



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**CARACTERIZACIÓN DEL BAGAZO OBTENIDO DE
LA EXPRESIÓN DE LOS GRANOS DE *JATROPHA*
CURCAS PARA SER UTILIZADO COMO FORRAJE**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTA:

RODOLFO EMIR VARGAS BAUTISTA



MÉXICO, D.F.

2010



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: Profesor: Dr. Modesto Javier Cruz Gómez

VOCAL: Profesor: M. I. María Rafaela Gutiérrez Lara

SECRETARIO: Profesor: Dr. Néstor Noé López Castillo

1er. SUPLENTE: Profesor: Dr. José Agustín García Reynoso

2° SUPLENTE: Profesor: I. Q. Elisa Fabila Montoya

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO. FACULTAD DE QUÍMICA, CONJUNTO E. LABORATORIO 212

ASESOR DEL TEMA: DR. MODESTO JAVIER CRUZ GÓMEZ

(nombre y firma)

SUPERVISOR TÉCNICO: DR. NÉSTOR NOÉ LÓPEZ CASTILLO

(nombre y firma)

SUSTENTANTE: RODOLFO EMIR VARGAS BAUTISTA

(nombre (s) y firma (s))

Agradecimientos

A DIOS por permitirme cumplir uno de mis sueños junto con todos mis seres queridos.

A la UNAM y a la Facultad de Química por la formación profesional que me brindaron.

Al PAPIIT por la beca que me otorgaron para la realización de esta tesis.

A mi asesor Dr. M. Javier Cruz Gómez por su apoyo, confianza e interés en la realización y desarrollo de la presente tesis.

Al Dr. Néstor Noé López Castillo por tus sabios consejos, regaños, y alientos que me ayudaron a terminar este proyecto pero sobre todo gracias por tu amistad.

Dedicatorias

A mis padres por su apoyo, paciencia, dedicación, confianza y el gran esfuerzo que realizaron para regalarme la mejor herencia; el conocimiento, además de los valores necesarios para hacer de mí una persona de bien, gracias Papá por enseñarme a luchar por mis sueños y no dejarme caer ante ninguna situación, a tí Mamá gracias por tu cariño y ternura que me impulsaron a confiar en mí; pero lo que más les agradezco es la oportunidad que me dieron para poder seguir estudiando, a mi hermana por su cariño y comprensión, aunque parezcan efímeros yo sé que están ahí, LOS QUIERO MUCHO.

GRACIAS POR TODO.

Gracias Jazita por estar conmigo en las buenas y en las malas, por ser un pilar en el cual me apoye cuando más lo necesité; por darme la confianza para poder terminar la carrera; por compartir estos seis años conmigo, en los que hemos vivido de todo, por tu inmenso amor y cariño que me has dado; SIMPLEMENTE GRACIAS POR SER PARTE DE MI VIDA, TE AMO.

A mis compañeros de laboratorio Armando, Adriana, Fabiola, Olga y Nacho que con sus pláticas y risas hicieron que mi estancia fuese placentera y el tiempo pasara de forma grata.

A mis compañeros de carrera Gerardo, Marco, Ricardo, Josué y Paco por todos los momentos divertidos, su apoyo y entusiasmo para seguir adelante.

Índice

Capítulo I. Introducción.	12
1.1 Introducción.	12
1.2 Objetivo general.	14
1.2.1 Objetivos particulares.	14
1.3 Hipótesis	15
1.4 Justificación	15
Capítulo II. Antecedentes.	16
2.1 Biocombustibles.	16
2.2 <i>Jatropha curcas</i>.	21
2.3 Alimentación animal.	25
2.3.1 Composición química de los alimentos.	25
2.3.2 Clasificación de los alimentos.	26
2.3.2.1 Alimentos de volumen o groseros.	26
2.3.2.1.1 Alimentos fibrosos.	26
2.3.2.1.2 Alimentos groseros suculentos.	27
2.3.2.2 Alimentos concentrados.	27
2.3.2.3 Alimentos energéticos.	28
2.3.2.4 Alimentos proteicos.	28
2.3.2.5 Alimentos equilibrados.	28
2.3.2.6 Alimentos minerales y correctores.	28
2.3.3 Valor nutritivo de un alimento.	29
2.3.4 Composición analítica de los alimentos. Análisis de alimentos.	29
2.4 Proteínas.	31

2.5	Cenizas.	32
2.6	Humedad.	32
2.7	Grasa.	33
2.8	Fibra.	34
2.9	Ésteres de forbol.	34
 Capítulo III. Metodología		 36
3.1	Proteínas.	36
3.2	Cenizas.	43
3.3	Humedad.	45
3.4	Grasa.	47
3.5	Fibra.	50
3.6	Ésteres de forbol.	52
 Capítulo IV. Resultados y análisis de resultados		 55
4.1	Resultados de la determinación de humedad por tratamiento térmico en el bagazo de <i>Jatropha curcas</i> L.	55
4.2	Resultados de la determinación de proteínas en el bagazo de <i>Jatropha curcas</i> L.	57
4.3	Resultados de la determinación de grasa en el bagazo de <i>Jatropha curcas</i> L.	59
4.4	Resultados de la determinación de cenizas en el bagazo de <i>Jatropha curcas</i> L.	62
4.5	Resultados de la determinación de fibra en el bagazo de <i>Jatropha curcas</i> L.	64
4.6	Resultados de la determinación de ésteres de forbol en el bagazo de <i>Jatropha curcas</i> L.	66

Capítulo V. Conclusiones **74**

Bibliografía **76**

Índice de tablas

Tabla 1	Factores para transformar el nitrógeno a proteína.	41
Tabla 2	Pesos de los crisoles a peso constante.	55
Tabla 3	Pesos de los crisoles con muestra seca.	55
Tabla 4	Porcentaje de humedad.	56
Tabla 5	Comparación del porcentaje de humedad.	56
Tabla 6	Peso de la muestra.	57
Tabla 7	Volumen de ácido clorhídrico gastado en las titulaciones.	58
Tabla 8	Porcentaje de nitrógeno y proteína.	58
Tabla 9	Comparación porcentaje de proteína.	59
Tabla 10	Peso de la muestra y del matraz a peso constante.	59
Tabla 11	Porcentaje de grasa obtenido.	60
Tabla 12	Comparación del porcentaje de grasa.	61
Tabla 13	Peso de crisol a peso constante.	62
Tabla 14	Peso de la muestra.	62
Tabla 15	Porcentaje de cenizas.	63
Tabla 16	Comparación del porcentaje de cenizas.	63
Tabla 17	Peso del crisol con residuo seco y con cenizas.	64
Tabla 18	Porcentaje de fibra.	64
Tabla 19	Comparación porcentaje de fibra.	65
Tabla 20	Tiempo de retención y área del estándar de éster de forbol.	67
Tabla 21	Muestra 1 (éster de forbol).	69
Tabla 22	Muestra 2 (éster de forbol).	70
Tabla 23	Muestra 3 (éster de forbol).	71
Tabla 24	Muestra 4 (éster de forbol).	72
Tabla 25	Concentración de ésteres de forbol presentes en el bagazo.	73

Índice de figuras

Fig. 1	Reacciones implicadas en la transesterificación.	19
Fig. 2	Árbol de <i>Jatropha curcas</i> L.	21
Fig. 3	Frutos de <i>Jatropha curcas</i> L.	22
Fig. 4	Semilla de <i>Jatropha curcas</i> L.	23
Fig. 5	Esquema de la composición de un alimento.	30
Fig. 6	Digestión de la muestra.	39
Fig. 7	Equipo para destilación del amoníaco.	40
Fig. 8	Equipo de Soxhlet.	48
Fig. 9	Esquema para obtención de ésteres de forbol.	54
Fig. 10	Matraz con grasa.	61
Fig. 11	Cromatograma estándar éster de forbol.	66
Fig. 12	Curva de calibración éster de forbol.	67
Fig. 13	Cromatograma muestra 1.	68
Fig. 14	Cromatograma muestra 2.	69
Fig. 15	Cromatograma muestra 3.	70
Fig. 16	Cromatograma muestra 4.	71

Abreviaturas

T.S.	Test solution (solución de prueba)
ac.	ácido
conc.	concentrado
N	normal
NaOH	hidróxido de sodio
HCl	ácido clorhídrico
v/v	volumen / volumen
NaCl	cloruro de sodio
Na ₂ CO ₃	carbonato de sodio
nm	nanómetro
μL	microlitro
ppm	partes por millón
NH ₃	amoníaco

Capítulo I

Introducción

1.1 Introducción

Debido al alto consumo y posible escasez de combustibles de origen fósil, se ha pensado en utilizar un combustible que se pueda obtener de fuentes renovables, además de que, al ser quemado no produzca tantos contaminantes como los que se producen al quemar los combustibles de origen fósil. Una de las alternativas que se plantea es el usar biocombustibles a partir de aceites vegetales o grasas animales. El problema al que se enfrentan este tipo de combustibles es que al usar el aceite de cualquier tipo de semilla y transformarlo en biocombustible, se genera una competencia con el sector alimenticio, incrementando su demanda y por ende su precio debido al desabasto que tendrían en estos dos sectores, por lo cual se busca un tipo de semilla que no compita con la alimentación, ya sea humana o animal.

La semilla de *Jatropha curcas* es la alternativa que se ha venido estudiando debido a que es resistente a la sequía, previene y controla la erosión del suelo, en algunos poblados la utilizan como un cerco vivo, ya que este arbusto es tóxico. La *Jatropha curcas* crece en regiones tropicales, se ha encontrado en América tropical y en los subtrópicos de África y Asia; en México la encontramos en la Península de Yucatán, Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo, Guerrero, Hidalgo, Puebla, Veracruz, Tamaulipas, Sinaloa y Sonora; actualmente se ha encontrado que este árbol crece en forma silvestre en Nayarit.

La semilla de *Jatropha curcas* no ha sido explotada debido a que contiene ésteres de forbol, los cuales son promotores de tumores, también se les atribuye la

principal causa de envenenamiento y con base a su concentración esta planta es clasificada como tóxica o no tóxica.

En el proceso de extracción del aceite se genera un residuo denominado bagazo, el cual no tiene una utilidad como tal, por lo que es desechado; el uso que se le pretende dar es como un complemento para el forraje, para lo cual es necesario conocer las características que contiene, así como saber el contenido de ésteres de forbol para determinar el grado de toxicidad de este residuo.

El presente trabajo muestra los análisis que se realizaron para poder determinar si el bagazo de la semilla *Jatropha curcas* L. se puede utilizar como complemento para forraje, realizando una serie de análisis como son: cenizas, humedad, proteínas, grasa y fibra; los cuales nos indican el porcentaje presente en el bagazo y así decidir su clasificación; además de identificar las toxinas que están presentes, como los ésteres de forbol, que son los principales causantes de la toxicidad de la planta.

1.2 Objetivo General

Caracterizar el bagazo obtenido de la semilla extractada de *Jatropha curcas* y determinar si puede utilizarse como forraje.

1.2.1 Objetivos Particulares

- Determinar el porcentaje de humedad presente en el bagazo.
- Determinar el porcentaje de cenizas presente en el bagazo.
- Determinar el porcentaje de proteínas presentes en el bagazo.
- Determinar el porcentaje de grasa presente en el bagazo.
- Determinar el porcentaje de fibra presente en el bagazo.
- Identificar la presencia de ésteres de forbol en el bagazo.
- Evaluar a partir de los análisis del bagazo su posible uso como forraje.

1.3 Hipótesis

Si se obtiene el porcentaje de humedad, cenizas, proteínas, grasa, fibra y ésteres de forbol, del bagazo obtenido de la expresión de los granos de *Jatropha curcas*, se podría determinar su uso como complemento para forraje.

1.4 Justificación

Debido a la posible escasez de combustibles de origen fósil, se ha comenzado a estudiar una alternativa como la de obtener un biocombustible a partir de aceite vegetal, proveniente de la semilla *Jatropha curcas*. El aceite se obtiene de la expresión de la semilla, generando un residuo denominado bagazo, que puede ser utilizado como complemento para forraje, aprovechando todos los subproductos que se generan en el proceso de elaboración de biodiesel.

