



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

POTENCIAL APORTE DE PROTEÍNA DE LA SEMILLA DE  
*Tamarindus indica* Linn. DETERMINACIÓN DE  
FACTORES TÓXICOS Y EVALUACIÓN DEL EFECTO  
HIPOGLUCEMIANTE

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICA DE ALIMENTOS  
P R E S E N T A:  
MIRIAM GARCÍA HERNÁNDEZ



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA

MÉXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

**Jurado Asignado**

Presidente

Profa. MARTHA ALBORES VELASCO

Vocal

Profa. LETICIA GIL VIEYRA

Secretario

Profa. BERTHA JULIETA SANDOVAL GUILLÉN

1er Suplente

Profa. INÉS MIRANDA MARTÍNEZ

2do Suplente

Prof. ENRIQUE MARTÍNEZ MANRIQUE

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 202. División de Estudios de Posgrado, Edificio B, Facultad de Química,

UNAM



SUSTENTANTE

MIRIAM GARCÍA HERNÁNDEZ

ASESOR DEL TEMA



Dra. MARTHA ALBORES VELASCO

*Jehová es mi pastor, nada me faltará. En lugares de delicados pastos me hará descansar; junto a aguas de reposo me pastoreará. Confortará mi alma. Me guiará por sendas de justicia por amor de su nombre.*

*Aunque ande en valle de sombra de muerte, no temeré mal alguno, porque tú estarás conmigo; tú vara y tu cayado me infundirán aliento.*

*Aderezas mesa delante de mí en presencia de mis angustiadores; unges mi cabeza con aceite; mi copa está rebosando. Ciertamente, el bien y la misericordia me seguirán todos los días de mi vida, y en la casa de Jehová moraré por largos días.*

**Salmo 23**

*Mejor es adquirir sabiduría que oro fino, y adquirir inteligencia vale más que la plata.*

**Proverbios 16:16**

Doy gracias a Dios por dirigir mi vida y por bendecirme en todo momento.

Doy gracias y dedico este trabajo a:

- A mi papá por inculcarme el esfuerzo de conseguir siempre las metas planteadas.
- A mi mamá por el apoyo incondicional en los momentos difíciles e incluso en los de felicidad.
- A mis hermanos Claudia, Alonso, Hugo e Ivonne por su cariño, momentos y sonrisas que hemos compartido a pesar de las adversidades.
- A Alonso, Eduardo y Bianca por su inocencia.
- A mis grandes y entrañables amigos con los cuales he compartido buenos y malos momentos y que a pesar de todo siguen conmigo a un lado y acompañando mi caminar.
- A la Universidad Nacional Autónoma de México, por la oportunidad de pertenecer a la gran gama de semilleros.

<b>ÍNDICE</b>	<b>Pág.</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1. ANTECEDENTES</b>	<b>3</b>
1.1 Leguminosas	3
1.2 Tamarindo ( <i>Tamarindus indica</i> Linn)	4
1.2.1 Características botánicas	4
1.2.2 Goma de tamarindo	6
1.3 Valor nutricional de las proteínas	9
1.3.1 Necesidades de aminoácidos	10
1.3.2 Fuentes proteicas no convencionales	12
1.3.3 Concentración de proteínas	12
1.3.4 Determinación de proteínas	13
1.3.5 Digestibilidad de proteínas	13
1.4 Aspectos generales sobre factores tóxicos y antinutricionales de origen vegetal	15
1.4.1 Alcaloides	15
1.4.2 Glucósidos cianogénicos	17
1.4.3 Fitatos	18
1.5 Diabetes mellitus	19
1.5.1 Diabetes tipo 1	20
1.5.2 Diabetes tipo 2	21
1.5.3 Diabetes gestacional	23
1.5.4 Plantas medicinales para el tratamiento de la diabetes	23
<b>OBJETIVOS</b>	<b>25</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>26</b>
2.1 Diagrama general	26
2.2 Limpieza y selección de la semilla	27
2.3 Determinación de parámetros físicos	27
2.4 Obtención del polisacárido	27
2.5 Análisis proximal	28
2.6 Calidad de la proteína	29
2.6.1 Cuantificación de aminoácidos	29
2.6.2 Determinación de triptofano	29
2.6.3 Calificación química	29
2.6.4 Determinación de proteína verdadera por precipitación con ácido tungstico	30
2.7 Digestibilidad "in vitro"	30
2.8 Determinación de factores tóxicos y antinutricionales	30
2.8.1 Detección de alcaloides por dos métodos cualitativos	30
2.8.2 Glucósidos cianogénicos	30
2.8.3 Fitatos	30
2.9 Bioensayo para determinar actividad hipoglucemiante	31

<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>33</b>
3.1 Parámetros físicos de la semilla	33
3.2 Análisis proximal	34
3.3 Contenido de aminoácidos en la semilla sin cáscara y en el polisacárido	35
3.4 Calificación química	36
3.5 Proteína verdadera por precipitación con ácido tungstico	37
3.6 Digestibilidad " <i>In vitro</i> "	38
3.7 Determinación de factores tóxicos y antinutricionales en la semilla sin cáscara	39
3.7.1 Alcaloides	39
3.7.2 Glucósidos cianogénicos	40
3.7.3 Ácido fítico	41
3.8 Determinación de la actividad hipoglucemiante	41
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>44</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>45</b>

## INTRODUCCIÓN

En México, el hambre y la desnutrición continúan siendo un problema debido a la poca disponibilidad de alimentos y a las condiciones económicas actuales de la población, provocando un alto porcentaje de desnutrición proteínica que es más grave en el medio rural que en el medio urbano y afecta mayoritariamente a los grupos de la población más vulnerables como los niños, mujeres embarazadas, lactantes y ancianos.

Esto ha llevado a realizar investigaciones encaminadas hacia la búsqueda de nuevo material biológico con potencial proteínico, los cuales sean de buena calidad nutricional; dichos estudios se han enfocado principalmente a las leguminosas, primeramente por su elevado contenido en proteínas, y también por ser buenas fuentes de hidratos de carbono, minerales, vitaminas, y algunas de lípidos.

México cuenta con una gran biodiversidad de recursos debido a su amplio mosaico de ecosistemas, las leguminosas son muy abundantes en todo el territorio nacional y podrían ser utilizadas tanto para la alimentación animal, como humana. Sin embargo, estos recursos están poco valorados, tal es el caso de la semilla de tamarindo (*Tamarindos indica*) que es un árbol perteneciente a ésta familia.

La semilla de tamarindo es muy interesante desde la perspectiva de contener compuestos con propiedades medicinales ya que se tiene referencia de que es utilizada en algunas comunidades del Estado de México para controlar la diabetes, un estudio previo realizado en dicha semilla revela que ésta leguminosa presenta un efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos.

También esta semilla se emplea para el consumo de forrajes o piensos para el ganado; por otro lado en Japón se extrae un agente gelificante denominado goma de tamarindo que tiene buenas propiedades para la industria de alimentos y que es aceptado como un aditivo alimenticio. Sin embargo no se han reportado análisis referentes al potencial proteínico que pudiera contener la semilla.

La finalidad del presente trabajo, es determinar el aprovechamiento de la semilla como fuente de proteína para la alimentación humana por lo cual será necesario identificar la presencia de factores tóxicos y antinutricionales en dicho material ya que con esta información, se estará en la posibilidad de hacer una propuesta más sustentable para su utilización.



Por otro lado, proponer esta especie como un coadyuvante para combatir a la diabetes, es importante efectuar un fraccionamiento de la semilla y determinar la actividad hipoglucemiante de dichas fracciones por medio de un bioensayo, para precisar la zona responsable de dicho efecto en esta leguminosa que ha sido poco estudiada.

## 1 ANTECEDENTES

### 1.1 Leguminosas

Las *Leguminosae* constituyen una de las familias botánicas más amplias del reino vegetal, pues comprende 650 géneros aproximadamente, que incluyen alrededor de 18000 especies distribuidas en la mayoría de los ambientes de todo el mundo, en especial en las regiones tropicales y semitropicales. Los taxónomos han dividido las legumbres en tres familias afines (McIvor y Bray, 1983):

- *Caesalpiniaceae*: contiene aproximadamente 2800 especies, la mayoría de las cuales son árboles de sabanas tropicales y bosques de África, América del sur y Asia.
- *Mimosaceae*: también abarca aproximadamente 2800 especies, y son predominantemente árboles pequeños y arbustos de las regiones tropicales semiáridas de África, América y Australia.
- *Fabaceae*: contiene más de 12000 especies, son principalmente las hierbas y los arbustos pequeños distribuidos mundialmente.

Las semillas maduras y secas de especies de la familia *Fabaceae*, se conocen con el nombre de leguminosas, derivado del fruto en legumbre que las contiene y se han usado en la agricultura desde tiempos antiguos, ya que se encuentran entre las primeras fuentes de alimentos para el hombre.

El fruto de las leguminosas es muy característico, siendo una vaina generalmente alargada, seca en su madurez con cavidades donde puede alojar de una o varias hileras de semillas; si la vaina se abre espontáneamente se denomina dehiscente, en tanto que si no se abre es indehiscente (Sotelo, 1981).

Una característica propia de las semillas de leguminosas es su alto contenido de proteína, nutritivamente son de 2 a 3 veces más ricas en proteína que los granos de cereal, y muchas de las semillas también contienen grasa. Por lo tanto, es sorprendente que no exista una explotación más amplia de ésta familia botánica de alto valor nutritivo.

Una limitación al uso de las leguminosas es que la mayoría de éstas, se hallan bien protegidas contra la depredación de animales como el ganado e incluso el hombre, y otros organismos (bacterias, insectos, hongos); esta protección consiste en la biosíntesis de una amplia

variedad de compuestos tóxicos y/o antinutricionales, los cuales actúan como disuasivo al ataque de sus depredadores.

La naturaleza y principal acción de las toxinas y sustancias antinutritivas ha sido tema de varias revisiones (Belitz, 1987, Partearroyo et al., 1995, Liener, 1980).

## 1.2 Tamarindo (*Tamarindus indica* Linn)

Nombre científico: *Tamarindus indica*, pertenece a la familia Leguminosae, subfamilia Caesalpinoideae. También se denomina: *Tamarindus officinalis*, *Tamarindus occidentalis*, *Tamarindus umbrosa* y sus nombres comunes en México son: Tamarindo (Rep. Méx.); Pachuhuk, Pachuhul, Pah'ch'uhuk en Yucatán.

### 1.2.1 Características Botánicas

Es un árbol tropical de madera compacta y frondoso; su follaje se extiende a un radio de hasta 12 metros y su tronco puede llegar a tener una circunferencia de 7.4 metros, tiene una corteza externa áspera agrietada de color grisáceo, las ramas jóvenes son color gris claro o pardo grisáceo, el conjunto del follaje es verde brillante ligero y sus hojas se distribuyen en un vástago a manera de pluma alternas paripinadas, de un largo aproximado de 7.5 cm a 15 cm. Cada uno tiene de 10 a 20 pares de hojas o folíolos, opuestos de 1.2 cm a 2.5 cm de largo y de 5mm a 6.3 mm de ancho, de color verde pálido con base desigual y ápices redondeados. Las flores son poco visibles ya que son muy pequeñas, crecen en racimos terminales hasta de 10 cm de longitud con 2.2 cm de diámetro, tienen 5 pétalos, tres nacen en el extremo de la flor, son grandes ovalados, de color amarillento pálido matizados de rojo anaranjado, de 0.5 a 1.0 cm de longitud y dos pétalos, son pequeños y angostos reducidos a pelusa. Los capullos de la flor son de color rosa debido al color externo de los sépalos que se desprenden cuando la flor se abre (Preciado, 1996).

**Los frutos** son vainas curvadas, ablongas e irregulares, que crecen en gran abundancia y su tamaño varía de 5 cm a 18 cm de largo y de 1.9 cm a 3.2 cm de ancho aunque hay excepciones.

**La corteza** que encierra la pulpa es café grisáceo y al principio tiene una piel suave verdosa, la pulpa muy ácida y las semillas subdesarrolladas son de color blanquizco. A medida que maduran las vainas se llenan un poco más. La pulpa ácida y jugosa se vuelve de café a café-rojiza entonces la piel se convierte en una cáscara quebradiza y la pulpa se deshidrata hasta adquirir la

aparición de una pasta cubierta por algunos hilos de fibra gruesa que se extienden a lo largo del tallo (Fig. 1).

