN SEGÚN EL CONTENIDO DE HIDRATOS DE CARBONO

- **Grupo A** (hasta un 5% de hidratos de carbono): acelga, apio, espinaca, berenjena, coliflor, lechuga, pimiento, rabanito, jitomate, calabacita.
- **Grupo B** (hasta el 10% de hidratos de carbono): alcachofa, cebolla, nabo, poro, calabaza, zanahoria, remolacha.
- **Grupo C** (hasta el 20% de hidratos de carbono): camote, mandioca, papa, elote.

Las verduras deben ser cuidadosamente lavadas y cepilladas, según se trate de hojas o raíces o tubérculos. Estos últimos no deben ser pelados ni raspados, pues la cáscara contiene gran cantidad de vitaminas y otros elementos nutritivos. La sal se debe agregar al final de la cocción pues contribuye a endurecer el agua. Para que las hortalizas conserven sus propiedades y su gusto, deben ser introducidas directamente en agua hirviendo, o mejor aún, hervidas al vapor, o asadas con su cáscara¹

1.3 CLASIFICACIÓN POR EL COLOR

El color se relaciona con la composición química y las propiedades nutricias:

- a) *Verduras de hoja verde*: riqueza en vitaminas (especialmente A, C, el complejo B, E y K), minerales (en especial el calcio y el hierro) y fibra, dejan en el organismo un residuo alcalino y el color verde se debe a la presencia de la clorofila. Ej. : lechuga, escarola, repollo, "diente de león", berro, acelga, espinaca, etc.
- b) *Verduras amarillas*: ricas en caroteno (favorece la formación de vitamina A). Ej: zanahoria, calabaza y elote amarillo.
- c) *Verduras blancas y de otro color*: tienen poco caroteno pero son ricas en vitamina C y en las vitaminas del complejo B.

Ej.: remolacha (rica en azúcar, su color se debe a la antocianina), jitomate (carotenos, catalizador y remineralizador), cebolla (vitaminas, sales minerales).

d) *Tubérculos y raíces*: papa (*Solanum tuberosum*): contiene abundante fécula y algo de albúmina de fácil digestión, vitamina C y algo de vitamina A y B.

La batata (camote): Composición y valor alimentario similar al de la papa, las amarillas contienen más carotenos lo que favorece la formación de vitamina A^{2,3}.

1.4 PRINCIPALES COMPONENTES QUÍMICOS

Los principales componentes químicos de las raíces y tubérculos son agua, hidratos de carbono, y proteína bruta; en suma forman hasta el 98% del peso total de la raíz. Estos desempeñan un papel muy importante en los procesos bioquímicos que se llevan a cabo en el ser humano sin restarle importancia a la fibra, minerales, vitaminas y lípidos.

↗ Agua

La mayoría de las funciones biológicas del agua se relacionan con su propiedad de actuar como solvente en numerosos compuestos. Participa en la digestión, la absorción de los nutrimentos digeridos, el transporte de metabolitos en el organismo y la excreción de productos de desecho, así como medio para las reacciones metabólicas de un organismo.

Las raíces y tubérculos contienen de un 60-80% de agua, dependiendo de la especie y de la madurez de cada una⁴.

➤ Contenido de Proteína.

Las proteínas se consideran moléculas complejas, al ser ingeridas en la dieta, son degradadas por las enzimas en los jugos digestivos, y permiten que los aminoácidos liberados sean absorbidos por el organismo.

Lo que determina las características bioquímicas de las proteínas depende de cómo se combinan los 20 aminoácidos, pero el valor nutricional depende del tipo y proporción de aminoácidos que contenga. La función primaria de las proteínas de la dieta es suministrar los aminoácidos para que el organismo lleve a cabo los procesos de mantenimiento, crecimiento, gestación y lactancia.

Los aminoácidos indispensables son aquellos que el organismo no puede sintetizar (lisina, isoleucina, leucina, valina, metionina, fenilalanina, treonina y triptófano, en infantes además se requiere de arginina e histidina) para satisfacer necesidades fisiológicas.

En el caso de las raíces y tubérculos no están recomendadas como fuente de alto valor proteínico para los organismos en desarrollo, dado que su contenido de aminoácidos es bajo.

➤ Contenido de Lípidos

Debido al alto aporte calórico que suministran los lípidos son considerados como un importante combustible además de representar una reserva importante de energía. Son considerados químicamente como ésteres de ácidos grasos y glicerol. Entre las funciones más importantes de las grasas se encuentran: el mantenimiento del calor corporal, reserva energética y vehículo de vitaminas liposolubles⁵.

Los ácidos grasos pueden ser sintetizados en el organismo mediante vías metabólicas específicas, sin embargo existen ácidos grasos de importancia nutricional ya que son indispensables, como el ácido linoléico, linolénico y araquidónico.

↗ Contenido de minerales.

Los minerales tienen funciones específicas en el organismo; principalmente estructural, como calcio y fósforo, electrolíticas; como sodio y potasio y catalíticas; como magnesio y zinc.

↗ Contenido de hidratos de carbono.

Los hidratos de carbono constituyen una de las tres principales clases de nutrimentos y suelen proporcionar la mayor parte de la energía en las dietas⁵. Se hallan en los alimentos como azúcares y almidones, mismos que representan una de las principales fuente de energía de la dieta, y como celulosa, la cual es uno de los principales componentes de la fibra dietética⁶.

Los hidratos de carbono están compuestos de carbono, hidrógeno y oxígeno, con dos átomos de hidrógeno por cada uno de oxígeno. El grupo comprende los azúcares (mono, di y trisacáridos), así como almidones y celulosas que son polisacáridos.

Sólo las plantas y frutos inmaduros forman almidón Durante la digestión en el ser humano este se hidroliza a glucosa.

La rafinosa y estaquiosa son oligosacáridos compuestos por unidades de, D-glucosa y D-fructosa y D-galactosa no reductor⁷. La presencia de estos oligosacáridos puede producir gases en el tracto gastrointestinal (flatulencia), estos compuestos no son asimilados adecuadamente debido a la ausencia de α -galactosidasas en la mucosa intestinal, sin embargo, bacterias anararóbicas fermentativas presentes en el colón pueden romper el enlace α -(1,6) con la consecuente emisión de hidrógeno, bióxido de carbono, metano y ácido sulfhídrico, dando lugar a las flatulencias e interfiriendo con una adecuada digestión.

En el caso de los vegetales suelen contener, dependiendo del género y especie a veces un alto contenido de estos compuestos y para consumo humano suelen no recomendarse por los problemas ya mencionados, ya que a diferencia de los rumiantes, el humano no puede asimilar estos compuestos.

➤ Contenido de Fibra.

La fibra es un residuo orgánico insoluble constituido principalmente por la celulosa, pectina, lignina, hemicelulosa, gomas y mucílagos. La celulosa es el hidrato de carbono más abundante en la naturaleza y es uno de los principales componentes estructurales de las células vegetales, representando un 20-40% de la materia seca de las plantas verdes. La unión de las moléculas de glucosa, mediante un enlace β hace a la celulosa esencialmente insoluble y resistente a la degradación por las enzimas digestivas en los animales. No obstante, puede degradarse por la fermentación llevada a cabo por los microorganismos ya que éstos conservan la enzima celulasa que los animales superiores han perdido en el proceso de evolución. Es por ello que tanto en el rumen como en la porción distal del tracto digestivo de rumiantes sea posible la degradación de celulosa, sin embargo animales monogástricos no poseen esta habilidad.

Las pectinas son polímeros compuestos principalmente de unidades de (1-4)- α -D galacturonapiranosilo, y se encuentran en las laminillas intermedias de las células vegetales. Un aspecto que diferencia a las pectinas entre sí es su contenido en esteres metílicos, o grado de esterificación, que disminuye al producirse la maduración de plantas.

La hemicelulosa es de los polisacáridos más complejos, sin embargo al igual que la celulosa no puede ser aprovechada por monogástricos porque no tienen microorganismos con actividad celulolítica. Ésta, posee un esqueleto de tipo xilano compuesto por unidades (1-4)- β -D-xilopiranosilo. No se conoce bien su función en la dieta, pero es buena fuente de fibra

dietética al formar parte del complejo no digestible de las paredes vegetales, pareciendo probable que tenga efectos nutricios y fisiológicos beneficiosos sobre la motilidad intestinal, peso y volumen del bolo alimenticio y tiempo que éste tarda en recorrer el intestino.

La lignina se asocia a los hidratos de carbono de la pared celular, es un polímero tridimensional formado por unidades de fenil-propano (tales como el siringaldehído y la vainillina) unidos mediante cadenas alifáticas laterales de tres carbonos. La lignificación de las membranas celulares, en especial de aquellas de los tejidos xilemáticos y esclerenquimáticos, les proporciona una considerable resistencia y rigidez⁶.

La lignina no es aprovechada adecuadamente; ya que la capacidad nutricional de la celulosa depende notoriamente de la relación lignina-celulosa presente. En ocasiones cuando existe un alto contenido de lignina en los alimentos, los tratamientos con álcalis que disuelven parcialmente la lignina y rompen los enlaces entre la lignina y los hidratos de carbono, permiten un mejor aprovechamiento de la celulosa. Se ha comprobado que el contenido de lignina está relacionado con una digestibilidad baja de los principios nutritivos de los alimentos.

Durante la maduración se acumulan concentraciones crecientes de fibra lignificada en la armadura estructural de las plantas, esto da lugar a menores valores de proteína e hidratos de carbono digerible.

Se ha comprobado que el contenido de lignina está relacionado con una digestibilidad baja en los principios nutritivos de los alimentos⁷.

1.5 FACTORES TÓXICOS Y ANTINUTRICIONALES

Este apartado, pretende dar una breve descripción acerca de los factores tóxicos y antinutrientales que fueron parte del análisis toxicológico de las tres raíces.

Las sustancias antinutrientales se definen, como aquellos compuestos que están presentes de manera natural en algunos alimentos y actúan provocando una pérdida de nutrimentos indispensables o interfiriendo en su utilización y función metabólica. Su presencia en los alimentos no implica necesariamente un problema de toxicidad aguda y sus riesgos pueden no ser serios en países desarrollados, pues una alimentación equilibrada, o incluso el aumento del aporte en la dieta del nutrimento afectado, puede mejorar rápidamente el estado general. Sin embargo, es esencial que éstos compuestos sean identificados y cuantificados, de tal manera que su riesgo real para la salud humana o animal sea evaluado y puedan tomarse las medidas preventivas o correctivas correspondientes.

Existen además sustancias tóxicas, tales como el cianuro liberado a partir de glucósidos cianogénicos y las lectinas, que tienen efecto a corto tiempo y pueden incluso causar la muerte⁸.

Un ejemplo de estos efectos causados por los factores es en el caso de una proteína, su valor nutricional, está determinado por su digestibilidad, su contenido de aminoácidos indispensables y la disponibilidad de aminoácidos individuales, en algunos alimentos la presencia de un bajo contenido de aminoácidos azufrados o lisina, estructuras compactas de proteínas y la presencia de compuestos no proteicos (fibra dietética, taninos, fitatos) y/o proteínas antifisiológicas (inhibidores de tripsina, lectinas), pueden perjudicar y aumentar la excreción de nitrógeno endógeno, disminuyendo el valor nutricional de un alimento⁹.

1.5.1. Hemaglutininas

También conocidas como lectinas, son un grupo de proteínas o glicoproteínas enterotóxicas, presentes comúnmente en las leguminosas comestibles, que suelen presentar la propiedad de aglutinar los glóbulos rojos sanguíneos. Todas las lectinas producen síntomas parecidos, entre los que resaltan la intensa inflamación de la mucosa intestinal, con la posterior destrucción de los epitelios, edema y la hemorragia del tejido linfático. Las lectinas se unen a las microvellosidades de los enterocitos del yeyuno y obstaculizan su función. Hay destrucción entonces de las células de la mucosa, disminución de la actividad enzimática, aumenta la descamación de las células de la mucosa y las vellosidades disminuyen de tamaño, con lo que se disminuye la superficie de absorción. Sin embargo es importante mencionar, que la presencia de hidratos de carbono en la molécula de las lectinas, les da especificidad hacia las células lo que repercute de manera importante en su acción, pues de no ser específicas no pueden unirse a las células y causar daño, además para que el efecto, vía oral, de las lectinas sea efectivo, éstas deben resistir el ataque de las proteasas a lo largo del tracto digestivo. Estas suelen destruirse por métodos de calentamiento como el secado o cocción³¹.

1.5.2 Inhibidores de Tripsina.

Son sustancias de naturaleza proteínica ampliamente distribuidas en los alimentos de origen vegetal, que interfieren inhibiendo la actividad de las proteasas las cuales permiten la asimilación adecuada de proteínas, afectando primordialmente el crecimiento, digestibilidad del alimento y utilización metabólica de los alimentos. Los inhibidores tienen uno o más péptidos de unión (sitio reactivo), los cuales interaccionan con el sitio reactivo de la enzima; ésta inhibición se traduce en una reducción de la digestión proteínica y por consecuencia también de su asimilación¹¹. Mediante el calentamiento apropiado puede destruirse el efecto

de los principales inhibidores de las proteasas o al menos disminuirlo en gran parte, aunque ésta destrucción depende de la temperatura, duración y tipo de calentamiento^{11,12}.

1.5.3 Glucósidos cianogénicos

La bioquímica de los glucósidos cianogénicos es relativamente bien conocida.

Son compuestos con una parte polar (azúcar) y el aglucón que es el que tiene el efecto tóxico, el oligosacárido no causa daño, sino el aglucón pues produce la liberación de ácido cianhídrico. La ingestión del glucósido no es venenosa, ya que en el tracto digestivo no existe ninguna enzima como la β -glucosidasa que lo libere, pero algunas bacterias intestinales pueden descomponer el glicósido dejando en libertad el ácido cianhídrico. En las plantas que contienen éstos glucósidos la β -glucosidasa es extracelular y solamente por destrucción física o química de la pared celular puede llegar a ponerse en contacto con el compuesto. Además del peligro del envenenamiento agudo hay que considerar el del envenenamiento crónico, que hasta el momento permanece sin explicación^{8, 10, 13}.

1.5.4 Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos solubles en agua con un peso molecular en un rango de 500-3000 Da, están distribuidos en los alimentos de origen vegetal. Los taninos son clasificados como condensados o hidrolizables, basándose en su tipo estructural y su reactividad contra agentes hidrolíticos, particularmente ácidos. Ellos pueden formar complejos solubles e insolubles con proteínas, los cuales pueden ser responsables del efecto antinutricional de éstos¹⁴.

Se consideran indeseables pues la oxidación de los grupos fenólicos de los taninos a quinonas puede formar enlaces covalentes entre los grupos α -amino de los restos de lisina y arginina en las cadenas peptídicas lo que produce la precipitación de las proteínas y en

consecuencia una reducción del valor nutritivo del alimento. La unión de los taninos a las enzimas digestivas impide su acción; la unión con las proteínas del alimento dificulta su digestión y su unión a la mucosa intestinal disminuye la absorción de los alimentos¹⁰.

1.5.5 Ácido fítico

Se encuentra en concentraciones elevadas en diversos alimentos como ácido inositol hexafosfórico, es una estructura altamente reactiva, debido a que la molécula posee múltiples grupos fosfato reactivos, capaces de formar complejos con cationes. Su acción principal es la disminución de la absorción o biodisponibilidad de minerales bivalentes como Ca, Co, Cu, Mg, Mo, Mn, Fe y Zn con los que forma sales insolubles. Además forma complejos insolubles fitato-mineral-proteína, provocando la disminución de la solubilidad y digestibilidad de las proteínas en el organismo así como la inhibición de enzimas digestivas, bajo condiciones fisiológicas, como la pepsina, tripsina y α -amilasa.

Se encuentra fundamentalmente en cereales, leguminosas y semillas oleaginosas siendo la forma de almacenaje de fósforo. Sin embargo en esta forma de fosfato permanece no disponible para el hombre y animales monogástricos, debido a que están desprovistos de suficiente actividad de fosfatasa endógenas que sean capaces de liberar grupos fosfato de la estructura del fitato^{8,15,16}.

2. GENERALIDADES DE RAÍCES A ESTUDIAR

2.1. Papa voladora (*Dioscorea bulbifera*)

2.1.1 Características Generales:

Reino: Plantae

Filo: MAGNOLIOPHYTA

Clase: Liliopsida

Orden: Dioscoreales

Familia: Dioscoreaceae

Género: Dioscorea

Especie: bulbifera



Se le llama Papa Voladora porque sus bulbos se encuentran en el aire y no subterráneos, pertenece al género *Dioscorea* que es importante mundialmente por los tubérculos y bulbillos comestibles (especialmente en África) y para la producción de hormonas esteroideas, tipo anticonceptivo. Se desarrolla mejor con temperaturas medias entre 25 y 30°C, en suelos francos, sueltos, profundos, con buen drenaje, pH alrededor de 6,0 de buena fertilidad y para obtener máximos rendimientos necesita de abundante agua, entre 1,500 y 2,000 m³/año. Requiere abundante luz para obtener mayor producción, siendo adecuado un período de 12 horas con luz. El período crítico para mantener la humedad es durante los cinco primeros meses de desarrollo; pasado este tiempo, el exceso de humedad puede ocasionar pudrición de los tubérculos¹⁷.

2.1.2 Características botánicas

Las flores inconspicuas, de color blanco o amarillo verdoso, agrupadas en espigas o en racimos, tienen cáliz de seis piezas, corola (interno) que cubre estambres y un pistilo. El fruto es una cápsula con tres alas membranosas.

El barbasco, o cabeza de negro (*Disocorea alata*), es una especie anteriormente silvestre y ahora cultivada en algunos estados de la llamada 'tierra caliente' de México (Veracruz, Chiapas, Guerrero, Oaxaca) por su valor en la industria farmacéutica, ya que su rizoma sirve para fabricar hormonas sintéticas con las que se elaboran píldoras anticonceptivas, entre otros fármacos además de que no es comestible.

El barbasco es la especie *Dioscorea mexicana*; el ñame de agua es *Dioscorea alata*; el ñame de China, *Dioscorea batatas*; la papa voladora, *Dioscorea bulbifera*; y el ñame silvestre, *Dioscorea villosa*.

2.1.3 Planta y su cultivo

Los tubérculos con peso de 250 a 300 g son los que se producen mejor, prefiriéndose los tubérculos enteros.

Para prevenir ataque de plagas o enfermedades, los pedazos de tubérculo se deben desinfectar con insecticida y fungicida o sumergirlos en agua caliente a 45°C por cinco minutos.

La planta cumple su ciclo vegetativo desde los 12 a 14 meses, que se manifiesta por el amarillamiento de las hojas que luego se secan. En este momento se puede proceder a la cosecha.