Capítulo II

Marco Teórico

2.1 Biocombustibles

En años recientes, los biocombustibles han ido adquiriendo una mayor relevancia dentro de la oferta de energía a nivel mundial. La ventaja que este tipo de combustibles presenta sobre otras fuentes alternas es que su uso no conlleva un cambio tecnológico, ya que mantienen el mismo principio de funcionamiento que los combustibles fósiles empleados (combustión interna). Entre los biocombustibles que se producen, el bioetanol y el biodiesel presentan la mayor tasa de crecimiento. [Irastorza, et. al., 2008]

Los combustibles empleados en el sector del transporte se basan en el uso de combustibles líquidos. El uso de combustibles en estado gaseoso (gas natural, gas LP) es mucho menor y los de combustibles en estado sólido (por ejemplo para impulsar los trenes) prácticamente ha desaparecido. En este sentido existen dos tipos de combustibles líquidos: aquellos provenientes de recursos fósiles y los provenientes de fuentes renovables (biocombustibles).

El uso de biocombustibles depende en gran medida del potencial en la disposición y regeneración de biomasa (materia prima empleada para la producción de los biocombustibles), que a su vez depende de las características de una región como lo son: el clima, tierra disponible, productividad de la misma y el volumen de cosechas destinadas con este fin.

La característica que comparten todos los biocombustibles es la asociada con su ciclo de vida que, en general, es muy similar, ya que la mayor parte de estos se producen a partir de fuentes de origen vegetal, por lo que deben de ser cultivados, transportados y procesados para la fabricación de biocombustibles.

Los beneficios de los biocombustibles varían cuando se comparan con los combustibles fósiles. Al utilizar biocombustibles como fuente de energía, éstos pueden superar las emisiones generadas por la quema de combustibles fósiles. Por lo que es necesario conocer el ciclo de vida de los biocombustibles, el cual varía considerablemente dependiendo de la materia prima a emplearse, localización, subproductos, tecnología empleada y uso final del biocombustible.

En cada uno de los pasos en el ciclo de vida se encuentran involucrados distintos actores: la biomasa se produce por agricultores, mismos que pueden o no ser responsables del transporte de la misma. Los biocombustibles se producen en una industria para que finalmente estos puedan ser distribuidos a las estaciones de servicio para que el consumidor final los adquiera.

Hay que destacar que el desarrollo de la industria de los biocarburantes no depende principalmente de la disponibilidad local de materia prima, sino de una demanda suficiente. Al asegurar una demanda de biocarburantes, el desarrollo de su mercado puede aprovecharse para potenciar otras políticas como la agrícola, favoreciendo la creación de empleo en el sector primario, la fijación de población en el ámbito rural, el desarrollo industrial y de actividades agrícolas, y reduciendo a la vez los efectos de la desertización gracias a la plantación de cultivos energéticos. [García Camús, et. al., 2006]

Se denomina biodiesel (metil-éster de ácidos grasos), al producto resultante de la reacción química entre los triglicéridos, principalmente de los aceites vegetales con alcoholes como el metanol o el etanol. El proceso se llama químicamente: transesterificación.

El biodiesel puede producirse a partir de una gran variedad de cultivos oleaginosos, grasas animales, aceites y grasas recicladas. [Masera, et. al., 2006]

El triglicérido es el principal componente del aceite vegetal o la grasa animal. Además, la formación de la base de la glicerina, inmiscible con los ésteres metílicos, juega un papel importante en el desplazamiento de la reacción hacia los productos, alcanzándose conversiones cercanas al 100%. [García Camús, et. al., 2006]

En la figura 1 se presentan las diferentes reacciones que tienen lugar en la transesterificación, la cual consiste químicamente en tres reacciones reversibles y consecutivas. El triglicérido es convertido consecutivamente en diglicérido, monoglicérido y glicerina. En cada reacción un mol de éster metílico es liberado.

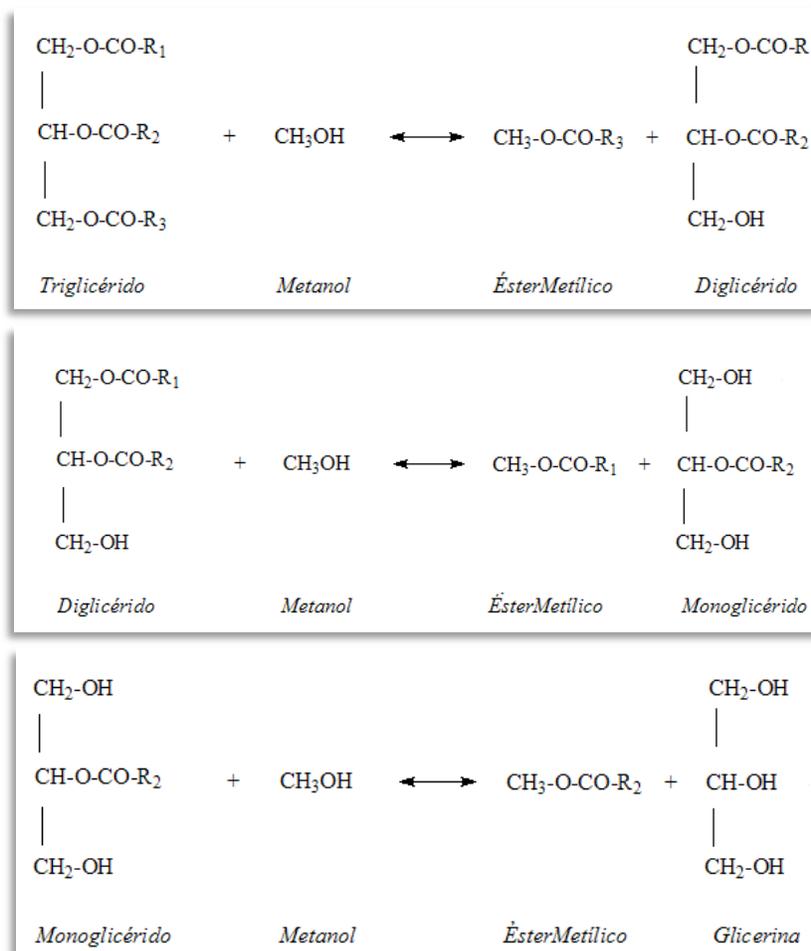


Fig. 1 Reacciones implicadas en la transesterificación

En la reacción de transesterificación se utiliza un catalizador para mejorar la velocidad de reacción y el rendimiento final, sin él no sería posible esta reacción.

En el caso de la reacción de transesterificación, cuando se utiliza un catalizador ácido se requieren condiciones de temperatura elevada y tiempo de reacción largo; sin embargo, la utilización de álcalis, implica que los glicéridos y el alcohol deben ser anhidros (<0,06 % v/v) para evitar que se produzca la saponificación. Además, los triglicéridos deben tener una baja proporción de ácidos grasos libres

para evitar que se neutralicen con el catalizador y se formen también jabones. [García Camús, et. al., 2006]

El biodiesel sustituye como combustible limpio y renovable a los derivados del petróleo, concretamente al diesel y lo hace con ventaja ecológica ya que reduce las emisiones de gases que provocan el efecto de invernadero. Así, por ejemplo, el uso de una tonelada de biodiesel, evita la producción de 2.5 toneladas de dióxido de carbono (CO₂) y sobre todo elimina, si se usa el biodiesel solo en los motores, las emisiones de azufre (SO₂) del diesel, evitando las lluvias ácidas; además, lo que es fundamental: es un combustible renovable y no finito como los hidrocarburos.

La producción mundial de biodiesel en el lapso de 1993-2003 creció a una impresionante tasa del 28.5% anual, de 38 a 467 millones de galones, mientras la producción de bioetanol creció a una tasa del 6.7% anual en el mismo periodo de tiempo, alcanzando en el año de 2003, los 5 mil 770 millones de galones. [Maser, et. al., 2006] Fuente: World Watch Energy Agency 2004.

Actualmente, uno de los problemas de la humanidad es su dependencia en relación con los combustibles fósiles, que además de ser limitados provocan un fuerte impacto ambiental y trastornos económicos. El reto está en conseguir que las fuentes renovables de energía vayan sustituyendo paulatinamente esos combustibles; una alternativa puede ser la biomasa, en especial, aquella que puede convertirse en fuente productora de aceite vegetal, como el cultivo de la *Jatropha curcas L.* en tierras abandonadas, secas y semiáridas no comprometidas con la alimentación humana. [Sotolongo, et. al., 2007]

2.2 *Jatropha curcas*

El nombre del género *Jatropha* deriva del griego jatrós (doctor) y trophé (comida), que implica usos medicinales, mientras que curcas es el nombre común para la nuez del Phycis en Malabar, India. [Sotolongo, et. al., 2007]

La *Jatropha curcas* L. (figura 2) es un árbol pequeño perteneciente a la familia de las Euphorbiaceae. Es una oleaginosa de porte arbustivo que tiene más de 3 500 especies agrupadas en 210 géneros; alcanza de 3 a 6 m de altura y tiene una longevidad mayor de cincuenta años. Es una planta con muchos atributos, múltiples usos y un potencial considerable. La planta puede ser usada para prevenir y/o controlar la erosión, la recuperación del suelo, crecer como un cerco vivo, especialmente para contener o excluir animales de granja y ser plantada como un cultivo comercial. Es nativa de América tropical, pero ahora crece en muchas partes de los trópicos y subtrópicos de África y Asia. Tiene pocas plagas y enfermedades, crece en un amplia gama de regímenes de precipitaciones de 200 a más de 1500 mm anuales. En las zonas de bajas precipitaciones y en los largos períodos sin lluvias, la planta pierde las hojas como un contrapeso a la sequía. [Keith Openshaw; Sotolongo, et. al., 2007]



Fig. 2 Árbol de *Jatropha curcas* L.

La *Jatropha* es fácil de establecer, crece relativamente rápido y es resistente, siendo tolerante a la sequía. Esta planta no es buscada, debido a que sus tallos y hojas son tóxicos para los animales, pero después de un tratamiento, el bagazo de la semilla puede ser utilizado como alimento para animales. Varias partes de la planta son de valor medicinal, su corteza contiene tanina, las flores atraen a las abejas y por lo tanto la planta tiene un potencial de producción de la miel, la madera y la fruta se puede utilizar para varios propósitos, incluido el combustible. De particular importancia, el fruto de la *Jatropha* (figura 3) contiene aceite viscoso que puede ser usado para la fabricación de jabón, en la industria de cosméticos y como un sustituto del diesel/queroseno. Este último uso puede ser de importancia en la práctica como sustituto de los combustibles fósiles para combatir la acumulación de gases de efecto invernadero. Además, como todos los árboles, que fija el carbono atmosférico, lo almacena en la madera y contribuye a la acumulación de carbono al suelo. [Openshaw, 1999]



Fig. 3 Frutos de *Jatropha curcas* L.

La floración en la planta *Jatropha* puede presentarse entre el 1° y 2° años en condiciones muy favorables, pero normalmente toma más tiempo (3 años). La producción de semilla (figura 4) se estabiliza a partir del 4° ó 5° años. Al parecer la formación de flores está relacionada con el periodo de lluvias. Puede florear nuevamente después de producir frutos cuando las condiciones permanecen favorables por otros 90 días, pero después de esta 2ª floración, la planta no florea nuevamente, sino que se desarrolla vegetativamente. El desarrollo del fruto toma entre 60 y 120 días desde la floración hasta la madurez de la semilla. La reproducción se detiene al inicio del período de lluvias.



Fig. 4 Semilla de *Jatropha curcas* L.