Las semillas ya bien formadas son duras, ovaladas o cuadradas de 9.5 mm a 12.7 mm de longitud, unidas entre sí con fibras que se encuentran en la pulpa y cubiertas individualmente por una especie de membrana. Se clasifican en dos grupos según su color: rojo y café (Bhattacharya et al., 1993).

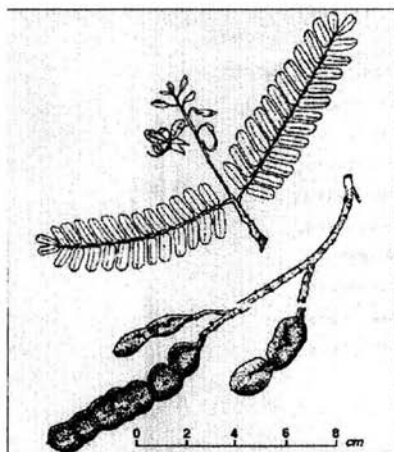


Figura No. 1 Follaje, flores y fruta del tamarindo,  
*Tamarindus indica*

El tamarindo prospera mejor en lugares con clima cálido, semiseco, aunque puede desarrollarse en lugares con clima cálido y húmedo. Prefiere suelos profundos, con buen drenaje, de textura arcillo arenoso, y con pH de 6.5 a 7.5, puede sin embargo, vegetar en suelos relativamente pobres y crecer en terrenos calcáneos siempre y cuando se le dé una buena fertilización y se cuente con agua de riego en tiempo de sequía.

El Tamarindo se puede propagar por semilla o por injerto, para lo cual se deben seleccionar previamente los árboles "madres" que tengan la característica de altos productores, frutos de buena calidad y sanos.

Se cree es nativo de África tropical, y que se ha adaptado en muchas partes del Trópico y sub Trópico. Se ha cultivado y a menudo naturalizado a lo largo de las Antillas y desde México hasta Brasil. Se ha plantado en el sur de Florida, Los Cayos, Bermudas, Cuba y Puerto Rico.

Su principal producto es el fruto cuya pulpa carosa y ácida es apreciada para elaborar agua fresca. En plan industrial se elaboran pastas para concentrados que se utilizan en la preparación de bebidas refrescantes, dulces y helados. La pulpa constituye el 40% de la vaina es una fuente rica de vitaminas B y C e importantes minerales y contiene más calcio que otros frutos.

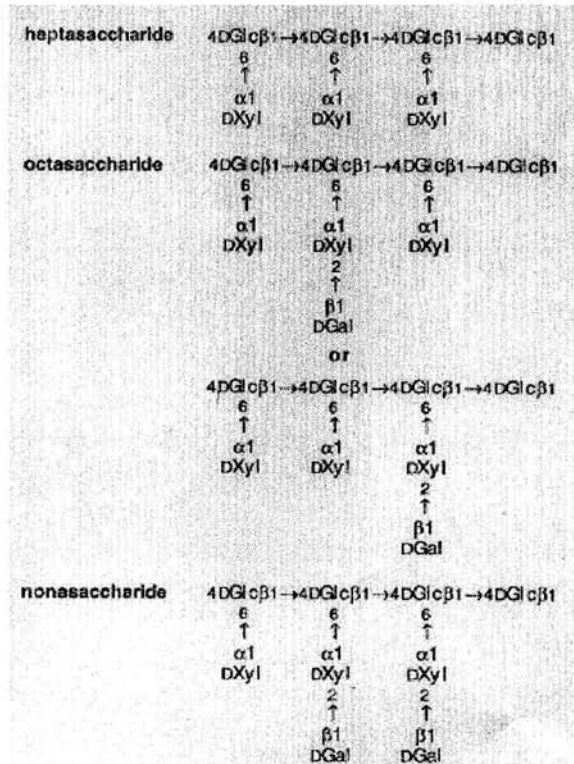
El fruto tierno hervido se usa como condimento para arroz, pescado y carne. Las hojas jóvenes, las vainas inmaduras y las flores son ácidas se sirven como verdura en ensaladas sin la necesidad de vinagre. Las semillas se utilizan como alimento tostándolas, remojándolas y cociéndolas para quitarles la cáscara (Whistler, 1973).

### 1.2.2 Goma de Tamarindo

Las semillas del árbol de tamarindo (*Tamarindus indica*), contienen una gran proporción de polisacáridos no almidonados, que funcionan como energía de reserva. Las semillas están presentes en vainas las cuales contienen pulpa que es ampliamente utilizada en la cocina de Asia y que tiene una alta concentración de azúcares y ácido tartárico. Así las semillas de tamarindo son un subproducto de la extracción de la pulpa, y se han buscado aplicaciones comerciales. Las semillas sin cáscara y trituradas proveen una preparación cruda de polisacáridos (Polvo de la semilla de tamarindo) el cual es utilizado por ejemplo en piezas textiles y tejidos; es un agente adhesivo utilizado para encuadernar, además de otras industrias. Para obtener este polisacárido de la semilla la operación consiste en lavar completamente las semillas con abundante agua para eliminar residuos de la pulpa, se hace una perforación a cada semilla se remojan y posteriormente se elimina la cáscara de la almendra, se someten después a calentamiento en un horno a una temperatura de 150° por 10-15 min. hasta eliminar totalmente la humedad presente.

El polisacárido de la semilla de tamarindo pertenece a la familia de los xiloglucanos, miembros de los cuales se encuentran aun en las matrices de las paredes celulares de las plantas o en mayor composición en semillas, y probablemente funcionan como una reserva de energía. Los xiloglucanos son con frecuencia denominados amiloides porque dan una característica azul al teñirse con una solución de yoduro de potasio. No obstante todos los xiloglucanos de las semillas tienen una estructura común (Gidley et al., 1991). El de la semilla de tamarindo tiene enlaces  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) unidos a una columna de D-glucano que esta parcialmente substituida en la posición O-6 del residuo glucopiranosilo con residuos de  $\alpha$ -D-xilopiranososa. Algunos residuos de xilosa son  $\beta$ -D-galactosilado en O-2. La unidad estructural del xiloglucano del tamarindo existe como heptasacáridos (Glu4Xyl3), Octasacáridos (Glu4Xyl3Gal) y Nonasacáridos (Glu4Xyl3Gal2) (Figura No.2). La relación de D-galactosa/D-Xilosa/D-Glucosa es 1:2.25:2.9 y la proporción de

constituyentes de xiloglucanos en heptámeros, octámeros y nonámeros es de 13:39:48 respectivamente (Nishinari et al., 2000).



**Figura No. 2** Tres tipos de unidades de monómeros del xiloglucano presentes en el polisacárido de la semilla de Tamarindo (Yamanaka et al., 2000).

El peso molecular del polisacárido ha sido descrito en un intervalo de 115,000 a 2,500,000 Da (Nishinari et al., 2000).

El polisacárido se utiliza como un espesante, estabilizante y agente gelificante en alimentos, particularmente en Japón donde éste es permitido como aditivo alimenticio (Gliksman, 1986; Gidley et al., 1991), además de ser una rica fuente de proteínas y aminoácidos; el polisacárido actúa principalmente como un hidrocoloide y se denomina "poliosa" o "goma de tamarindo" el cual forma una película firme además de presentar una excelente estabilidad en un amplio intervalo de pH (Rao y Srivastava, 1973).

El polisacárido tiene la habilidad de formar geles en una concentración de azúcar de 60 – 70° Brix y de alcohol asemejándose a la pectina de fruta.

La formación del gel esta en función del peso molecular de los xiloglucanos que están presentes en la semilla de tamarindo y estos pueden disminuir al sufrir una digestión por presencia de la endo-(1→)-β-glucanasa durante la separación de residuos terminales de β-D-galactopiranosilo, (Reid et al., 1988).

Se dispersa fácilmente en agua fría, produciendo una solución mucilaginoso aun en bajas concentraciones. La viscosidad no es afectada por el pH o por la presencia de iones sodio, calcio o sales de hierro.

La poliosa o goma de tamarindo se ha recomendado para el uso en productos tales como jaleas, gelatinas, mermeladas, mayonesas y confitería y puede ser libremente consumido (Marathe et al., 2002).

### 1.3 Valor nutricional de las proteínas.

Las proteínas son complejas sustancias orgánicas nitrogenadas que constituyen esencialmente el protoplasma de las células tanto animales como vegetales, y tienen un papel fundamental en su estructura y función; desempeñan funciones biológicas entre las que se encuentran principalmente la regeneración y la formación de tejidos, la síntesis de enzimas, anticuerpos y hormonas entre otras.

El hígado es un órgano capaz de transaminar, es decir, de trasladar un grupo amino de una molécula a otra, gracias a su capacidad enzimática. Por ello, un buen número de aminoácidos se pueden convertir en otros, según las necesidades de síntesis del organismo, a excepción de algunos que el organismo adulto no es capaz de sintetizar. Estos aminoácidos se denominan esenciales, y su aporte debe realizarse desde el exterior mediante la ingesta de los alimentos.

Los aminoácidos esenciales son: isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, valina, metionina y triptófano (Cervera, 1993). Algunos de ellos, por ejemplo el triptófano, se necesitan directamente para la biosíntesis de hormonas y otros compuestos metabólicamente activos. Sin embargo, de entre los ocho aminoácidos esenciales, solo cinco limitan la calidad de las proteínas en la dieta el hombre: la lisina, los aminoácidos azufrados (metionina-cistina), la treonina y el triptófano (Robinson, 1998).

La tirosina y la cistina también se clasifican como aminoácidos esenciales, puesto que no pueden ser sintetizados en cantidades adecuadas cuando la dieta es deficiente en fenilalanina o metionina respectivamente.

La arginina y la histidina no se incluyen en la lista, aunque estos aminoácidos son esenciales para los niños, sin embargo, se cree que pueden ser sintetizados en cantidades suficientes por los adultos.

La cantidad mínima proteínica alimentaria es variable. Está determinada por la proporción relativa de aminoácidos esenciales. En consecuencia, la dependencia de una única fuente de proteína puede dar lugar a una ingesta proteínica insuficiente en algunos de los aminoácidos esenciales; por ejemplo, los cereales son deficientes en lisina mientras que las leguminosas lo son en aminoácidos azufrados (Robinson, 1998).



### 1.3.1 Necesidades de aminoácidos

La función principal de las proteínas en nuestros alimentos es aportar el nitrógeno y los aminoácidos necesarios para la síntesis de las proteínas corporales.

El comité de expertos de la FAO /OMS ha valorado las necesidades de aminoácidos en los niños y en los adultos a partir de los datos obtenidos mediante experimentos alimentarios. El patrón de necesidades de aminoácidos por gramo de proteína se basa actualmente en las distintas necesidades del hombre desde la infancia hasta la madurez (Tabla No. 1).

**Tabla No. 1** Necesidades de aminoácidos sugeridas por la FAO/OMS/ONU

Aminoácidos	Necesidades requeridas (mg/g de proteína)			
	Lactantes media (intervalo)*	Preescolares (2-5 años)	Edad escolar (10-12años)	Adultos
Histidina	26 (18 - 36)	19	19	16
Isoleucina	46 (41 - 53)	28	28	13
Leucina	93 (83 -107)	66	44	19
Lisina	66 (53 - 76)	58	44	16
Metionina+cistina	42 (29 - 60)	25	2	17
Fenilalanina+tirosina	72 (68 -118)	63	22	19
Treonina	43 (40 - 50)	34	28	9
Triptófano	17 (16 - 17)	1	9	5
Valina	55 (44 - 77)	35	25	3
Total				
Incluyendo histidina	460 (408 - 588)	241	241	127
Sin incluir histidina	434 (390 - 552)	222	222	111

\*Composición de aminoácidos de la leche de la mujer

Utilizando estos valores de FAO / OMS / ONU de 1985 se puede evaluar la cantidad adecuada de proteínas que deben consumir los niños más jóvenes, los de edad preescolar y los adultos, a partir de su composición en aminoácidos para lo cual, se determinan calificaciones químicas (C. Q) relacionadas con el patrón FAO / OMS para los aminoácidos individuales, siendo esta una forma de evaluar la calidad de las proteínas por métodos químicos.