Tecnología de cosecha y poscosecha:

La cosecha se efectúa manualmente cuando la planta está seca. Los tubérculos se extraen del suelo, se dejan secar para eliminar la tierra, se separan por la parte más delgada o

pedúnculo y se guardan. La falta de lavado y desinfección de los tubérculos conduce a pérdida por ataque de hongos, pero el principal problema que se presenta durante el almacenaje es el brotamiento.

Los tubérculos pueden almacenarse por varios meses; la pérdida de peso (en un período hasta de ocho meses) fluctúa entre 7 y 24% de acuerdo con la especie. La mejor manera de almacenar los tubérculos en el campo es enterrándolos. Para almacenar tubérculos para semilla, éstos deben ser tendidos en el suelo en capas finas o en montículos a la temperatura ambiente (25 a 30°C). Cuando los tubérculos quedan expuestos al sol durante mucho tiempo se desarrollan lesiones negruzcas en el interior de ellos.

2.1.4 Perspectivas de mejoramiento del cultivo

Diversidad genética:

La familia *Dioscoreaceae* tiene alrededor de 600 especies distribuidas en las zonas tropicales. El género *Dioscorea* es grande, teniendo entre 15 a 20 especies comestibles; de éstas posiblemente la única que tenga origen americanos sea *D. trifida*.

Especies relacionadas son *D. alata*, cuyo tallo enrolla hacia la derecha ("ñame grande", "ñame gigante", Llame, "yam"). *D. cayenensis* ("ñame amarillo"), *D. bulbifera* ("papa caribe", "huayra papa", "air potato") y *D. esculenta* ("tongo"), entre las cultivadas por el cormo; *D. decorticans* ("macaquifio"), cultivado como ornamental y *D. composita* y *D. floribunda* ("cabeza de negro"), cultivadas para obtener diosgenina, una saponina utilizada en la síntesis de esteroides^{18,19}.

2.1.5 Composición y usos de la Papa Voladora

A continuación se presenta una tabla con datos referentes a la composición nutricional de la papa voladora.

Tabla 1. Composición nutricional en 100 g de porción comestible de la papa voladora²⁰.

COMPONENTE	CANTIDAD
Energía	535KJ o 128 kcal
Humedad	60.30 g
Cenizas	1.40 g
Extracto etéreo	0.15 g
Proteína bruta	4.12 g
Hidratos de carbono	33.13 g
Fibra bruta	0.90 g
Calcio	34 mg
Fósforo	40 mg
Hierro	2.96 mg
Tiamina	0.23 mg
Riboflavina	0.02 mg
Niacina	0.52 mg
Ácido ascórbico	15.50 mg

Se ha encontrado que muchas especies de ñame silvestre contienen sustancias denominadas sapogeninas, cuya estructura química tiene el mismo anillo de ciclopentano, el fenantreno, que la cortisona ²¹.

La Papa Voladora se utiliza de manera similar a la papa, en la alimentación directa después de cocinados, en puré, en sopas y guisos. Se consume frito, forma en la que se preparan hojuelas crocantes.

En Africa, el ñame (otro tipo de *Dioscorea*), se usa en la preparación de "fufu", alimento tradicional en estos pueblos, que consiste en una masa elástica elaborada con ñame cocido, molido y amasado en un mortero de madera²².

2.2 Camote (*Ipomoea batatas*)

2.2.1. Características Generales

Reino: Plantae:

Familia: Convolvulaceae

Género: Ipomea

Especie: batatas



Llamado también en Africa *cilera abana*, que significa "protector de los niños", fue introducido en China a fines del siglo XVI y se expandió a Asia, Africa y América Latina durante los siglos XVII y XVIII.

El camote tiene un registro alrededor de 6500 variedades, incluidas accesiones silvestres, variedades comerciales y líneas de mejoramiento. Crece bien bajo diferentes condiciones agrícolas, inclusive en suelos pobres con pocos fertilizantes.

Por su versatilidad y adaptabilidad, es el séptimo cultivo alimenticio más importante del mundo, después del trigo, arroz, maíz, papa, cebada y yuca; es rico en hidratos de carbono, carotenos y vitamina A y puede producir más energía comestible por hectárea por día que el trigo, arroz o yuca.

Más de 133 millones de toneladas se producen globalmente cada año, siendo el continente asiático el principal productor de camote.

América Latina, cuna del camote, produce 1.9 millones de toneladas de este cultivo anualmente. La producción en Norte América es de aproximadamente 600,000 t. El único país europeo que produce cantidades grandes es Portugal, con 23,000 t.

2.2.2. Características botánicas

Pertenece a la familia de convolvuláceas (*Convolvulaceae*). El órgano de consumo del camote corresponde a lo que se denomina raíz tuberosa la que, a diferencia de un tubérculo de papa que es de origen caulinar, esto es, que se puede distinguir fácilmente el tallo de las raíces. La estructura es la característica de una raíz con crecimiento secundario, en la cual se distingue un tejido externo, corteza y al centro, un parénquima de almacenamiento con haces vasculares dispersos en el que se acumula almidón y algunos azúcares simples, especialmente sacarosa, que le dan el sabor dulce característico. Las raíces tuberosas pueden ser de distintos tamaños y formas, aunque las más comunes son del tamaño de una papa grande (+/- 200g) y de forma elongada. La superficie puede ser lisa, surcada o sinuosa y de color amarillo-blanquecino a roja violácea. Internamente la pulpa de la raíz puede variar de blanca a naranja, siendo este último tipo más rico en beta-caroteno o provitamina A^{23,24}.

2.2.3 Composición y usos del camote:

En el siguiente cuadro se presenta la composición nutricia del camote, destacándose además de los hidratos de carbono, el alto contenido de vitamina A o su precursor.

Tabla 3. Composición nutricia de 100 gramos de camote asado²⁴.

Componente	Contenido	Unidad
Agua	73,00	%
Hidratos de carbono	25,00	g
Proteína	1,75	g
Lípidos	-	g
Calcio	28,20	mg
Fósforo	55,40	mg
Fierro	0,45	mg
Potasio	350,00	mg
Sodio	9,70	mg
Vitamina A (valor)	21.895,00	UI
Tiamina	0,07	mg
Riboflavina	0,80	mg
Niacina	0,12	mg
Acido ascórbico	24,60	mg
Valor energético	101,00	kcal

La raíz tuberosa posee un alto porcentaje de hidratos de carbono, principalmente almidón, que en algunos tipos sobrepasa el 25% del peso fresco del producto. El almidón se

descompone químicamente en la cocción liberando maltosa, dextrina y otros azúcares, que junto con pequeñas cantidades de sacarosa, contribuyen a dar el sabor dulce a este producto.

El uso en otros países, donde forma parte básica de la dieta y se le incluye a diario en los diversos platos, es marcadamente distinto al uso que se le da en México, en donde se consume casi de manera exclusiva en productos de repostería, a pesar de que cada vez es más difícil encontrar dulce o confitados de camote, los que eran habituales hace algunos años. Entre otros usos están:

- El consumo de las raíces frescas, o de las hojas procesadas como forraje, almidón, harina, caramelos, medio de propagación o materia prima barata para la industria y alcohol. Las raíces reservantes que es el objetivo de su manejo, se utiliza tanto en seco como en fresco, como planta ornamental.
- En ensaladas para mujeres embarazadas, ya que estimula la secreción láctea.
- Para acompañar algunos potajes, como los cebiches.
- Algunas mujeres inglesas usan crema de camote como un auxiliar contra los efectos de la menopausia (aunque esto todavía no está comprobado científicamente a pesar de haber ya varios estudios). Esto se usa sobretodo en Inglaterra donde también se cree que ayuda a aumentar la densidad de los huesos, aliviar síntomas de la menstruación y contribuir a reducir el dolor de senos, la depresión, el sobrepeso y la pérdida de la libido²⁵.

2.3 Mafafa (*Xanthosoma sagittifolium*)

2.3.1 Características Generales

Reino: Plantae

Filo: MAGNOLIOPHYTA

Clase: Liliopsida

Orden: Arales

Familia: Araceae

Género: Xanthosoma

Especie: sagittifolium



Otras especies: *X. brasiliense*, *X. atrovireus*, *X. violaceum*

Entre algunos nombres comunes están: Mafafa, Otoe, yautía, tiquisque, tiriquirque, quequexque, etc.

La yautía es originaria de América tropical, fue dispersándose posteriormente al sureste de Asia, las islas del Pacífico y África donde se introdujo en el siglo XIX.

Generalmente crece en los claros de la selva, y lo hace rápidamente hasta alcanzar la edad reproductora, antes de que el claro se cierre.

En su *hábitat* natural crece en la sombra del bosque, pero en cultivos comerciales se desarrolla a pleno sol. Requiere suelos bien drenados y, aunque no tolera agua permanente, prefiere suelos con buen contenido de humedad. La temperatura media debe ser mayor a 20° C, para un adecuado desarrollo, altitudes bajas o medianas (950 m). Crecen mejor con una precipitación pluvial de 140 a 200 mm.

2.3.2. Descripción botánica

El género *Xanthosoma* es un miembro de la familia de las Aráceas a la que pertenecen varias plantas cultivadas y utilizadas para la alimentación en regiones tropicales. Existen entre 30 a 40 especies de yautía (*Xanthosoma spp.*) que crecen dispersas en el trópico, de las cuales 5 a 6 son fuentes importantes de alimento. Es una planta terrestre, común en las orillas de los ríos, con grandes raíces que son comestibles después de su cocimiento. La planta no tiene tallo, sus hojas son grandes, acorazonadas de 12 a 25 cm de ancho. Las flores machos están separadas de las hembras por órganos neutros y tienen anteras entrelazadas que se abren en la cúspide. Los ovarios tienen estilos cortos, coronados, con muchos óvulos.

La raíz es un rizoma tuberoso, rodeado de tubérculos de menor tamaño, los cuales constituyen la parte comestible. La capacidad de producción es de 30 a 60 ton por hectárea. Los tubérculos son duros, con corteza oscura y pulpa blanca.

2.3.3 La planta y su cultivo

La utilización de semilla originada en ápices de tallos cultivados *in vitro* cuadruplica el rendimiento y aumenta la proporción de cosecha exportable de 40 a 80%, por eliminación del virus de la malanga.

Prácticas culturales y producción:

La siembra se efectúa en camellones cuando la cosecha será semimecanizada. Siembras muy superficiales, producen numerosos brotes laterales que disminuyen el rendimiento.

El follaje se desarrolla en los primeros seis meses del trasplante, formando la mayor parte de la planta. Entre los dos a cuatro meses siguientes el follaje permanece constante, pero los tallos aumentan de peso.

Los tallos o cornos están listos para cosecharse cuando el follaje empieza a secarse, generalmente, antes que aparezcan las inflorescencias. Los rendimientos son variables, dependiendo de la densidad de siembra, especie, variedad, clima, suelo y prácticas culturales. Plantas sembradas aisladamente en buenos suelos pueden rendir 5 K cada una. En general, se puede indicar que plantaciones en monocultivo tienen rendimientos entre 10 y 20 ton/ha en condiciones poco intensivas de cultivo y entre 20 y 40 ton/ha en plantaciones comerciales intensivas y mecanizadas.

Principales plagas y enfermedades.

Control:

El principal problema del cultivo es el "mal seco", enfermedad producida por el complejo de hongos (*Rhizoctonia* y *Phvtium*) y bacterias (*Erwinia*, *Pseudomonas*) que ataca a las plantas jóvenes, produciendo el marchitamiento del follaje y la pudrición de la planta, como vemos el control de la enfermedad es muy difícil, recomendándose medidas preventivas como buen drenaje sembrar en camellones y rotación de cultivos. También se ha encontrado ataque por *Cercospora chevalieri*, *C. verruculosa*, *Panctellina solteroi*; y *Sclerotium rolfsii*.

Tecnología de cosecha y poscosecha:

La cosecha se realiza diez a doce meses después de la siembra, cuando el follaje se torna amarillo y se empieza a secar. En las plantaciones comerciales para exportación, la extracción de las raíces se puede efectuar en forma manual o mecanizada, luego se recogen, lavan, desinfectan y se colocan en cajas en cámaras refrigeradas.

2.3.4 Perspectivas de mejoramiento del cultivo

Diversidad genética:

Existe mucha variabilidad intra e inter especies en *Xanthosoma*, la que no puede definirse por no haberse precisado la posición taxonómica de las especies cultivadas por sus tallos subterráneos. Las variedades cultivadas han sido asignadas a cuatro especies: *X. sagittifolium*, *X. violaceum* (*X. nigrum*), *X. atrovirens* y *X. caracu*, pero algunos cultivares no han podido ser asignados a ninguna de ellas. Además, los caracteres diferenciadores entre especies y cultivares (forma de hoja, nervadura, color de peciolo, ramificación de tallos subterráneos, resistencia a enfermedades) aún no están claramente definidos.

Otras especies del mismo género, que tienen como comestible son *X. jacquini* ("huitina", "uncucha") y *X. helleborifolium* ("mano abierta"), entre otros. Una especie del mismo género que se utiliza mucho con fines ornamentales es *X. purpuratum* Krause ("oreja de elefante").

2.3.5 Composición y usos de la Mafafa:

Los tallos subterráneos tuberosos contienen entre 15 y 39% de hidratos de carbono, 2 a 3% de proteína y 70 a 77% de agua, con valor nutritivo semejante a la papa, con igual o mayor digestibilidad. En la tabla 4 se presentan la composición nutricional de la Mafafa.

Tabla 4. Contenido de Nutrientes por 100 g de porción comestible *Xanthosoma spp.* ²⁶

NUTRIENTE	CANTIDAD
Agua(g)	65.9
Proteína (g)	1.7
Grasa (g)	0.3
Hidratos de Carbono totales (g)	30.9
Fibra cruda (g)	0.6
Ceniza (g)	1.2
Calcio (mg)	14
Fósforo (mg)	56
Hierro (mg)	0.8
Actividad de vitamina A (µg)	10
Tiamina (mg)	0.13
Riboflavina (mg) 0.03	0.03
Niacina (mg)	0.7
Acido ascórbico (mg)	5
Valor energético (kcal)	132

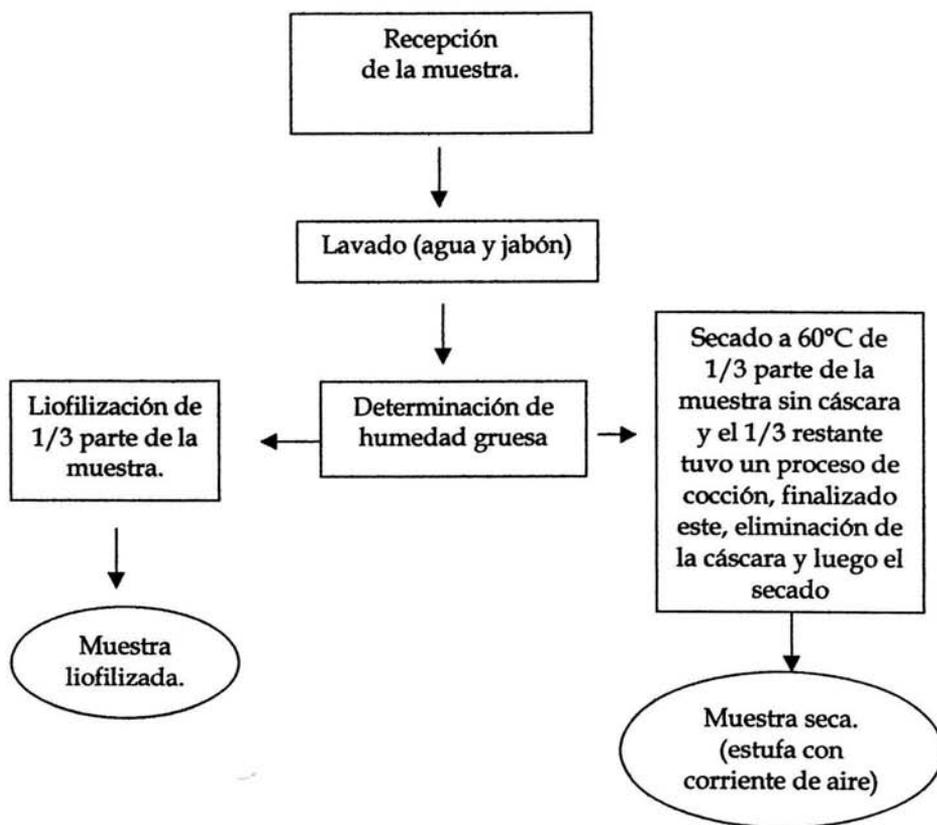
La parte comestible es el cormo o tallo que es una excelente fuente de hidratos de carbono, que se consume cocido. Se puede consumir cocida en agua como se hace con otros tubérculos, también puede ser consumida horneada o frita en aceite. Se puede obtener una harina previa cocción y deshidratación. La raíz es también utilizada como fuente de energía en alimentación animal.

Un uso secundario es el de las hojas tiernas y cocidas, como relleno de carnes o como espinacas, más común que en el taro (*Colocasia esculenta*).