Sin embargo, por razones, tanto técnicas como económicas, el potencial de la *Jatropha* está lejos de ser realidad. El cultivo y la gestión no están bien documentados y se tiene poca experiencia en la comercialización de sus productos. Así con frecuencia, los productores no alcanzan el rendimiento óptimo de los productos, tales como la fruta que traería grandes recompensas. Tampoco se tiene mucha información sobre los mercados más lucrativos. En muchos casos, los mercados no han sido explorados o debidamente cuantificados, ni los costos o rendimientos se han evaluado para suministrar los diferentes productos a estos mercados. Por lo tanto, los productores reales o potenciales, especialmente en el

sector de subsistencia, pueden ser renuentes a invertir tiempo y dinero en un cultivo que sólo tiene la promesa en lugar de recompensas concretas. [Openshaw, 1999]

Algunas de las estrategias actuales utilizadas para promover la *Jatropha* podrían tener un efecto disuasorio en lugar de un estímulo en la promoción del desarrollo rural. Por lo tanto, es oportuno examinar los problemas encontrados en el cultivo y el uso de la *Jatropha*, los logros hasta la fecha y la estrategia actual en la promoción de la planta pueden ser útiles y versátiles. [Openshaw, 1999]

La *Jatropha* es ampliamente cultivada en México, Nicaragua, Tailandia y en partes de la India. Actualmente se está promoviendo en el sur de África, Brasil, Malí y Nepal. [Openshaw, 1999]

La *Jatropha curcas* L. se conoce en la Península de Yucatán como “Sikil-Te” y se distribuye en Chiapas, Oaxaca, Quintana Roo, Guerrero, Hidalgo, Puebla, Veracruz, Tamaulipas, Sinaloa y Sonora. Actualmente Nayarit está contemplada debido a que en esa región la planta se da de forma natural.

2.3 Alimentación animal

Existen diversas definiciones de alimento para el ganado, pero todas coinciden en que son aquellas sustancias que el animal ingiere para obtener los nutrientes necesarios para mantener sus funciones vitales.

La alimentación constituye entre el 60 – 80 % de los gastos de funcionamiento totales de una explotación ganadera. Se trata pues, de la mayor partida de gastos y sobre la que se va a poder actuar de una forma más directa.

De los alimentos nos interesa conocer sobre todo dos aspectos importantes:

- Su valor nutritivo,
- Y su precio

Los alimentos están constituidos por nutrientes de los cuales es necesario dar una definición.

Concepto de nutriente: Son aquellas combinaciones orgánicas e inorgánicas procedentes del alimento directamente asimilables y aprovechables por la célula animal.

2.3.1 Composición química de los alimentos

Los alimentos en general, salvo los alimentos de origen mineral (la sal, por ejemplo) y el agua, son compuestos orgánicos cuya base es la combinación de cuatro elementos principales: carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, que puede contener otros elementos, aunque en menor proporción, como fósforo (P), azufre (S), cloro (Cl), Calcio (Ca), sodio (Na), magnesio (Mg) y potasio (K).

2.3.2 Clasificación de los alimentos

Aunque cada especie animal aprovecha de forma distinta los diferentes tipos de alimentos, para todos y en general, se puede hacer una clasificación básica de los alimentos fundamentada en el contenido de nutrientes por unidad de peso (densidad nutritiva). Este tipo de clasificación está muy relacionada con aquellas otras basadas en la composición química de los alimentos (contenido en fibra y agua, sobre todo). Otra posible clasificación es la que tiene en cuenta el nutriente que predomina sobre los demás.

- Dependiendo de la cantidad de nutrientes por kg de producto fresco, muy relacionado con la cantidad de agua y el contenido en fibra, los alimentos se pueden clasificar en los siguientes tipos:

2.3.2.1 Alimentos de volumen o groseros

Se denominan alimentos de volumen ya que ocupan mucho volumen y tiene relativamente poco valor nutritivo. Se les conoce también como alimentos bastos o groseros. Podemos distinguir en este grupo los alimentos fibrosos y los alimentos succulentos.

2.3.2.1.1 Alimentos fibrosos con alto contenido en fibra que sólo puede ser aprovechada por los rumiantes. Se consideran alimentos fibrosos aquellos que contienen más de un 15 % de fibra bruta (FB). Esta cifra (15 % de FB) corresponde al contenido mínimo de fibra bruta que se requiere en una ración de rumiantes para que no existan alteraciones en el metabolismo del ruminal.

Podemos destacar aquí los forrajes, que son todas aquellas partes fibrosas de los vegetales que son aprovechables por los rumiantes y otros herbívoros.

2.3.2.1.2 Alimentos groseros succulentos con alto contenido en humedad (más del 80 %) pero de bajo contenido en fibra.

Básicamente se engloban dentro de este grupo raíces y tubérculos (nabo, remolacha, zanahoria, etc.), gramíneas y leguminosas en estados vegetativos muy tempranos, siempre que se consuman en fresco. Si los referimos en materia seca (descontando el agua que contienen), poseen una cantidad de energía similar a la de los alimentos concentrados.

2.3.2.2 Alimentos concentrados

Se denominan así porque tienen gran cantidad de elementos nutritivos con relación a su peso. Aquí se incluyen todos los granos de cereales y sus harinas (maíz, cebada, trigo, avena, sorgo, centeno, etc.), los granos de leguminosas, las tortas o harinas de oleaginosas y los propios granos de oleaginosas (soja, girasol, etc.).

Estos alimentos se utilizan de forma común en el racionamiento de animales monogástricos (cerdos, gallinas, etc.), como únicos componentes de su dieta, y para complementar las dietas forrajeras de rumiantes altamente productores (ovejas, cabras y

vacas, normalmente de leche). Tienen un bajo contenido en humedad y se conservan bastante bien. En comparación con los alimentos groseros, tienen muy bajo contenido en fibra.

- Atendiendo a su contenido general en nutrientes y al tipo de nutriente que predomina (muy ligado, de nuevo, a la composición nutritiva), los alimentos se pueden clasificar en:

2.3.2.3 Alimentos energéticos: la cantidad de energía que aportan es comparativamente mayor que la cantidad de proteína.

2.3.2.4 Alimentos proteicos: la fracción de proteína predomina sobre la fracción energética.

2.3.2.5 Alimentos equilibrados: Se trata de mezclas homogéneas de concentrados que han sido diseñadas para que el animal no necesite de otros alimentos ya que satisfacen todos los requerimientos de aquél. En ruminantes esta definición no sería correcta, ya que se utilizan como complementos de una base forrajera.

2.3.2.6 Alimentos minerales y correctores: No contiene energía ni proteína, pero aportan los minerales necesarios para equilibrar las distintas dietas del ganado.

2.3.3 Valor nutritivo de un alimento

El valor nutritivo de un alimento viene dado por la cantidad de fracciones nutritivas que contiene dicho alimento y por la disponibilidad de éstas para ser digeridas y asimiladas por el animal. El valor nutritivo está asociado a la especie que lo consume, al estado fisiológico del animal y a su edad. [Caravaca, et. al., 2005]

2.3.4 Composición analítica de los alimentos. Análisis de alimentos.

Los alimentos deben ser analizados para conocer su valor nutritivo. Este análisis consiste en un fraccionamiento de los distintos compuestos químicos, aunque por cuestiones de práctica analítica no llegan a corresponder con las fracciones químicas verdaderas.

Durante el análisis, el alimento es sometido a una serie de procesos a partir de los cuales, se pretende conocer la composición del mismo. En primer lugar se trata de determinar el contenido en humedad del alimento, es decir, diferenciar entre la fracción de agua y lo que denominamos materia seca. A continuación, de la materia seca interesa conocer la proporción de materia orgánica y de materia mineral. Dentro del contenido de materia orgánica cabe realizar una separación entre las materias nitrogenadas o proteína bruta, las materias grasas o extracto etéreo, la fibra bruta y el extracto libre de nitrógeno. Todos estos análisis se muestran en la figura 5. [Caravaca, et. al., 2005]

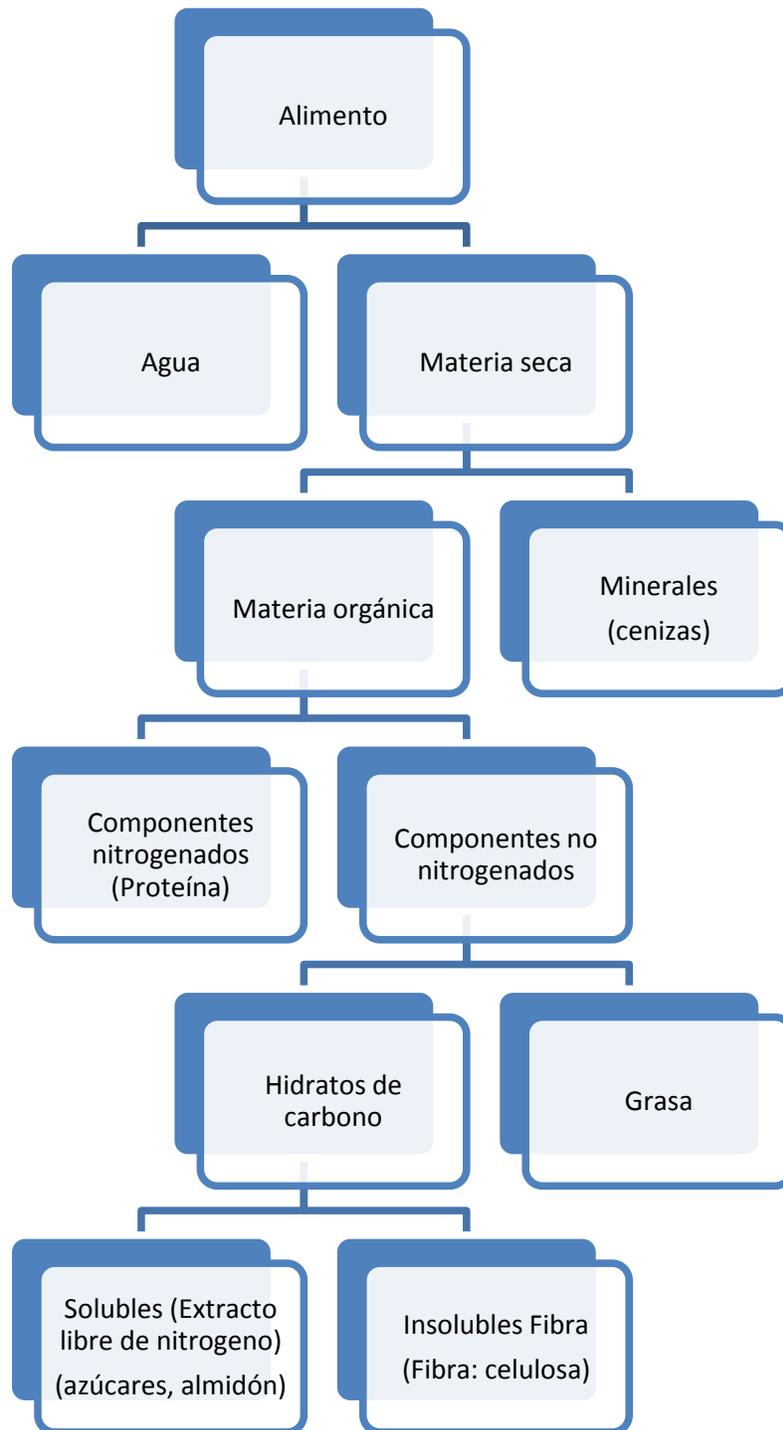


Fig. 5 Esquema de la composición de un alimento

2.4 Proteínas

Las proteínas son macromoléculas formadas por cadenas de alrededor de 20 diferentes aminoácidos, unidos entre sí por medio de enlaces peptídicos y se encuentran como mezclas complejas en los tejidos orgánicos. [Fessenden, et. al., 1987]

Por lo común, solo se encuentran veinte aminoácidos en las proteínas de plantas y animales, sin embargo, estos veinte aminoácidos se pueden combinar en una gran variedad de formas, para originar músculos, tendones, piel, uñas, plumas, seda, hemoglobina. enzimas, anticuerpos y muchas hormonas.

Las proteínas pueden clasificarse como fibrosas o globulares. Las proteínas fibrosas, como el colágeno y la queratina, consisten en cadenas polipeptídicas dispuestas lado a lado formando fibras largas. Debido a que estas proteínas son resistentes e insolubles en agua, se utilizan en la naturaleza para formar materiales estructurales como tendones, pezuñas, cuernos y músculos. En contraste, las proteínas globulares generalmente están arrolladas a formas compactas y casi esféricas. Estas proteínas suelen ser solubles en agua y se mueven dentro de las células. [MacMurry, 2000]

Se define el contenido de proteína bruta (PB) de un alimento como el nitrógeno total determinado por el método Kjeldahl, multiplicado por el factor 6.25 (resulta de la división de 100 entre 16, que es el porcentaje de N_2 que tienen como media las proteínas). [Angulo, et. al., 1995]

Este método da por supuesto que todas las proteínas tienen el 16 % de N₂ y que el nitrógeno está en forma de proteína; estos dos supuestos no se cumplen en igual medida en todos los casos. En los casos en que el nitrógeno no proteico (amidas, ácidos nucleicos, aminoácidos libres, etc.) están presentes en gran proporción en relación al nitrógeno total hay que apoyarse además en otros métodos.