La calidad, el valor o equilibrio de una proteína alimenticia depende de la naturaleza y cantidades de aminoácidos que contiene, lo que representa una medida de la eficacia de cómo el organismo puede utilizar esa proteína. Una proteína equilibrada o de alta calidad, contiene los

aminoácidos indispensables en proporciones correspondientes a las necesidades humanas. Este hecho puede comprobarse de acuerdo al contenido de aminoácidos con el modelo de referencia de la FAO por medio del cual se puede conocer el aminoácido limitante que es aquel en el que el déficit es mayor comparado con la proteína de referencia, es decir aquel que, una vez realizado el cálculo, proporciona la cuenta química la cual se realiza por la siguiente expresión (Cheftel, 1999).

$$CQ = \frac{\text{mg de aminoácido en 1 g de proteína de prueba}}{\text{mg de aminoácido en 1 g de proteína de referencia}} \times 100$$

Las proteínas de origen animal generalmente tienen concentraciones relativamente altas de todos los aminoácidos esenciales y por lo tanto, una excelente CQ. Las proteínas de cereales son pobres en lisina y en algunos casos en triptófano y treonina, mientras que las leguminosas suelen ser deficientes en aminoácidos azufrados (metionina-cisteína) y en algunos casos también en triptófano (Casanueva et al., 2000, Sinha, 1978).

Origen de la proteína	Aminoácido limitante	CQ
<b>CEREALES</b>		
Maíz	Lisina, triptófano	49
Arroz	Lisina	77
Trigo	Lisina	52
<b>LEGUMINOSAS</b>		
Fríjol	Azufrados	55
Soya	Azufrados	74
Garbanzo	Azufrados, triptófano	63
Haba	Azufrados, triptófano	44
Lenteja	Azufrados	49

### 1.3.2 Fuentes proteínicas no convencionales

Los procedimientos generales más significativos de entre los encaminados a ampliar la disponibilidad de las proteínas, tanto para el consumo humano, como para el de los animales, consiste en incrementar la utilización de las leguminosas y otros vegetales ricos en proteínas. Las semillas de las leguminosas han sido tradicionalmente consumidas por el hombre y constituyen un importante complemento proteínico de los cereales y de los alimentos feculentos (Fennema, 1993).

### 1.3.3 Concentración de proteínas

Se refiere a la abundancia de este nutriente en el alimento, y el contenido de proteína de un alimento o dieta se expresa generalmente como los gramos de proteína por 100 gramos de alimento. Las leguminosas han sido consideradas tradicionalmente como excelentes fuentes de proteína vegetal para el hombre, cuyas semillas han sido ampliamente utilizadas en nutrición, con niveles que oscilan entre 17 % en las alubias y 42% en la soya (Fernández-Quintela et al., 1993 Sinha, 1978)

Semilla de leguminosa	Nombre científico	Proteína (%)
Frijoles	<i>Phaseolus vulgaris</i>	17 – 23
Garbanzos	<i>Cicer arietinum</i>	17 – 21
Chicharos	<i>Pisum sativum</i>	20 – 26
Lentejas	<i>Lens culinaris</i>	20 – 28
Habas	<i>Vicia faba</i>	26 – 34
Soya	<i>Glycine max</i>	38 – 42
Cacahuete	<i>Arachis hypogaea</i>	25 – 28

Las semillas de leguminosas tienen un alto contenido de proteína, pero debe tenerse en cuenta que un porcentaje significativo de la proteína cruda está constituido por compuestos nitrogenados no proteínicos que constituyen la fracción de nitrógeno no proteínico, que enmascara su verdadero valor nutritivo (Periago et al., 1996). Este porcentaje varía según el tipo de leguminosa y se encuentra constituido principalmente por péptidos, aminoácidos libres y sustancias nitrogenadas de origen no proteínico, como iones nitrato ( $\text{NO}_3$ ) y nitrógeno amido ( $\text{R-CO-NH}_2$ ).

#### **1.3.4 Determinación de proteína**

Hoy en día hay muchos víveres como granos de cereales, leguminosas y residuos de oleaginosas principalmente, que se utilizan como fuente de proteína para la alimentación humana y animal. El contenido de proteína puede diferir de una cosecha a otra. Esto se debe a la fuerte interacción entre el genotipo y las condiciones ambientales que prevalecen durante el desarrollo y la maduración. Con respecto al término proteína, se debe mencionar que en un alimento se refiere al total de las fracciones proteínicas que lo componen; por consiguiente, esta mezcla es muy compleja.

La proteína cruda puede ser fraccionada en dos categorías, soluble e insoluble y el nitrógeno de los alimentos puede ser dividido en tres fracciones: 1) nitrógeno no proteico (NNP), compuestos que contienen nitrógeno, pero que por definición no son proteínas, es decir que no son aminoácidos unidos por un enlace peptídico, 2) proteína verdadera y 3) nitrógeno no disponible (Sniffen et al. 1992).

Las proteínas pueden determinarse por una gran cantidad de métodos, algunos se basan en la precipitación de proteínas con diversos reactivos como lo son los ácidos tricloroacético, tungstico, sulfosalicílico y acético entre otros; existen métodos como el turbidimétrico o producción de compuestos coloridos entre los cuales se encuentran el Biuret y Lowry, mientras que los métodos de Dumas y de Kjeldahl determinan el nitrógeno total que se pueden relacionar con el contenido de proteína contenida en la muestra (Badui, 1994).

#### **1.3.5 Digestibilidad de proteínas.**

Las proteínas de los alimentos deben ser digeridas para liberar los aminoácidos y dipéptidos que son absorbidos por el intestino delgado. La digestibilidad proteínica se refiere a la cantidad de proteína ingerida que el organismo transforma por el proceso digestivo en una forma que pueda absorber y podría utilizar para realizar una función biológica; lo que se conoce como biodisponibilidad.

Los aminoácidos presentes en las proteínas de los alimentos no están siempre disponibles en su totalidad, debido a que la digestión de la proteína puede ser incompleta. Esta digestibilidad

proteínica de los alimentos o dietas varia de acuerdo a las cualidades intrínsecas de este nutrimento, entre las cuales tenemos (Torún et al., 1994):

- Las diferencias biológicas existentes entre individuos puede afectar su capacidad para digerir las proteínas y absorber los aminoácidos, por ejemplo el estado fisiológico del consumidor.
- La presencia de componentes que pueden disminuir parcialmente la digestión, por ejemplo los inhibidores de tripsina, ácido fítico, polifenoles (taninos) o la fibra dietética.
- Los cambios físico-químicos inducidos por el procesamiento de los alimentos, por ejemplo algunos alimentos refinados o cocidos se digieren mejor que en su forma natural o cruda.
- La estructura nativa de la proteína, por ejemplo la compactabilidad (el tamaño y extensión de la superficie) de la proteína, puede dificultar enormemente la acción de las enzimas digestivas y por lo tanto su proteolisis.
- El origen de las proteínas, en general las proteínas de origen vegetal tienen una digestibilidad de 60-85%, mientras que las proteínas de origen animal, al igual que los cereales refinados tienen digestibilidad de 95%.

Fuente de proteína	Digestibilidad verdadera (%)
Leche, huevo, carne, pescado	95
Harina refinada de trigo	96
Aislado de soya	94
Arroz pulido	88
Harina de soya	86
Trigo entero	86
Harina de avena	86
Productos de maíz	85
Frijoles	69

La digestibilidad se determina mediante ensayos biológicos con ratas, ya que se ha establecido que la digestibilidad de las proteínas es similar en la rata y el humano, los métodos *in vivo* se basan en suministrar a los animales experimentales una dieta que contiene la muestra

como única fuente de proteínas y se determina la cantidad digerida de nitrógeno mediante la diferencia entre lo ingerido y lo eliminado por heces. Sin embargo, se han desarrollado alternativas *in vitro* más rápidas, menos costosas y con suficiente sensibilidad para determinar la digestibilidad; todos éstos métodos se basan en digerir la muestra con enzimas proteolíticas en condiciones estandarizadas, difiriendo entre ellos el número y naturaleza de las enzimas utilizadas y la medida final que realizan (Hernández et al., 1996).

Otros factores que disminuyen la digestibilidad en las proteínas de origen vegetal, son la presencia de factores tóxicos y antinutricionales.

Por su modo de acción, las sustancias nocivas de los alimentos pueden clasificarse en dos grandes grupos:

a) Las sustancias antinutritivas cuyo efecto tóxico se basa en disminuir la disponibilidad o provocar una pérdida suplementaria de los nutrientes esenciales. Estas sustancias provocan un desequilibrio, que se compensa por un aporte suplementario de los nutrientes implicados, pero a la larga determinan la aparición de una patología particular. Pertenecen, por ejemplo a este grupo las sustancias que impiden el aprovechamiento del yodo provocando bocio, que actúan aumentando las necesidades de yodo del organismo o los inhibidores de enzimas digestivas. En el caso contrario, la compensación del nutriente deficitario puede mejorar rápidamente el estado general. Cuando la carencia crónica determina un estado grave del organismo resulta imposible restablecer la actividad normal por simple administración del elemento en defecto.

b) Los compuestos tóxicos de los alimentos, cuyos efectos indeseables, no pueden compensarse por aporte suplementario de nutrientes. Su modo de acción puede explicarse, sea por su particular reactividad, por un mimetismo molecular de las hormonas, aminoácidos, o, en ciertos casos por la existencia de la información genética que favorezca la aparición de una determinada patología (Derache 1990).

#### **1.4 Aspectos generales sobre factores tóxicos y antinutricionales de origen vegetal**

##### **1.4.1 Alcaloides**

Los alcaloides son compuestos nitrogenados que generalmente tienen una estructura molecular compleja y que poseen acción farmacológica. Siendo aminas son solubles en agua en medio ácido y se pueden extraer con disolventes orgánicos en medio básico. Estas propiedades se aprovechan para extraerlos de las plantas (Goodwin et al. 1974).

Aquellos alcaloides que no tienen anillos heterocíclicos son conocidos como Protoalcaloides y son aminas. Los Protoalcaloides son generalmente derivados directamente de aminoácidos (Pelletier, 1982).

El nitrógeno de los alcaloides puede ser primario, secundario, terciario, o cuaternario, o puede estar presente como un óxido de amina.

Los alcaloides se encuentran principalmente en las familias de Centrospermae, Manoliales, Renunciales, Papaveraceae, Leguminosae, Papulioaceae y Rutaceae. Las monocotiledóneas son generalmente pobres en alcaloides a excepción de las Liliiflorae y Gramínea. Los alcaloides tienden a acumularse en cuatro tipos de tejido: tejido creciendo activamente, células epidérmicas e hipodérmicas, cubiertas vasculares y en vasos.

Algunos alcaloides se consideran como precursores de aminoácidos.

La amplia distribución de alcaloides en hojas y raíces indica una función de estos compuestos en el metabolismo general de plantas. Aparte del efecto biológico de protección contra depredadores; se propone que pueden ser los productos finales del metabolismo del nitrógeno, como lo son la urea y el ácido úrico en los animales, o que actúan como reguladores de crecimiento o que ayudan a mantener el balance iónico, además de que pueden ser una reserva de nitrógeno que se utiliza en condiciones de deficiencia del mismo (Goodwin et al., 1974, Hughes et al., 1973).

Los alcaloides y sus preparados constituyen una importante proporción de las sustancias empleadas frecuentemente en la moderna terapéutica. Como medicamentos se caracterizan por su gran potencia; una ligera disminución en la proporción de alcaloides en un preparado puede causar una importante reducción en su acción fisiológica y por otra parte, un ligero exceso puede ocasionar efectos tóxicos.

Las cantidades de alcaloides que se hallan presentes en las plantas varían considerablemente en las muestras por la edad de la planta en el momento de la recolección, la estación del año en que se efectúa la colecta, clima y suelo en que se desarrolla la planta y tipo de variedad de la misma especie (Jenkins et al., 1951).

#### 1.4.2 Glucósidos cianogénicos

El ácido cianhídrico en cantidades traza se encuentra ampliamente distribuido en el reino vegetal, se presenta principalmente en forma de glucósidos cianogénicos. Se han encontrado en relativamente altas concentraciones en algunas gramíneas, leguminosas, raíces feculentas y almendras de frutas. Estos glucósidos pueden contener en su molécula un monosacárido generalmente glucosa, o bien un disacárido como la gentobiosa unidas a una cianhidrina.

La amigdalina fue el primer glucósido cianogénico identificado en las almendras amargas, presentándose también en otras clases de semillas. La durrina se encuentra en el sorgo y algunos pastos, en la linaza podemos encontrar lotastraulina y linamarina, esta última se presenta en diferentes variedades de leguminosas. Otros alimentos que contienen glucósidos cianogénicos son el fríjol de lima, la yuca, el lupino, la casava y la tapioca (Liener, 1980).