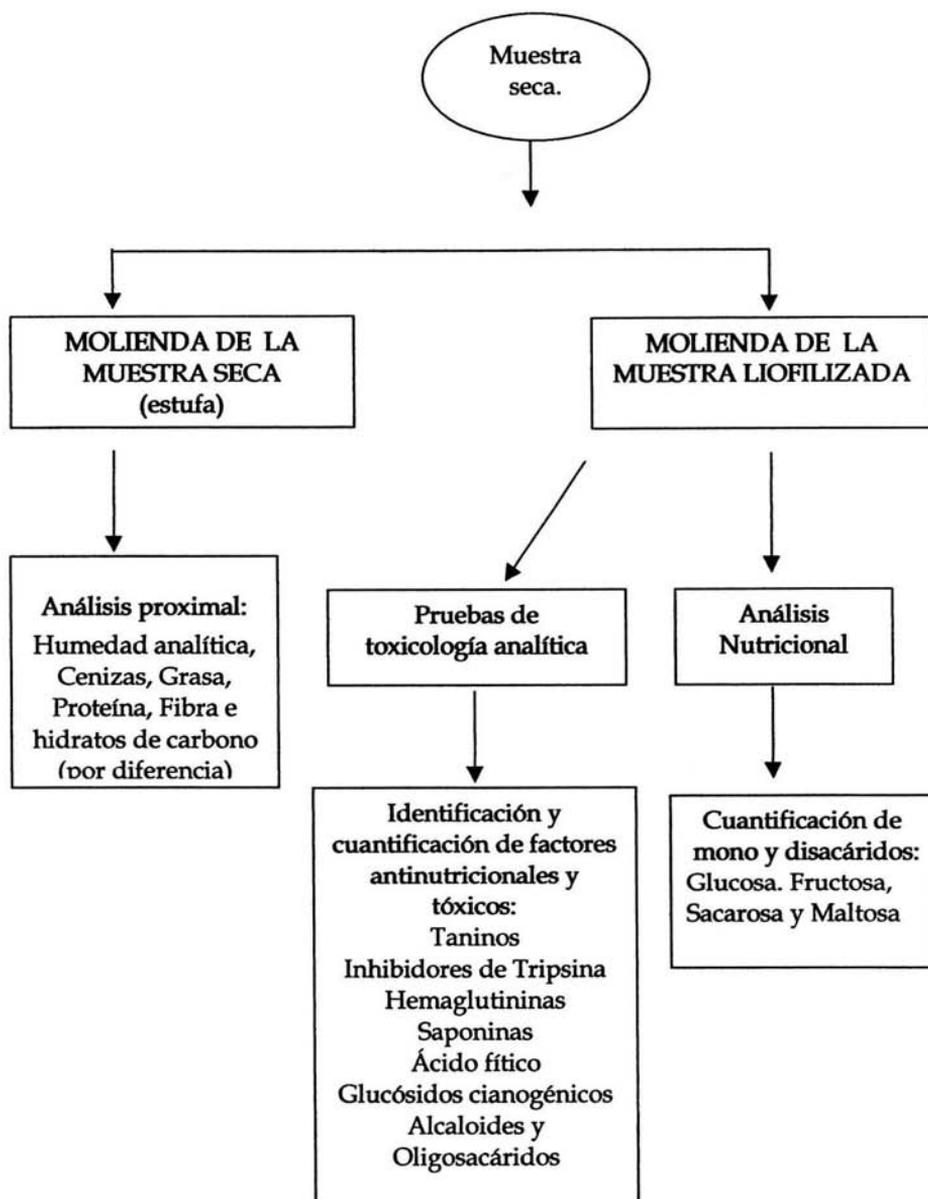
El mercado en los países amazónicos está principalmente en las poblaciones ubicadas en la región. No obstante, existe potencial para exportar a EE.UU. y otros países desarrollados, como lo hacen Costa Rica y Puerto Rico. Asimismo, existe potencial para industrializar los cormos y comercializar en estos mercados^{27,28}.

METODOLOGÍA.

1. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA.



2. DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO.



3. INFORMACIÓN ACERCA DE LA MUESTRA

3.1 Procedencia de la muestra:

A) PAPA VOLADORA

La muestra se adquirió en la región de Ayotzinapan, Cuetzalán, Puebla. 1-Feb-2003

Coordenadas: 20° 03.300'N

Altura: 570 m sobre el nivel del mar

97° 32.014'O

B) MAFAFA

La muestra se adquirió en la región de Ayotzinapan, Cuetzalán, Puebla. 1-Feb-2003

Coordenadas: 20° 03.469 'N

Altura: 430 m sobre el nivel del mar

97° 31.423'O

C) CAMOTE

La muestra se adquirió en el supermercado Wall-Mart ubicado en la calle de San Francisco, Col. del Valle. 9-Feb-2003

3.2 Tratamientos después de la recepción:

2/3 de la muestra se mantuvieron a temperatura ambiente durante 24 horas en bolsas de plástico selladas, previa al secado a la estufa y la determinación de humedad.

El otro 1/3 de la muestra se mantuvo en congelación en bolsas de plástico selladas mientras se sometían al liofilizado y a la determinación de humedad.

4. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA.

4.1 Conservación de la muestra:

Una vez recibida la muestra, se determinó el contenido de humedad total, para posteriormente referir los resultados en base original. El secado tuvo como objetivo dar condiciones adecuadas a la muestra para su posterior análisis. En ambos métodos (secado a la estufa y liofilización), el fundamento de estos es conservar la muestra reduciendo el contenido de agua, de tal manera que se evite la descomposición de la muestra por la actividad química o microbiana^{6,28}.

La cantidad total de cada una de las muestras fue dividida en tres de tal manera que un tercio crudo fue secado (sin cáscara), otro tercio fue sometido a cocción (con cáscara) y luego secado (sin cáscara) y el último tercio fue liofilizado (sin cáscara).

* Secado

Para el tratamiento térmico se pesaron 601 g de Papa voladora, 767.8 g de Camote y 326.7 g de Mafafa ya pelados se sometieron a secado por un periodo de 24 horas a $55^{\circ}\text{C} \pm 3$ en una estufa con corriente de aire (Lab-Line Imperial III, Radiant Heat Oven Modelo 293 A). Terminado el tiempo de secado, la muestra fue colocada en un bote de plástico y se almacenaron para su posterior molienda.

* Cocción

Para el proceso de cocción se pesaron 925.7 g de Papa Voladora y 756.5 g de Camote con cáscara los cuales fueron sometidos por separado a ebullición durante 30 minutos, en el caso de la Mafafa los 517.4 g que se pesaron, fueron sometidos a 40 minutos en ebullición, posteriormente el líquido de cocción se eliminó y a cada una de las raíces se les eliminó la cáscara para proceder con el secado por un periodo de 48 horas a $55^{\circ}\text{C} \pm 3$ en una estufa de

aire. Terminado el tiempo de secado, la muestra fue colocada en un bote de plástico y se almacenaron para su posterior molienda.

*** Liofilización**

735.6 g de Papa Voladora, 410.5g de Camote y 249.3 g de Mafafa sin cáscara se dividieron en lotes de aproximadamente 90 - 120 g. Cada lote se sometió a congelamiento rápido con nitrógeno líquido, posteriormente se sometió a un proceso de Liofilización (Liofilizadora Labconco Freeze Dryer Modelo 4.5) por un periodo de 72 horas, a una temperatura no mayor a -50°C y una presión de 10 micrómetros de mercurio. Al terminar la liofilización, las muestras fueron colocadas en un bote de plástico y se almacenaron en un lugar sin luz para su posterior molienda.

*** Molienda**

Las muestras secas a la estufa se les determinó el análisis proximal y a las liofilizadas se les detrerminaron los factores antinutricionales, tóxicos y demás pruebas. Para poder llevar a cabo estos análisis correctamente, fueron molidas en un molino Tomas Wiley Laboratory Hill Mod. 4, pasadas a través de una malla de 1.0 mm de diámetro y posteriormente por la malla de 0.5 mm.

4.2 ANÁLISIS PROXIMAL

✂ Determinación de Humedad

Fundamento

Es un método que involucra la determinación de la pérdida de peso debida a la evaporación de agua en el punto de ebullición o temperaturas cercanas a él. La proporción de agua perdida aumenta al elevar la temperatura; por lo tanto, es importante comparar sólo los resultados obtenidos usando las mismas condiciones de secado, más aún, si es factible que ocurra alguna descomposición. A su vez, la pérdida en peso depende de diversos factores como son: tamaño de la partícula, peso de la muestra, tipo de charolas y las variaciones de temperatura entre una y otra charola en la estufa.

Material y reactivos

- 3 charolas de aluminio
- Balanza analítica (Sartorius Analytic)
- Estufa de vacío (Lab-Line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- Desecador de vidrio

Procedimiento (Técnica descrita por la AOAC - 934.01)²⁹

Las charolas de aluminio se colocaron en la estufa de vacío hasta que éstas alcanzaron peso constante (aproximadamente 24 horas), el cual fue registrado. Posteriormente se pesaron aproximadamente 3 gramos de cada raíz molida tanto de la cruda como de la cocida. Las charolas con la raíz se introdujeron en una estufa de vacío, la cual mantuvo las siguientes condiciones: Presión no menor a 15 mm de Hg y la temperatura fue modificada de

60-65°C a 80°C (esto debido a la que las muestras presentaron un alto grado de higroscopía), y durante aproximadamente 96 horas.

Durante el tiempo en que las charolas con las raíces permanecieron en la estufa de vacío, se realizaron pesadas periódicas de las mismas; sacándolas de la estufa y colocando inmediatamente en un desecador donde permanecían aproximadamente 15 minutos; y después cada charola con las raíces molidas fue pesado en una balanza analítica, hasta que se alcanzó el peso constante.

La determinación se hizo por triplicado

Cálculos

$$\text{Muestra seca} = \text{peso charolas} + \text{residuo seco} - \text{peso charola}$$

$$\text{Contenido de humedad} = \text{muestra húmeda} - \text{muestra seca}$$

$$\% \text{ de humedad} = (\text{contenido de humedad} / \text{peso de muestra húmeda}) \times 100$$

✂ Determinación de cenizas

Fundamento

La determinación de cenizas se basa en la destrucción de la materia orgánica contenida en una matriz alimentaria, considerándose a las cenizas como el residuo inorgánico que queda después de incinerar dicha materia orgánica en una mufla²⁸.

Material y reactivos

- 3 crisoles de porcelana
- Desecador de vidrio
- Mechero bunsen
- Campana de extracción

- Balanza analítica (Sartorius Analytic)
- Mufla (Heraew Hanau)

Procedimiento (Técnica descrita por la AOAC - 942.05) ²⁹

Los tres crisoles se colocaron en la mufla a una temperatura de 500°, hasta alcanzar peso constante el cual se registró.

En cada crisol a peso constante se colocaron aproximadamente 3 gramos de cada raíz seca tanto cruda como cocida, previamente molido.

El crisol con la raíz se colocó en la flama de un mechero con el fin de carbonizar el residuo hasta que se observó un mínimo desprendimiento de humo lo que indicaba la eliminación de restos de materia orgánica. Posteriormente los crisoles se introdujeron en la mufla, la cual mantenía una temperatura entre 500°C y 550°C.

Después de aproximadamente 2 horas los crisoles fueron colocados en un desecador por aproximadamente 20 minutos y fueron pesados en la balanza analítica. Posteriormente se realizaron pesadas periódicas de los crisoles hasta que éstos alcanzaron peso constante, los cuales también se registraron.

La determinación se hizo por triplicado.

Cálculos

$$\text{Cantidad de cenizas} = \text{peso crisol} + \text{cenizas} - \text{peso crisol}$$

$$\% \text{ de cenizas} = (\text{cantidad de cenizas} / \text{peso muestra}) \times 100$$

✂ Determinación de grasa cruda

Fundamento

Los constituyentes grasos de las materias orgánicas son diversas sustancias lipídicas. El contenido de grasa es aquel que puede ser extraído por los disolventes no polares como lo son el éter de petróleo y éter etílico. La determinación se basa en la extracción con una fracción ligera de éter de petróleo o con éter etílico del material seco y molido en un aparato de extracción continua en el que las gotas condensadas del disolvente caen sobre la muestra contenida en un recipiente poroso o dedal, alrededor del cual pasan los vapores calientes del disolvente²⁸.

Material y reactivos

- ❑ Aparato de extracción Goldfish (Labconco Mod 35001-00CV)
- ❑ 3 vasos de borde esmerilado (Labconco 35051)
- ❑ 3 porta dedales de vidrio
- ❑ 3 anillos metálicos para extracción Goldfish
- ❑ 3 tubos recuperadores de disolvente
- ❑ 3 cartuchos de celulosa de 22 x 80 mm
- ❑ Estufa de vacío (Lab-Line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- ❑ Balanza analítica (Satorius Analytic)
- ❑ Bomba de recirculación (Little Grant pump Mod. 1)
- ❑ Éter de petróleo

Procedimiento (Técnica descrita por la AOAC - 920.39)²⁹

Se colocaron los vasos esmerilados en la estufa de vacío hasta que éstos alcanzaron peso constante el cual fue registrado.

En los cartuchos de celulosa se colocaron aproximadamente 3.5 g de las raíces secas tanto crudas como cocidas previamente molidas, posteriormente los cartuchos se taparon con algodón introduciéndose a los porta dedales de vidrio y se colocaron en el compartimento de extracción de Goldfish.

En los vasos esmerilados se colocaron aproximadamente 50 mL de éter de petróleo y fueron colocados con ayuda del anillo metálico en el aparato de extracción, el cual a su vez se conectó con una bomba de recirculación de agua helada.

Finalmente se subió la parrilla de calentamiento del equipo y se trabajó con el control de calentamiento en la posición LOW durante un periodo de 2 horas y media. Al término de éste tiempo se bajaron las parrillas de calentamiento y se sacaron los porta dedales, sustituyéndose por el tubo recuperador de disolvente y se volvió a colocar nuevamente el vaso para iniciar de nuevo el calentamiento, cuando los vasos se encontraron libres de disolvente, fueron retirados del equipo y colocados durante unos minutos en una campana de extracción, para asegurar la completa remoción del disolvente. Los vasos fueron colocados en la estufa de vacío hasta alcanzar peso constante, el cual se registró.

La determinación fue hecha por triplicado

Cálculos

$$\text{Cantidad de grasa} = \text{peso vaso} + \text{grasa} - \text{peso vaso}$$

$$\% \text{ grasa} = (\text{Peso grasa} / \text{Peso muestra}) \times 100$$

✂ Determinación de fibra cruda

Fundamento

La fibra cruda es el residuo orgánico insoluble y comestible que queda después de tratar la muestra desengrasada en las condiciones descritas a continuación; hidrólisis ácida con ácido sulfúrico, seguido de una hidrólisis alcalina, lavado con alcohol con una posterior incineración del material insoluble, de tal modo que por diferencia es posible obtener el contenido de hidratos de carbono no degradables. Este tratamiento empírico proporciona la fibra cruda, que consiste principalmente en celulosa y cierta proporción de lignina y hemicelulosa contenidas en la muestra original²⁸.

Material y reactivos

- ❑ 3 vasos de Berzelius de 600 mL (Kimax)
- ❑ Estufa de vacío (Lab-Line Duo Vac Oven Mod. 3620)
- ❑ Balanza analítica (Satorius analytic)
- ❑ Mufla (Heraew Hanau)
- ❑ Mechero bunsen
- ❑ Aparato de digestión (Labconco)
- ❑ 3 crisoles de porcelana
- ❑ 3 matraces de vidrio Kitasato (Kimax)
- ❑ Silicato de aluminio
- ❑ Embudo buchner tipo california
- ❑ Solución de H₂SO₄ al 1.25% (m/v)
- ❑ Solución de NaOH al 1.25% (m/v)
- ❑ Solución antiespumante
- ❑ Alcohol etílico

Procedimiento (Técnica descrita por la AOAC - 962.09)²⁹

La muestra desengrasada obtenida a partir de la determinación de grasa, se pasó cuantitativamente a los vasos de Berzelius que contenían aproximadamente 0.5 g de silicato de aluminio.

A continuación se le adicionaron 200 mL de H₂SO₄ al 1.25% (m/v), en ebullición, así como unas gotas de antiespumante y perlas de vidrio para controlar la ebullición.

Los vasos se colocaron inmediatamente en el aparato de digestión, el cual estaba previamente calentado, y se dejó digerir por un tiempo de 30 minutos exactos. Al término de éste tiempo se vació el contenido sobre un embudo tipo california y se filtró con ayuda de vacío, lavando las raíces molidas con agua (destilada) caliente hasta que se eliminó el ácido.

Nuevamente las raíces molidas fueron transferidas cuantitativamente al vaso Berzelius, y se adicionaron unas gotas de antiespumante y 200 mL de NaOH al 1.25% (m/v) hirviendo y se mantuvieron en el aparato de digestión por un tiempo de 30 minutos exactos. Transcurrido éste tiempo, se vació nuevamente al embudo buchner tipo california y se filtró, lavando las raíces con agua caliente hasta que se logró la eliminación del álcali y finalmente se agregaron 25 mL de alcohol etílico.

Cada raíz se trasladó a un crisol de porcelana el cual previamente fue puesto a peso constante registrando éste valor. Se colocó en la estufa de vacío para su secado hasta que alcanzó peso constante. (se registró el peso del crisol más raíz digerido)

A continuación se carbonizó la raíz con un mechero y se introdujo en la mufla, los crisoles fueron pesados en diferentes periodos de tiempo hasta que éstos alcanzaron peso constante registrando el valor obtenido.

La determinación se hizo por triplicado.

Cálculos

$$\% \text{ de fibra} = \left[\frac{(\text{Peso}_{\text{crisol con raíz después del secado}} - \text{Peso}_{\text{crisol}} + \text{cenizas})}{\text{peso}_{\text{muestra}}} \right] \times 100$$

✂ Determinación de proteína cruda

Fundamento

Para la determinación de proteína, es comúnmente empleado el método Kjeldahl, que en realidad determina el nitrógeno total contenido en una matriz alimenticia. Este método se basa en la combustión en húmedo de la muestra por calentamiento con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores metálicos y de otro tipo para reducir el nitrógeno orgánico de la muestra hasta nitrógeno inorgánico en forma de amoníaco, el cual queda en solución en forma de sulfato de amonio. El digerido, una vez alcalinizado, se destila directamente o por arrastre con vapor para desprender el amoníaco, el cual es atrapado en una solución de ácido bórico y posteriormente titulado.²⁹

El contenido de proteína es 6.25 veces el contenido de nitrógeno, pues, por lo general, las proteínas tienen 16% de nitrógeno.

Las reacciones antes descritas se muestran a continuación:



Material y reactivos

- Digestor (Tecator 20 - 40)
- Equipo de microdestilación (Kjeltec Auto analyzer Tecator Mod 1030)
- 4 tubos de digestión de 75 mL (Tecator)
- Mezcla digestiva (3 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 50 mL de H_3PO_4 y 430 mL de H_2SO_4 concentrado)
- Peróxido de hidrógeno al 30%
- Sulfato de potasio (reactivo analítico)
- Solución de NaOH al 40%
- Solución de ácido bórico con indicadores (se pesaron 5 g de ácido bórico, 35 mL rojo de metilo y 10 mL de verde de bromocresol y se llevó a un volumen final de 1L)
- Solución de HCl 0.01 N valorada

Procedimiento (Técnica descrita por la AOAC - 976.01) ²⁹

El contenido de proteína se determinó con el método AOAC pero con las siguientes modificaciones: 1) se emplean de 100 a 200 mg de muestra y se agregaron 0.5 g de K_2SO_4 y 3 mL de mezcla digestiva (3 g de CuSO_4 , 50 ml de H_3PO_4 y 430 ml de H_2SO_4 concentrado) en los tubos de digestión y se colocaron en el digestor; 2) después de 15 minutos en el digestor a 370° C, se sacaron los tubos y se mantuvieron a temperatura ambiente 5-10 minutos. Se adicionaron 1.5 mL de H_2O_2 al 30% y se colocaron de nuevamente en el digestor a 370° C hasta que se logró transparencia en la mezcla y 3) se realizó la destilación recibiendo en ácido bórico con indicadores (ácido bórico 1%, rojo de metilo 0.0007% y 0.001% de verde de bromocresol), valorando con HCl 0.01 N normalizado. El objetivo de modificar la mezcla digestiva y utilizar peróxido de hidrógeno fue lograr la completa oxidación de la materia orgánica y reducir la pérdida de nitrógeno por formación de aminas o nitrógeno libre,

favoreciendo la formación de sulfato de amonio. Se utilizó como blanco dextrosa. Esta determinación se realizó con $n = 3$.

n = repeticiones realizadas en la determinación.