2.5 Cenizas

El concepto de cenizas se refiere al residuo que queda después de la combustión completa (incineración) de los componentes orgánicos de un alimento en condiciones determinadas. Las cenizas son aquellos componentes conocidos como minerales o nutrientes inorgánicos que contienen los alimentos. En el análisis proximal, las cenizas representan a la mayoría de los minerales presentes en los alimentos. Algunos de éstos, se volatilizan y se pierden en la muestra a la temperatura de obtención de las cenizas. [NMX-F-607-NORMEX-2002]

Los minerales se presentan en los alimentos en forma de sales tanto orgánicas como inorgánicas. Su composición normal, en la composición química de los mismos, oscila entre 0.5 y el 5 % del peso total. Los animales utilizan los minerales como componentes principales de los tejidos de sostén (huesos) y como electrólitos del metabolismo celular. [Caravaca, et. al., 2005]

2.6 Humedad

Debido a que no tiene un valor energético, ya que no sufre cambios químicos durante su utilización biológica, el agua en muchas ocasiones no se considera como nutrimento; sin embargo, sin ella no podrían llevarse a cabo las reacciones bioquímicas. Las principales funciones biológicas del agua estriban

fundamentalmente en su capacidad para transportar diferentes sustancias a través del cuerpo, disolver otras y mantenerlas tanto en solución como en suspensión coloidal. El agua es un factor determinante en la inhibición o la propagación de las diferentes reacciones que pueden aumentar o disminuir la calidad nutritiva y sensorial de los alimentos. [Badui, 1996]

El agua como nutriente siempre va a formar parte de cualquier tipo de alimento, lo cual se va a tener muy en cuenta tanto para la conservación como para la determinación del valor nutritivo de los mismos. Además, el contenido de agua es uno de los criterios que se van a utilizar para la clasificación de los alimentos.

2.7 Grasas

Los lípidos son moléculas orgánicas que se encuentran en la naturaleza, aislados de las células y tejidos por extracción con disolventes orgánicos no polares. Químicamente son ésteres de ácidos grasos y alcoholes y están formados también por C, H y O, como los glúcidos, pero en distintas combinaciones y proporciones. Son sustancias de reserva energética, pero con una capacidad de acumulo de energía tres veces superior a los glúcidos. Además, en los animales, tienen una función estructural, ya que se depositan entre los diferentes tejidos y órganos. [Caravaca, et. al., 2005; MacMurry, 2000]

Los lípidos se clasifican en dos tipos generales: los que son como las grasas y las ceras. Las grasa animales y los aceites vegetales son los lípidos que se encuentran con mayor abundancia en la naturaleza. Aunque parecen diferentes (las grasas animales como la mantequilla y la manteca son sólidas, mientras que los aceites vegetales como el maíz y el de cacahuate son líquidos) sus estructuras

están estrechamente relacionadas. Las grasas y los aceites son triacilgliceroles (TAG, también llamados triglicéridos), triésteres del glicerol con tres ácidos carboxílicos de cadena larga. Los animales utilizan grasas para el almacenamiento de energía a largo plazo porque éstas se encuentran mucho menos oxidadas que los carbohidratos y proporcionan alrededor de seis veces más energía. [MacMurry John]

2.8 Fibra

La fibra está constituida por los componentes de las paredes celulares de los vegetales, entre los que destacan la celulosa, la hemicelulosa y las pectinas; también se incluye en éstos a la lignina. Su función principal es que tiene la capacidad de hincharse al absorber el agua y por lo tanto aumentar el volumen de la materia fecal; esto provoca un incremento en los movimientos peristálticos del intestino, y facilita el tránsito, la distensión intestinal y consecuentemente la defecación. [Badui, 1996]

2.9 Ésteres de forbol

Los ésteres de forbol se definen como “los compuestos poli cíclicos en el que dos grupos hidroxilo en átomos de carbono vecinos se encuentran esterificados con ácidos grasos”. Los ésteres de forbol imitan la acción del glicerol diacilo (DAG), activador de la proteína quinasa C, la cual regula las diferentes vías de transducción de señal y otras actividades metabólicas celulares. Se producen de forma natural en muchas plantas de la familia Euphorbiaceae. Los ésteres de forbol, incluso en concentraciones muy bajas, muestran manifestaciones



toxicológicas en los animales alimentados con dietas que los contienen. Esta toxicidad limita el uso de muchas plantas nutritivas y agrícolas de los productos que contienen ésteres de forbol para ser utilizados como alimento animal. Por lo tanto, varios tratamientos químicos y físicos han sido evaluados para extraer o inactivar los ésteres de forbol para que las semillas ricas en proteínas se puedan utilizar como recurso alimenticio. [Gujan et al, 2007]

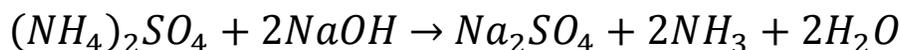
Capítulo III

Metodología

3.1 Proteínas

Fundamento: La determinación de proteínas, se basa en la cuantificación del nitrógeno orgánico, el cual es transformado en nitrógeno amoniacal, por la digestión húmeda de la muestra al calentarla a una temperatura máxima de 410 °C, con ácido sulfúrico concentrado y una mezcla de catalizadores, el cual es retenido en sulfato de amonio. El amonio es liberado por adición de sosa, destilado por arrastre de vapor y recibido en una solución de ácido bórico. Y este último es valorado con un ácido fuerte. [NMX-F-608-NORMEX-2002]

La reacción que se lleva a cabo es:



Material y reactivos:

- Matraz de digestión Labconco de 800 mL ó los que apliquen al equipo digestor.
- Matraz volumétrico de 1000 mL.
- Pipetas volumétricas de 15 mL.
- Perlas de vidrio o cuerpos de ebullición.
- Bureta de vidrio.

- Vasos de precipitados de 400 mL.
- Balanza analítica Ohaus de 0.001 g de precisión.
- Parrilla de calentamiento con agitación y con regulador de temperatura.
- Digestor de proteínas automatizado, con control de temperatura, Kjeldahl tradicional ó cualquier otro equipo con características de funcionamiento similares.
- Destilador de proteínas Labconco Rapid Still II, destilador Tecator modelo 2300, ó cualquier otro equipo con características de funcionamiento similares.
- Ac. sulfúrico conc. (libre de nitrógeno).
- Sulfato de potasio.
- Sulfato de cobre.
- Agua destilada.
- Rojo de metilo T.S. Disolver 100 mg de rojo de metilo en 100 mL de alcohol etílico.

Hidróxido de Sodio 1:1 Disolver 500 g de lentejas de hidróxido de sodio, en 500 mL de agua destilada. Tener precaución, ya que esta es altamente exotérmica, preferentemente introducir el recipiente donde se haga la solución en un baño de agua-hielo.

Ácido bórico al 1% con indicadores. Disolver 10 g de ácido bórico, en aproximadamente 800 mL de agua destilada, en un matraz volumétrico de 1000 mL. Por separado disolver 20 mg de rojo de metilo en 60 mL de alcohol etílico y 100 mg de verde de bromocresol en 60 mL de alcohol etílico. Adicionar los indicadores al matraz volumétrico de 1000 mL, completar el volumen al aforo con agua destilada. Ajustar el pH de esta solución a 4.5 ó 4.7.

Ácido clorhídrico 0.1 N. Diluir 8.5 mL de ácido clorhídrico conc. con agua destilada en un matraz volumétrico de 1000 mL. Aforar a la marca con agua destilada. Estandarizar empleando 0.15 g de carbonato de sodio anhidro, previamente secado 1 h a 270 °C, disolviéndolo en 100 mL de agua, en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, adicionar 2 gotas de rojo de metilo T.S., añadir el ácido clorhídrico con una bureta con agitación continua, hasta que la solución tenga un color rojo tenue, llevar a ebullición hasta que la solución regrese a un tono amarillo, y continuar la titulación hasta un color rojo persistente a la ebullición. Calcular la normalidad del HCl (NHCl) con la siguiente fórmula:

$$NHCl = \frac{A \times 1000}{B \times 52.99}$$

Donde:

A = Peso del carbonato de sodio anhidro, en gramos.

B = Volumen de ácido clorhídrico 0.1 N utilizados para titular el carbonato de sodio, en mL.

52.99 = mg de carbonato de sodio equivalentes a 1 mL de ácido clorhídrico 1.0 N.

Procedimiento:

Digestión

Se realizaron 4 determinaciones para la muestra y 4 para realizar el blanco. Se pesó en un papel filtro 2 gramos de muestra. Se colocó el papel filtro con la muestra dentro del matraz de digestión

y se le adicionó 10 g de sulfato de potasio, 0.060 g de sulfato de cobre y 50 mL de ácido sulfúrico. Se colocó el matraz en la campana de extracción y se comenzó a realizar la digestión. Se esperó hasta que la solución que contenía el matraz cambiara de color negro a traslucido. Se dejó enfriar el matraz y se le adicionaron 100 mL de agua destilada. La figura 6 muestra el sistema de digestión de la muestra.



Fig. 6 Digestión de la muestra

Destilación

Se utilizó un sistema de destilación el cual consistía en un matraz bola de 3 bocas esmerilado, una parrilla de calentamiento, un embudo de adición, un tapón, una columna de fraccionamiento conectada a un refrigerante, una alargadera, un termómetro y un dedo frío.

Se colocó en un matraz Erlenmeyer 50 mL de ácido bórico con indicador, este se introdujo en la alargadera de la salida del refrigerante.

En el embudo de adición se colocó NaOH 1:1, y se fue agregando poco a poco, hasta que se observó que ya no había reacción y la solución de ácido bórico cambiara de color café a un tono azul.

Se tituló con HCl 0.1 N el contenido del matraz Erlenmeyer, hasta que cambiara de color azul a un tono café. La figura 7 muestra el equipo utilizado para realizar la destilación del amoníaco.



Fig. 7 Equipo para destilación del amoníaco

Cálculos:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{V \times N \times 0.014 \times 100}{P}$$

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(V_a - V_b) \times 0.014 \times 100}{P}$$

Donde:

V_a = Volumen de ácido clorhídrico gastado en la titulación, en mL.

V_b = Volumen de ácido clorhídrico gastado en la titulación del blanco.

N = Normalidad del ácido clorhídrico.

P = Masa ó peso de la muestra, en gramos.

0.014 = miliequivalente del nitrógeno.

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times \text{Factor}$$

Factores para transformar el nitrógeno a proteína

Tabla 1 Factores para transformar el nitrógeno a proteína

Cereales trigo entero, molido o harina	5.83
Harina de trigo (baja o mediana extracción)	5.70
Macarrones, espagueti o pastas de trigo	5.76
Salvado de trigo	6.31



Arroz todos los productos	5.95
Centeno, avena, cebada (todos los productos)	5.83
Leguminosas, nueces y semillas, nueces de tierra	5.46
Frijoles de soya (todos los productos)	5.71
Almendras	5.18
Nuez de Brasil	5.46
Otras nueces	5.30
Coco, castañas, semillas (ajonjolí, Cártamo, girasol) otras semillas	5.30
Leche y productos de leche	6.38
Otros alimentos gelatina	5.55
Huevo	6.68
Yema de huevo	6.62
Galletas y productos de panadería	5.70
Otros alimentos	6.25

3.2 Cenizas

Fundamento: La muestra seca se carboniza y posteriormente se calcina a 550 ± 25 °C para destruir la materia orgánica de la misma, permitiendo así, la cuantificación aproximada de sus cenizas. [NMX-F-607-NORMEX-2002]

Material y reactivos:

- Crisoles de porcelana.
- Desecador.
- Guantes resistentes a altas temperaturas.
- Perilla de succión ó accesorio similar.
- Pinzas para crisoles.
- Balanza analítica Ohaus de 0.001 g de precisión.
- Campana de extracción de humos.
- Mufla Lindberg/Blue.
- Parrilla de calentamiento con regulador de temperatura.