Los glucósidos cianogénicos no son tóxicos por si mismos, sino lo son por el ácido cianhídrico liberado; la forma como se libera el ácido cianhídrico de estos glucósidos es por vía enzimática, llegándose a presentar autólisis de estos compuestos, solo cuando hay un daño físico en la planta. La liberación espontánea del ácido cianhídrico en la planta depende de la presencia de la enzima específica,  $\beta$ -glucosidasa y agua. Las enzimas son extracelulares y actúan solamente después de la ruptura de los tejidos de la semilla. El intervalo de toxicidad permitida para los glucósidos cianogénicos es de 10 a 20 mg de HCN/100g de muestra (Contreras, 1992).

La dosis letal media de ácido cianhídrico para un individuo cuando es ingerida por vía oral se ha estimado entre 0.5-3.5mg/kg de peso corporal. Con esta dosis se presentan síntomas de adormecimiento periférico con ligeros mareos, seguidos por confusión mental, cianosis, temblores, convulsiones, coma y finalmente la muerte. El ácido cianhídrico es un potente inhibidor del sistema respiratorio a nivel celular, ya que actúa sobre la citocromo oxidasa, la cual es el catalizador respiratorio terminal de los organismos aerobios. En caso de dosis subletales se puede presentar dolor de cabeza, sensación de opresión en la garganta, palpitaciones y debilidad muscular. En estos casos el organismo es capaz de llevar a cabo un proceso de destoxificación, ya que existe una sulfotranferasa (rodonasa) que cataliza la reacción del ácido cianhídrico con el tiosulfato formando sulfito y tiocianato que es eliminado por orina (Conn, 1980, Haborne et al., 1971).

Algunos autores clasifican a los glucósidos cianogénicos de acuerdo con la naturaleza química de sus aglucones y otros los clasifican basándose en su origen biosintético.



Entre las propiedades químicas de los glucósidos cianogénicos destacan las siguientes: son degradados en ácido diluido a temperaturas no superiores a 60° C para producir el azúcar respectivo y el  $\alpha$ -hidroxinitrilo. Este último es inestable y puede disociarse a HCN y a un aldehído o cetona en una reacción dependiente del pH. La hidrólisis en ácido concentrado puede producir el  $\alpha$ -hidroxiácido y el  $\text{NH}_3$ . El grupo nitrilo en el glucósido se hidroliza más rápidamente que el enlace  $\beta$ -glucosídico. El tratamiento con una base suave por ejemplo  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  saturado hidroliza el grupo nitrilo de varios glucósidos cianogénicos para formar el correspondiente ácido glucosídico por ejemplo ácido amigdalínico. Sin embargo la durrina y la taxifilina son lábiles en bases diluidas y se descomponen a HCN, glucosa, y  $p$ -hidroxibenzaldehído, los mismos productos obtenidos en hidrólisis ácida.

La distribución de los glucósidos cianogénicos es muy amplia, se encuentran en plantas gimnospermas y monocotiledóneas y dicotiledóneas angiospermas. Entre las familias más notables para la cianogénesis están las Aráceas, Compositas, Euforbiáceas, Gramíneas, Leguminosas, Pasifloráceas y Rosáceas.

### 1.4.3 Fitatos

El ácido fitico y sus sales, fitatos, son componentes comunes de los tejidos vegetales, particularmente se encuentra en los cereales y las leguminosas, se localiza frecuentemente en el pericarpio y es la principal forma de almacenamiento de fósforo.

Químicamente el ácido fitico es hexafosfato de inositol disminuye la biodisponibilidad de los elementos traza necesarios para humanos y animales monogástricos.

El ácido fitico se desfosforila hasta inositol y ácido fosfórico por tratamiento con ácido y calor o por la acción de la enzima fitasa, la cual se encuentra con abundancia en el trigo, en el centeno y la cebada, resultando la fitasa de centeno la más activa (Cervera, 1993).

Los seis grupos reactivos de fosfato presentes en la molécula del ácido fitico hacen de este compuesto un agente fuertemente quelante, en el que 8 de los 12 protones disociables del fitato están disponibles para atrapar metales que se unen a minerales como  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$  y  $\text{Fe}^{+2}$  formándose complejos insolubles bajo las condiciones de pH en el interior del conducto gastrointestinal, por lo tanto estos minerales no se encuentran disponibles para su absorción en las paredes del intestino de animales monogástricos y seres humanos. Además, forma complejos con proteínas impidiendo la absorción de éstas (Overéelas, 1975).

## 1.5 Diabetes mellitus

La diabetes es un problema conocido desde la época egipcia y descrito en la antigua Grecia. Si bien, hoy en día, se conocen con gran profundidad y precisión las causas, síntomas y signos, así como su evolución y problemas relacionados; en la actualidad no existen medidas curativas. El origen del nombre viene del griego y etimológicamente significa dulzura o miel (mellitus), que pasa a través (diabetes).

La diabetes es un trastorno crónico que afecta al metabolismo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas. El rasgo característico de esta enfermedad es la hiperglucemia, que refleja una alteración en la utilización de los carbohidratos (glucosa) como resultado de una respuesta defectuosa o deficiente de la secreción de insulina. Los niveles de azúcar en la sangre se mantienen, en las personas no diabéticas, dentro de unos límites normales muy estrechos, sobrepasando muy rara vez los 130 mg/dl, incluso cuando se han tomado alimentos muy ricos en azúcar. Cuando una persona no diabética ingiere alimentos, los azúcares que éstos contienen se absorben desde el intestino y pasan a la sangre, tendiendo a elevar los niveles de azúcar en ésta. Tal tendencia a la elevación es inmediatamente detectada por las células productoras de insulina que responden con una secreción rápida de esta hormona, ésta a su vez actúa como una llave que abre las puertas de las células en los músculos, el tejido graso y el hígado, permitiendo entrar al azúcar y disminuyendo por tanto su nivel en la sangre. Todo este mecanismo es muy rápido, no dando tiempo a que la glucemia se eleve (Ganong, 1996).

Los islotes de Langerhans del páncreas secretan por lo menos cuatro péptidos con actividad hormonal. Dos de estas hormonas son la insulina que es anabólica y aumenta el almacenamiento de glucosa, ácidos grasos y aminoácidos, y el glucagón que es catabólico pues moviliza glucosa, ácidos grasos y aminoácidos de sus sitios de almacenamiento hacia la corriente sanguínea y ambas tienen funciones importantes en la regulación del metabolismo intermedio de carbohidratos, proteínas y lípidos. El exceso de insulina origina hipoglucemia, lo que produce convulsiones y coma, la deficiencia de esta ya sea absoluta o relativa, origina diabetes, enfermedad compleja y debilitante que si no se trata termina por ser mortal. Los islotes de Langerhans son colecciones de células ovoides diseminadas a través de todo el páncreas. Existen por lo menos cuatro tipos distintos de células, en donde las células A (o alfa) secretan glucagón, y las B (o beta) secretan insulina. Las células B son las más frecuentes, suman 60 a 75% de las células de los islotes y en general se localizan en el centro del islote.

La insulina se sintetiza en el retículo endoplásmico de las células B; su vida media en la circulación en el hombre es de alrededor de cinco minutos, se une a los receptores de insulina y de ahí se interna en las células. Casi todos los tejidos del cuerpo pueden metabolizar cierta cantidad

de insulina. Sin embargo, 80% de la secretada se degrada en condiciones normales en hígado y riñones. Los efectos fisiológicos de la insulina son de mucho alcance y complejos. Se dividen en acciones rápidas, intermedias y tardías. El más conocido es el efecto hipoglucémico pero hay efectos adicionales sobre los aminoácidos y el transporte de electrolitos, varias enzimas y el crecimiento. En el hombre, la deficiencia de esta hormona es un trastorno patológico frecuente y grave. Los médicos griegos y romanos usaban el término "diabetes" para referirse a trastornos en que el dato cardinal era un gran volumen de orina y se distinguían dos tipos: la "diabetes mellitus" en la cual la orina tenía un sabor dulzón y la "diabetes insípida" que no tenía sabor (Lehninger, 1991).

La diabetes se caracteriza por poliuria, polidipsia, pérdida de peso a pesar de la polifagia (aumento en el apetito), hiperglucemia, glucosuria, cetosis, acidosis y coma. Hay una gran variedad de anomalías bioquímicas, pero los defectos fundamentales que originan la mayor parte de la anomalías son: 1) reducción en la entrada de la glucosa en varios tejidos "periféricos" y 2) aumento de la liberación de glucosa hacia la circulación por el hígado (Cotran et al., 1980).

De acuerdo a las condiciones generales aplicables a cualquier forma de diabetes las causas por las que se producen, la forma en que se presentan y como evolucionan hace que se distingan algunos tipos bien diferenciados de diabetes. Hay tres tipos principales de diabetes (Ganong, 1996):

1. Diabetes de tipo 1.
2. Diabetes de tipo 2.
3. Diabetes gestacional.

### **1.5.1 Diabetes de tipo 1**

Es conocida también como diabetes mellitus dependiente de insulina (DMID), diabetes juvenil, diabetes inestable o diabetes sacarina, aparece sobre todo en niños, adolescentes y adultos menores de 30 años. Hay dos formas de diabetes de tipo 1:

Tipo 1 idiopática: se refiere a formas raras de la enfermedad sin causa conocida.

Diabetes inmunológica mediadora: existe un desorden auto-inmunológico en el cual el sistema inmunológico del cuerpo destruye, o intenta destruir, las células del páncreas que

producen insulina; es la forma más común de la diabetes de tipo 1. La causa de la diabetes de tipo 1 es desconocida, pero se cree que las personas heredan una tendencia a desarrollar diabetes.

Esta enfermedad auto-inmunológica resulta del fallo del cuerpo para producir insulina y esto es el resultado de un proceso en el cual el sistema inmunológico del cuerpo ataca y destruye las células del páncreas productoras de insulina. Cuando la glucosa no puede entrar a las células, ésta se acumula en la sangre y las células del cuerpo se privan de alimento y mueren. Las personas con diabetes tipo 1 deben administrarse inyecciones de insulina diariamente y controlar regularmente sus niveles de azúcar de la sangre. La diabetes de tipo 1 puede causar problemas diferentes, pero hay tres complicaciones principales:

1. Hipoglucemia (azúcar baja en sangre, llamada algunas veces reacción a la insulina) ocurre cuando los valores de azúcar son demasiado bajos.
2. Hiperglucemia (azúcar alta en sangre) ocurre cuando los valores de azúcar son demasiado elevados y puede ser un signo de que la diabetes no está bien controlada.
3. Cetoacidosis (coma diabético) es la pérdida del conocimiento debido a la falta de tratamiento o tratamiento inadecuado de la diabetes.

La hipoglucemia relacionada con el uso de hipoglucemiantes orales (sobre todo sulfonilureas) puede ser grave y prolongada y se ve con más frecuencia en pacientes con alteración hepática, renal o en ancianos.

La Diabetes tipo 1 que no puede compensarse con la dieta suele mejorar administrando sulfonilureas. Estos fármacos son fáciles de usar y aparentemente son inocuos. A pesar de todo, el empleo de hipoglucemiantes orales ha disminuido como consecuencia de la insistencia en lograr un control más perfecto de la diabetes a fin de retrasar la aparición de las complicaciones tardías de la enfermedad .

### **1.5.2 Diabetes de tipo 2**

Es un desorden metabólico que resulta de la incapacidad del cuerpo de producir suficiente insulina o usarla apropiadamente. Antes llamada diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID). Sin la cantidad suficiente de insulina, el cuerpo no puede llevar el azúcar dentro de las

células. Es una enfermedad crónica y se desconoce su cura. Es el tipo más común de diabetes, responsable de un 90 a un 95 por ciento de los casos de diabetes.

Esta forma de la diabetes aparece habitualmente en personas mayores de 40 años, siendo tanto más frecuente cuanto más avanzada sea la edad. Se desconoce la causa exacta de la diabetes de tipo 2. Sin embargo, parecería existir un factor genético que causa la aparición de esta diabetes en varios miembros de la misma familia. Aunque una persona puede heredar la tendencia a desarrollar la diabetes de tipo 2, por lo general debe existir otro factor, como la obesidad, para que la enfermedad se desarrolle. Los factores de riesgo de la diabetes de tipo 2 incluyen los siguientes: La edad (las personas mayores de 45 años tienen un riesgo mayor), antecedentes de diabetes en la familia, el exceso de peso, no hacer ejercicio regularmente, raza (pertenecer a cierto grupo racial o étnico, como el afroamericano, hispanoamericano y los indígenas americanos), antecedentes de diabetes gestacional (o dar a luz a un bebé que haya pesado más de 4 kilogramos), nivel bajo de la lipoproteína de densidad alta (el colesterol bueno HLA-D) o un nivel alto de triglicéridos, así mismo en el cuadro numero 1 se comparan los síntomas que se presentan en la diabetes tipo 1 y tipo 2.