Cálculos

$$\% \text{ de nitrógeno} = [(M - Y) \times N \times \text{meq} \times 100] / m$$

$$\% \text{ de Proteína} = \% \text{ nitrógeno} \times F$$

M : mL titulación de la muestra

Y: mL titulación del blanco

N: Normalidad de la solución de HCl

meq: miliequivalentes de nitrógeno (0.014)

m : peso de la muestra en gramos

F: factor de conversión de proteína que en el caso del residuo se empleó el valor de 6.25

✧ Determinación de Hidratos de Carbono

Para poder determinar este componente se siguió la siguiente fórmula:

$$\% \text{Hidratos de Carbono} = 100 - (\% \text{Humedad} + \% \text{ Proteína} + \% \text{Cenizas} + \% \text{Fibra} + \% \text{Grasa})$$

4.3 IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE FACTORES TÓXICOS Y ANTINUTRICIONALES.

∞ Determinación del contenido de taninos³⁰

Fundamento

Se basa en la extracción de taninos con dimetilformamida, seguida de una centrifugación y adición de citrato férrico amónico a una alícuota obtenida a partir del sobrenadante obtenido de la centrifugación, de éste modo se da lugar a la formación de un complejo colorido del cual puede obtenerse espectralmente la absorbancia de dicha alícuota a una longitud de onda 525 nm. A su vez se emplea una curva de calibración utilizando un estándar de ácido tánico y de éste modo conocer el contenido de equivalentes de ácido tánico existentes en la alícuota del extracto.

Material y reactivos

- Parrilla con agitación magnética de 4 platos (Thermolyne Mod. SP -13025)
- Centrifuga (DINAC)
- Tubos de centrifuga con capacidad de 50 mL
- Magnetos
- Vortex (Lab-Line mod. 1290 super mixer)
- Espectrofotómetro (Sequoia-Turner Mod. 340)
- Pipetas con capacidad de 1, 5, 20 mL
- Pipetas graduadas con capacidad de 5 y 10 mL
- Tubos de ensaye (140 x 14 mm)
- Matraces aforados de 25 mL

- Solución patrón de ácido tánico de 2 g/L (Merck 773) (se pesaron 0.05 g de ácido tánico para ser llevados a un volumen final de 25 mL)
- Solución de amoníaco 8 g/L, como NH₃ (se tomaron 1.54 mL de hidróxido de amonio con densidad de 0.896 a 20°C y 29 % de pureza llevándose a un volumen final de 50mL)
- Solución de dimetilformamida 75% (v/v) (se tomaron 375 mL de dimetilformamida y se llevaron a un volumen final de 500 mL con agua)
- Solución de citrato férrico de amonio 3.5 g/L (se tomaron 0.35 g de citrato férrico amoniacal y se llevaron a un volumen final de 100 mL con agua) ésta solución se preparó 24 horas antes de la determinación.

Procedimiento

- Extracción

Se colocó aproximadamente 1 g de la raíz liofilizada y molida dentro de un tubo de centrifuga y se añadieron 25 mL de solución de dimetilformamida al 75%. Posteriormente se sometió el tubo a agitación durante 60 minutos en una parrilla, transcurrido éste tiempo se centrifugó el tubo por 10 minutos con una aceleración de 3000g.

- Preparación del blanco

Se tomó una alícuota de 1 mL del sobrenadante obtenido después de la centrifugación y se introdujo en un tubo de ensaye al cual se le agregaron 6 mL de agua desionizada y 1mL de solución de amoníaco (8 g/L) y se agitó durante unos segundos en un vórtex.

- Preparación de la muestra para el desarrollo de color

Se tomó una alícuota de 1 mL del sobrenadante obtenido después de la centrifugación y se introdujo en un tubo de ensaye al cual se le agregaron 5 mL de agua desionizada y 1mL de

solución de citrato férrico amoniacal (3.5g/L) finalmente se agregó 1 mL de amonio y se agitó durante unos segundos en un vórtex.

El blanco y la muestra se transfirieron después de 10 minutos a una celda de vidrio y se midió la absorbancia a 525 nm en el Espectrofotómetro.

Se realizaron 3 extractos de cada raíz y de cada uno se hicieron 3 determinaciones espectrofotométricas.

- Preparación de la curva patrón de ácido tánico

En 6 matraces aforados de 25 mL se colocaron respectivamente: 0, 1, 2, 3, 4 y 5 mL de la solución estándar de ácido tánico (2 g/L) y se aforó cada uno de los matraces con solución de dimetilformamida al 75%.

De cada matraz aforado se tomó 1mL de la solución y se adicionaron 5mL de agua desionizada, 1 mL de citrato férrico amoniacal, se agitaron durante unos segundos, después se agregó 1 mL de la solución de amoniaco y se volvió a agitar por unos segundos más.

El contenido de cada tubo se transfirió respectivamente a una celda de vidrio 10 minutos después de su preparación, y se midió la absorbancia a 525 nm en el espectrofotómetro.

Finalmente se construyó una curva patrón de la absorbancia en función de la concentración (μg ácido tánico/mL) con los datos registrados. (Ver anexo figura 6)

De cada matraz se tomaron 3 alícuotas con el fin de tener un triplicado de cada punto de la curva patrón.

Cálculos

El valor de absorbancia se convirtió a concentración con la curva patrón realizada

$$\% \text{ ac. Tánico } (\mu\text{g}/100 \text{ g muestra}) = [(\mu\text{g}_{\text{ac. tánico}} / \text{volumen}_{\text{alícuota}}) \times \text{volumen}_{\text{alíforo}}] / \text{g}_{\text{muestra}} \times 100$$

3 Determinación de inhibidores de tripsina³¹

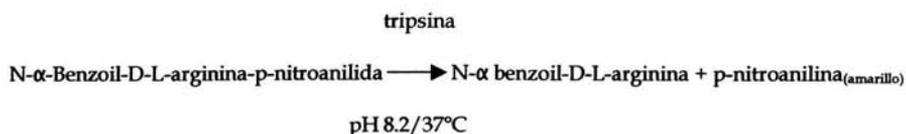
Fundamento

Se basa en observar la inhibición producida por un extracto acuoso de la muestra sobre una solución estándar de tripsina.

El extracto se pone en contacto con una solución estandarizada de tripsina y después de cierto tiempo se determina la actividad proteolítica remanente, por medio de un sustrato sintético (BAPNA), el cual producirá coloración al ser hidrolizado por la enzima, la cual se lee en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 410 nm, donde la coloración es inversamente proporcional al contenido de inhibidores de la muestra.

La actividad de inhibidores de tripsina se expresa en términos de unidades de tripsina inhibida (U.T.I), donde una unidad de tripsina se define arbitrariamente como un incremento de 0.01 unidades de absorbancia a 410 nm.

La reacción antes mencionada es la siguiente:



Material y reactivos

- Potenciometro (Corning Mod. 10)
- Parrilla con agitación magnética (Thermoline Mod. SP-13025)

- Baño de agua a 37°C (Grant Mod. 67530)
- Espectrofotómetro (Sequoia-Turner Mod. 340)
- Vortex (Lab-Line mod. 1290 super mixer)
- Tubos de ensayo
- Solución de NaOH 0.01 N
- Solución de ácido acético al 30 %
- Solución amortiguadora TRIS pH 8.2 y 0.05M (3.025 g de hidroximetil-amino-metano y 1.47 g de CaCl₂ 2H₂O se disolvieron en 450 mL de agua destilada, se ajustó el pH a 8.2 y se aforó a un volumen de 500mL)
- Solución BAPNA (100 mg de N- α -benzoil-D-L-arginina-p-nitroanilida-HCl se disolvieron en 2.5 mL de dimetil-sulfóxido y se diluyen a 250 mL con amortiguador TRIS el cual se calentó previamente a 37°C) esta solución se preparó el mismo día de la determinación.
- Solución estándar de tripsina 20 μ g/mL (se pesaron 4 mg exactos de tripsina bovina - SIGMA T-8253) y se disolvieron en 200 mL de HCl 0.001 N)

Procedimiento

- Preparación del extracto

Se pesó aproximadamente 1 g de la raíz liofilizada y molida en un vaso de precipitados y se adicionaron 45 mL de NaOH 0.01 N, posteriormente se ajustó el pH a 9.6 ± 0.2 y se aforó con NaOH 0.01N a 50 mL, se introdujo un magneto en el vaso y se colocó en agitación por un periodo de 2 horas y media a 300 r.p.m.

Transcurrido el tiempo se quitó el magneto del vaso y se dejó reposar el extracto por 30 minutos y posteriormente por decantación se obtuvo el extracto eliminándose el residuo insoluble.

- **Determinación de la actividad del extracto**

Se introdujeron dentro de un tubo de ensaye 0, 0.6, 1, 1.4 y 1.8 mL del extracto obtenido y se ajustó cada tubo a un volumen final de 2 mL con agua destilada. Los tubos se introdujeron en el baño de agua a 37°C y se adicionaron 2 mL de solución estándar de tripsina a 37°C y se mantuvieron así por 10 minutos exactos. Después se adicionaron 5mL de BAPNA a 37°C a cada tubo, se mantuvieron así por 10 minutos exactos a 37°C, finalmente se detuvo la reacción con adición de 1 mL de ácido acético al 30% y se homogeneizó.

En el caso del blanco después de agregar la solución estándar de tripsina, se le adicionó inmediatamente 2 mL de ácido acético para detener la reacción.

Los tubos de reacción después de un tiempo de reposo de 15 minutos se centrifugaron por 10 minutos, posteriormente se recuperó el sobrenadante para su lectura en el espectrofotómetro.

De cada tubo se realizó la lectura de transmitancia en el espectrofotómetro (ajustado a 100% de transmitancia con el tubo que contenía 0 mL del extracto) a una longitud de onda 410 nm.

La técnica fue ensayada previamente con un extracto de soya.

Se realizaron 3 extractos de inhibidores de tripsina por cada muestra y se hicieron tres determinaciones a partir de cada extracto.

Cálculos

El valor de transmitancia fue convertido a un valor de absorbancia la cual se multiplicó por 100, para convertir a unidades de tripsina inhibidas (UTI); se restó a cada valor obtenido el valor de la referencia que es el tubo al cual no se le agregó extracto. Después se dividió cada valor entre la cantidad de extracto empleada de tal modo que se

tienen UTI/mL. A continuación se relacionó el volumen de extracto con UTI/mL con un modelo de regresión lineal.

$$\text{UTI}/\text{mg}_{\text{muestra}} = \text{ordenada al origen}_{\text{regresión lineal}} \times (\text{volumen}_{\text{extracto}}/\text{mg}_{\text{muestra}})$$

Nota: La ecuación anterior es utilizada siempre y cuando los inhibidores de tripsina determinados muestren una cinética de inhibidores tipo Kunitz; esto es cuando el coeficiente de correlación de la ecuación de la recta sea -0.9 , de no de ser así se obtiene el promedio de un cuadruplicado y se reporta el valor.

∞ Determinación de hemaglutininas (prueba semicuantitativa)³²

Fundamento

La detección de hemaglutininas o lectinas se basa en la observación de la aglutinación de glóbulos rojos provocada por un extracto de lectinas proveniente de una muestra. La técnica incluye diluciones seriadas del extracto, en la cual se determina el punto final por una estimación visual de la aglutinación de los glóbulos rojos los cuales son lavados y activados con una solución de proteasa (pronasa), lo cual aumenta la sensibilidad de la aglutinación.

Material y reactivos

- Parrilla con agitación magnética (Thermoline Mod. SP-13025)
- Espectrofotómetro (Sequoia-Turner Mod. 340)
- Centrifuga para tubos (DYNAC)
- Tubos graduados de 15 mL para centrifuga
- Incubadora a 37°C (Blue-M)
- Adaptador para celdas de 10 x 75 mm (acondicionado a una abertura de 1 cm²)

- Kit de Microtitulación (Microtiter Kit cook Eng-Alexander Virginia USA)
- Placas tipo "V" para Microtitulación
- Dispositivo con espejo para la lectura de las placas de Microtitulación.
- Papel Whatman de filtración rápida
- Matraces aforados de 20mL
- Solución de pronasa 0.2% en solución salina
- Solución salina al 1% (m/v)
- Solución salina al 0.9% (m/v)
- Solución anticoagulante (heparina)
- Sangre de hámster (aproximadamente 50 gotas)

Procedimiento

- **Preparación del extracto**

Se pesó 1 g de la raíz liofilizada, desengrasada y molida, para posteriormente suspenderse, cada uno en 10 mL de solución salina al 1%.

La suspensión se sometió a agitación mecánica durante 2 horas a 300 r.p.m. a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo de agitación, el extracto se centrifugó durante 15 minutos con el fin de eliminar el residuo insoluble. El sobrenadante fue filtrado a través de un filtro de vidrio sobre un matraz aforado, llevando el extracto a un volumen final de 10 mL con solución salina al 1%.

Se realizaron 3 extractos de cada raíz y dos determinaciones por cada uno así como 1 extracto de frijol negro jamapa que se utilizó como control positivo.

- Preparación del paquete de eritrocitos

Lavado de eritrocitos

Se obtuvieron aproximadamente 50 gotas de sangre de hámster, las cuales fueron colocadas en un matraz de 25 mL que contenía heparina, posteriormente se diluyó la sangre con solución salina al 0.9% en una relación 1:5 v/v (sangre:solución salina), la sangre fue distribuida en 4 tubos graduados para centrifuga y se sometieron a centrifugación a 1500 r.p.m. durante 10 minutos, al término de éste tiempo se separó el sobrenadante y se volvieron a diluir los eritrocitos con la misma relación antes mencionada para volver a ser centrifugados bajo las mismas condiciones.

Esta operación se repitió 3 veces.

Finalmente el paquete de eritrocitos se diluyó a una concentración de 4% de eritrocitos, para lo cual se agregaron por cada 1 mL de eritrocitos 24 mL de solución salina al 0.9%

Sensibilización de eritrocitos

A la solución al 4% de eritrocitos, se agregó por cada 10 mL de solución, 1 mL de solución de pronasa al 0.2% en solución salina, fueron colocados en una incubadora durante 1 hora a 37°C y al término de éste tiempo la solución de eritrocitos se distribuyó nuevamente en tubos graduados para centrifuga y se centrifugaron a 1500 r.p.m. durante 10 minutos con el fin de eliminar la pronasa. Finalmente se sometieron los eritrocitos a 3 lavados con solución salina al 0.9% de la misma manera mencionada en el lavado de la sangre.

Después del último lavado el paquete de eritrocitos fue llevado a una suspensión al 4% con solución salina al 0.9%, para lo cual se consideró que por cada 1 mL de eritrocitos se agregaron 24 mL de solución salina.

Ajuste de la suspensión de eritrocitos

Se tomaron 0.1 mL de la suspensión de eritrocitos y se agregaron 4.9 mL de solución salina en una celda de vidrio, midiéndose inmediatamente el valor de transmitancia en el espectrofotómetro a 620 nm utilizando un adaptador de celdas que permitiera el paso de 1cm² de luz. (El espectrofotómetro fue ajustado a 100% de transmitancia utilizando como blanco solución salina al 0.9%). La lectura apreciada fue de 24.3% de transmitancia, considerándose adecuada para la determinación. (El valor de % de transmitancia debió estar en el rango de 24 - 29% T)

- **Microtitulación**

En las placas tipo "V" se colocaron, en cada pozo de cada hilera 50 µL de solución salina al 0.9% con un pipetero de gota (es necesario evitar tocar las paredes de los pozos).

Posteriormente se llenó el microdilutor con 50 µL del extracto y se procedió a realizar 12 diluciones sucesivas en forma de culebra japonesa, después se llenó el microdilutor con 50µL del extracto de referencia y se realizaron 12 diluciones sucesivas.

Finalmente en cada pozo se colocaron 50 µL de la suspensión de eritrocitos sensibilizada y ajustada. Las placas se rotaron en forma circular y se introdujeron a la incubadora a 37°C por 1 hora.

- **Lectura de las placas**

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se colocó la placa en el dispositivo de lectura y se reportó la máxima dilución que presentó aglutinación.

☞ Determinación de saponinas. Método de hemólisis³²

Fundamento

En el método, una suspensión de glóbulos rojos se hemoliza por acción de las Saponinas disueltas en un extracto salino de la muestra. La hemoglobina pasa de los glóbulos rojos a la solución, transformándola de una suspensión turbia a una roja translúcida, luego de dejarla en reposo, la parte no hemolizada sedimenta, y después de una hemólisis total, se encontrará en el fondo del recipiente una capa tenue compuesta de los estromas de glóbulos rojos.

La forma de acción de las Saponinas sobre el glóbulo rojo es que forman productos de interacción de diferente estabilidad con el colesterol, proteínas y fosfolípidos de la membrana, lo que afecta su actividad surgiendo entonces el rompimiento de la estructura y provocando hemólisis.

Material y reactivos

- ☐ Extractor de grasa Goldfish-Labconco
- ☐ Cartuchos de celulosa -Whatman, dimensiones 22 x 80 m
- ☐ Balanza analítica -Sartorius
- ☐ Rotavapor- Büchi, modelo R
- ☐ Centrífuga - Clay Adams, modelo DINAC
- ☐ Incubadora bacteriológica -Electric Company, modelo Blue M de convección gravitacional
- ☐ Espectrofotómetro -Coleman Junior, modelo 61A20, con celdas de vidrio - Perkin Elmer (dimensiones 10 x 75 mm) y adaptador de celdas que permiten el paso de 1 cm² de luz.
- ☐ Incubadora con agitación -Labline
- ☐ Micropipetas de gota -Cook Microtiter System, Dynatech Laboratories, inc., de 0.050 ml
- ☐ Microdilutores -Cook Microtiter System, Dynatech Laboratories, inc., de 0.050 ml

- Placas de Microtitulación reutilizables -Cook Microtiter System, Dynatech Laboratories, inc., tipo "U"
- Espejo adaptado para lectura de hemólisis en las placas de Microtitulación.
- Papel filtro Whatman No.1
- Solución de MeOH (R.A.) y agua destilada al 85 % (v/v)
- Eter de petróleo
- Solución de NaCl al 0.9 % (m/v)
- Heparina como anticoagulante de 5000 UI/ml
- Solución de proteasa (tripsina de páncreas porcino (SIGMA # T -8128) al 0.1 % en solución salina (0.9 %) (m/v)
- Solución estándar de Saponinas al 0.5 % en solución salina 0.9 %. el estándar de Saponinas es una mezcla 1:1 de digitonina (saponina de tipo esterooidal) de la casa Sigma y un extracto de quillaja (saponina de tipo triterpenoide) de la casa BDH.
- Sangre de conejo

Procedimiento

- Sensibilización de sangre de conejo

1.- La sangre con anticoagulante (0.1 ml de heparina de 5000 UI/ml para 5 ml de sangre) se transvasa a tubos de centrífuga para lavarla (3 veces) con solución salina 0.9 % en una proporción de sangre:solución salina de 1 :5.