Procedimiento:

Se utilizaron cuatro crisoles vacíos, los cuales fueron colocados en la mufla a una temperatura de 550 °C, durante 20 minutos. Transcurridos los 20 minutos se dejaron enfriar y se colocaron en el desecador hasta que alcanzaron la temperatura ambiente. Se tomó el peso de cada uno en una balanza analítica con una sensibilidad de 0.001 g. Se repitió el procedimiento anterior 4 veces, ya que

los resultados del peso no deben de exceder 0.001 g. Se pesó en cada crisol 2 g de bagazo molido.

Se quemó la muestra utilizando una parrilla de calentamiento, iniciando lentamente para que no se presentaran proyecciones, posteriormente se carbonizó a 100 °C; todo esto se realizó en la campana de extracción.

Después de carbonizar la muestra, esta se colocó en la mufla para efectuar la calcinación completa a 550 °C durante 5 horas. Transcurridas las 5 horas se verificó que las cenizas fueran de color blanco o gris. Las muestras de los cuatro crisoles presentaban puntos negros por lo cual se colocaron en el desecador hasta que alcanzaron la temperatura ambiente, posteriormente se le añadió 2 gotas de agua desionizada a cada crisol y se evaporó en la parrilla de calentamiento. Se volvieron a colocar los crisoles en la mufla a 550 °C por 30 minutos. Transcurrido este tiempo se colocaron los crisoles en el desecador hasta que alcanzaron la temperatura ambiente. Se tomó el peso de cada crisol.

Cálculos:

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

Donde:

A = Peso del crisol vacío en gramos.

B = Peso de la muestra en gramos.

C = Peso del crisol con cenizas en gramos.

3.3 Humedad

Fundamento: Este método se basa en que al añadir arena o gasa, se incrementa la superficie de contacto y la circulación del aire en la muestra, favoreciéndose así la evaporación durante el tratamiento térmico. [NOM-116-SSA1-1994]

Material y reactivos:

- Desecador con placa.
- Crisoles.
- Pinzas para crisol.
- Balanza analítica Ohaus de 0.001 g de precisión.
- Mufla Lindberg/Blue.

Procedimiento:

Se utilizaron cuatro crisoles con el fondo cubierto con una gasa, los cuales fueron colocados en la mufla a una temperatura de 100 °C durante 30 minutos. Transcurridos los 30 minutos se colocaron en el desecador hasta que alcanzaron la temperatura ambiente. Se tomó el peso de cada uno en una balanza analítica con una sensibilidad de 0.001 g. Se repitió el procedimiento anterior 7 veces, ya que los resultados del peso no deben de variar 0.001 g. Se pesó en cada crisol 2 g de bagazo molido. Se colocaron los crisoles en la mufla durante 4 horas a una temperatura de 100 ± 2 °C. Transcurrido este tiempo se tomaron los crisoles con las pinzas para crisol y se colocaron en el desecador hasta que se enfriaran a

temperatura ambiente. Se tomó el peso del crisol inmediatamente con precisión de 0.001 g.

Cálculos:

$$\textit{Humedad \%} = \frac{M2 - M3}{M2 - M1} \times 100$$

En donde:

M1 = Peso del crisol con gasa (g).

M2 = Peso del crisol con gasa más muestra húmeda (g).

M3 = Peso del crisol con gasa más muestra seca (g).

3.4 Grasas

Fundamento: El método para la extracción de los lípidos libres, utiliza un agente deshidratante que absorbe la humedad de la muestra y arena de mar que provoca un medio poroso que permite que el disolvente pase con mayor facilidad a través de ésta, extrayendo la grasa presente.

Material y reactivos:

- Cartucho de extracción de tamaño adecuado al extractor.
- Cuerpos de ebullición.
- Equipo de Soxhlet.
- Matraz de boca esmerilada.
- Papel filtro.
- Balanza analítica Ohaus de 0.001 g de precisión.
- Vaso de precipitados de 500 mL.
- Mufla Lindberg/Blue.

Procedimiento: Se pesó en un cartucho de extracción 2 g de bagazo molido, el cartucho se colocó en un vaso de precipitados de 500 mL y éste se colocó en la mufla a 100 °C durante 6 horas. Durante ese tiempo se pesó un matraz con cuerpos de ebullición, se colocó en la mufla durante 30 minutos y después se colocó en el desecador durante 20 minutos, esta operación se repitió hasta que el peso fuera constante.

Transcurridas las 6 horas en las que el cartucho de extracción estuvo en la mufla, este se colocó en el equipo de Soxhlet, se conectó el matraz con cuerpos de ebullición al extractor adicionándole 300 mL de hexano y se realizó la extracción durante 5 horas. Transcurrido este tiempo se desconectó el matraz del equipo y se dejó caer una gota sobre el papel filtro observando que cuando se evaporaba el hexano no dejaba ninguna mancha de grasa.

Una vez terminada la extracción se destiló el hexano. Se secó el matraz con cuerpos de ebullición y la grasa que quedó después de haber trascurrido la destilación en la mufla a 100 °C, se esperó hasta que se enfriara en el desecador, una vez frío, el matraz se pesó, todo esto se repitió hasta que el matraz se mantuviera a peso constante. La figura 8 muestra el equipo Soxhlet que se utilizó para la extracción de la grasa de la muestra.



Fig. 8 Equipo de Soxhlet

Cálculos:

$$\% \text{ de grasa} = \frac{PG - PB}{PM} \times 100$$

En donde:

PG = Peso del matraz con grasa seca (g).

PB = Peso del matraz con cuerpos de ebullición a peso constante (g).

PM = Peso de la muestra (g).

3.5 Fibra

Fundamento: Este método permite determinar el contenido de fibra en la muestra, después de ser digerida con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y calcinado el residuo. La diferencia de pesos después de la calcinación nos indica la cantidad de fibra presente.

Material y reactivos:

- Solución de ácido sulfúrico 0.255 N.
- Solución de hidróxido de sodio 0.313 N.
- Solución de ácido clorhídrico al 1 % (v/v).
- Matraz de bola 500 ml, cuello esmerilado.
- Unidad de condensación para el matraz.
- Matraz Kitazato.
- Embudo Büchner.
- Crisol de filtración.
- Desecador.
- Mufla Lindberg/Blue.
- Papel filtro.
- Balanza analítica Ohaus de 0.001 g de precisión.

Procedimiento: Se pesaron 2 g de bagazo desengrasado y molido en un matraz de 500 mL esmerilado, posteriormente se le agregaron 200 mL de H_2SO_4 0.255 N, se colocó un condensador a este matraz y se llevó a ebullición para realizar una digestión durante 30 minutos. Después de realizar la digestión se filtró al vacío con agua hirviendo. El residuo obtenido

después de la digestión se transvasó a otro matraz el cual contenía NaOH 0.313 N, se le colocó el condensador y se llevó a ebullición durante 30 min. Transcurrido este tiempo se filtró la solución en un crisol para filtración, el residuo se lavó con agua hirviendo, con solución de HCl 1% y nuevamente con agua hirviendo, para terminar con tres lavados con éter. El crisol se colocó en la mufla a 100 °C durante 12 horas, trascurrido este tiempo se enfrió en el desecador y se tomó su peso. Transcurridas las 12 horas y después de haber tomado el peso del crisol, éste se colocó en la mufla a 550 °C durante 3 horas, para posteriormente colocarlo en el desecador y tomar su peso.

Cálculos:

$$\% \text{ Fibra Cruda} = \frac{A - B}{C} \times 100$$

Donde:

A = Peso del crisol con el residuo seco (g).

B = Peso del crisol con la ceniza (g).

C = Peso de la muestra (g).

3.5 Ésteres de forbol

Fundamento: Este método se basa en una serie de extracciones comenzando con metanol/agua (3:1), en la cual se deja macerando el bagazo molido durante 12 horas, para posteriormente realizar lavados con distintas soluciones y así poder obtener una fase orgánica la cual contiene los ésteres de forbol.

Material/Reactivos:

- Metanol.
- Hexano.
- Éter.
- Acetonitrilo.
- Agua destilada.
- Solución de NaCl 1%.
- Solución de Na_2CO_3 1%.
- Rotavapor o destilador.
- Balanza analítica Ohaus de 0.001 g de precisión.

Procedimiento: Se pesó 50 g de bagazo molido y se dejó macerando toda la noche con una mezcla de 150 mL de metanol y 50 mL de agua destilada. Terminada la maceración se filtró al vacío y las aguas madres se volvieron a filtrar por gravedad. La solución obtenida de la filtración se lavó 3 veces con 150 mL de hexano. Se obtuvieron aproximadamente 150 mL de solución denominada metanol I. Se le adicionaron 150 mL de solución de NaCl al 1% a la solución de metanol I, denominándola ahora solución acuosa. Posteriormente se lavó 3 veces

con 300 mL de éter, obteniéndose 300 mL de fase acuosa I y 250 mL de fase orgánica. La fase orgánica es lavada 2 veces con 250 mL de Na_2CO_3 al 1%, obteniéndose 130 mL de la fase orgánica conteniendo los ésteres de forbol y 250 mL de solución acuosa II. La fase orgánica, que contienen los ésteres de forbol, se destiló hasta obtener un concentrado, el cual se disolvió con 2 mL de acetonitrilo y se transvasó a un matraz aforado de 5 mL y se llevó al aforo. El procedimiento se puede ver en la figura 9.

El método obtenido para determinar los ésteres de forbol se basó en el método elaborado por Wilhelm et al. (2000). Se utilizó un HPLC Waters Alliance 2695 con detector de fotodiodo Waters 2996. La columna utilizada fue una Symatry; 4.6 X 250 mm, octadecilo (C18). Se utilizó como fase móvil acetonitrilo a un flujo de 1 mL/min. La longitud de onda a la cual se leyó el cromatograma fue de 280 nm. Se inyectó un total de 20 μl de muestra. El estándar utilizado fue 12-miristato 13-acetato de forbol con el cual se obtuvo el tiempo de retención a los 7.716 minutos. Se realizaron 3 corridas a 30, 150 y 500 ppm, obteniendo así la curva de calibración.