**Cuadro No.1 Comparación de síntomas en la diabetes tipo 1 y tipo 2**

<b>Diabetes Tipo 1</b>	<b>Diabetes Tipo 2</b>
Niveles altos de azúcar en sangre	Infecciones frecuentes que no se curan fácilmente
Niveles altos de azúcar en orina	Orinar frecuentemente
Sed poco común	Hambre extrema pero al mismo tiempo pérdida de peso
Orinar frecuentemente	Sed poco común
Hambre extrema pero al mismo tiempo pérdida de peso	Visión borrosa
Visión borrosa	Debilidad y cansancio extremos
Náusea y vómito	Irritabilidad y cambios en el estado de ánimo
Debilidad y cansancio extremos	Náusea y vómito
Irritabilidad y cambios en el estado de ánimo	Niveles altos de azúcar en sangre
	Niveles altos de azúcar en la orina
	Piel reseca, con comezón
	Hormigueo o pérdida de sensibilidad en las manos o en los pies.

### 1.5.3 Diabetes gestacional

Es una condición en la cual se eleva el nivel de glucosa y aparecen otros síntomas de diabetes durante el embarazo en una mujer a la que no se le diagnosticó diabetes previamente. Todos los síntomas de la diabetes desaparecen después del parto. A diferencia de la diabetes de tipo 1 la diabetes gestacional no es causada por la carencia de insulina, sino por los efectos bloqueadores de las otras hormonas en la insulina producida, una condición denominada resistencia a la insulina. Aun cuando las causas de la diabetes gestacional son desconocidas, existen algunas teorías acerca de por qué se desarrolla esa condición.

La placenta suministra nutrientes y agua al feto en crecimiento, y produce varias hormonas para mantener el embarazo. Algunas de estas hormonas (estrógeno, cortisol y el lactógeno de la placenta humana) pueden tener efectos bloqueadores en la insulina. A esto se le llama efecto en contra de la insulina, el cual suele presentarse entre las 20 y las 24 semanas de embarazo. A medida que la placenta crece, se producen más de estas hormonas y la resistencia a la insulina aumenta. Normalmente, el páncreas es capaz de producir la insulina adicional necesaria para superar la resistencia a la insulina, pero cuando la producción de insulina no es suficiente para contrarrestar el efecto de las hormonas placentales, el resultado es la diabetes gestacional (Harrison, 1998).

### 1.5.4 Plantas medicinales para el tratamiento de la diabetes

Se han descrito más de 400 plantas diferentes y extractos que aportan beneficios a la diabetes. Las propiedades hipoglucémicas sin embargo, son conocidas por anécdotas y pocas han recibido una adecuada evaluación médica o científica. La lista de tratamientos de plantas antidiabéticas tradicionales con componentes hipoglucémicos o fracciones obtenidas de éstas a permitido identificar especies moleculares particularmente alcaloides, glucósidos y polisacáridos (Konno et al., 1995).

*Cyamopsis tetragonolobus* es un frijol de la india reconocida por la población de Asia, que se utiliza para el tratamiento de la diabetes. Las semillas de esta planta son fuente de una goma de galactomananas (goma que es usada como agente estabilizante en alimentos y cosméticos). El efecto de viscosidad evita la absorción de la glucosa y además ayuda a reducir la hiperglucemia postprandial. En adición a la goma de las semillas, la vaina del frijol también contiene componentes antidiabéticos que recientemente muestran un contenido de polisacáridos y peptidoglicanos

antihyperglucemicos (Konno, et al., 1985). Una dosis de 100mg/Kg por peso, de estas plantas disminuye la glucosa en ratones diabéticos.

Los polisacáridos más comunes o principales peptidoglucanos de cada planta reducen las concentraciones de glucosa en más de 20 por ciento con una duración de dicho efecto después de 24 h. Estas plantas contienen otros extractos con diferentes efectos farmacológicos y sin embargo hasta el momento no se ha reportado efectos tóxicos por parte de los polisacáridos y peptidoglucanos presentes (Clifford et al., 1989).

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Estudiar las características nutricionales de la semilla de Tamarindo sin cáscara así como el comparar el efecto hipoglucemiante de ésta con el de la semilla completa, para un posible aprovechamiento de dicha semilla considerado como un producto de desecho.

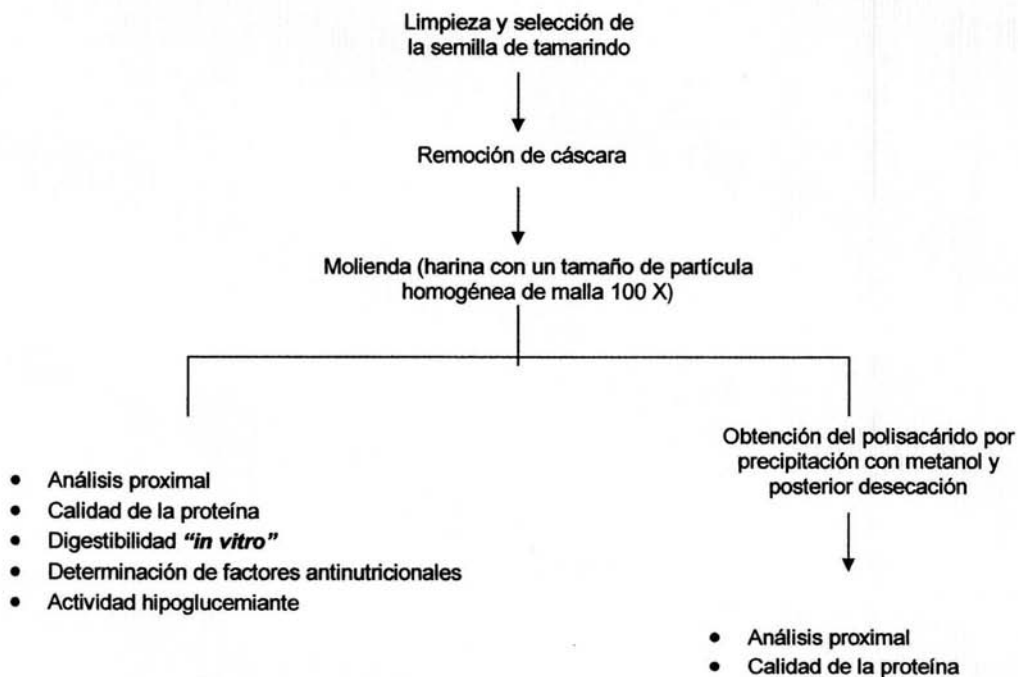
### OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la calidad de la proteína contenida en la semilla de tamarindo sin cáscara así como en el polisacárido.
2. Evaluar la proteína verdadera y la digestibilidad "*in vitro*" en la semilla sin cáscara.
3. Identificar los factores tóxicos y antinutricionales en la semilla sin cáscara para conocer posibles efectos adversos presentes en esta leguminosa.
4. Identificar la actividad hipoglucemiante en extractos acuosos a partir de la semilla completa, cáscara y semilla sin cáscara.



## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Diagrama No. 1 Esquema general de trabajo



## **2.2 Limpieza y selección de la semilla**

La materia prima fue la semilla de tamarindo (*Tamarindos indica*) la cual se obtuvo a partir de diversos locales comerciales. Una vez que se utilizó la pulpa del tamarindo se recolectaron las semillas. Contando con suficiente cantidad se realizó una inspección visual para verificar que no se encontrara dañada física o biológicamente. El material seleccionado se homogeneizó para poder tomar muestras representativas que se usaron en las determinaciones subsecuentes.

## **2.3 Determinación de parámetros físicos**

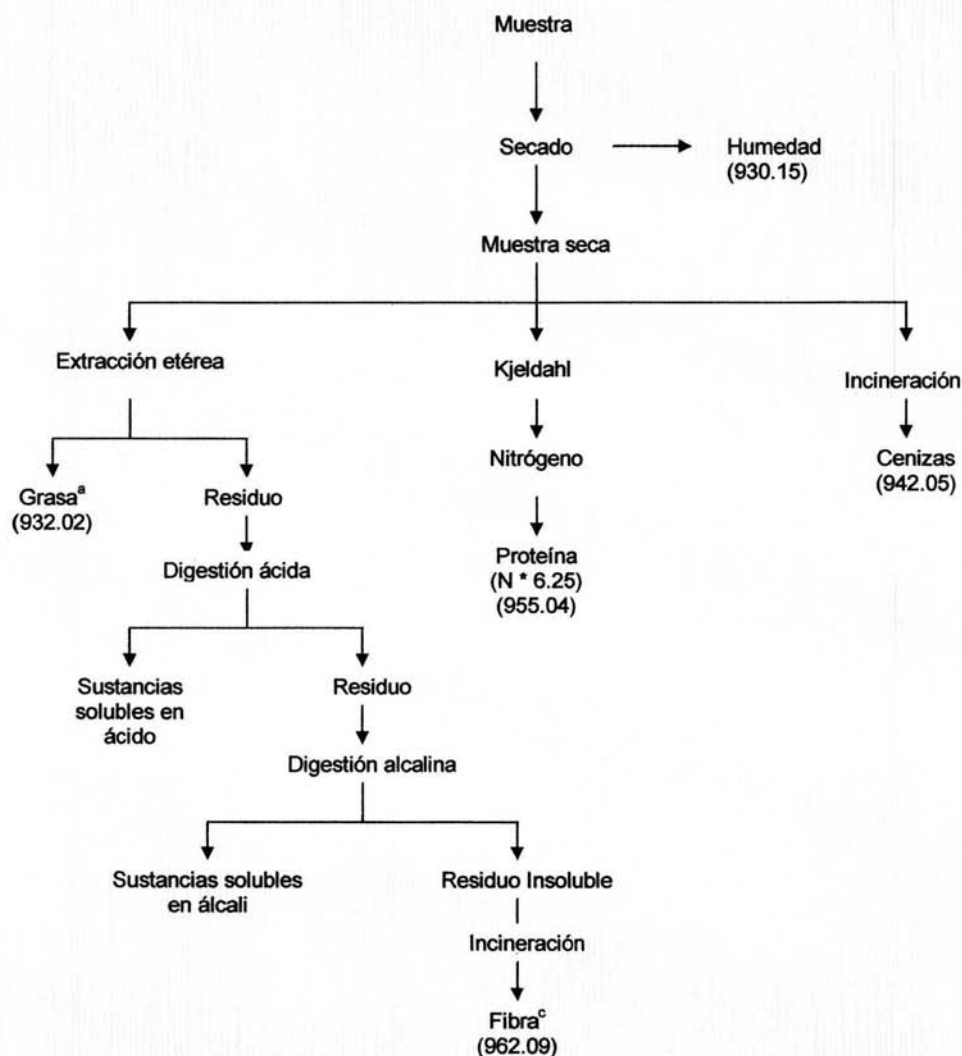
Al separar la cáscara de la semilla se cuantificó la cantidad en peso de cada fracción además de observar la forma y el color en la semilla interna comparando estos parámetros con datos reportados por otros autores.

## **2.4 Obtención del polisacárido**

A partir de la semilla de tamarindo se eliminó la cáscara con ayuda de un cutter obteniendo así la semilla interna la cual se sometió a una molienda empleando una licuadora hasta obtener un tamaño de partícula homogéneo de malla 100X. Tomando una porción de harina se disolvió en agua destilada, dejando evaporar hasta la mitad del volumen inicial, se añadió metanol nuevamente hasta el volumen inicial para precipitar proteínas con un reposo de 24 h. Se obtuvo un precipitado viscoso el cual se filtró y permaneció al aire libre por 24 h hasta la evaporación total del metanol residual. Finalmente se dejó en una estufa a 40°C por 72 h para eliminar el agua remanente. A partir del sólido logrado se realizó una molienda obteniendo así la harina del polisacárido con un tamaño de partícula homogéneo de malla 100X.

## 2.5 Análisis proximal

El análisis proximal de la semilla sin cáscara y del polisacárido se realizó de acuerdo a los métodos del AOAC como se muestra en el siguiente diagrama (Diagrama No. 2).