2.- Centrifugar aproximadamente a 1500 r.p.m. por 15 min. y por decantación eliminar el sobrenadante.

3.- Después del tercer lavado, diluir el paquete al 4 %, por lo que por cada ml. Añadir 24 ml de solución salina 0.9 % y filtrar a través de gasa.

4.- Para la sensibilización por cada 10 ml. de glóbulos al 4 % agregar 1 ml. de solución de proteasa.

5.- Incubar por 1 hora a 37°C

6.- Lavar nuevamente (3 veces), centrifugando para eliminar la enzima a 1500 r.p.m. por 15 min. con solución salina 0.9 %.

7.- Medir el paquete y resuspender al 5 %, para lo cual por cada mL de glóbulos añadir 19 mL de solución salina al 0.9%.

8.- Colocar la suspensión de eritrocitos en un matraz, filtrando con gasa.

9.- Se tomaron 0.5 mL de la suspensión de eritrocitos, agitando para homogeneizar la solución y se agregaron 2 mL de solución salina, midiéndose inmediatamente el valor de transmitancia en el espectrofotómetro a 620 nm utilizando un adaptador de celdas que permitiera el paso de 1 cm² de luz. (El espectrofotómetro fue ajustado a 100 % de transmitancia con solución salina 0.9 %). La lectura 24% de transmitancia, considerándose adecuada para la determinación. (El valor de % de transmitancia debió estar en el rango de 24-29% T).

- **Extracción de Saponinas**

1.- Pesar 1.25 g de muestra desengrasada previamente con éter de petróleo.

2.- Colocar la muestra en los cartuchos de celulosa, ponerlos en los portadadales del Extractor Goldfish.

3.- Extraer con mezcla MeOH-H₂O (85:15) por 2 horas para extraer las saponinas a la máxima temperatura.

4.- Concentrar la solución a sequedad en el rotavapor a temperatura de 65°C.

5.- Resuspender en solución salina 0.9 % y filtrar con vacío, pasando el filtrado a un matraz y aforar a 25 ml.

6.- Hacer una microtitulación en placas de tipo "U", colocando en cada pozo 50 µl de solución salina 0.9 %, con el pipeteador de gota.

7.- Con el microdilutor poner 50 µl del extracto o del estándar y hacer diluciones sucesivas desde el primer pozo (siguiendo la hilera horizontal hasta donde se desee) y al finalizar se elimina el residuo de la última dilución.

8.- Una vez hechas las diluciones se colocan con el pipeteador de gota 50 µl de la suspensión de glóbulos ya sensibilizados y ajustados, teniendo un control negativo con solución salina 0.95 sin extracto problema y otro positivo con solución salina 0.9% y el estándar de saponina al 0.5% en solución salina al 0.9%.

9.- Rotar la placa e incubar 1 hora a 37°C

10.- Una vez transcurrido el tiempo de incubación se pone la placa con todo cuidado en el dispositivo especial para poder realizar la lectura. Para obtener el título de hemólisis se observó a través del espejo adaptado al dispositivo y se localizó en la hilera horizontal de la placa el número que correspondió al último pozo donde se apreció la hemólisis, y que resulta ser la mínima cantidad de muestra que produce prueba positiva de hemólisis.

Lectura de placas

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se colocó la placa en el dispositivo de lectura y se reportó la máxima dilución que presentó hemólisis.

☞ Determinación de ácido fítico³³

Fundamento

Este método emplea una columna de intercambio iónico, con el fin de purificar los extractos del ácido fítico, eliminando las fracciones menores de fosfatos de inositol, permitiendo una

cuantificación real del ácido fólico. A su vez, la determinación colorimétrica se basa en la medida de la disminución de la absorbancia del complejo FeCl_3 -ácido sulfosalicílico (Reactivo de Wade) debido al enlace del Fe(III) con el ácido fólico.

Material y reactivos

- ❑ Parrilla con agitación magnética (Thermoline Mod. SP-13025)
- ❑ Espectrofotómetro (Sequoia-Turner Mod. 340)
- ❑ Centrífuga para tubos (DYNAC)
- ❑ Vórtex (Lab-Line mod. 1290 super mixer)
- ❑ Tubos para centrífuga
- ❑ Jeringas de 3 mL (plastipak)
- ❑ Gradilla metálica para las jeringas
- ❑ Probetas de 20 mL
- ❑ Vasos de precipitados de 100 mL
- ❑ Tubos de ensaye 10 x 160 mm
- ❑ Solución de NaOH 1 N
- ❑ Solución de NaCl 0.1 N
- ❑ Solución de NaCl 0.7 N
- ❑ Solución de HCl 0.65N
- ❑ Agua desionizada
- ❑ Resina de intercambio iónico Dowex AG1 X 8 (200-400 mesh, Bio Rad no. de catálogo 140-141)
- ❑ Solución estándar de ácido fólico (1000 μg ácido fólico/ mL), (se pesaron exactamente 0.080 g de fitato de sodio con pureza del 94% y humedad de 8.3% y se aforaron con agua desionizada hasta un volumen de 50 mL)

- Reactivo de Wade (se pesaron 0.03 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (sigma F-2877) y 0.3 g de ácido sulfosalicílico (sigma S-0640) y se disolvieron en agua desionizada hasta un volumen de 100 mL, el reactivo fue preparado en el momento en que se hizo la determinación espectrofotométrica)

Procedimiento

- Preparación de la muestra

1 g de la raíz liofilizada y desengrasada, se colocó dentro de un vaso de precipitado, posteriormente se le adicionaron 20 mL de HCl 0.65 N, esto con el fin de disociar al fitato de complejos con minerales y proteínas. Esta solución se sometió a agitación vigorosa por un tiempo de 2 horas a temperatura ambiente y el extracto obtenido se transfirió cuantitativamente a un tubo para centrifuga, éste se sometió a centrifugación (aproximadamente 12000 r.p.m) a temperatura ambiente por 15 minutos, y se colectó el sobrenadante.

Se realizaron 3 extractos de cada raíz y tres determinaciones por cada uno.

- Preparación de la columna de intercambio iónico

Se pesó aproximadamente 1 g de resina de intercambio iónico y se hidrató con 1.2 mL de agua desionizada.

Aparte en una jeringa Plastipak se le colocó un tapón de fibra de vidrio en el fondo.

Posteriormente se vertió la resina hidratada sobre la jeringa (columna), es importante hacer notar que la resina debió quedar asentada uniformemente sobre la columna. Una vez que la resina se empacó bien en la columna, se hicieron pasar 15 mL de NaCl 0.7N y posteriormente se lavó con 60 mL de agua desionizada. (Se dejó agua suficiente, aproximadamente 5 cm de

altura por encima de la resina empacada, para que ésta no se secase) y así quedó lista hasta que se llevó a cabo la determinación.

- **Purificación por columna de intercambio iónico**

Se tomó una alícuota de 3 mL de los extractos recolectados y se diluyeron a 25 mL con agua desionizada. Esta alícuota fue ajustada a pH 6 con NaOH 1 N. Posteriormente se tomaron 10 mL de la alícuota diluida y se transfirió cuantitativamente a la columna preparada como se mencionó anteriormente. La columna fue lavada con 15 mL de NaCl 0.1 N con el fin de eliminar el fosfato inorgánico y fracciones menores de inositol y se desechó el agua de lavado. Finalmente se eluyó al fitato con 15 mL de NaCl 0.7 N, colectándose el extracto purificado.

- **Preparación de la curva patrón**

A partir del estándar de ácido fítico, se prepararon soluciones que fueron desde 5 hasta 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, esto se logró colocando 0.125, 0.250, 0.500, 0.750, 1.000 y 1.250 mL del estándar concentrado, en respectivos matraces aforados de 25 mL, cada matraz con la respectiva cantidad de estándar se aforó con agua destilada. De cada uno se tomaron 3 mL y se realizó la determinación espectrofotométrica como se indica posteriormente, a partir de la cual fue posible la construcción de una curva de calibración que relacionaba la concentración de ácido fítico y la absorbancia obtenida para la posterior cuantificación del ácido fítico en las tres raíces. (Ver anexo figura 7)

- **Determinación espectrofotométrica**

Se tomaron 3 mL de agua desionizada la cual fue usada como blanco, 3 mL de los estándares (soluciones de fitato de sodio con contenido de 5 a 50 µg/ml) y 3 mL del extracto purificado del residuo previamente ajustados a pH 3.

Estas cantidades de agua, estándares y extracto fueron colocadas en respectivos tubos de ensaye y se le agregó a cada tubo 1 mL del reactivo de Wade y se sometió a agitación en un vórtex por 5 segundos leyendo inmediatamente la absorbancia a 500 nm en el espectrofotómetro.

Cálculos

El valor de absorbancia fue convertido a concentración con la siguiente fórmula

$$Abs_{blanco} - Abs_{muestra} = Abs_{real}$$

Con el resultado obtenido se convirtió a concentración con la curva patrón realizada para obtener la cantidad de ácido fítico en g/mL

La cantidad de muestra se trata como sigue:

$$g_{muestra}/mL = (g_{muestra}/vol_{extracto})(dilución\ empleada^b)(Factor^c)$$

a: Volumen de HCl para la extracción 20 mL

b: dilución empleada 3mL/25mL

c: Factor 10mL/15mL, se refiere a la alícuota que se coloca en la columna de intercambio iónico y el volumen al que se lleva con la solución de NaCl 0.7N que lo eluye.

Este último valor obtenido se considera el 100%, así que se relaciona el valor de concentración de ácido fítico obtenido a partir de la absorbancia y se obtiene el porcentaje de ácido fítico en la muestra.

∞ Determinación de glucósidos cianogénicos³⁴

Fundamento

El ácido cianhídrico en cantidades traza, está ampliamente distribuido en el reino vegetal y se presenta principalmente en forma de glucósidos cianogénicos; sin embargo concentraciones relativamente altas de estos tóxicos son encontradas en algunas gramíneas, leguminosas, raíces feculentas y almendras de frutas.

Este método aprovecha la reacción sensible y específica de Guignard, la cual es ampliamente utilizada en pruebas cualitativas para la detección tanto de glucósidos cianogénicos como del propio HCN.

Para poder cuantificar el HCN total que potencialmente puede ser liberado se hace uso de una hidrólisis enzimática (por medio de α -glucosidasa) del correspondiente glucósido cianogénico; y para poder cuantificar en forma precisa el HCN liberado, es conveniente trabajar algunos pasos a temperaturas bajas. Con este método es posible detectar cantidades del orden de 5 μg de HCN, equivalentes a 46 mg de glucósidos cianogénicos referidos como linamarina.

Material y reactivos

- Incubadora (Blue -M)
- Congelador comercial

- Espectrofotómetro (Sequoia-Turner Mod. 340)
- Baño de agua con agitación (Lab-Line/Dubnoff incu-Shaker Mod. 357)
- Tubos de cultivo con tapón de rosca (PIREX)
- Papel con picrato de sodio alcalinizado (se cortaron tiras iguales de papel filtro Whatman no. 2, y se empaparon con una solución de picrato de sodio alcalinizada, éstas se dejaron escurrir y se colocaron en una estufa a secar a una temperatura de 55-60°C por 30 minutos).
- Solución de α -glucosidasa (1mg/mL) con activador (se pesaron 0.25 g de α -glucosidasa y se disolvieron con buffer de fosfatos pH 7 agitando suavemente, ya disuelta la enzima se adicionaron 1.7 g de nitrato de sodio el cual actuó como activador de la enzima, todo lo anterior se llevó a un volumen de 250 mL con el buffer de fosfatos pH 7)
- Solución de KCN equivalente a 100 μ g = HCN/mL
- HCl 0.5 N
- Buffer de fosfatos pH 7
- Solución de picrato de sodio alcalinizada (se disolvieron 2.5 g de ácido pícrico seguidos de 12.5 g de carbonato de sodio en agua destilada, y se llevó a un volumen de 500 mL)
- Fécula de maíz comercial (maizena).

Procedimiento

- Elaboración de la curva patrón

Se utilizó una solución estándar de HCN (1 μ g/mL), y con el fin de simular la interacción muestra-HCN se introdujo fécula de maíz como matriz alimentaria.

Se adicionaron 0, 0.05, 0.10, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 y 0.6 mL de la solución estándar en los tubos con tapón de rosca, a cada tubo se adicionaron previamente 500 mg de fécula de maíz y 5 mL de

buffer pH 7, se homogeneizó esta solución y se colocó en cada tubo una tira de papel indicador (previamente humedecida con algunas gotas de agua) en la boca del tubo y se cerraron los tubos herméticamente con un tapón de rosca.

Los tubos se mantuvieron a 40°C por un tiempo de 4 horas en un baño con agitación, al término de éste tiempo se adicionó a cada tubo 1 mL de HCl 0.5N en frío.

La liberación de HCN se realizó sacando de cada tubo el papel e introduciéndolo en un tubo de ensayo, posteriormente se agregaron 20 mL de agua destilada y se sometió cada tubo a agitación por un espacio de 2 minutos, al término de éste tiempo se filtró la solución y se mide absorbancia.

Se tomó la lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 520 nm.

- **Preparación de la muestra**

Se pesaron en tres tubos 100 mg y 500 mg de la raíz liofilizada respectivamente. A cada tubo se le adicionaron 5 mL de solución de α -glucosidasa fría, se homogeneizó esta solución en un vórtex con la muestra y se colocó la tira de papel indicador (humedecida previamente con algunas gotas de agua) en la boca del tubo y se cerró herméticamente con un tapón de rosca.

Los tubos se colocaron en el baño de agua a una temperatura de 40°C por 4 horas, con la agitación ajustada a 3.5. Al término de éste tiempo los tubos se sacaron del baño y se colocaron en el congelador por espacio de 30 minutos.

Transcurrido éste tiempo se sacaron los tubos y se les adicionó 1 mL de HCl (frío), los tubos se volvieron a cerrar y se homogeneizó cuidando que la solución no tocara el papel indicador, se colocaron los tubos en una incubadora a una temperatura de 60°C y al término

de éste tiempo se tomó la lectura cualitativa de los tubos, considerándose una mínima coloración rojiza como prueba positiva.

∞ Determinación cualitativa de alcaloides³⁵

Fundamento

El material seco y desengrasado de la planta se extrae con metanol. Una solución acuosa de la porción soluble en ácido del extracto con metanol fue hecho básico con amoniaco y sujeto a extracción diferencial con cloroformo-etanol. Los 2 extractos así obtenidos fueron entonces ensayados con 7 reactivos para alcaloides:

1. Reactivo de MAYER (cloruro de mercurio y yoduro de potasio)
2. Reactivo de WAGNER (triioduro de potasio)
3. Reactivo de DRAGENDORFF (nitrato de bismuto y yoduro de potasio)
4. Reactivo de SONNENSCHNEIDER (ácido fosfomolibdénico)
5. Reactivo de HAGER (ácido pícrico)
6. Reactivo de SCHEIBLER (ácido fosfotúngstico)
7. Reactivo de ACIDO SILICOTUGSTENICO

El precipitado formado con los reactivos para alcaloides varían en cantidad con los diferentes alcaloides; en consecuencia, una estimación de la concentración de alcaloides a partir de la cantidad de precipitado con un reactivo, es solamente aproximado. La exactitud puede ser mejorada usando varios reactivos y el método está basado en la comparación de la cantidad de precipitado obtenido con los 7 diferentes reactivos de alcaloides, comparando con los precipitados obtenidos con una solución de estricnina de concentración conocida.

Material y Reactivos

- ❑ Embudo de separación de 125 ml.
- ❑ Parrilla de agitación CORNING Mod. PC-531
- ❑ Estufa de vacío marca LAB-LINE INSTRUMENTS.
- ❑ Papel filtro Whatman #1
- ❑ Rotavapor marca BUCHI Mod. R.
- ❑ Acido nítrico (30% o $\rho = 1.180$)
- ❑ Acido clorhídrico (1%)
- ❑ Acido silicotugstico ($4\text{H}_2\text{O}\cdot\text{SO}_2\cdot 12\text{WO}_2\cdot 22\text{H}_2\text{O}$)
- ❑ Metanol (R.A.)
- ❑ Etanol (R.A.)
- ❑ Sulfato de sodio anhidro (R.A.)
- ❑ Estricnina (U.S.P.)
- ❑ Reactivo de MAYER (1).
- ❑ Reactivo de WAGNER (2).
- ❑ Reactivo de DRAGENDORFF (3).
- ❑ Reactivo de SONNENSCHNEIDER (4).
- ❑ Reactivo de HAGER (5).
- ❑ Reactivo de SCHEIBLER (6).
- ❑ Reactivo de ACIDO SILICOTUGSTENICO (7).

(1). Se disuelven 1.36 g de HgCl_2 en 60 mL de agua y 5 g de KI en 10 mL de agua. Se juntan las dos soluciones y se aforan a 100 mL con agua destilada.

(2). Se disuelven 1.27 g de yodo (resublimado) y 2 g de yoduro de potasio en 20 mL de agua; la solución se afora a 100 mL con agua destilada.

(3). Se disuelven 8 g de nitrato de bismuto pentahidratado en 20mL de ácido nítrico (densidad 1.18 o asea el 30%) y 27.2 g de KI en 50 ML de agua. Se mezclaron las 2 soluciones y se dejaron reposar 24 horas. Se decanta la solución y se afora con agua a 100 mL.

(4). A 100 mL de una solución caliente de molibdato de amonio (43g/100mL), adicionar 100 mL de una solución caliente de fosfato de sodio dibásico anhidro (10g/100mL); a esta solución clara adicionar 10 mL de ácido nítrico concentrado; al precipitado amarillo que se formó dejar reposar durante una hora. Decantar el líquido sobrenadante y desecharlo, suspender el precipitado amarillo en 50 mL de agua destilada y calentar. A la suspensión caliente adicionar 100 mL de la solución de carbonato de sodio anhidro caliente (28g/100mL). Una solución clara debe formarse, y esta solución es evaporada en cápsula a sequedad; flamear para evaporar las sales de amonio. Pesar el polvo, y debe ser aproximadamente 30 g (si se realizó con las cantidades indicadas anteriormente). Disolver el polvo con 200 mL de agua destilada caliente, calentar y adicionar a esta solución 50 mL de ácido nítrico concentrado, a esta solución adicionar agua destilada hasta llevar a una aforo de 300 mL; resultando una solución clara amarilla de ácido forfomolibdico.