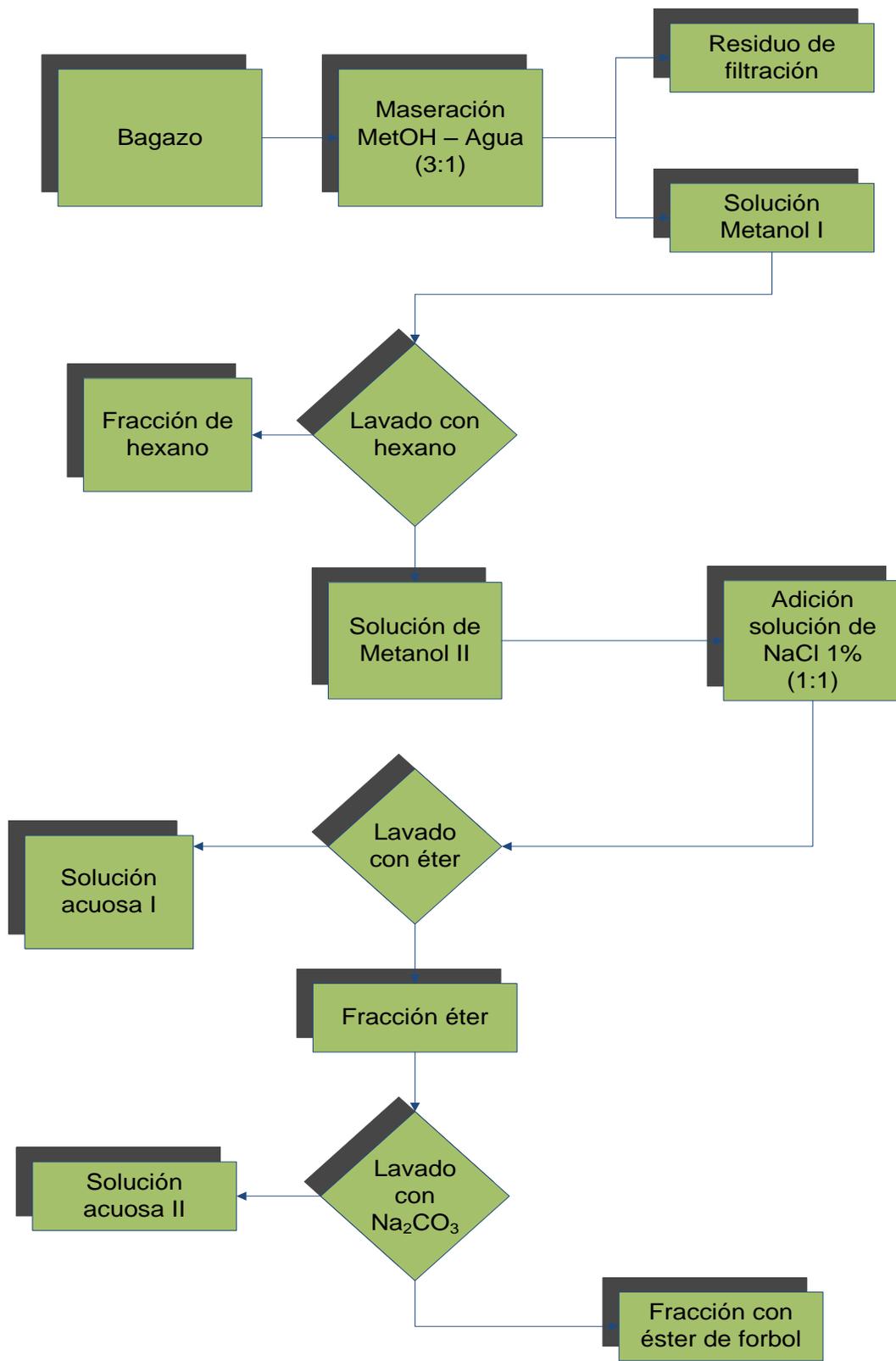


Fig. 9 Esquema para obtención de ésteres de forbol



Capítulo IV

Resultados y análisis de resultados

4.1 Resultados de la determinación de humedad por tratamiento térmico en el bagazo de *Jatropha curcas* L.

En éste análisis se determinó el porcentaje de humedad contenido en el bagazo de la semilla de *Jatropha curcas*. En la Tabla 2 se muestran los pesos obtenidos después de que los crisoles se mantuvieron a peso constante y los pesos con la muestra húmeda.

Tabla 2 Pesos de los crisoles a peso constante

	Crisol 1	Crisol 2	Crisol 3	Crisol 4
Crisol + gasa (g)	21.340	26.354	20.212	20.257
Crisol + gasa + muestra húmeda (g)	23.340	28.354	22.212	22.257
Muestra (g)	2.000	2.000	2.000	2.000

En la tabla 3 se muestran los pesos obtenidos después de realizar el secado a 100 °C durante 4 horas.

Tabla 3 Pesos de los crisoles con muestra seca

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Crisol + gasa + muestra seca (g)	23.243	28.254	22.111	22.161

En la tabla 4 se muestra el porcentaje de humedad obtenido.

Tabla 4 Porcentaje de humedad

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
% Humedad	4.85	5.00	5.05	4.80

El porcentaje de humedad promedio es de 4.92 ± 0.12 , con un porcentaje de error de 2.42 %.

El porcentaje de humedad nos indica el grado de conservación, calidad y textura que contiene un alimento. Además, el agua puede actuar como un gran disolvente de una gran cantidad de estructuras moleculares: sales, ácidos orgánicos o incluso proteínas. El porcentaje obtenido nos dice que este alimento tiene una textura poco jugosa; además éste alimento se puede conservar durante un largo periodo debido a que su poco contenido de agua no propicia la formación de microorganismos los cuales pueden llegar a descomponer al bagazo.

Tabla 5 Comparación del porcentaje de humedad

	<i>Jatropha Curcas</i>	Cebada	Sorgo	Soya
% Humedad	4.92	14	12	6.0

En la tabla 5 se muestra una comparación con 3 granos diferentes utilizados como alimento animal, en los que se observa que el bagazo de la *Jatropha curcas* y la soya tienen un porcentaje similar, por lo cual, la *Jatropha* se puede utilizar en lugar

de soya como complemento para forraje. En comparación con la cebada y el sorgo, el bagazo de *Jatropha* contiene una cantidad menor de agua, por lo que éste bagazo puede conservarse por un largo periodo de tiempo, debido a que no presentará crecimiento de bacterias que lo descompongan.

4.2 Resultados de la determinación de proteínas en el bagazo de *Jatropha curcas* L.

En la tabla 6 se muestra los pesos del papel filtro solo y del papel filtro ya con la muestra.

Tabla 6 Peso de la muestra

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Peso papel filtro (g)	0.51	0.555	0.619	0.784
Peso muestra y papel filtro (g)	2.51	2.555	2.619	2.784
Peso muestra (g)	2.000	2.000	2.000	2.000

En la tabla 7 se muestra el volumen de ácido clorhídrico gastado en la titulación del blanco y en la titulación de la muestra.



Capítulo IV. Resultados y análisis de resultados

Tabla 7 Volumen de ácido clorhídrico gastado en las titulaciones

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Volumen de HCl gastado en el blanco (mL)	0	0	0	0
Volumen de HCl gastado en la muestra (mL)	9.7	10	10.2	10.3

En la tabla 8 se muestra el porcentaje de nitrógeno y el porcentaje de proteína que se obtuvo. El factor utilizado para transformar el nitrógeno a proteína fue el que corresponde a otras semillas que es de 5.30, el cual se obtiene de la tabla 1.

Tabla 8 Porcentaje de nitrógeno y proteína

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
% Nitrógeno	6.79	7.00	7.14	7.21
% Proteínas	35.99	37.10	37.84	38.21

El porcentaje de proteína promedio es de 37.29 ± 0.98 , con un porcentaje de error de 2.63 %. En este análisis el problema que se presentó fue que el equipo utilizado no se encontraba perfectamente sellado por lo que se tenía una pérdida de NH_3 , el cual se burbujeaba en una solución de ácido bórico.

En la tabla 9 se muestra una comparación con 3 granos diferentes utilizados como alimento animal, en los que se observa que la *Jatropha curcas* y la soya tienen un porcentaje similar, en cambio la cebada y el sorgo contienen un porcentaje mucho menor.



Capítulo IV. Resultados y análisis de resultados

Tabla 9 Comparación porcentaje de proteína

	<i>Jatropha Curcas</i>	Cebada	Sorgo	Soya
% Proteína	37.29	10	10.4	38

El porcentaje de proteína obtenido es alto, por lo que el bagazo de *Jatropha curcas* puede ser utilizado como complemento para forraje, con lo cual el valor de este producto incrementa y puede competir con la soya.

4.3 Resultados de la determinación de grasa en el bagazo de *Jatropha curcas* L.

En este análisis se pesaron 2 gramos de bagazo molido, y se puso un matraz a peso constante obteniendo los datos que se muestran en la tabla 10.

Tabla 10 Peso de la muestra y del matraz a peso constante

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Peso de la muestra (g)	2.000	2.000	2.000	2.000
Peso del matraz a peso constante (g)	92.702	99.284	92.690	99.279

En la tabla 11 se muestra el peso del matraz después de haber obtenido la grasa seca mediante extracción con hexano, así como el porcentaje de grasa obtenida mediante esta extracción.

Tabla 11 Porcentaje de grasa obtenido

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Peso del matraz con grasa seca (g)	93.037	99.610	93.019	99.585
% de grasa	16.75	16.30	16.45	15.3

El porcentaje promedio de grasa obtenido fue de 16.20 ± 0.63 , con un porcentaje de error de 3.88 %. Este valor nos indica que después de haber extraído el aceite de la semilla todavía existe un residual que no pudo ser extraído mediante la expresión de ésta. Por lo que si se desea utilizar este remanente de grasa en el proceso de elaboración de biocombustible, será necesario utilizar solventes orgánicos para poder extraer la mayor cantidad posible.

El contenido de grasa presente en el bagazo nos ayuda a tener una fuente de energía disponible, así como un vehículo de vitaminas liposolubles, además esta grasa estará repartida a lo largo del cuerpo formando depósitos en los tejidos subcutáneos y en la cavidad abdominal.

En la tabla 12 se observa la comparación de 3 granos diferentes utilizados en la alimentación animal, en el cual los porcentajes de grasa de la cebada y el sorgo están por debajo del porcentaje de la *Jatropha curcas* y de la soya, por lo que los granos de sorgo y cebada no son una fuente de energía para el animal; al contrario de la *Jatropha* y la soya.

Tabla 12 Comparación del porcentaje de grasa

	<i>Jatropha Curcas</i>	Cebada	Sorgo	Soya
% de grasa	16.20	1.8	3.1	18

La figura 10 muestra la grasa obtenida después de haber realizado la extracción del aceite del bagazo.



Fig. 10 Matraz con grasa

4.4 Resultados de la determinación de cenizas en el bagazo de *Jatropha curcas* L.

La tabla 13 muestra los pesos obtenidos después de que los crisoles vacíos se mantuvieran a peso constante, en la tabla 14 se observan el peso del crisol a peso constante con bagazo molido y la cantidad de muestra que se utilizó para este análisis.

Tabla 13 Peso de crisol a peso constante

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Peso de crisol vacío (g)	20.124	20.172	20.123	21.247

Tabla 14 Peso de la muestra

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Peso Crisol + muestra (g)	22.124	22.172	22.123	23.247
Peso Muestra (g)	2.000	2.000	2.000	2.000

La tabla 15 muestra los porcentajes de cenizas que se obtuvieron, con la cual se observa que contiene un promedio de 5.04 ± 0.15 % de cenizas, con un error de 2.96 %.



Capítulo IV. Resultados y análisis de resultados

Tabla 15 Porcentaje de cenizas

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Peso crisol + cenizas (g)	20.228	20.274	20.22	21.347
% cenizas	5.200	5.100	4.850	5.000

En la tabla 16 se observa una comparación entre *Jatropha*, Soya, Cebada y sorgo; en la cual se aprecia que la aportación de minerales de la *Jatropha* es mayor en comparación con los demás granos.

Tabla 16 Comparación del porcentaje de cenizas

	<i>Jatropha Curcas</i>	Cebada	Sorgo	Soya
% de cenizas	5.04	2.6	1.6	2

4.5 Resultados de la determinación de fibra en el bagazo de *Jatropha curcas* L.

Para este análisis se necesitó que el bagazo estuviera desengrasado y se utilizaron muestras de 2 gramos.

La tabla 17 muestra el peso del crisol con residuo seco y el peso del mismo con cenizas.

Tabla 17 Peso del crisol con residuo seco y con cenizas

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
Peso del crisol con el residuo seco	27.087	27.171	26.853	27.13
Peso del crisol con la ceniza	26.392	26.417	26.172	26.399

En la tabla 18 observamos el contenido de fibra obtenido después de haber realizado el análisis.

Tabla 18 Porcentaje de fibra

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4
% de fibra	34.75	37.70	34.05	36.55



Capítulo IV. Resultados y análisis de resultados

El promedio de fibra obtenido fue de 35.76 ± 1.67 , con un porcentaje de error de 4.66 %. Este porcentaje es bueno debido a que la fibra nos sirve para hacer más abundante la materia fecal, evitar el estreñimiento, acelerar el tránsito intestinal, reducir la cantidad de alimentos ingeridos ya que esta tiene la capacidad de hincharse al absorber el agua, además que contiene carbohidratos que se utilizan como una fuente de energía para cualquier actividad vital.

La tabla 19 muestra una comparación entre tres granos diferentes utilizados para la alimentación animal, en la cual se observa que el porcentaje de fibra obtenido es similar al de la soya, en cambio comparándolo con los valores de la cebada y el sorgo el porcentaje de fibra obtenido es mucho menor.

Tabla 19 Comparación porcentaje de fibra

	<i>Jatropha Curcas</i>	Cebada	Sorgo	Soya
% de Fibra	35.76	66.5	73	36

4.6 Resultados de la determinación de ésteres de forbol en el bagazo de *Jatropha curcas* L.

En este análisis se determinó la presencia de ésteres de forbol mediante cromatografía de líquidos utilizando un HPLC Waters Alliance 2695 con detector de fotiodo Waters 2996, los cromatogramas se leyeron a una longitud de onda de 280 nm.

Se realizó la identificación de los ésteres de forbol utilizando como estándar 12-miristato 13-acetato de forbol, con el cual se obtuvo el tiempo de retención en 7.716 como se muestra en la figura 11. La tabla 20 muestra el tiempo de retención del estándar así como el área que se obtiene con una concentración de 150 ppm.

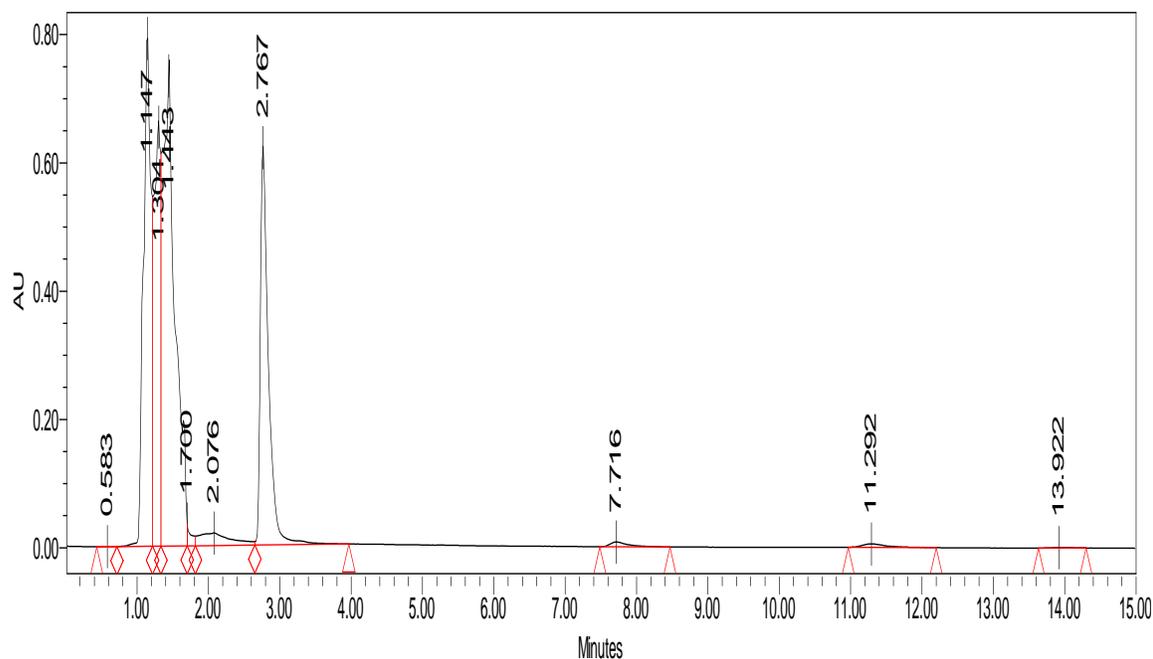


Fig. 11 Cromatograma estándar éster de forbol

Tabla 20 Tiempo de retención y área del estándar de éster de forbol

No. de pico	Tiempo de retención (min)	Área
1	0.583	6299
2	1.147	5855985
3	1.304	4162269
4	1.443	9135078
5	1.700	131029
6	2.076	613163
7	2.767	4923096
8	7.716	137398
9	11.292	128212
10	13.922	20258

Se obtuvieron tres cromatogramas con soluciones de 30, 150 y 500 ppm para obtener la curva de calibración que se muestra en la figura 12.

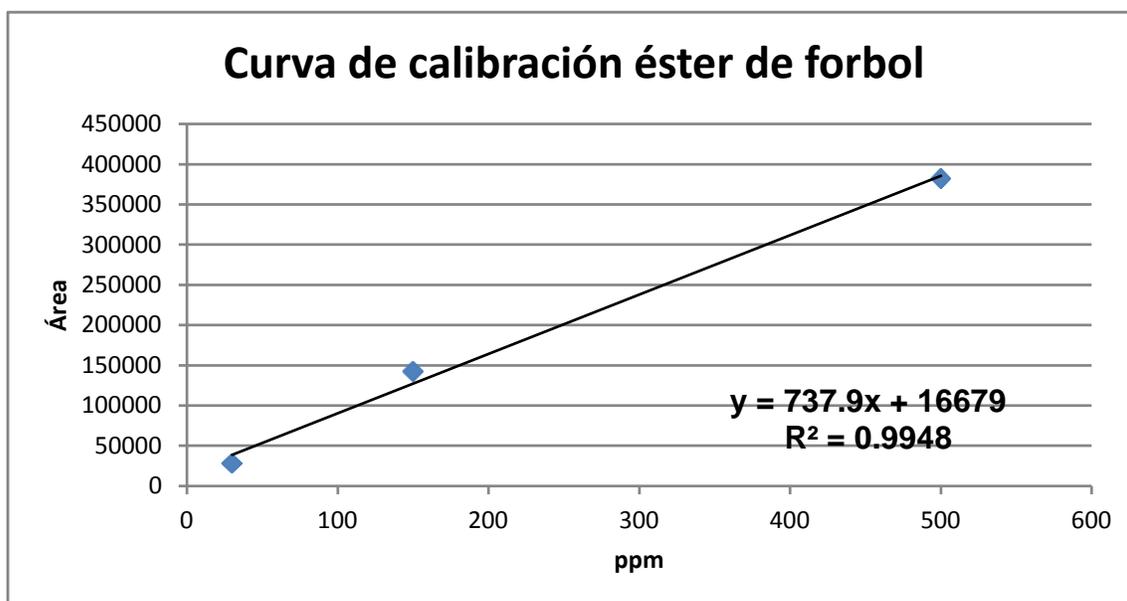


Fig. 12 Curva de calibración éster de forbol

Se analizaron cuatro muestras de bagazo de la semilla *Jatropha curcas*, en las cuales se encontraron trazas de ésteres de forbol. Los cromatogramas y el tiempo de retención con su respectiva área de cada muestra se muestran en las figuras 13, 14, 15 y 16, y en las tablas 22, 23, 24 y 25 respectivamente.

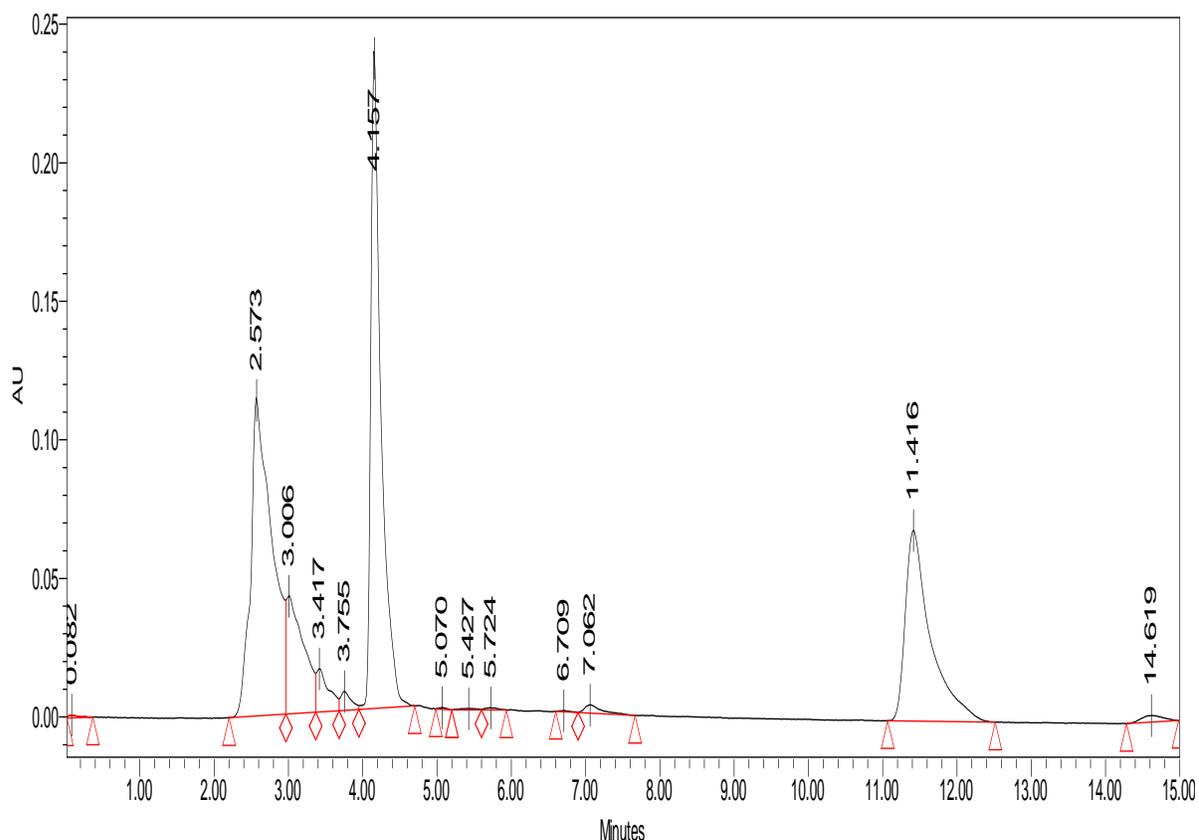


Fig. 13 Cromatograma muestra 1

Tabla 21 Muestra 1 (éster de forbol)

No. de Pico	Tiempo de retención (min)	Área
1	0.082	9495
2	2.573	2298660
3	3.006	686731
4	3.417	183410
5	3.755	67631
6	4.157	2273354
7	5.070	4485
8	5.427	8413
9	5.724	9683
10	6.709	4768
11	7.062	48892
12	11.416	1631215
13	14.619	49915

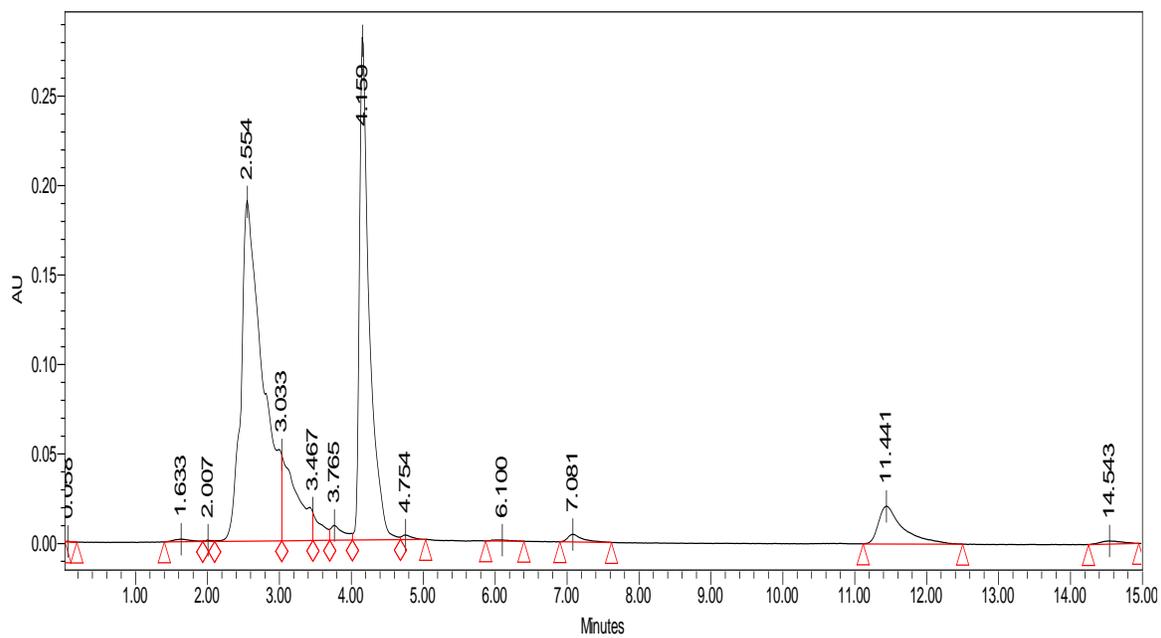


Fig. 14 Cromatograma muestra 2

Tabla 22 Muestra 2 (éster de forbol)

No. de pico	Tiempo de retención (min)	Área
1	0.058	1942
2	1.633	24146
3	2.007	4869
4	2.554	3995169
5	3.033	731127
6	3.467	128040
7	3.765	105364
8	4.159	2690697
9	4.754	24415
10	6.100	11026
11	7.081	61803
12	11.441	499776
13	14.543	38119

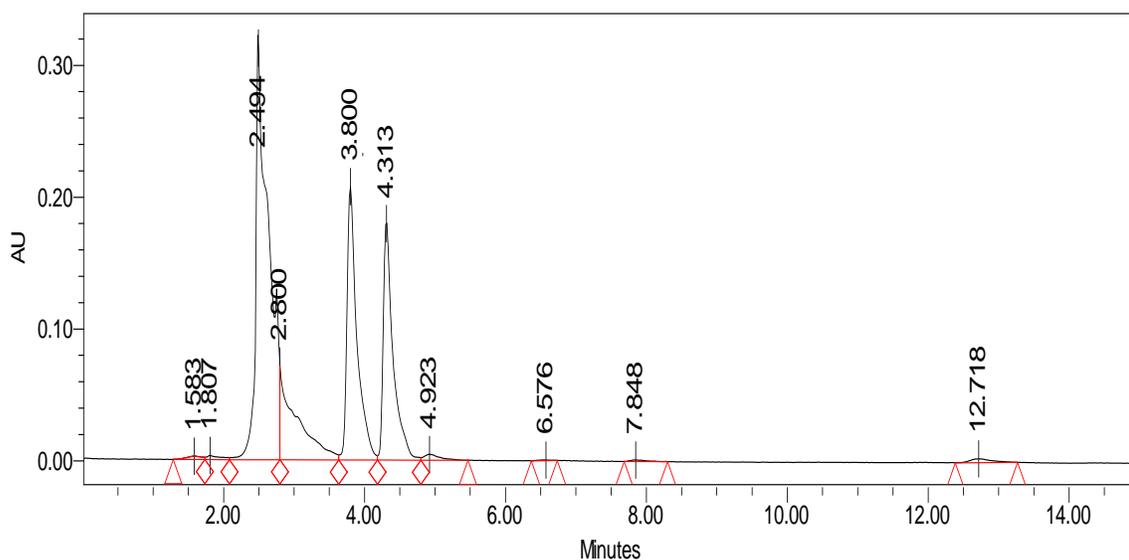


Fig. 15 Cromatograma muestra 3

Tabla 23 Muestra 3 (éster de forbol)

No. de pico	Tiempo de retención (min)	Área
1	1.583	40041
2	1.807	43106
3	2.494	4059263
4	2.800	1134863
5	3.800	2039517
6	4.313	1746015
7	4.923	67883
8	6.576	6163
9	7.848	18707
10	12.718	62789

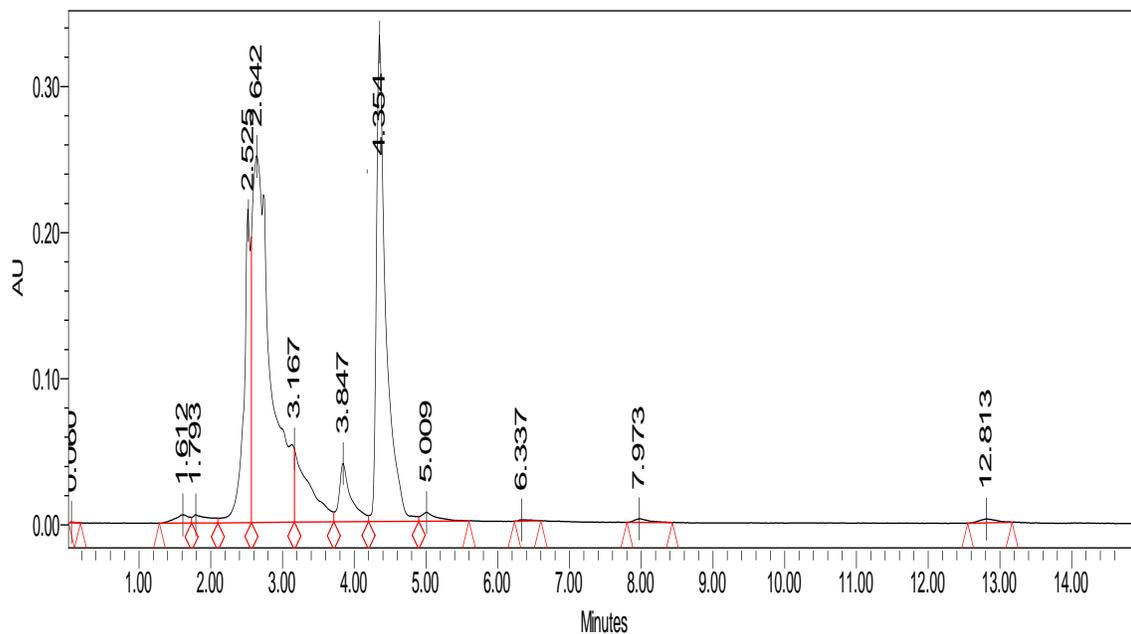


Fig. 16 Cromatograma muestra 4

Tabla 24 Muestra 4 (éster de forbol)

No. de pico	Tiempo de retención (min)	Área
1	0.060	2045
2	1.612	78870
3	1.793	87376
4	2.525	1435731
5	2.642	4514872
6	3.167	729524
7	3.847	454297
8	4.354	3054702
9	5.009	88633
10	6.337	11445
11	7.973	36658
12	12.813	46577

La tabla 26 muestra las concentraciones obtenidas en las cuatro muestras analizadas, se observa una discrepancia en los datos debido a que es necesario optimizar el método de obtención de ésteres de forbol con el objetivo de poder cuantificarlos, además, en las fases orgánicas que se obtienen al realizar los lavados hay una pérdida de ésteres de forbol, ya que estos son solubles en solventes orgánicos.

Tabla 25 Concentración de ésteres de forbol presentes en el bagazo

	%	ppm
Muestra 1	0.00043 %	4.3
Muestra 2	0.00068 %	6.8
Muestra 3	0.000055 %	0.55
Muestra 4	0.000271 %	2.71

Para poder utilizar el bagazo como complemento para forraje es necesario eliminar los ésteres de forbol que están presentes. Un método que se puede utilizar es el descrito por H. Gross, en el cual se realiza una extracción con alcohol al 80 % y al 92 %, observándose que cuando se utilizó alcohol al 80 % se obtuvo un 60 % de mortalidad, en cambio cuando se utilizó alcohol al 92 % el animal alimentado creció y se reprodujo sin problemas.

Capítulo V

Conclusiones

Una vez llevados a cabo los análisis del presente trabajo se concluye lo siguiente:

1. Se logró caracterizar el bagazo obtenido de la expresión de la semilla de *Jatropha curcas*, mediante los análisis de humedad, cenizas, proteínas, grasa y fibra, con lo cual se concluye que el bagazo puede ser empleado como complemento para forraje, siempre y cuando no se encuentren trazas de ésteres de forbol.
2. Se cuantificó el porcentaje de humedad, cenizas, proteínas, grasa y fibra, con los cuales se clasificó el bagazo obtenido de la expresión de la semilla de *Jatropha curcas*, observándose que el mayor porcentaje corresponde a proteína.
3. El porcentaje de proteína obtenido es de 37.29 %, el cual se considera como un valor alto, por lo que el bagazo de la semilla *Jatropha curcas*, se clasifica como un alimento proteico; además el contenido de fibra presente en el bagazo es de 35.76 %, por lo que el bagazo se considera como fuente de energía y un acelerador del tránsito intestinal.
4. Se lograron identificar los ésteres de forbol en el bagazo de la semilla *Jatropha curcas*, utilizando una modificación al método de identificación de ésteres de forbol propuesto por Wilhelm.



5. Debido a la presencia de ésteres de forbol en el bagazo de la semilla *Jatropha curcas*, éste no puede emplearse como complemento para forraje, sin antes realizar un proceso de detoxificación.

Bibliografía

1. Angulo Eduardo, Buxadé Carbó Carlos. “Principios de reproducción y alimentación. Zootecnia”. Bases de Series. Mundi-Prensa libros. 1995. p.p. 140
2. Badui Dergal Salvador. “Química de los alimentos”. 3ra edición. Editorial Alhambra Mexicana S.A. de C.V. 1996. p.p. 117, 118
3. Caravaca Rodríguez F. P., Castel Genís J. M., Guzmán Guerrero J. L., Delgado Pertíñez M., Mena Guerrero Y., Alcalde Aldea M. J., González Redondo P. “Bases de la producción animal”. 1ra edición. Servicio de publicaciones Universidad de Córdoba. Universidad de Sevilla. Universidad de Huelva. 2005
4. De la Vega Lozano Jorge Alejandro. “Jatropha curcas L.”, Consultor Independiente, México Agro-Proyectos y Agro-Energía
5. Estrada Álvarez Julián. “Pastos y forrajes para el trópico colombiano”. Colección ciencias agropecuarias. Universidad de Caldas, 2002. p.p. 177
6. FAO. El sorgo y el mijo en la nutrición humana (en línea); (18 de noviembre de 2009). Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/T0818S/T0818S0b.htm>
7. Federación nacional de cultivadores de cereales y leguminosas (en línea); (18 de noviembre de 2009). Disponible en: http://www.fenalce.org/pagina.php?p_a=50
8. Fessenden, Ralph J., Fessenden, Joan S., “Química Orgánica”. Grupo Editorial Iberoamérica. 1987. pp. 856

9. García Camús Juan Manuel, García Laborda José Ángel. “Biocarburantes líquidos: biodiesel y bioetanol”. Fundación para el conocimiento madri+d CEIM. 2006.
10. Gross H., Foifl G., Foidl N. “Detoxification of *J. curcas* press cake and oil and feeding experiments on fish and mice”. *Industrial Crops and Products*. Volume 12, Issue 2, August 2000. Pages 111 – 118.
11. Gujan Goel, Harinder P. S. Makkar, George Francis, and Klaus Becker. “Phorbol Esters: Structure, Biological Activity, and Toxicity in Animals”. *International Journal of Toxicology*, 26:279-288, 2007.
12. Irastorza Trejo Verónica, Doniz González Virginia, Guerrero Gutiérrez Luis Gerardo. “Prospectiva de petrolíferos 2008 – 2017”, Secretaría de Energía, México 2008, p.p. 43–46. 2008.
13. Makkar, H. Becker, K. Spores, F. and Wink., “Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*”. *J. Agric. Food Chem.* 45, p.p. 3152-3157 (1997)
14. Masera Cerutti Omar, Rodríguez Martínez Nicolás, Lazcano Martínez Ignacio, Horta Nogueira Luiz Augusto, Macedo Isaias C., Trindade Sergio C., Thrän Daniela, Probst Oliver, Weber Michael, Müller-Langer Franziska. “Potenciales y viabilidad del uso del bioetanol y biodiesel para el transporte en México”, Secretaría de Energía, México Noviembre 2006, p.p. 461
15. McMurry John. “Química Orgánica”. 5ta edición. Grupo Editorial Iberoamérica. 2000. pp. 1098, 1119
16. NMX-F-608-NORMEX-2002, Alimentos – Determinación de proteínas en alimentos – Método de prueba

17. NMX-F-607-NORMEX-2002, Alimentos - Determinación de Cenizas en Alimentos - Método de Prueba
18. NOM-116-SSA1-1994, Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa.
19. Openshaw Keith, "A review of Jatropha curcas: an oil plant of unfulfilled promise". Alternative Energy Development Inc., Silver Spring, MD, USA. 1999.
20. Sotolongo Pérez José Ángel¹, Díaz Gracia Armando², Montes de Oca López Sofía¹, Del Valle Atala Yadiris¹, García Pacón Soraya¹. "Potenciales energéticas y medioambientales del árbol Jatropha curcas L en las conciciones edafoclimáticas de la región semiárida de la provincia de Guantánamo". ¹Catedes, Citma, Guantánamo, ²Universidad de Oriente. Tecnología Química Vol. XXVII, No. 2. 2007.
21. Wilhelm Hass, Martin Mittelbach. "Detoxification experiments with the seed oil from Jatropha curcas L.". Industrial Crops and Products 12 (2000) 111-118