- En la determinación del contenido de grasa se utilizó éter etílico como disolvente.
- Para la cuantificación de la proteína se utilizó el Büchi Digest system K-437 y el Büchi Distillation Unit K-314.
- En el análisis de la Fibra se utilizó el Lanconco 30001 y diámetro interno de 76mm.

## **2.6 Calidad de la proteína**

### **2.6.1 Cuantificación de aminoácidos (Akeson y Stahmann, 1964)**

La cuantificación de aminoácidos se realizó por medio de un Autoanalizador de aminoácidos Beckman System Gold 6300. Buffers de sodio Na-EFD, Columna 20 cm, Flujo 21 ml / h.

#### **PROCEDIMIENTO**

Se partió de la goma (el polisacárido) y la semilla sin cáscara finamente molidos. Se pesaron 100mg realizando la determinación por triplicado. Se colocaron las muestras pesadas en los viales y se añadieron 2ml de HCl 6N, se cerraron los viales proporcionando una atmósfera de nitrógeno, se sometieron a una temperatura de 110°C por 24 h en un baño de aceite teniendo cuidado de que se conservara la temperatura constante durante el proceso de hidrólisis.

Una vez terminada la hidrólisis se dejaron enfriar los viales, y posteriormente se filtró la solución con ayuda de un embudo sinterizado. Se eliminó el HCl con vacío, y los residuos obtenidos se analizaron por medio de un Autoanalizador de aminoácidos.

### **2.6.2 Determinación de triptofano**

Esta determinación se realizó por triplicado y fue de acuerdo a la técnica reportada por Roa, et al., 1974.

### **2.6.3 Calificación química (CQ)**

La calificación química para cada aminoácido se calcula mediante la siguiente relación:

$$CQ = \frac{\text{mg de aminoácido en 1 g de proteína de prueba}}{\text{mg de aminoácido en 1 g de proteína de referencia}} \times 100$$

#### **2.6.4 Determinación de proteína verdadera por precipitación con Ácido tungstico**

La determinación se realizó por triplicado y la técnica empleada fue la de Henry, 1974.

#### **2.7 Digestibilidad “*in vitro*”**

Se siguió la técnica empleada en el AOAC 1990 (982.30, G).

#### **2.8 Determinaciones de factores tóxicos y antinutricionales**

##### **2.8.1 Detección de alcaloides por dos métodos cualitativos**

Para determinar la presencia de alcaloides se llevaron a cabo dos determinaciones cualitativas:

- Detección de alcaloides por Cromatografía en capa fina (Harbone, 1973).
- Detección de alcaloides con siete reactivos (Geoffrey, 1981).

##### **2.8.2 Glucósidos Cianogénicos**

Esta determinación estuvo basada en el manual de Toxicología, en la cual no se añadió la enzima  $\beta$ -glucosidasa.

##### **2.8.3 Fitatos**

Determinación propuesta por Haug, 1983.

## 2.9 Bioensayo para determinar actividad hipoglucemiante

Para el estudio se utilizaron ratones macho (25 – 30g) en ayuno de 24 horas y con ingesta de agua.

La forma por la cual se obtuvieron los extractos a partir de la semilla de tamarindo se muestra en el siguiente esquema (Diagrama No 3).

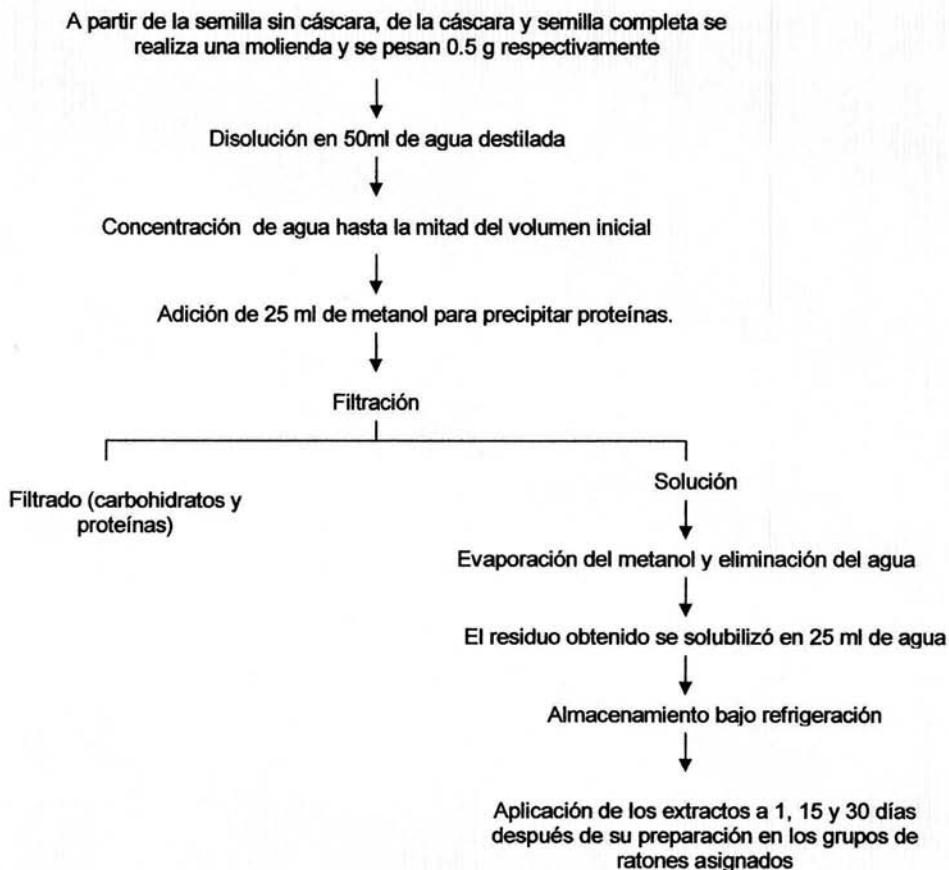


Diagrama No. 3 Obtención de extractos para probar la actividad hipoglucemiante

## PROCEDIMIENTO

Los ratones utilizados se marcaron y separaron en cajas contenedoras de acrílico y se asignaron 3 ratones en cada grupo:

- Grupo 1 (control positivo): se administro insulina 0.1ml
- Grupo 2 0.1 ml del extracto de la semilla completa
- Grupo 3 0.3 ml del extracto de la semilla completa
- Grupo 4 0.1 ml del extracto de la cáscara
- Grupo 5 0.3 ml del extracto de la cáscara
- Grupo 6 0.1 ml de extracto de la semilla sin cáscara
- Grupo 7 0.3 ml del extracto de la semilla sin cáscara

Estas cantidades de extracto se establecieron en un estudio anterior (Kalkech, 2002).

A cada ratón se le cuantificó la glucosa inicial (antes de la administración intra gástrica del extracto) y la glucosa final (30 minutos después de la administración del extracto y de la insulina), esta se cuantificó por el método de tiras reactivas. Se colocó una gota de sangre en la tira reactiva, para ello se ubico al ratón en la rejilla de metal y la cola en un vidrio de reloj en donde se realizó un pequeño corte en la parte final de la cola con una hoja de bisturí ejerciendo presión en la cola para permitir la salida de sangre con más facilidad, hasta dejarla caer en el área indicada de la tira reactiva hasta transcurrir 30 segundos, después de ese tiempo se colocó la tira reactiva (con el área reactiva hacia arriba) en un papel y se presionó rápida y firmemente de modo que quedo limpia de sangre, se dejaron pasar 90 segundos mas y se compararon con la carta de colores impresa en el frasco, una vez que se obtuvo el valor de glucosa inicial se administró el extracto por vía intra gástrica y transcurrieron 30 minutos, después de ese tiempo, se midió nuevamente la concentración de glucosa en sangre aplicando el mismo método descrito. Finalizando el experimento los ratones se sacrificaron.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Parámetros físicos de la semilla

Inicialmente se fraccionó la semilla de *Tamarindus indica* haciendo un lote homogéneo con los huesos de semilla de tamarindo de los distintos locales de donde fueron recolectados. Una vez separada la cáscara de la semilla interna se obtuvo la proporción que se presentan en el Cuadro No. 2.

**Cuadro No. 2** Proporción de la semilla sin cáscara en la semilla.

	<b>g/100g</b>
Cáscara	30
Semilla sin cáscara	70

La semilla sin cáscara es de forma ovalada, de color beige claro y presentó la misma proporción determinada anteriormente por Whistler, 1973 y Bhattacharya, et al., 1993. A pesar de que se recolectaron las semillas de diferentes lugares este no es factor de variación en las proporciones de cáscara y de la semilla interna.

Considerando que las leguminosas albergan del 17-30% de proteína y son el complemento ideal de las dietas de cereales en la que el contenido de lisina es bajo, se decidió estudiar el potencial alimenticio que pudiera proporcionar la semilla pues se ha descrito solo el consumo de ésta como pienso para el ganado.

Se realizó un análisis proximal para conocer la proporción de los componentes contenidos tanto en la semilla sin cáscara como en la goma de tamarindo.

#### 3.2 Análisis proximal

Las determinaciones se hicieron con las técnicas reportadas en el AOAC (Herlich, 1990) y se realizaron de acuerdo al Diagrama No. 2 antes descrito.

Así se determinó el análisis proximal de la semilla sin cáscara y del polisacárido (Cuadro no. 3) aislado de la semilla que se ha denominado goma de tamarindo para corroborar su similitud con estudios anteriormente realizados (Whistler, 1973, Bhattacharya, et al., 1993).



**Cuadro No. 3** Análisis proximal de la semilla sin cáscara y del polisacárido de la semilla de tamarindo.

Determinación (% peso)*	Semilla sin cáscara		Goma de tamarindo	
	Base húmeda	Base seca	Base húmeda	Base seca
Humedad	11.15	ND	7.99	ND
Proteína**	22.07	24.79	14.44	15.69
Grasa***	6.08	7.01	3.3	3.59
Cenizas	2.24	2.52	1.64	1.78
Fibra	1.4	1.57	ND	ND
Carbohidratos	57.06	64.11	72.63	78.94

\* Las determinaciones se hicieron por triplicado

\*\* Para proteína se uso el factor de 6.25

\*\*\* El contenido de grasa se realizo con éter etílico (reactivo analítico RA)

ND – No Detectado

La composición de la semilla sin cáscara y del polisacárido obtenido por precipitación con metanol a partir de una suspensión de la harina de semilla sin cáscara presentó algunas variaciones con determinaciones previamente realizadas (Whittler, 1973 y Bhattacharya et al. 1993).

Los valores reportados previamente por Whittler, son los siguientes: para la semilla sin cáscara: Proteína (NX6.25) 18.1%  $\pm$  1.3% y Carbohidratos 58.5% mientras que para el polisacárido: Proteína 15.4% - 22.7% y Carbohidratos no fibrosos 65.1% – 72.2% (datos expresados en base húmeda y en por ciento).

Para la semilla sin cáscara se presentó un mayor porcentaje tanto de proteínas como de carbohidratos, mientras que en el polisacárido, la proteína proporciono un valor ligeramente abajo del intervalo propuesto por Whittler, y resultando que los carbohidratos rebasan por décimas el intervalo propuesto.

Estos datos nos indican que puede haber diferencia en la composición de las semillas de acuerdo a las regiones de donde estas son recolectadas, ya que la forma de eliminar la cáscara de la semilla y la forma por la cual fue obtenido el polisacárido se realizaron de acuerdo a las técnicas empleadas por Whittler, sin embargo a pesar de las pequeñas diferencias se puede destacar que existe una proporción importante de proteína y de carbohidratos contenidos en la semilla sin cáscara.

El contenido de proteína en el polisacárido representa casi la mitad comparando con el de la semilla sin cáscara; se considera que solo se conserva esta fracción por la forma por la cual se obtuvo la goma ya que se utilizó el metanol como agente precipitante y la fracción de proteína ausente fue soluble en dicho disolvente provocando así la pérdida de dicho componente en el polisacárido.

### 3.3 Contenido de aminoácidos en la semilla sin cáscara y en el polisacárido.

Puesto que sólo asimilamos aminoácidos y no proteínas completas, el organismo no puede distinguir si estos aminoácidos provienen de proteínas de origen animal o vegetal, así los alimentos proteicos que contienen todos los aminoácidos esenciales en términos de cantidad y con la relación correcta para mantener el equilibrio de nitrógeno y permitir el crecimiento y la reparación de tejidos son llamadas proteínas completas. En el presente estudio se recurrió a un análisis directo de la composición de aminoácidos partiendo del conocimiento de la cantidad de proteína contenida en la semilla sin cáscara de la semilla de tamarindo.