(5). Preparar una solución acuosa saturada de ácido pícrico, (2g/100mL).

(6). Se disuelven en 50 mL de agua 10 g de tungstato de sodio y 7 g de fosfato disódico. La solución se acidula con ácido nítrico.

(7). Se disuelven 50 g de ácido silicotúgstico en el ácido sulfúrico (6N) necesario para formar 100 mL de solución.

Procedimiento

2-4 g de muestra seca y molida (por debajo de 50°C se debe secar), es mantenida toda la noche con 40 mL de metanol; a continuación se calienta durante 4 horas a 50°C (agitando interrumpidamente). La mezcla es entonces filtrada, y el residuo es lavado con 20 mL de

metanol y los extractos se combinan y se evapora el metanol en un rotavapor. El residuo es resuspendido con 2 mL de metanol y 12 mL de HCl al 1%; la mezcla es agitada y filtrada; para lavar el residuo se usan 8 mL de HCl al 1%, se combinan los extractos filtrados y se hace básico con amoníaco concentrado (aprox. 25%). Se extrae con tres porciones de 20 mL de cloroformo cada una, dando la FRACCIÓN "A".

A la solución acuosa residual de la anterior extracción, se procede a extraerla con una mezcla de cloroformo-etanol (3:2 v/v), con tres porciones de 20 mL cada una, con lo cual se obtiene la FRACCIÓN "B".

Las fases orgánicas son lavadas con 5 mL de solución media saturada de sulfato de sodio y secada con sulfato de sodio anhidro.

Las dos fracciones A y B, son evaporadas en un rotavapor por separado; y el residuo es resuspendido con 5 mL de HCl al 1% y 1.5 mL de cloroformo se agita vigorosamente y la fase de cada fracción es pipeteada y filtrada a través de algodón y dividida en 7 porciones; estas alicuotas son ensayadas con los siguientes 7 reactivos de alcaloides:

(1). Reactivo de MAYER: El reactivo sólo debe añadirse a soluciones previamente aciduladas con HCl o H_2SO_4 diluidos.

La solución no debe contener ácido acético o etanol, porque disuelven el precipitado. Sólo deben agregarse unas cuantas gotas de reactivo porque algunos alcaloides son solubles en exceso de reactivo.

(2). Reactivo de WAGNER: La mayoría de las soluciones aciduladas de alcaloides forman precipitados floculentos color marrón.

(3). Reactivo de DRAGENDORFF: Se usa sobre soluciones aciduladas. Se puede recoger el precipitado anaranjado-marrón, liberar los alcaloides con solución de carbonato de sodio y extraerse con éter etílico o un disolvente similar.

- (4). Reactivo de SONNENCHEIN: Los alcaloides y sales de amonio dan precipitados amarillos. Se puede recuperar los alcaloides disolviendo en amoniaco.
- (5). Reactivo de HAGER: La mayoría de soluciones aciduladas de alcaloides forman precipitados color amarillo.
- (6). Reactivo de SCHEIBLER: La solución acidulada da un precipitado blanco-grisáceo.
- (7). Reactivo de ACIDO SILICOTUGSTENICO: La solución acidulada da un precipitado blanco-grisáceo.

Resultados

Debido a la frecuencia de reacciones falsas-positivas con los reactivos comunes de alcaloides, sólo se considera como positiva la presencia de ellos en nuestra selección de plantas, cuando cualquiera de las dos fracciones (A y B) dan reacción positiva con los siete reactivos anteriormente enumerados.

Hay que mencionar que para el caso del reactivo de HAGER (ácido pícrico) debido a su baja sensibilidad, cuando da una reacción negativa y todas las demás dan reacción positiva, este resultado se puede descartar, considerando positiva la presencia de alcaloides en la muestra.

Esta prueba preliminar de selección para la determinación de alcaloides, se puede manejar en forma semi-cuantitativa cuando los precipitados formados se comparan con soluciones de estricnina de concentración conocida.

☞ Determinación de oligosacáridos (rafinosa y estaquiosa) ³⁶

Fundamento

La cuantificación de rafinosa y estaquiosa se basa en la extracción con etanol de la rafinosa y estaquiosa de una matriz alimentaria y su posterior cuantificación por cromatografía de líquidos de alta eficiencia utilizando una columna aminada, mezclas de acetonitrilo-agua como fase móvil y un detector de índice de refracción.

Material y reactivos

- ☐ Parrilla de agitación magnética con control de temperatura
- ☐ Magnetos para agitación
- ☐ Centrífuga (DYNAC)
- ☐ Rotavapor (Büchi Mod. RE 111)
- ☐ Baño para rotavapor (Büchi 461 water bath)
- ☐ Equipo HPLC (Perkin Elmer chromatography Mod. 250), bomba (Perkin Elmer 250 bomb), sistema de inyección (Rheodine 7125 NS injection valve) , detector (Series 200 refraction index detector) y sistema de integración (Perkin Elmer 1020 integration system).
- ☐ Columna aminada de sílica para HPLC (Altech Econosphere 150 x 4.6 mm, 5µm de tamaño de partícula)
- ☐ Matraces de bola de 250 mL
- ☐ Papel filtro Whatman # 5
- ☐ Matraces aforados de 10 mL
- ☐ Acrodiscos de 0.2 y 0.4 µm (Waters)
- ☐ Cartuchos Sep-pack C18 (Waters)
- ☐ Jeringa de vidrio con capacidad de 100µL

- Solución de etanol al 50% (v/v)
- Agua grado HPLC (Agua desionizada, filtrada por filtro milipore 0.2 y degasificada por 20 minutos).
- Solución estándar de rafinosa y estaquiosa 0.02M (se pesaron 0.067 g de estaquiosa y 0.0504 g de rafinosa y se llevaron a un volumen final de 5 mL con agua grado HPLC)
- Fase móvil 80:20 acetonitrilo:agua (Se colocaron 800 mL de acetonitrilo grado HPLC en una probeta de 1L y se agregó agua grado HPLC en la misma probeta hasta alcanzar el volumen final de la misma)

Procedimiento

- Preparación del extracto

Se pesaron 3 g de la raíz molida, liofilizada y desengrasada, se colocaron en un vaso con un magneto y se agregaron 30 mL de solución de etanol al 50%. La suspensión se sometió a agitación constante 300 r.p.m. por 1 hora a 55-60°C.

Al término de éste tiempo el extracto fue centrifugado por 30 minutos y posteriormente se filtró el sobrenadante a través de papel Whatman # 52, lavando cuantitativamente.

El extracto filtrado se introdujo al rotavapor a una temperatura de 65°C con el fin de eliminar el etanol presente y posteriormente se llevó a un volumen final de 2.5 mL con agua destilada. 2 mL del extracto obtenido fueron pasados a través de un cartucho Sep-Pack C18 (previamente activada pasando 3 mL de metanol seguido de 3 mL de agua desionizada) con el fin de eliminar interferencias no polares.

Antes de la inyección, el extracto fue filtrado a través de un acrodisco de 0.4 μm de tamaño de poro y después por un acrodisco de 0.2 μm de tamaño de poro.

Se realizaron tres extractos

- **Acondicionamiento del equipo**

Se encendió la bomba del HPLC junto con el detector 1 hora antes de realizar las inyecciones, y se dejó pasar la fase móvil (acetonitrilo: agua 80:20) hasta que se apreció estabilidad del detector por más de 10 minutos. Cambiando el flujo de la fase móvil cada 10 minutos desde 0.1 mL/min. hasta llegar a 1.5 mL/min.

- **Condiciones de trabajo del equipo HPLC**

Flujo de la fase móvil: 1.5 mL/min.

Tiempo de corrida: 8 minutos

Temperatura: ambiente 20-25°C

Cuantificación del pico: Por altura

Ancho de pico: 5.5 - 13 s

Presión : 2000 psi

- **Cuantificación de rafinosa y estaquiosa**

Se inyectaron 20 μL del extracto, con un tiempo de corrida de 8 minutos, durante el cual fueron cuantificables, la rafinosa y estaquiosa presentes en cada una de las raíces.z

A su vez se prepararon soluciones con concentraciones de 0.009, 0.01, 0.015 y 0.020M de rafinosa y estaquiosa con el fin de construir una curva patrón en donde se relacionó la altura de cada pico en función de la concentración molar de rafinosa y de estaquiosa, para la

cuantificación posterior de estos compuestos en las tres raíces. De cada concentración se inyectaron 20 μL por triplicado.

Los picos se identificaron por el tiempo de retención; los cuales fueron de 3.7 min. para la rafinosa y 5.4 min. para la estaquiosa. (Ver ejemplo anexo figura 13)

Cada extracto fue inyectado 3 veces.

Cálculos

1.- El área del pico del oligosacárido se extrapoló en la curva patrón, obteniendo la concentración. (Ver curvas patrón en anexo figura 8 y figura 9)

2.- La concentración obtenida se multiplicó por el peso molecular del oligosacárido medido y luego por la dilución realizada para obtener el extracto original.

$$\text{g oligos. /100 g de muestra} = [\text{conc. extrapolada} * 2.5 \text{ mL} * \text{P.M.} * 100] / [\text{peso}_{\text{muestra}}]$$

Concentración extrapolada (mol/L)

P.M. = Peso molecular (g/mol)

Peso de la muestra (g)

4.4. DETERMINACIÓN DE HIDRATOS DE CARBONO ASIMILABLES

☞ Determinación de monosacáridos (glucosa y fructosa) y disacáridos (sacarosa y maltosa)³⁶

Fundamento

La cuantificación de los mono y disacáridos se basa en la extracción con etanol de una matriz alimentaria y su posterior cuantificación por cromatografía de líquidos de alta eficiencia utilizando una columna aminada, mezclas de acetonitrilo-agua como fase móvil y un detector de índice de refracción.

Material y reactivos

- ☐ Parrilla de agitación magnética con control de temperatura
- ☐ Magnetos para agitación
- ☐ Centrifuga (DYNAC)
- ☐ Rotavapor (Büchi Mod. RE 111)
- ☐ Baño para rotavapor (Büchi 461 water bath)
- ☐ Equipo HPLC (Perkin Elmer chromatography Mod. 250 - bomba (Perkin Elmer 250 bomb), sistema de inyección (Rheodine 7125 NS injection valve) , detector (Series 200 refraction index detector) y sistema de integración (Perkin Elmer 1020 integration system)
- ☐ Columna aminada de sílica para HPLC (Altech Econosphere 150 x 4.6 mm, 5µm de tamaño de partícula)
- ☐ Matraces de bola de 250 mL
- ☐ Papel filtro Whatman # 5

- Matraces aforados de 10 mL
- Acrodiscos de 0.2 y 0.4 μm (Waters)
- Cartuchos Sep-pack C18 (Waters)
- Jeringa de vidrio con capacidad de 100 μL
- Solución de etanol al 50% (v/v)
- Agua grado HPLC (Agua desionizada, filtrada por filtro millipore 0.2 y degasificada por 20 minutos)
- Solución estándar de glucosa, fructosa, maltosa y sacarosa 0.02M (se pesaron 0.036 g de glucosa, 0.036 g de fructosa, 0.072 g de maltosa y 0.068 g de sacarosa y se llevaron a un volumen final de 5 mL con agua grado HPLC)
- Fase móvil 85:15 acetonitrilo:agua (Se colocaron 850 mL de acetonitrilo grado HPLC en una probeta de 1L y se agregó agua grado HPLC en la misma probeta hasta alcanzar el volumen final de la misma)

Procedimiento

- Preparación del extracto

Se pesaron 3 g del residuo molido, liofilizado y desengrasado, se colocaron en un vaso con un magneto y se agregaron 30 mL de solución de etanol al 50%. La suspensión se sometió a agitación constante 300 r.p.m. por 1 hora a 55-60°C.

Al término de éste tiempo el extracto fue centrifugado por 30 minutos y posteriormente se filtró el sobrenadante a través de papel Whatman # 52, lavando cuantitativamente.

El extracto filtrado se introdujo al rotavapor a una temperatura de 65°C con el fin de eliminar el etanol presente y posteriormente se llevó a un volumen final de 2.5 mL con agua destilada.

2 mL del extracto obtenido fueron pasados a través de un cartucho Sep-Pack C18 (previamente activada pasando 3 mL de metanol seguido de 3 mL de agua desionizada) con la finalidad de eliminar interferencias no polares.

Antes de la inyección, el extracto fue filtrado a través de un acrodisco de 0.4 μm de tamaño de poro y después por un acrodisco de 0.2 μm de tamaño de poro.

Se realizaron tres extractos de cada raíz liofilizada.

- **Acondicionamiento del equipo**

Se encendió la bomba del HPLC junto con el detector 1 hora antes de realizar las inyecciones, y se dejó pasar la fase móvil (acetonitrilo: agua 85:15) hasta que se apreció estabilidad del detector por más de 10 minutos. Cambiando el flujo de la fase móvil cada 10 minutos desde 0.1 mL/min hasta llegar a 1.5 mL/min

- **Condiciones de trabajo del equipo HPLC**

Flujo de la fase móvil: 1.5 mL/min

Tiempo de corrida: 10 minutos

Temperatura: ambiente 20-25°C

Cuantificación del pico: Por altura

Ancho de pico: 5.5 - 13 s

Presión : 2000 psi

- **Cuantificación de glucosa, fructosa, sacarosa y maltosa**

Se inyectaron 20 μL del extracto, con un tiempo de corrida de 10 minutos, durante el cual fueron cuantificables, la fructosa, sacarosa y maltosa presentes en las raíces. La glucosa no se

pudo cuantificar dado que los picos entre esta y la fructosa estaban muy juntos y la resolución fue muy poca.

A su vez se prepararon soluciones estándar con concentraciones de 0.009, 0.01, 0.015 y 0.020M, que contenían los cuatro carbohidratos (glucosa, fructosa, sacarosa y maltosa) con el fin de construir una curva patrón en donde se relacionó la altura de cada pico en función de la concentración molar de glucosa, fructosa, sacarosa y maltosa, para la cuantificación posterior de estos compuestos en las tres raíces. De cada concentración se inyectaron 20 μ L por triplicado.

Los picos se identificaron por el tiempo de retención; los cuales fueron de 3.0 min. para la fructosa, 3.4 min. para glucosa, 5.2 min. para la sacarosa y 5.6 min. para maltosa. (Ver ejemplo en el anexo figura 14)

Cada extracto fue inyectado 3 veces.

Cálculos

1.- El área del pico del carbohidrato se extrapoló en la curva patrón, obteniendo la concentración. (Ver curvas patrón en el anexo figura 10, 11 y 12).

2.- La concentración obtenida se multiplicó por el peso molecular del hidrato de carbono medido y luego por la dilución realizada para obtener el extracto original.

$$\text{g hidrato de carbono} / 100 \text{ g de muestra} = [\text{conc. extrapolada} * 2.5 \text{ mL} * \text{P.M.} * 100] / [\text{peso}_{\text{muestra}}]$$

Concentración extrapolada (mol/L)

P.M. = Peso molecular (g/mol)

Peso de la muestra (g)

RESULTADOS Y DISCUSIONES.

1. Composición Proximal

En la tabla 5 se muestra el análisis proximal de las tres raíces en base húmeda, cabe mencionar que cada raíz se analizó de dos maneras: cruda y cocida.

Tabla 5. Análisis proximal en base húmeda de las diferentes raíces (g/100g de muestra)^A

COMPONENTE	PAPA VOLADORA		MAFAFA		CAMOTE	
	CRUDA	COCIDA	CRUDA	COCIDA	CRUDA	COCIDA
HUMEDAD	80.21 ± 0.50	73.62 ± 0.27	76.65 ± 0.52	71.30 ± 0.09	69.93 ± 0.09	74.46 ± 0.29
PROTEÍNA	1.75 ± 0.02	2.26 ± 0.02	2.01 ± 0.03	2.72 ± 0.03	1.22 ± 0.01	0.79 ± 0.02
GRASA	0.06 ± 0.002	0.06 ± 0.003	0.08 ± 0.01	0.16 ± 0.04	0.21 ± 0.01	0.08 ± 0.001
CENIZAS	0.89 ± 0.005	0.43 ± 0.01	1.28 ± 0.07	1.44 ± 0.03	1.13 ± 0.01	0.91 ± 0.02
FIBRA	0.54 ± 0.02	0.63 ± 0.01	0.66 ± 0.08	0.67 ± 0.03	0.82 ± 0.08	0.88 ± 0.02
HIDRATOS DE						
CARBONO ^B	17.01	22.54	19.32	23.71	29.13	22.88

^A Los resultados se expresan con su desviación estándar, todas las determinaciones se realizaron por triplicado (n=3) y en todos los casos el coeficiente de variación fue menor al 5%.