En el Cuadro No. 4 se presentan los resultados obtenidos de la cuantificación de aminoácidos, en la semilla sin cáscara y en el polisacárido.

**Cuadro No. 4** Composición de aminoácidos de la semilla sin cáscara y del polisacárido.

Aminoácido	Semilla sin cáscara	Polisacárido
	g aa /100 g proteína <sup>(a)</sup>	
Metionina	1.59	0.86
Triptófano	0.42	0.38
Lisina	7.4	6.69
Isoleucina	3.43	3.41
Leucina	6.42	5.99
Histidina	2.94	2.56
Fenilalanina	4.89	4.34
Valina	2.74	2.4
Treonina	3.55	3.14
Cistina	—	—
Tirosina	4.09	3.99
Ac. Aspartico	11.46	10.87
Ac. Glutámico	12.37	11.97
Glicina	6.4	3.83
Prolina	7.79	3.76
Serina	5.57	4.95
Arginina	3.39	1.86
Alanina	3.7	2.97

(a) Promedio de la determinación por triplicado

Puede verse que la mayor proporción de aminoácidos contenidos en la semilla sin cáscara permanecieron en el polisacárido precipitado, que conforma a la goma de tamarindo.

Los aminoácidos que se pierden en la precipitación con metanol (excepto la glicina) tienen grupos polares que probablemente facilitan la solubilidad de fracciones de la proteína durante la precipitación con este disolvente.

Los aminoácidos que más se perdieron fueron la metionina en un 46%, glicina 41%, prolina 52% y la arginina 46%.

Este análisis resulta en cierta medida engañoso ya que se están considerando en esta cuantificación tanto los aminoácidos de la proteína como los libres que se encuentran en la semilla, sin embargo es el único estudio fácilmente medible.

### 3.4 Calificación Química

Para la calificación química se tomó como referencia las necesidades de aminoácidos sugeridas por la FAO (Tabla No. 1). El aminoácido que se encuentra en menor cantidad con respecto al estándar, es el aminoácido limitante, puesto que determina la utilidad de la proteína.

**Cuadro No. 5** Disponibilidad de aminoácidos de la semilla sin cáscara y del polisacárido de acuerdo a las necesidades requeridas por la FAO/OMS/ONU (1985) para lactantes y adultos.

Aminoácido	Semilla sin cáscara		Polisacárido	
	CQ (Lactantes)	CQ (Adultos)	CQ (Lactantes)	CQ (Adultos)
Histidina	>100	—	98.46	—
Isoleucina	74.56	>100	74.13	>100
Leucina	69.03	>100	64.4	>100
Lisina	>100	>100	>100	>100
Metionina/cistina	49.52	93.53	37.86	50.59
Fenilalanina/tirosina	>100	>100	>100	>100
Treonina	82.55	>100	73.2	>100
Triptófano	34.12	84	24.7	76
Valina	49.82	>100	43.63	>100

En el Cuadro No. 5 se observa que la semilla sin cáscara y el polisacárido cubren con las necesidades de histidina, lisina, fenilalanina/tirosina, isoleucina, leucina, treonina y valina tanto para lactantes como para adultos. La semilla sin cáscara es limitante en el triptófano tanto para lactantes como en adultos mientras que el polisacárido es limitante en triptófano para lactantes y limitante en los aminoácidos azufrados Metionina/Cistina para los adultos.

La calificación química que recibe la proteína en la semilla sin cáscara es de 34.12 para lactantes y de 84 en adultos correspondientes al triptófano, y en el polisacárido fue de 24.7 en el triptófano y 50.59 en metionina, resultando el triptófano como el aminoácido limitante ya que fue muy bajo en relación a los requerimientos establecidos en la semilla y en el polisacárido,

Al ser la semilla de tamarindo una leguminosa y éstas generalmente son limitantes en metionina, en el presente estudio se dio dicho caso, para el polisacárido siendo limitante en los aminoácidos azufrados para los adultos considerando que dicha goma procede de dicha leguminosa (García, 1990).

### 3.5 Proteína verdadera por precipitación con Ácido Tungstico

En alimentos la determinación de proteína se refiere al total, y solo en casos especiales se refiere a la determinación de una proteína específica o a un grupo en particular. De tal forma que se buscó en el presente trabajo el encontrar la proporción de la proteína verdadera, considerando que en la semilla pudieran existir otros componentes que pudieran contribuir al valor total de Nitrógeno obtenido por el método de Kjeldahl en el análisis proximal de la semilla sin cáscara.

Los datos referentes a esta determinación se presentan a continuación.

**Cuadro No. 6** Precipitación de proteína con Ácido Tungstico

Determinación	% Proteína
Precipitación con ácido tungstico (proteína verdadera)	12.12
Análisis proximal (proteína cruda)	22.07

A partir de la precipitación de la proteína con ácido tungstico solo se obtuvo un 12.12 % de proteína resultando este valor ligeramente mayor a la mitad de la proteína cruda anteriormente determinada en el análisis proximal. Considerando la siguiente relación.

$$\text{Nitrógeno no proteínico} = \frac{\text{proteína cruda} - \text{proteína verdadera}}{\text{proteína cruda}} \times 100 = 45.04$$

Se puede observar que el 45.04% pertenece al nitrógeno no proteico el cual carece de un aporte nutricional, el 54.96% de nitrógeno proteico tiene como aminoácido limitante al triptófano tanto para lactantes como en adultos dicha proteína proporciona un aporte nutricional en dicha leguminosa.

Nota: En el polisacárido no se llevo a cabo este análisis ya que el ácido túngstico formó un medio con una alta viscosidad lo que evitó la precipitación de la proteína.

### 3.6 Digestibilidad "in vitro"

El pH de la caseína debe ser exactamente de  $6.42 \pm 0.05$  por lo que da un valor de digestibilidad de 90%.

Para calcular la digestibilidad se usa la siguiente formula:

$$\% \text{ Digestibilidad} = 234.84 - 22.56 (\text{pH})$$

De acuerdo al objetivo propuesto se realizo la digestibilidad "in vitro" de la harina de la semilla sin cáscara por triplicado para determinar la biodisponibilidad de los aminoácidos considerando como blanco al caseinato de sodio.

Los resultados se presentan a continuación:

**Cuadro No. 7** Digestibilidad "in vitro" de la harina de la semilla sin cáscara.

<b>Control (Caseinato de sodio)</b>		<b>Semilla sin cáscara</b>	
<b>pH</b>	<b>Digestibilidad</b>	<b>pH</b>	<b>Digestibilidad</b>
6.51 ± 0.04	87.97 ± 1.58	6.76 ± 0.07	82.33 ± 0.28

Del cuadro anterior, se deduce, que se puede aprovechar el 80% de la proteína de la semilla sin cáscara lo cual, sugiere que pudieran existir factores tóxicos o acomplejantes que pudieran impedir la absorción de la fracción faltante de la proteína, por ello surge la idea de corroborar la presencia o ausencia de estos agentes que pudieran provocar alguna respuesta adversa a la salud.

Para este análisis sólo se trató de simular las condiciones y reacciones fisiológicas que se llevan a cabo dentro del organismo, tratando de obtener un resultado que diera un panorama mas amplio de la proteína de la semilla sin cáscara, por ello se propone realizar una digestibilidad "in vivo" para obtener datos mas confiables y así conocer la evaluación nutricional de esta semilla como fuente de proteína implementado en una dieta.

### 3.7 Determinación de factores tóxicos y antinutricionales en la semilla sin cáscara:

Hoy en día el interés de la población es obtener fuentes nutricionales naturales que se puedan ingerir sin peligro alguno, por ello el interés y el deseo por descubrir esas nuevas fuentes crece día con día.

La semilla de tamarindo es consumida como pienso por animales de ganado, por ello y aunado al alto contenido de proteína se propone en el presente trabajo el conocer aquellos agentes antinutricionales que pudieran estar albergados en la semilla sin cáscara de la semilla de tamarindo y que pudieran interferir en algún momento el consumo de esta semilla.

#### 3.7.1 Alcaloides

Por tratarse de técnicas cualitativas únicamente se reporta presencia o no de alcaloides en la muestra.

**Cuadro No. 8** Determinación de Alcaloides

Presencia de alcaloides	
Determinación	Semilla sin cáscara
Cromatografía en capa fina	Negativa
Reacción con 7 reactivos	Negativa

Para la determinación de alcaloides se utilizaron dos técnicas cualitativas, ambas permiten conocer la presencia de dichos compuestos. Se conocen una amplia gama de estos compuestos, que son extraídos de las plantas con solventes alcohólicos y precipitados con amonio concentrado y posteriormente identificados con reactivos de alcaloides. Por esta gran variedad, se considero prudente el realizar la determinación de detección por cromatografía en capa fina y posteriormente corroborar dicho resultado con la reacción con los 7 reactivos, así aunque se contara con determinaciones cualitativas, estas coincidieran en el resultado. Así se llegó al siguiente resultado.

No se encontraron alcaloides libres en la semilla sin cáscara.

De acuerdo a este resultado se descartó la idea de que los alcaloides pudieran haber aportado al % de proteína cruda en la semilla, ya que se corroboró por medio de dos determinaciones la ausencia de estos compuestos en dicha muestra.

### **3.7.2 Glucósidos cianogénicos**

No se encontró presencia de glucósidos cianogénicos en la semilla sin cáscara, de tal forma que se considera que contiene menos de 1.0 mg de HCN / 100 g de muestra, lo cual indica, que esta libre de éste tóxico y que no presenta riesgo alguno.

El resultado obtenido de una ausencia de glucósidos cianogénicos de acuerdo con la tecnica descrita (Manual de Toxicología de la Facultad de Química) es engañoso esto se atribuye a que en el método empleado no se añadió la enzima  $\beta$ -glucosidasa, para degradar los posibles compuestos y así liberar al ácido cianhídrico.

Por otro lado es importante considerar que la eliminación de la cáscara de la semilla es un proceso tardado ya que es un poco difícil de quitar la corteza, pudo provocar una hidrólisis y por ende una posible perdida de HCN ya que al romper la estructura celular de la semilla además del proceso de trituración se pudo producir la actividad de la enzima.

Se puede pensar también que la cantidad de enzima  $\beta$ -glucosidasa es pequeña y no hubo la suficiente enzima para degradar al sustrato; esto se podría corroborar con otra determinación considerando añadir la enzima, y procurar hacer más rápido la técnica del pelado y de trituración,

de la semilla y descartar en su totalidad la presencia de glucósidos cianogénicos en esta leguminosa.

### 3.7.3 Ácido fítico

La determinación se realizó por cuadruplicado obteniendo el resultado en el cuadro 7.

**Cuadro No. 9** Contenido de ácido fítico en la semilla sin cáscara.

Muestra	Ácido fítico promedio
Semilla sin cáscara	1.0354 ± 0.054 mg P/100g muestra

Los alimentos con un contenido de 400mg/100g son considerados alimentos desmineralizantes, el contenido final de ácido fítico en la semilla sin cáscara es mucho menor a los 400 mg / 100 g, por lo que no puede considerarse ésto como una causa de efectos adversos y sin correr riesgo de que los minerales del cuerpo sean arrastrados por este agente al consumir esta semilla (López, 2000).

### 3.8 Determinación de la actividad Hipoglucemiante

El tratamiento de la diabetes adopta cuatro formas principales: dieta, ejercicio, insulino terapia e hipoglucemiantes orales, estos aspectos justifican el buscar medicamentos de origen natural. (plantas y/o extractos) como lo es la semilla de *Tamarindus indica*, además de tener la finalidad de mejorar la calidad de vida de un paciente diabético. Dicha actividad se mostró en un trabajo previo considerando la semilla completa (Kalkech, 2002).

En el presente estudio se continuó investigando los componentes responsables de dicha actividad hipoglucemiante pero en esta ocasión el objetivo a cumplir fue fraccionar la semilla y obtener extractos acuosos a partir de la semilla completa, cáscara y semilla sin cáscara.