^B Se calcularon por diferencia

Estos resultados fueron calculados en base seca para poder analizarlos estadísticamente y ver si había diferencia significativa dentro de la misma especie ya fuera cruda o cocida y entre las muestras. Los resultados se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Análisis proximal en base seca de las diferentes raíces (g/100g de muestra)

COMPONENTE	PAPA VOLADORA		MAFAFA		CAMOTE	
	CRUDA	COCIDA	CRUDA	COCIDA	CRUDA	COCIDA
PROTEÍNA	9.38 ± 0.19 ^{a,*}	9.15 ± 0.02 ^{a,*}	9.18 ± 0.33 ^{c,*}	9.99 ± 0.08 ^{e,*}	4.24 ± 0.07 ^{f,*}	3.37 ± 0.13 ^{f,*}
GRASA	0.30 ± 0.01 ^a	0.25 ± 0.01	0.56 ± 0.07 [*]	0.42 ± 0.1	0.72 ± 0.04 ^{b,*}	0.39 ± 0.01 ^b
CENIZAS	2.31 ± 0.02 ^{b,*}	3.61 ± 0.04 ^{b,*}	5.85 ± 0.22 ^{f,*}	5.27 ± 0.09 ^{f,*}	3.92 ± 0.01 [*]	3.91 ± 0.07 [*]
FIBRA	2.91 ± 0.11 ^c	2.53 ± 0.07 ^{c,*}	2.94 ± 0.32	2.44 ± 0.12 [*]	2.84 ± 0.24 ⁱ	3.77 ± 0.14 ^{h,*}
HIDRATOS DE						
CARBONO ¹	85.10 ^{d,*}	84.46 ^{d,*}	81.47 [*]	81.88 [*]	88.28 [*]	88.56 [*]

¹ Se calcularon por diferencia

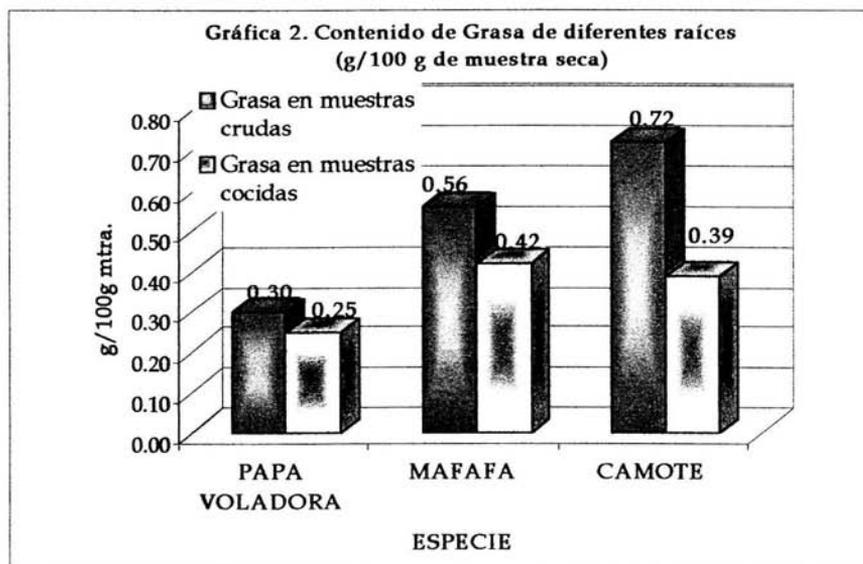
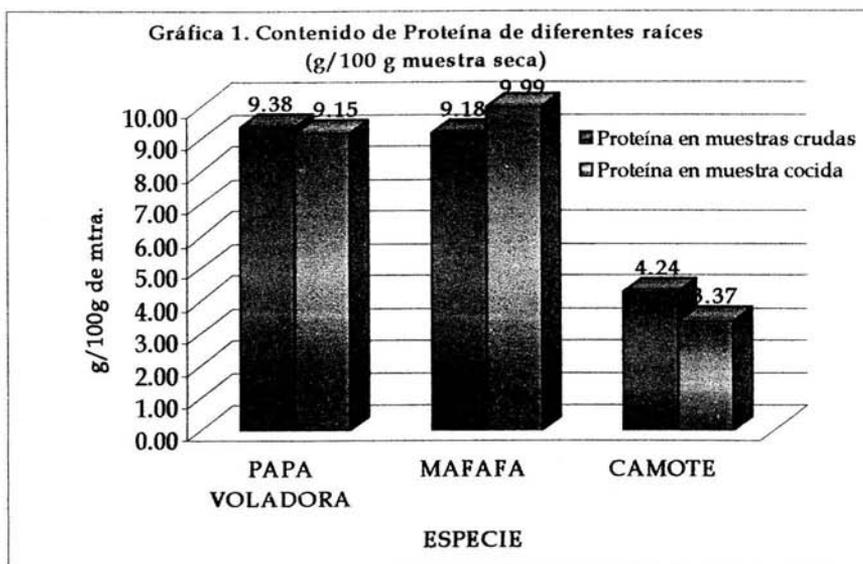
^{a,b,c,d,e,f,g,h,i} Letras iguales indican que si hay diferencia significativa entre muestra cruda y cocida

* Indica que hay diferencia entre las tres raíces ya sea en el caso de crudas o cocidas

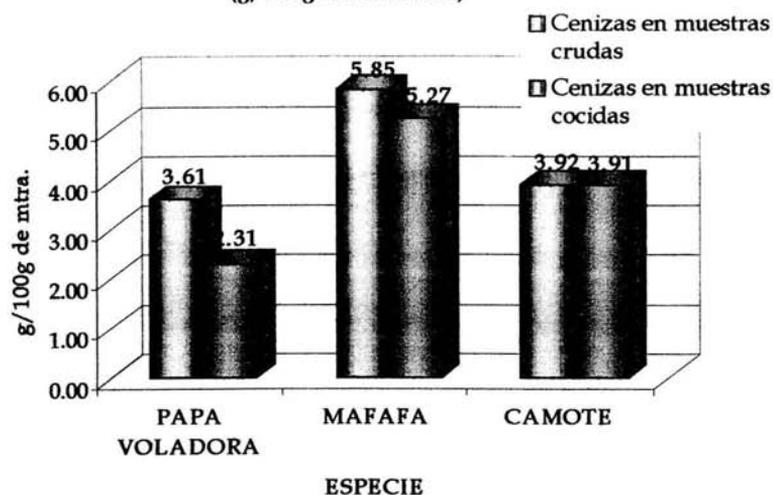
Como se aprecia en la tabla con referencia a la proteína, las tres raíces presentaron similar contenido a excepción del camote que presentó el menor porcentaje. Al comparar la composición entre las muestras crudas y cocidas por análisis estadístico (t-student y análisis de varianza), hubo diferencia entre cada raíz, y entre las raíces.

En lo que se refiere al contenido de grasa los valores en general fueron bajos, siendo el camote el que presentó el mayor contenido, después de comparar la composición entre las muestras crudas y cocidas presentaron diferencia significativa y entre las raíces solo hubo diferencia entre las crudas.

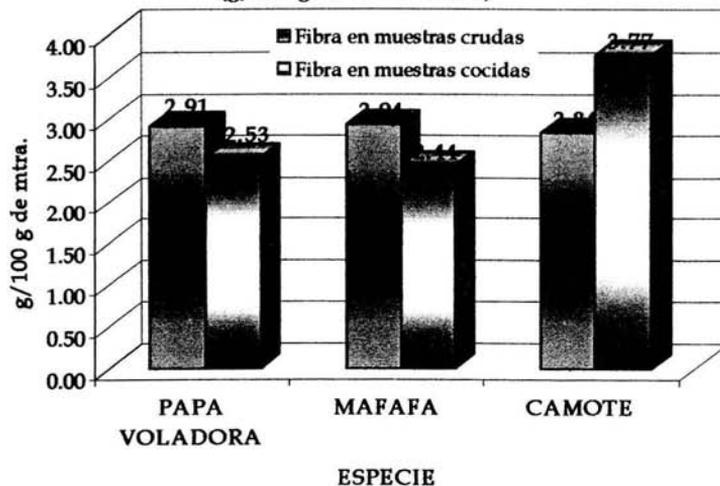
Para poder apreciar los resultados de una manera más fácil, se muestran a continuación los resultados en gráficas.

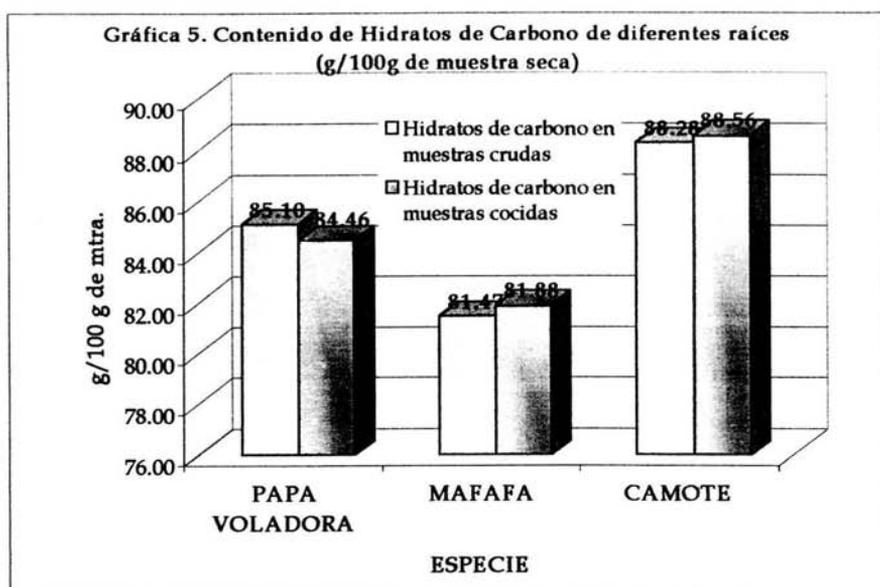


**Gráfica 3. Contenido de cenizas de diferentes raíces
(g/100g muestra seca)**



**Gráfica 4. Contenido de Fibra de diferentes raíces
(g/100 g de muestra seca)**





En el caso de las cenizas, la papa y el camote presentaron un contenido similar, siendo la mafafa la que presentó el mayor contenido. Al hacer el análisis estadístico entre las muestras crudas y cocidas, hubo diferencia entre cada raíz, y entre las raíces.

La fibra es un componente que se encuentra en cantidad considerable en alimentos de origen vegetal. Si observamos entre las muestras crudas y cocida, el contenido es bajo, aún así se encontró diferencia significativa solo en la papa voladora y el camote, no siendo el caso de la mafafa donde no hubo diferencia aún con el tratamiento térmico. Entre las raíces si hubo diferencia pero solo entre las cocidas.

Al comparar la composición de hidratos de carbono se obtuvo un alto contenido en las raíces, esto era de esperarse ya que en este tipo de alimentos este nutriente es característico. La única muestra que presentó diferencia significativa a causa del tratamiento térmico fue la papa voladora. Entre las tres raíces hubo diferencia tanto para las crudas como para las cocidas.

Podemos ver que en general los nutrientes disminuyen por el proceso de cocción, que era lo que se esperaba, pero hubo excepciones como fue el caso de Mafafa y el camote.

Lo anterior se puede explicar de la siguiente manera, al disminuir la cantidad de componentes por el efecto de proceso de cocción, trae como consecuencia la concentración de otro, como es por ejemplo el caso del camote, donde la proteína, ceniza y grasa disminuyen aumentando por efecto de concentración el contenido de hidratos de carbono y fibra. O en el caso de la Mafafa donde lo que aumentó fue el contenido de proteína y el de carbohidratos.

2.- Análisis nutricional y toxicológico.

En la tabla 7 se muestran los resultados tanto para los factores toxicológicos como para los antinutricionales determinados en cada una de las diferentes raíces liofilizadas.

Tabla 7. Contenido de Factores antinutricionales y toxicológicos.

DETERMINACIÓN	PAPA VOLADORA	MAFAFA	CAMOTE	Expresado en
Ácido Tánico ^a	ND	ND	ND	ug/100 g _{muestra}
Inhibidores de Tripsina	1.02 ± 0.07	4.68 ± 0.28	26.87 ± 1.78	UTI/mg _{muestra} ^b
Ácido Fítico ^a	0.28 ± 0.05	1.04 ± 0.07	0.03 ± 0.02	g/100g _{muestra}
Hemaglutininas	2	34	9	Título de aglutinación ^c
Saponinas	Negativo	Negativo	Negativo	Título de hemólisis ^d
Glucósidos Cianogénicos	Negativo	Negativo	Negativo	Prueba cualitativa
Alcaloides	Positivo	Negativo	Negativo	Prueba cualitativa
Glucósidos Cianogénicos	Negativo	Negativo	Negativo	Prueba cualitativa

^aSe muestran resultados promedio ± desviación estándar con un coeficiente de variación de 5-6% y n= 3

^bUTI: Unidades de tripsina inhibida

^cTítulo: máxima dilución en la que se presentó aglutinación en eritrocitos de hámster

^dTítulo: máxima dilución en la que se presentó hemólisis en eritrocitos de conejo

No se detectaron glucósidos cianogénicos ya que los tubos de reacción no presentaron ninguna coloración café-rojizo en el papel indicador. Por lo que ninguna de las raíces presenta una cantidad no detectable; tampoco se encontraron saponinas a pesar de que en el caso del género *Dioscorea* se han encontrado saponinas, sin embargo para la especie *bulbifera* la prueba fue negativa así como para las otras raíces, aún cuando se hicieron otro tipo de pruebas cualitativas que confirmaron lo obtenido, por lo tanto estos dos factores no representan un riesgo a la salud.

En lo que se refiere al contenido de taninos hay que recordar que son compuestos orgánicos polifenólicos que pueden interactuar con las proteínas y enzimas digestivas disminuyendo el valor nutritivo de la raíz e impidiendo la digestión de las proteínas afectando su biodisponibilidad para ser absorbidas. Además de formar complejos con los iones metálicos como Fe^{2+} disminuyendo su biodisponibilidad.

El contenido de ácido tánico en las tres raíces es menor a 80 μg aunque sabemos que la dosis diaria admisible (DDA) de ácido tánico es de 500mg/kg.p.c.³⁷ para una persona con peso promedio de 70kg tendría que comer 43.75kg de cualquiera de las tres raíces por lo que obviamente no representa ningún riesgo.

Para el ácido fítico, se sabe que es un muy buen agente quelante que forma complejos con cationes minerales y proteínas disminuyendo su biodisponibilidad y que los alimentos con un contenido mayor a 400 mg/100 g de muestra son desmineralizantes³⁷. Con esto ni la Papa Voladora (280mg/100g mtra) ni el Camote (36mg/100g mtra) se acercan al límite, en cambio la Mafafa con una cantidad de 1040 mg/100 mtra si se considera desmineralizante ya que rebasa la cantidad límite, además dado que es termoestable, es difícil la detoxificación de la raíz y por lo tanto el proceso de cocción no lo eliminaría o disminuiría lo que provocaría un efecto antinutricional al consumirse.

Por lo que se refiere a las hemaglutininas que son un tipo de enterotoxinas de naturaleza proteínica un título mayor a 10 representa un riesgo siempre y cuando la lectina posea afinidad por la células del intestino de los humanos³⁸. Con esto en el caso de la Papa Voladora y el Camote, este factor no representa ningún riesgo ya que está por debajo del título citado; en cambio la Mafafa presenta un título de 34, lo que implicaría un riesgo. Al tratarse de glicoproteínas se puede detoxificar la raíz con aplicación de calor, en este caso sería la cocción de la raíz, pero no se sabe que tanto disminuiría ya que el título es muy alto.

En el caso de inhibidores de tripsina un contenido mayor a 10 UTI/mg se considera un riesgo³⁸. Para la Papa Voladora y la Mafafa ambas están por debajo de esta cantidad por lo que no representan un efecto antinutricional.

Por el contrario el Camote con 26.87 UTI/mg si representa un riesgo, pero estos inhibidores se pueden eliminar con un tratamiento térmico como la cocción.

Por último para los alcaloides no fueron detectados ni en la Mafafa ni en el Camote ya que las fracciones de las muestras no presentaron prueba positiva con los 7 reactivos utilizados, para hacer la detección de este tipo de neurotoxinas, siendo el caso contrario la Papa Voladora que en la prueba cualitativa dio positivo.

2.1 Contenido de oligosacáridos (Rafinosa y Estaquiosa)

En la tabla 8 se muestra el contenido de oligosacáridos obtenidos por HPLC en la Papa Voladora, la Mafafa y el Camote.

Tabla 8. Contenido de oligosacáridos en las tres raíces.

OLIGOSACÁRIDO	PAPA VOLADORA	MAFAFA	CAMOTE
	(g/100 g muestra)		
Rafinosa	0.37*	0.16*	1.42
Estaquiosa	0.41*	2.97	1.87

* En el caso de la papa tanto para rafinosa como estaquiosa y para la mafafa con la rafinosa, los resultados obtenidos a partir del análisis por HPLC, fueron menores al mínimo valor detectable por el equipo (0.009 mol/L)

Como ya se mencionó, el contenido de rafinosa y estaquiosa no representa ningún problema dado que se encuentra en baja concentración en la papa voladora y en la mafafa (rafinosa), incluso por debajo del límite de cuantificación de la técnica empleada para su determinación. Sin embargo en el caso de la mafafa y el camote están por arriba del límite de detección pero sigue siendo una concentración muy baja, de modo que problemas digestivos como la flatulencia^{6,36}, no serían atribuibles a la presencia de estos compuestos.

3. Contenido de monosacáridos y disacáridos (Fructosa, Glucosa, Sacarosa y Maltosa).

En la tabla 9 se muestra el contenido de mono y disacáridos obtenidos por HPLC en la Papa Voladora, la Mafafa y el Camote.

Tabla 9. Contenido de mono y disacáridos en las tres raíces.

MONOSACÁRIDO	PAPA VOLADORA	MAFAFA (g/100 g muestra)	CAMOTE
Glucosa	ND ^A	ND	ND
Fructosa	0.23 ^B	0.60 ^B	0.07 ^B
DISACÁRIDO			
Sacarosa	0.57 ^B	0.22 ^B	13.11
Maltosa	0.11 ^B	ND	ND

^A ND = no detectado

^B Resultados obtenidos a partir del análisis por HPLC, fueron menores al mínimo valor detectable por el equipo (0.009 mol/L)

La glucosa no pudo ser detectada por medio de esta técnica, dado que la columna ya tiene mucho tiempo de uso, y se presentaron varias dificultades para poder distinguir entre monosacáridos (fructosa y glucosa) y disacáridos (maltosa y sacarosa) además de que los tiempos de retención en cada uno eran muy cercanos y la resolución no muy clara.

En el caso de la papa voladora y la mafafa el contenido de fructosa, sacarosa y maltosa están por debajo del valor detectable.

El camote fue el único que presentó un contenido alto, solo en el caso de sacarosa, mayor al valor detectable y en una concentración que se esperaba por información obtenida en literatura.

CONCLUSIONES

- ✓ Como era de esperarse las raíces estudiadas mostraron un alto contenido de hidratos de carbono que es característico de este tipo de alimentos. En cambio el contenido de grasa y fibra es bajo y la proteína es similar a la de los cereales, en las muestras en base seca.
- ✓ Se logró apreciar que el proceso de cocción disminuye diversos componentes y concentra por consecuencia a otros al eliminarse estos en el agua de cocción.
- ✓ No se detectaron glucósidos cianogénicos ni saponinas y el bajo contenido de taninos, alcaloides, rafinosa y estaquiosa no representan un riesgo en el consumo de cualquiera de las tres raíces.
- ✓ En la Papa Voladora el bajo contenido de hemaglutininas, inhibidores, ácido fítico y alcaloides, no representan ningún riesgo para la salud.
- ✓ Para el Camote aún cuando tiene una concentración de inhibidores de tripsina que sobrepasa el límite de seguridad, estos se destruyen con la cocción. El ácido fítico y hemaglutininas están por debajo del límite permisible. En cambio la Mafafa excede el límite permisible en el ácido fítico, y además no se elimina con el proceso de cocción dado que es termoestable. También tiene un contenido de hemaglutininas e inhibidores de tripsina superior al límite permisible pero no representan un riesgo para la salud ya que se puede eliminar con un tratamiento térmico.
- ✓ El contenido de los oligosacáridos, rafinosa y estaquiosa no representa ningún problema dado que se encuentra en baja concentración, de modo que problemas digestivos como la flatulencia no serían atribuibles a la presencia de estos compuestos.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Azurdia-Perez, C.A. y Gonzalez-Salam, M. Informe Final del Proyecto de Recolección de Algunos Cultivos Nativos de Guatemala. Guatemala, Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala. 1986.
2. Centurión, D., Espinosa, J., Poot, J. Revalorización del saber tradicional de vegetales subexplotados de consumo humano. XV Congreso Mexicano de Botánica. (www.socbot.org.mx/disco/resume/re197.htm)
3. Wu-Leung, W. y Flores, M. Tabla de composición de alimentos para uso en América Latina. Guatemala, C.A. INCAP/ICNND. 1961
4. Aron, A.B. Nutrición animal. Ed. Acribia, Zaragoza. pp. 43-59, 79-106, 1988.
5. Fisher, P.B. Valor nutritivo de los alimentos. Ed. Limusa. México, D.F. pp 138-139, 149, 2000.
6. Fennema, O. Química de alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza. pp. 65-71, 100-101, 140-150, 960-965, 1993.
7. Hughes, M.D., Health, M.E., Metcalfe, D., Forages, The Science of grassland Agriculture. The Iowa State University Press, 2ª Ed. Iowa, pp. 95-117, 152-177, 1966.
8. Partearroyo, M.A., Fernandez-Quintela A., Sustancias antinutritivas en alimentos de origen vegetal. Su significado en la alimentación humana. *Alimentaria* 267:115-119. 1995.
9. Carbamaro, M., Grant, G., Marsilio, C., Pusztai, A. Perspectives into factors limiting *in vivo* digestion of legume proteins: antinutritional compounds or storage proteins, *J. Agric. Food Chem.* 48: 742-748, 2000.
10. Lindner, E. Toxicología de los alimentos. Ed. Acribia, 2ª Ed. Zaragoza. pp. 4, 5-17, 82-96. 1995.

11. Sotelo, A. Constituents of wild food plants. In: *Functionality of Food Phytochemicals*. Plenum Press. New York. pp. 89-111. 1997.
12. Martínez, B., Rincón, F. Inhibidores de tripsina I: Características y significado en alimentación humana. *Alimentaria*. 279:27-31, 1997.
13. Dicenta, F., Martínez G. P., Grané, N., Martín, M.L., León, A., Canovas, J.A., Berenguer, V. Relationship between cyanogenic compounds in kernels, leaves and root of sweet and bitter kernelled almonds, *J. Agric. Food Chem.* 50:2149-2152, 2000.
14. Naczki, M., Nicholas, T., Pink, D., Sosulski, F., Condensed tannins in canola hulls. *J. Agric. Food Chem.* 42: 2196-2200, 1994.
15. Church, D.C. Basic animal nutrition and feeding. John Willey and Sons Inc. 2ª Ed. Portland O. pp. 15, 31-47, 279-294, 1987.
16. Khokhar, S. Phytate Content of Indian Foods and Intakes by Vegetarian Indians of Hisar Region Haryana State. *J. Agric. Food Chem.*, 42:2440-2444, 1994.
17. Lawrence, T., Toll, J. y Van Sloten, D. H. Root and tuber crops. In: *Directory of germplasm collections*. International Board for Plant Genetic Resources. IBPGR. Roma. pp.178. 1986.
18. Montaldo, A. Cultivo de raíces y tubérculos tropicales. IICA. San José. Costa Rica. 1975. (www.ecuarural.gov.ec/ecuagro/paginas/hrtl_am/texto/name.htm)
19. Guzman, D.J. Especies útiles de la flora salvadoreña. San Salvador, El Salvador, C.A., Ministerio de Educación. Guzman, D.J. Especies útiles de la flora salvadoreña. San Salvador, El Salvador, C.A., Ministerio de Educación. 1975.
20. Basurto, F., Villalobos, G., Mendoza, M. Alimentos no convencionales en la Sierra Norte de Puebla, México: Raíces, bulbos, tubérculos, rizomas y semillas subterráneas Comestibles. VIII Congreso Latinoamericano de Botánica y II Congreso Colombiano de Botánica. Cartagena de Indias. 13-18 de Octubre 2002.

21. Google.http://www.puc.cl/sw_educ/hortalizas/html/camote. Marzo 2003
Universidad Pontificia Católica de Chile.
22. Google.<http://www.lamolina.edu.pe/Investigación/programa/camote>. Marzo 2003.
Universidad Nacional Agraria La Molina.
23. Calderon, S. y Standley, P.C. Lista preliminar de plantas de El Salvador. 2a. Ed. San Salvador, El Salvador. 1941.
24. Rincón, A., Araujo, C. Carrillo de Padilla, F., Martín, E. Evaluación del posible uso tecnológico de algunos tubérculos de las dioscoreas: ñame congo (*Dioscorea bulbifera*), y mapuey (*Dioscorea trifida*). Num: 3, Vol: 50. Año, 2000 pp. 286-290
25. Brako, L., Zaruchi, J. L. Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú. Missouri Botanical Garden. St. Louis, Missouri. pp. 1 286. 1993.
26. Bolton, W., Blair, R. Poultry nutrition. Bull. Ministr.Agric. Fish. Food G.B., pp. (174):134. 1977.
27. Cooley, M.L. Feed ingredients guide In Feed Manufacturing Technology. Pfost, H., Pickering, D. Editors. Feed Production Council, American Feed Manufacturers Association Inc., Arlington. pp. 281-296. 1976
28. Kirk, R.s., Sawyer, R., Egan, H. Composición y análisis de alimentos de Pearson. Ed. CECSA, 2ª Ed. México D.F., pp. 12-29, 36-37, 199-250, 397, 671-721, 1996.
29. Arlinger, V. Official Methods of Analisis of the Association of Analytical Chemists. 15th edition. Published bye AOAC., Inc.USA Vol I. Métodos 934.01 y 976.01 pp.69, 942.05 pp.70, 920.39 pp.79, 962.09 pp.80-81. 1990.
30. International for Standarization Organiztion. Sorghum. Determination of tannin content (ISO 9648). ISO. 1988.

31. Kakade, M.L. Rackis, J.J., MacGhee, J.E., Puski, G. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products. A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.* 51: 376-382, 1974.
32. Jaffe, W.G., Levy, A., González, D.I. Isolation and partial characterization of bean phytohemagglutinins. *Phytochem.* 13:2685-2693, 1974.
33. Fröhbeek, G., Alonso, R., Marzo, F., Santillan, S. A modified method for the indirect quantitative analysis of phytate in foodstuffs. *Anal Biochem.* 225:206-211, 1995.
34. Lucas, B., Sotelo, A. A simplified test for the quantification of cyanogenic glucosides in wild and cultivated seeds. *Nutr. Rep. Int.* 29:711-719, 1984.
35. Hultin, E. and Tursell, K. Alkaloid-screening of Swedish plants. *Phytochemistry*, 4, 425-433. 1965.
36. Oboh, H.A., Muzquiz, M., Burbano, C., Cuadrado, C., Pedrosa, M.M., Ayet, G. and Osagie, A.U. Effect of soaking, cooking and germination in the seed oligosaccharide content of selected Nigerian legume seeds. *Plant Foods for Human Nutrition.* 55:2, 97-110. 2000.
37. Hidalgo, A.G. Adaptación y validación de métodos cuantitativos para determinar Nitratos y Taninos en muestras vegetales. Tesis Licenciatura, UNAM, México, D.F. pp. 4-18 1999
38. López, E.M. Determinación de factores tóxicos en varias almendras no tradicionales con potencial aporte de proteína y grasa dietética. Tesis Licenciatura, UNAM, México, D.F. pp. 34-39, 73, 77, 2000.

ANEXO

A continuación se presentan las curvas patrón de taninos, ácido fítico, rafinosa, estaquirosa, fructosa, sacarosa y maltosa así como los cromatogramas que se emplearon para las diferentes determinaciones mencionadas en las metodologías aplicadas a las tres raíces.

Figura 6. Curva patrón y ecuación de regresión para la determinación del contenido de taninos.

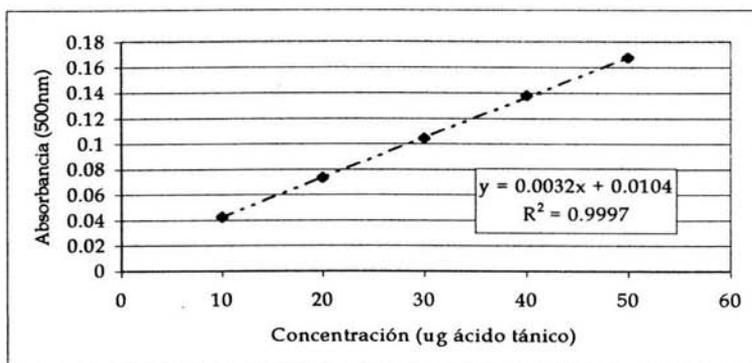


Figura 7. Curva patrón y ecuación de regresión para la determinación del contenido de ácido fítico.

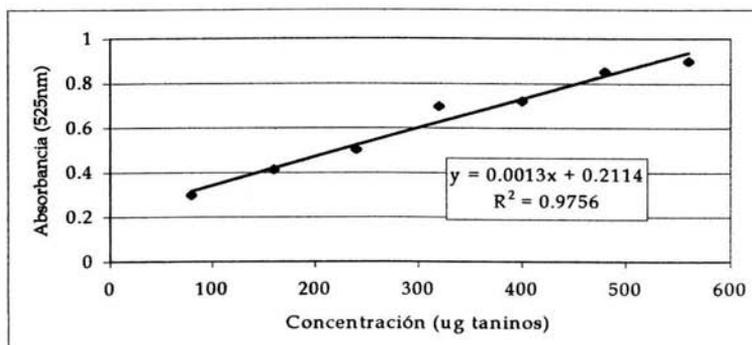


Figura 8. Curva patrón y ecuación de regresión para la determinación del contenido de rafinosa.

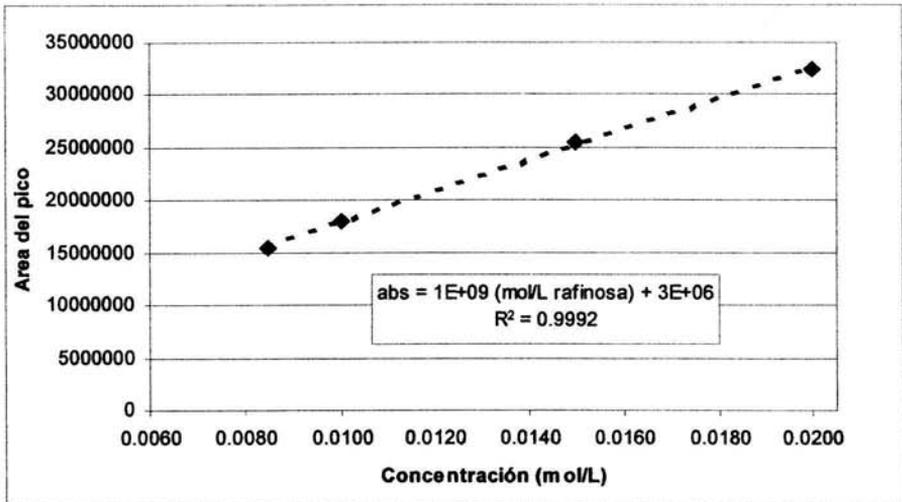


Figura 9. Curva patrón y ecuación de regresión para la determinación del contenido de estaquiosa.

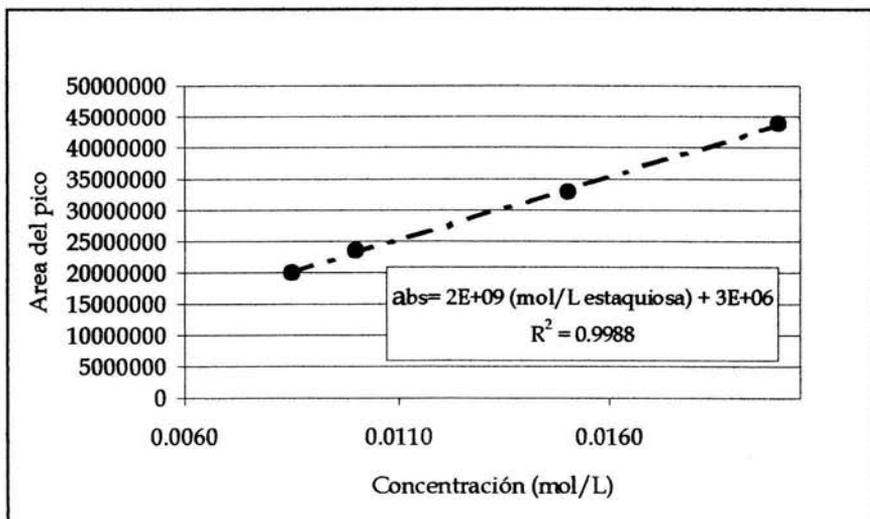


Figura 10. Curva patrón y ecuación de regresión para la determinación de Fructosa.

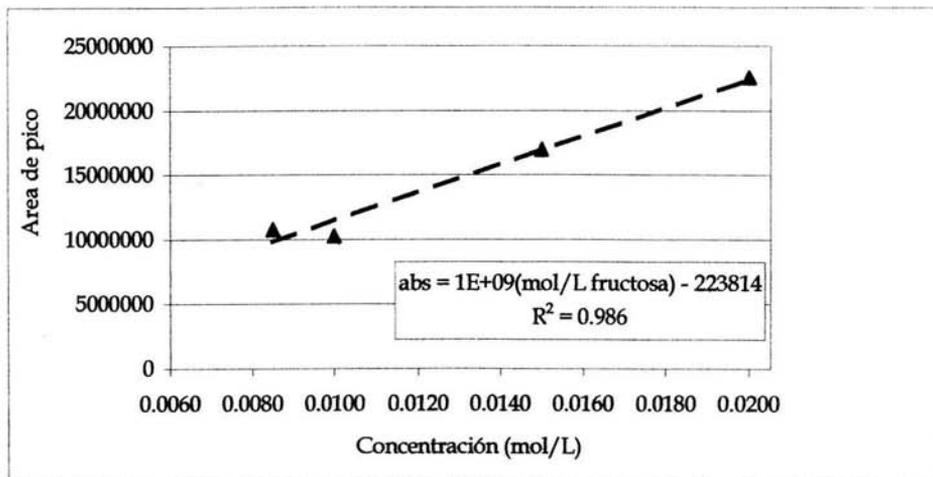


Figura 11. Curva patrón y ecuación de regresión para la determinación de Sacarosa.

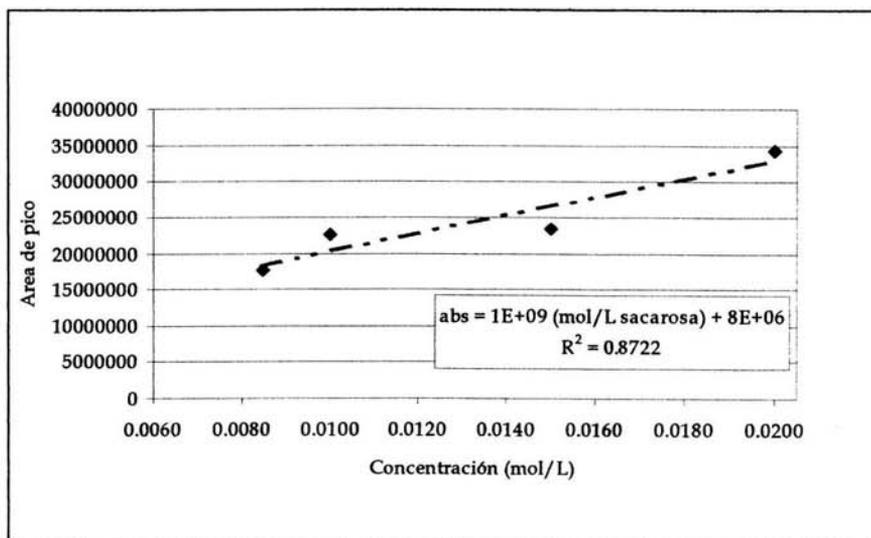


Figura 12. Curva patrón y ecuación de regresión para la determinación de Maltosa.

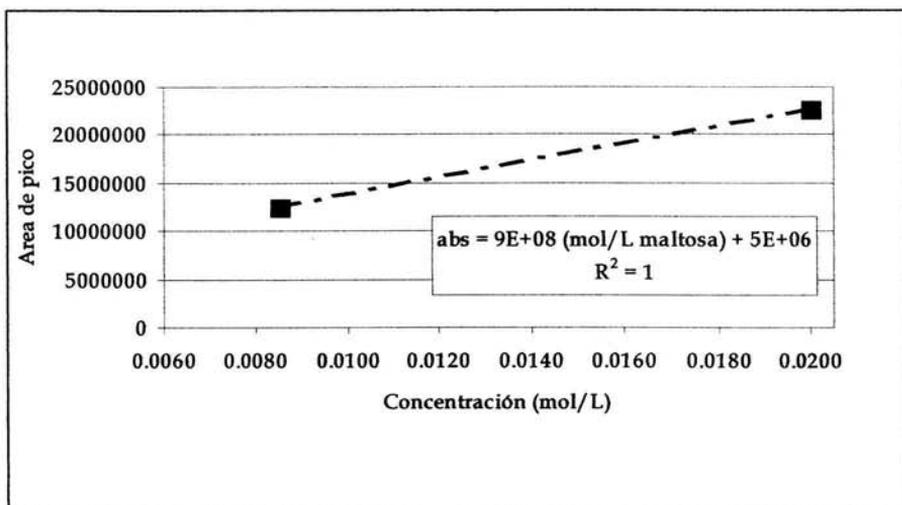


Figura 13. Ejemplo del cromatograma del estándar de rafinosa y estaquiosa (concentración 0.020M).

```

le : 18SEPT27.D01          Raf+Est  0.020M          LACTEOS 02
n : 03                    Type : Sample
th : C:\CHROM\OCT         Inst : Model 1022
lllection : 18:48:14 Nov 05 2003  Method : AGALACTO [ 16:44:10 Nov 05 2003 ]
tegration: 18:48:14 Nov 05 2003  Method : AGALACTO [ 16:44:10 Nov 05 2003 ]
port      : 18:56:16 Nov 05 2003  Method : AGALACTO [ 16:44:10 Nov 05 2003 ]
  
```

lution: 1.00000e+0

NORMALIZATION (AREA)

RT	Area	BC	ExpRT	RF	Area %	Name
3.627	32787584	T	3.700	1.00000e+0	6.5381	rafinosa
5.353	42063936	T	5.400	1.00000e+0	8.3879	estaquiosa
6.793	426633	VS		1.00000e+3	85.0741	Unknown

(18SEPT27.D01) mU