**Cuadro No. 10** Determinación de la actividad hipoglucemiante a 1, 15 y 30 días de la preparación de los extractos

1 día de preparación de los extractos	Ratón	Control (+) Insulina		Semilla completa				Cáscara				Semilla sin cáscara			
		0.1 ml		0.1ml		0.3 ml		0.1 ml		0.3 ml		0.1 ml		0.3 ml	
		Glucosa mg/dl		Glucosa mg/dl				Glucosa mg/dl				Glucosa mg/dl			
		inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
1		70	40	70	40	70	20	70	70	70	40	70	70	70	70
2		70	40	70	40	70	30	70	70	70	70	70	70	70	70
3		70	40	70	70	70	20	70	70	70	40	70	70	70	70

15 días de preparación de los extractos	Ratón	Control (+) Insulina		Semilla completa				Cáscara			
		0.1 ml		0.1ml		0.3 ml		0.1 ml		0.3 ml	
		Glucosa mg/dl		Glucosa mg/dl				Glucosa mg/dl			
		inicial	final	inicial	Final	inicial	final	inicial	final	inicial	final
1		70	20	110	110	70	40	110	110	110	110
2		70	20	120	120	70	40	110	110	110	110
3		70	20	110	110	70	40	110	110	110	110

30 días de preparación de los extractos	Ratón	Control (+) Insulina		Semilla completa	
		0.1 ml		0.3 ml	
		Glucosa mg/dl		Glucosa mg/dl	
		inicial	final	inicial	Final
1		70	40	70	60
2		70	40	70	60
3		70	40	70	60

De acuerdo con el Cuadro No. 10, la semilla completa presenta la mayor actividad hipoglucemiante comparada con la insulina (control +), y pierde casi en su totalidad dicha actividad en un intervalo de 1 mes.

La cáscara presenta menor actividad que la semilla completa considerando el extracto con 1 día de preparación, resultando a los 15 días una nula actividad; para la semilla sin cáscara no se encontró ninguna actividad hipoglucemiante a pesar de haberse probado a un día de su preparación.

La semilla sin cáscara es la que alberga al polisacárido que conforma a la goma de tamarindo; se llegó a pensar que estos componentes pudieran ser los responsables de la actividad hipoglucemiante, comparando este caso con las judías de la india, sin embargo se corroboró por medio de los bioensayos que la semilla sin cáscara no presenta actividad alguna descartando así a los polisacáridos de la semilla.

Se podría pensar que existe algún otro compuesto coadyuvante que se encuentre en la semilla sin cáscara hacia la cáscara, lo cual proporciona en conjunto la actividad hipoglucemiante de la semilla completa de tamarindo.

## CONCLUSIONES

- La semilla sin cáscara conforma la mayor proporción de la semilla de tamarindo, además de contener un alto contenido de proteína y de carbohidratos no fibrosos que conforman a la goma de tamarindo.
- La semilla sin cáscara es limitante en triptófano tanto para lactantes como para adultos mientras que el polisacárido es limitante en triptófano para lactantes y limitante en los aminoácidos azufrados para adultos.
- El porcentaje de proteína verdadera contenido en la semilla sin cáscara corresponde al 12.12% la cual se puede aprovechar en un 80% mientras que no se encontró presencia de alcaloides, además de presentar solamente 1.0354mgP/100g muestra de ácido fitico beneficiando en el aspecto toxicológico a la semilla.
- El contenido de glucósidos cianogénicos no se afirma totalmente ya que hizo falta añadir la enzima  $\beta$ -glucosidasa para verificar realmente la ausencia de dichos componentes. Se propone realizar una técnica empleando la enzima y así corroborar este resultado.
- La semilla completa pierde la actividad hipoglucemiante en un intervalo de 30 días, mientras que la cáscara la pierde en 15 días. En contraparte la semilla sin cáscara no presentó actividad alguna, se sugiere que exista algún componente coadyuvante de la semilla sin cáscara hacia la cáscara para producir la actividad de la semilla completa por lo que se descarta la idea de que los carbohidratos que conforman a la goma de tamarindo tenga algún efecto hipoglucemiante ya que estos están contenidos en la semilla sin cáscara y fue la fracción que no presentó dicha actividad en el bioensayo.
- La semilla de tamarindo requiere un estudio más profundo para conocer las cualidades como hipoglucemiante en el tratamiento de la Diabetes considerando a esta leguminosa en un lapso de tiempo no muy prolongado ser una fuente natural que pueda mejorar la calidad de vida de los pacientes diabéticos.

## BIBLIOGRAFIA

Akeson, W. R., y Stahamann, M. A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. *Journal Nutrition* 83:257, 1964.

Badui, D. Química de Alimentos. Editorial Alhambra Mexicana, México, D. F., pp. 125-129 y 133 (1994).

Belitz, H. D. y Grosch, W. Food chemistry. Spring Verlag, Berlín, pp. 536-545, 1987.

Bhattacharya, S., Bal, S., Mukherjee, R. K. Some Physical and Engineering Properties of Tamarind (*Tamarindus indica*) Seed. *Journal of Food Engineering*, 18, 77-79 1993.

Casanueva, E., Kaufer-Horwitz, M., Perez-Lizaur, A. B. Y Arroyo, P. Nutriología médica. Medica-Panamericana, 2a edic., Edo. de Méx., pp 462, 463, 2000.

Cervera, P. Alimentación y dietoterapia (Nutrición aplicada en la salud y la enfermedad). Segunda edición, Interamericana McGraw-Hill, pp. 37-45, 1993.

Clifford, J. Bailey, PhD., Carolin, Day, PhD. Traditional Plant Medicines as Treatments for Diabetes. *Diabetes Care*, Vol, 12 No. 8, September, pp. 553-564, 1989.

Conn, E. Cyanogenetic glycosides En: Toxicants occurring naturally in foods. Comité on food protection National Academy of Science. 2<sup>nd</sup>. Edition, pp. 299-308. Washington D. C. (1980).

Cotran, R. S., Kumar, V. y Robbins, S. Patología Estructural y Funcional. Interamericana McGraw-Hill. 4ª edición Volumen II, pp. 1046-1054, 1980.

Contreras, E., Valor nutritivo de leguminosas silvestres de la Península de Yucatán. Tesis Licenciatura, UNAM, México, D. F., pp. 4, 1992.

Cheftel, J. Proteínas alimentarias. Bioquímica. Editorial Acribia S. A. Zaragoza España, pp. 123, 124, 1999.

Derache, R., Toxicología y seguridad de los alimentos. Ediciones Omega, Barcelona España, pp. 1-6 y 57-64, 1990.

FAO/OMS/ONU. Energy and protein requirement. Report of Joint, 1985.

Fennema, R O. Química de Alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza, pp. 365-371, 1993.

Fernández-Quintela, A., Larralde, J., Maraculla, M. T., Marcos, R. y Martínez, J. A. Leguminosas y concentrados de proteína: Nuevas perspectivas y aplicaciones. Alimentaria, 239(Ene-Feb): 59-63, 1993.

Ganong, F. Fisiología Médica, Editorial El manual moderno, S. A de C. V, Decimoquinta edición 1996.

García, M. Alimentación Humana. Errores y sus consecuencias. Ediciones Mundi – Prensa, 1ª edición, Madrid, pp. 201-215, 1990.

Geoffrey, A. Cordell. Inc. Introduction to alkaloids A Biogenetic Approach. Printed in the United States of America, pp. 53-74, 1981. John Wiley y Sons.

Gidley, M. J., Lillford, P. J. y Rowlands, D. W. Structure and solution properties of tamarind-seed polysaccharide. Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam, Carbohydrate Research, 214 (1991) 299-314.

Gliksman, M. Tamarind seed gum. In Food Hydrocolloids, ed. M Gliksman, CRC Press, Boca Raton, Florida. Vol. III, pp. 191-202, 1986.

Goodwin, T. W. y Mercer, E. I., Introduction to Plant Biochemistry. Persimmons Press, New York pp. 293-308, 1974.

Harborne, J. B. Phytochemical Methods, A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. London Chapman and Hall, pp. 166-192, 1973.

Haborne, J., Bourter, D. y Turner, B., Chemiotazonomy of Leguminosae, Ed. Academic Press, London New York, pp. 258-259, 1971.

Harrison, T. R. Principios de Medicina Interna. Interamericana McGraw-Hill. 14ª edición. Volumen II, pp. 2341-2354, 1998.

Haug, W. y Lantzsch, H. J. Sensitive methodd for the rapid determination of phytate in cereal and products. Journal of the Science of Food and Agriculture, 34:1423-1426, 1983.

Henry, Richard. Clinical Chemistry. Principles and Technics, Second Edition, 1974.

Hernández, T., Hernández, A. y Martínez, C. Calidad de proteínas: conceptos y evaluación. Alimentaria, 274(Jul-Ago):51-54, 1996.

Herlich K. (Editor) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 15<sup>th</sup> Edition Vol. I and II pp. 17, 18, 40-62, 69-83, Vol II 1012, 1097 y 1098 published by AOAC, Arlington, 1990.

Hughes, D. W., Miller, L. P., Phytochemistry. Van Nostrand Reynold Co. Vol. II, New York, pp. 118-170, 1973.

Jenkis, G., Dumez, A. y Hager, G. Química Farmacéutica Cuantitativa, Ed. Atlante S. A. México, D. F., pp. 396-447, 1951.

Kalkech, C. Evaluación del Efecto Hipoglucemiante de los extractos de *Tamarindus indica Linn* en ratones. Tesis Licenciatura, UNAM, México, D. F., pp. 10-18, 44-48, 2002.

Konno, C., Morayana, M., Sugiyama, K., Aral, M., Murakami, M. y Takahashi, M. Isolation and hypoglycemic activity of aconitans A, B, C and D glycans of *Aconitum carmichaeli* roots. Planta Med. 51:160, 161, 1995.

Lehninger, A. L. Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular. Segunda Edición, Ediciones Omega, S. A., pp. 831, 851, 1991.

Liener, I. E., Toxic constituents of plant food stuffs. Academic Press, New York, pp. 1-5, 7-102, 143-263, 1980.

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.

Marathe, R. M., Annapure, U. S., Singhal, R. S. y Kulkarni, P. R. Gelling behavior of polyose from tamarind Kernel polysaccharide. Food Hydrocolloids 16 (2002) 423-426.

McIvor, J. G. y Bray, R. A. (Editores) Genetic Resources of Forage Plants CSIRO, Melbourne, pp. 17 - 37, 1983.

Nishinari, K., Yamatoya, K., Shirakawa, M. In G. O. Phillips y P. A. Williams, Handbook of hidrocolloids. England/Florida: Woodhead Publishing Limited / CRC Press. pp. 247-267, 2000.

Overeelas, D. Phytates In: toxicants occurring naturally in food. (ed) National Academy of Science, Washington, D. C. pp. 363-371, 1975.

Partearroyo, M. A., Fernández-Quintela, A. y Cid, C. Sustancias antinutritivas en alimentos de origen vegetal y su significado en la alimentación humana. Alimentaria, 267(Nov): 115-120, 1995.

Pelletier, S. W., Alkaloids: Chemical and biological perspectives, John Wiley & Sons, New York, pp. 1-7, 1982.

Periago, M. J., Ros, G., Martíne, M. C. y Rincón, F. El contenido de nitrógeno no proteico en legumbres de la dieta mediterránea como factor limitante de su valor nutritivo. Alimentaria, 234(Jul-Ago): 27-37, 1996.

Preciado, C. A. El tamarindo, México, Editorial El campo, pp. 48-49, 1996.

Rao, P. S. y Srivastava, H. C. En R. L Whistler, Industrial gums (2<sup>nd</sup> ed). New York: Academic Press. pp. 369-411, 1973.

Reid, R. S. G., Edwards, M. E. y Dea, I. C. M. Enzymic modification of natural seed gums. In Gums and Stabilizers for the food Industry, Ed. G. O. Phillips, P. A. Williams and D. J. Wedlock, IRL Press, Oxford. Vol. 4, pp. 391-398, 1988.

Roa., Tara., Krishnan., Journal of Food Sc. Tech., Vol. 11, pp. 213-216, 1974.

Robinson, S. D. Bioquímica y valor nutritivo de los alimentos. Acribia S. A. Zaragoza, España. pp. 107-139, 1998.

Sinha, S. K. Las leguminosas alimenticias. Vol. 3, FAO: Estado de producción y protección vegetal, Roma, pp. 1-8, 1978.

Sniffen C. J., O'Connor, J. D., Van Soest, R. J., Fox, D. y Russel, J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70:3562-3577, 1992.

Torún, B., Menchú, M. T. y Elías, L. G. Recomendaciones dietéticas diarias del Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá: INCAP-OPS, Guatemala, pp. 16-25, 1994.

Sotelo, A. Leguminosas silvestres, reserva de proteínas para la alimentación del futuro. *Información Científica y Tecnológica*, 3(54):28-32, 1982.

Whistler, R. L. *Industrial Gums. Polysaccharides and their Derivates* Second Edition, Academic Press New York, pp. 369-408, 1973.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA