

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y TOXICOLÓGICA PRELIMINAR DE LA TORTA
DE LA SEMILLA DEL FRUTO DE TOTUMO (*Crescentia cujete L.*) CULTIVADO
EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA

YOHANA ORTIZ NARVAÉZ

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2010

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y TOXICOLÓGICA PRELIMINAR DE LA TORTA
DE LA SEMILLA DEL FRUTO DE TOTUMO (*Crescentia cujete L.*) CULTIVADO
EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA

YOHANA ORTIZ NARVAÉZ

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar por el título de
Químico

Directora
Olga Lucia Hoyos Saavedra Ph.D

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
POPAYÁN
2010

NOTA DE ACEPTACIÓN

Directora _____
Olga Lucía Hoyos Saavedra. Ph.D.

Jurado _____
Fernando José Hernandez B. Mg.Sc.

Jurado _____
Ricardo Benítez Benítez Ph.D

Fecha de sustentación: Popayán, 26 de Agosto 2010

*A Dios, a Samuel, a mi mamá, a Alejandro,
a Sonia mi hermana y a la memoria de mis hermanos.
Por ser mi refugio y fortaleza, quienes me han enseñado
que la esperanza y los sueños son las pilasstras del éxito.*

AGRADECIMIENTOS

Dra. Olga Lucía Hoyos, por sus enseñanzas, paciencia y colaboración incondicional en todo momento, tanto a nivel personal como académico, además por su amistad y por motivarme a realizar trabajo científico.

Mg. Tania Milena Gutiérrez, por su asesoría en el desarrollo experimental de carotenos en este trabajo.

Dr. Alberto Lenis, por su enorme colaboración durante los muestreos y por ayudarme a encontrar soluciones a los problemas presentados durante el desarrollo experimental de este trabajo.

Dr. Ricardo Benítez por colaborar como jurado y por las observaciones, aportes y aclaraciones realizadas a éste trabajo.

MS.c Fernando Hernández por dedicar parte de su tiempo para corregir el anteproyecto y éste trabajo final.

A los profesores del grupo de investigación en Química de Productos Naturales por permitirme hacer parte del grupo de investigación y motivarme a participar en diferentes eventos como seminarios y encuentros de semilleros de investigación.

Ing. Jordan Alegría, por su colaboración y motivación para encaminarme a realizar este trabajo.

MS c. Nelson Rojas, por su gran disposición y amabilidad al facilitarme su laboratorio y manejo de los equipos necesarios para desarrollar parte de éste trabajo.

John Carlós Meléndez laboratorista de biología por su colaboración en préstamo de elementos de laboratorios utilizados en la parte experimental de este trabajo.

LEVAPAN S.A. planta de Tuluá por analizar el perfil aminoacídico de la torta de totumo.

A Dianita mi amiga y comadre por colaborar en gran parte del desarrollo experimental.

A mis amigas y amigos de largas horas de estudio y chocolatadas Lila, Carolina, Elizabeth y Giovanny, por todos los momentos que compartimos y el equipo que formamos.

A los profesores del departamento de química por transmitirme sus conocimientos.

A la Universidad del Cauca por brindarme la formación académica necesaria para esta etapa.

CONTENIDO

	pág.
RESUMEN.....	14
1. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO.....	16
1.1 GENERALIDADES DEL ÁRBOL DE TOTUMO (<i>Crescentia</i> <i>Cujete L.</i>)	16
1.1.1. Cultivo de totumo en el departamento del Cauca.....	17
1.1.2. Estudios realizados al fruto de totumo.....	18
1.2 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE SEMILLAS Y RESIDUOS AGROINDUSTRIALES UTILIZADOS EN LA ALIMENTACIÓN...	19
1.2.1 Minerales.....	21
1.2.2 Vitaminas.....	24
1.2.3 Aminoácidos.....	27
1.2.4. Proteínas.....	32
1.2.5. Factores antinutricionales.....	35
2. METODOLOGÍA.....	40
2.1 REACTIVOS Y EQUIPOS.....	40
2.1.1 Reactivos.....	41
2.1.2 Equipos.....	42
2.2 TOMA Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA.....	42
2.2.1 Sitio de muestreo.....	42
2.2.2 Índice de madurez.....	42
2.2.3 Recolección de los frutos.....	43
2.3.4 Adecuación de la muestra.....	43
2.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL FRUTO.....	44
2.4 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA SEMILLA DEL TOTUMO.....	44

2.4.1	Tratamiento de la semilla.....	44
2.4.2	Análisis fisicoquímico de la semilla.....	45
2.5	OBTENCIÓN DE LA TORTA TAMIZADA.....	46
2.5.1	Análisis proximal de la torta tamizada.....	47
2.6	DETERMINACIÓN DE MINERALES.....	47
2.6.1	Determinación de fósforo por el método del cloruro estañoso....	48
2.6.2	Determinación de hierro por el método de fenantrolina.....	48
2.6.3	Determinación de calcio y magnesio por titulación con EDTA....	49
2.7	EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE TRANS- β - CAROTENO EN LA TORTA TAMIZADA.....	51
2.8	DETERMINACIÓN DE AMINOÁCIDOS.....	51
2.9	EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LAS FRACIONES PROTEICAS.....	52
2.10	DETERMINACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE FACTORES ANTINUTRICIONALES.....	53
3	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	56
3.1	TOMA Y TRATAMIENTO DE MUESTRA.....	56
3.1.1	Índice de madurez	56
3.1.2	Recolección y Selección del fruto de totumo.....	57
3.1.3	Caracterización física del fruto.....	59
3.1.3.1	Caracterización física de la semilla.....	60
3.1.4	Rendimiento del despulpado.....	60
3.2	CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LA SEMILLA DEL TOTUMO.....	61
3.2.1	Composición de la semilla entera.....	62
3.3	OBTENCIÓN DE LA TORTA TAMIZADA.....	65
3.3.1	Extracción del aceite.....	65

3.3.2	Porcentajes de rendimiento de la torta tamizada y las fracciones luego del tamizado.....	66
3.3.3	Caracterización química de la torta tamizada y sus fracciones	67
3.4	DETERMINACIÓN DE MINERALES EN LA TORTA TAMIZADA.....	70
3.5	DETERMINACIÓN DE TRANS- β -CAROTENO.....	72
3.6	COMPOSICIÓN DE AMINOÁCIDOS EN LA TORTA TAMIZADA.....	75
3.7	FRACCIONES PROTEICAS.....	78
3.8	FACTORES ANTINUTRICIONALES.....	79
3.9	POSIBLES APLICACIONES DE LA TORTA TAMIZADA.....	82
4.	CONCLUSIONES.....	83
	RECOMENDACIONES.....	84
	BIBLIOGRAFÍA.....	85
	ANEXOS.....	86

LISTA DE FIGURAS

		pág.
Figura 1	Fruto de totumo (<i>Crescentia cujete L.</i>).....	17
Figura 2	Cultivo de totumo en la región del Patía.....	18
Figura 3	Estructuras del trans- β -caroteno y de la vitamina A.....	25
Figura 4	Reactivos derivatizantes para aminoácidos.....	32
Figura 5	Estructura del ácido gálico.....	38
Figura 6	Mapa del Cauca indicando el sitio de muestreo.....	42
Figura 7	Tratamiento de la semilla de totumo (<i>Crescentia cujete L.</i>)...	45
Figura 8	Proceso para la obtención de la torta.....	47
Figura 9	Frutos dañados por presencia de insectos y golpes comparado con un fruto en buen estado.....	50
Figura 10	Espectro UV-VIS del patrón del trans- β -caroteno extraído de la zanahoria en acetona.....	73
Figura 11	Espectro UV-VIS del patrón certificado (MERCK) del trans- β -caroteno en acetona.....	73
Figura 12	Jugo de pulpa del fruto de totumo.....	81
Figura 13	Curvas de calibración para determinar hierro, fósforo y en la torta tamizada (T18).....	95
Figura 14	Curva de calibración para trans- β -caroteno.....	97
Figura 15	Cromatograma de aminoácidos totales (% MH).....	98
Figura 16	Curva de calibración utilizada para calcular la concentración de fenoles totales en la torta tamizada.....	101

LISTA DE TABLAS

		pág.
Tabla 1	Composición proximal de algunos cereales, semillas oleaginosas y tortas.....	20
Tabla 2	Recomendaciones de consumo diario de algunos minerales.....	22
Tabla 3	Contenido de minerales en algunos cereales.....	23
Tabla 4	Contenido de minerales en pulpa de <i>Crescentia cujete</i> L....	24
Tabla 5	Vitamina A y carotenos contenidos en algunos cereales.....	27
Tabla 6	Aminoácidos esenciales y no esenciales.....	28
Tabla 7	Contenido de proteína y aminoácidos esenciales en algunos alimentos	29
Tabla 8	Aminoácidos limitantes en algunas fuentes de proteína vegetal.....	30
Tabla 9	Composición aminoacídica en harina de semillas de sandía, calabaza y pimentón.....	31
Tabla 10	Fracciones de Osborne en proteínas de cereales.....	34
Tabla 11	Estructura de algunas saponinas.....	36
Tabla 12	Niveles de saponina en tres especies de semillas de <i>Canavalia ssp.</i>	37
Tabla 13	Contenido de fenoles totales en semillas de tres especies de <i>Canavalia ssp.</i>	39
Tabla 14	Muestreo de productos a granel.....	43
Tabla 15	Métodos analíticos para caracterización de la semilla de totumo	46
Tabla 16	Nivel del contenido de saponinas.....	54

		Pag
Tabla 17	Carta colorimétrica para la interpretación de resultados.....	55
Tabla 18	Índice de madurez.....	57
Tabla 19	Localización de los puntos de muestreo.....	58
Tabla 20	Caracterización física promedio del fruto de totumo (<i>Crescentia cujete L.</i>).....	59
Tabla 21	Características físicas de la cascara, pulpa y semilla del fruto de totumo (<i>Crescentia cujete L.</i>).....	59
Tabla 22	Características físicas de la semilla de frutos de totumo (<i>Crescentia cujete L.</i>) en estado de madurez 3 y 4.....	60
Tabla 23	Rendimientos por fracción en el proceso de despulpado del fruto de totumo (<i>Crescentia cujete L.</i>).....	61
Tabla 24	Composición en macronutrientes de la semilla entera de <i>Crescentia cujete L.</i> y <i>Crescentia alata</i>	62
Tabla 25	Composición mineral de la semilla de totumo <i>Crescentia cujete L.</i>	64
Tabla 26	Rendimientos en la extracción del aceite de la semilla de totumo <i>Crescentia cujete L.</i>	66
Tabla 27	Fracción porcentual de la torta entera y los productos del tamizado.....	66
Tabla 28	Composición química de la torta tamizada T18 y las fracciones del tamizaje	68
Tabla 29	Composición química de tortas de semillas oleaginosas enteras.....	69
Tabla 30	Comparación de algunos minerales de la torta tamizada de totumo (<i>Crescentia cujete L.</i>) con tortas de semillas oleaginosas.....	70

		Pag.
Tabla 31	Concentración de trans- β -caroteno en la torta tamizada de totumo y en algunos cereales.....	74
Tabla 32	Aporte de aminoácidos totales de la torta tamizada de totumo respecto a los datos reportados en la FAO/OM.....	76
Tabla 33	Contenido de aminoácidos en algunas tortas.....	77
Tabla 34	Porcentaje de extracción de las fracciones proteicas de la torta tamizada de totumo.....	78
Tabla 35	Proporción de las fracciones de la torta tamizada de totumo.	79
Tabla 36	Pruebas cualitativas fitoquímicas.....	81
Tabla 37	Características físicas de los frutos de totumo <i>Crescentia cujete L.</i> que se encontraron en óptimas condiciones.....	87
Tabla 38	Características físicas de los frutos de totumo <i>Crescentia cujete L.</i> rechazados por encontrarse dañados por presencia de insectos y golpes.....	89
Tabla 39	Peso y media de las características físicas de los frutos recolectados durante el muestro.....	89
Tabla 40	Contenido de humedad en la torta tamizada (T18), y en las fracciones F12 y F18.....	90
Tabla 41	Extracción del aceite, tiempo de extracción cuatro horas utilizando como solvente hexano.....	91
Tabla 42	Determinación de cenizas o material mineral.....	92
Tabla 43	Determinación de nitrógeno o proteína bruta.....	92
Tabla 44	Fibra bruta o extracto no nitrogenado.....	93
Tabla 45	Datos sobre la determinación de calcio y magnesio por titulación con EDTA.....	94
Tabla 46	Datos para hierro y fósforo.....	96

		Pag.
Tabla 47	Datos para trans- β -caroteno.....	97
Tabla 48	Concentración aminoacídica en base húmeda y su respectiva conversión a base seca.....	98
Tabla 49	Reportes de conductividad de la diálisis.....	99
Tabla 50	Peso de las fracciones proteicas y sus desviaciones.....	100
Tabla 51	Proteína Kjeldahl al residuo de torta.....	101
Tabla 52.	Datos de concentración de fenoles totales en la muestra y desviación.....	102

RESUMEN

Las tortas son el residuo de la extracción del aceite de semillas oleaginosas y fuentes potenciales de nutrientes, razón por la cual son objeto de estudio para determinar su valor nutricional y mejorar su aprovechamiento. En este trabajo se describe la composición nutricional y antinutricional de la torta tamizada de la semilla del fruto de totumo (*Crescentia cujete L.*) cultivado en el Patía (Dpto. del Cauca) con el fin de encontrar una utilidad a esta parte del fruto que constituye un residuo agroindustrial e incentivar el cultivo de totumo creando seguridad alimentaria, fuentes de trabajo y un crecimiento socioeconómico en la región.

Se evaluó la composición proximal, el contenido de minerales como hierro, fósforo, calcio y magnesio, provitamina A como trans- β -caroteno, aminoácidos totales y factores antinutricionales como, saponinas y fenoles totales. Para prever posibles propiedades funcionales de la torta, se llevó a cabo un fraccionamiento proteico para la separación de gluteninas (GLT), prolaminas (PRL), albúminas (ALB) y globulinas (GLB).

En la torta tamizada el contenido de proteína (52.046 %), cenizas (6.622 %), carbohidratos solubles (22.015 %) y minerales como calcio, hierro y manganeso aumentaron con respecto a la semilla debido a la extracción del aceite y al tamizado por consiguiente se observa, una disminución en la fibra (15.714 %), el aceite y el fósforo. Igualmente el contenido de provitamina A es bajo (75.5 μ g) puesto que gran parte de está se encuentra en la fracción lipídica. El análisis de aminoácidos indicó que la torta tamizada presenta deficiencia en todos los aminoácidos esenciales especialmente en lisina y leucina y, las fracciones proteicas como GLT (37.73 %) y GLB (15.21 %) están en mayor cantidad, donde las GLT confieren elasticidad a las harinas utilizadas en la panificación sin embargo, las PRL proteínas, encargadas de la viscosidad se encuentran en menor proporción de hay que, su uso en la panificación debe hacerse mezclando esta torta con harinas como la de trigo. El contenido de GLB y ALB ayudan a la formación de espuma por lo que puede ser utilizada en la industria de la repostería.

Los factores antinutricionales como fenoles totales se encuentran en cantidades permitidas para algunas semillas de legumbres (1.407 mg AG /100g MS), en cuanto a las saponinas no fueron detectadas mediante el método utilizado sin embargo, es importante realizar estudios para conocer otros factores antinutricionales y comprobar si la cantidad de fenoles totales afecta la disponibilidad de nutrientes como la proteína.

El contenido de aminoácidos en la torta tamizada no satisface los sugeridos por la FAO razón por la cual no puede ser una fuente única de proteína además, el alto porcentaje de fibra y de fenoles puede disminuir la absorción de algunos nutrientes si se orienta hacia la nutrición humana. Sin embargo, está torta

puede ser utilizada en la elaboración de forrajes de tipo energético para animales rumiantes por el alto contenido de fibra y de proteína bruta que presenta aunque habría necesidad de suplementarla con fuentes ricas en vitamina A.

1. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

1.1 GENERALIDADES DEL ÁRBOL DE TOTUMO (*Crescentia cujete* L)

El árbol de totumo se encuentra diseminado en toda Latinoamérica, África y gran parte de Asia¹. Es resistente a suelos áridos aunque también tolera sitios con alto contenido de humedad, es aceptado ya que crece en suelos pobres y compactados hasta en suelos fértiles y en condiciones heliófilas como de sombra abundante. En América ecuatorial el rango de adaptación altitudinal oscila entre el nivel del mar hasta los 1400 msnm.²

El totumo o puro es un árbol perennifolio que crece hasta 10 m de alto. Las ramas son usualmente torcidas con copa ancha y abierta. Su follaje se dispone en grupos sobre las ramillas con hojas de diferente tamaño en cada fascículo. Sus hojas son de color verde oscuro, simples, obovadas, apiculadas, de base atenuada, pecíolo ausente y coriáceas, con dimensiones de 3.4 a 26.0 cm de longitud y 1.0 a 7.6 cm de ancho³. Las flores del totumo son solitarias, caulifloras y acampanadas de 4 a 7 cm de diámetro, su color es verde amarillo con venaciones púrpura y se encuentran a lo largo de las ramas o sobre el mismo tronco. El fruto es de forma esférica u ovoide – elíptica con dimensiones de 13 a 20 cm de diámetro y hasta 30 cm de largo. Su pericarpio es duro, leñoso, liso y generalmente de color verde – marrón cuando esta listo para ser cosechado. La pulpa es gelatinosa y contiene numerosas semillas con forma cardiode y de color café, las cuales son pequeñas, delgadas y sin alas, de 7 a 8 mm de largo y 4 a 6 mm de ancho⁴.

El nombre científico del totumo o puro es *Crescentia cujete* de la familia Bignoniaceae registrado el 01 del 16 de febrero del 2007 en el herbario de la Universidad del Cauca proveniente del Patía (Cauca) ubicado a 600 msnm (figura 1).

¹ GENTRY, AH. Flora neotrópica 25. *Bignoniaceae* Part I. Published for organization for flora neotrópica by the New York Botanical Garden. 1980. 82 p.

² MURGUETIO E, IBRAHIM, M. Ganadería y medio ambiente. XII Congreso venezolano de producción e industria animal. 2004 187- 197 p

³ BERNAL H. y CORREA, J. *Vegetales y Especies promisorias de los países del Convenio Andrés Bello* Tomo II. GUADALUPE, 1989. p 185.

⁴ GENTRY, A. H. *Crescentia cujete* In. *Flora de Venezuela*. 1982, vol 8, Nº4. 142-146 p.

Figura 1. Fruto de totumo *Crescentia cujete* L.



Fuente: Yohana Ortiz

Esta planta posee varios nombres comunes los cuales dependen del lugar donde se cultiva o recolecta. Los nombres más comunes son: jícaro, mimbre, árbol de las calabazas, totumo y calabaza. En Colombia y especialmente la región del Cauca se conoce como totumo, calabazo o mate siendo esta la más común entre la comunidad.

El producto de mayor aceptabilidad de este árbol es su fruto que varía de redondo hasta alargado con tamaños entre 4 y 25 cm de diámetro⁵ y peso por fruto entre 423 y 1500 gramos. La producción de los frutos es variable pero alta oscilando entre 27 a 92 frutos árbol / año y 16.2 hasta 81.2 Kg árbol / año.⁶ El pericarpio tiene alta demanda en todos los países ya que se emplea como utensilio casero, instrumentos musicales y artesanías variadas. A la pulpa se le atribuyen principios curativos, por esta razón se utiliza en la medicina tradicional como ingrediente en medicamentos para la tos.²

1.1.1 Cultivo de totumo en el departamento del Cauca. El totumo o puro se encuentra diseminado en una extensión muy grande en la región del Patía, ubicada a 70 Km de la ciudad de Popayán a 600 msnm con una temperatura entre 28 y 30 °C. Como se puede observar en la figura 2, este árbol se puede encontrar en la mayoría de las fincas y alrededor de la vía panamericana, debido a que se utiliza en sistemas silvopastoriles y de él se obtiene el mate, un producto de alta demanda en el mercado. Se estima que un árbol produce aproximadamente 100 frutos anuales, con un peso promedio de la pulpa de 500 g. y el municipio del Patía cuenta con más de 45000 árboles de totumo sembrados y más de 49000 que ya existen en la región, de los cuales 25000 ya están en producción⁷.

⁵ ARANGO ULLOA, Johanna, *et al.* Diversidad del árbol de totumo (*Crescentia cujete*) en Colombia. Agorforest Syst, Calí. 2009. Vol 76. 543 – 553 p.

⁶ RONCALLO, B; NAVAS, A; CARIBELLA, A. Potencial de los frutos de plantas nativas en la alimentación de rumiantes. En silvopastoreo: alternativa para mejorar la sostenibilidad y competitividad de la ganadería Colombiana. Compilación de las Memorias de dos seminarios internacionales sobre sistemas silvopastoriles. Alvaro Uribe C. Corpoica. Bogota .Colombia.1996. 231-234 p.

⁷ Proyecto FUNDASET – CHEMONICS. Establecimiento y operación de una empresa transformadora de productos de totumo. 1996. Valle del Patía. Departamento del Cauca.

Figura 2. Cultivo de totumo en la región del Patía



Fuente: Yohana Ortiz

1.1.2 Estudios realizados al fruto de totumo. Las investigaciones realizadas al fruto de *Crescentia cujete* L., se han dirigido a la composición de la pulpa del fruto, encontrándose varios compuestos de interés farmacológico como son las furofuranonaftoquinonas, iridoides y O-glicósidos acantósidos e irridoides con diversos aglicones, aunque estudios recientes se han centrado en la composición de las semillas específicamente en el aceite.

El grupo de Kaneko Tetsuo⁸ aisló e identificó en el extracto metanólico 16 iridoides e iridoides glicosídicos, de los cuales ocho compuestos nuevos fueron clasificados como crescentinas y crescentósidos. Los restantes se identificaron como ajugol, 6-O-p-hidroxibenzoilajugol, aucubin, 6-O-p-hidroxibenzoil-6-epiaucubin, agnusido, ningpogenin, 5,7-bisdeoxicinancosido y un producto de degradación de glutinósido. Igualmente aisló 15 compuestos de la fracción acuosa de la pulpa, tres glucósidos iridoides, cinco iridoides, dos 3-hidroxi-2-pentanona⁹, junto con los acantósidos conocidos como α -D- benzoato de glucopiranosilo, (R)-1-O- α -D-glucopiranosil-1,3-octanodiol, y α -D-fructofuranosil 6-O-(p-hidroxibenzoil) y D-glucopiranosido.

Smith y Dollear¹⁰ determinaron que el aceite extraído de las semillas de totumo tienen una composición muy similar al aceite del maní. Estudios más recientes de Badami¹¹ y sus colaboradores confirmaron la presencia de los ácidos grasos insaturados oleico, linoleico y palmítico.

Para la especie *Crescentia alata* de la familia Bignóniaceae, una especie que se encuentra en América Central existen, estudios acerca de su composición

⁸ KANEKO, T, *et al*. N. Iridoids and iridoid glucosides from fruits of *Crescentia cujete* Phytochemistry 1997, vol 46, N° 5, p 907-910.

⁹ KANEKO, T, *et al*. N. n-Alkyl glycosides and p-hydroxybenzoyloxy glucose from fruits of *Crescentia cujete*. Phytochemistry 1998. vol 47, N° 2, p 259-263.

¹⁰ SMITH, B. A y DOLLEAR, F. G; Oil from Calabash Seed, *Crescentia cujete* L. Journal of the American Oil Chemists Society 1947, 24 52-4

¹¹ BADAMI, R. C. y SHANBHAG, M. R. Fatty Acids in Foods and Their Health Implications. Journal of the Oil Technologists Association of India 1975, vol 7, N° 3, p 78-79.

química, el contenido de aminoácidos esenciales y el valor proteico de las harinas preparadas con la torta de la semilla, además de un estudio físico - químico de su aceite,¹² sin embargo, hay que resaltar que por la antigüedad del estudio sus resultados son poco precisos debido a los métodos utilizados para la cuantificación. En Colombia se han realizado investigaciones sobre el contenido de minerales¹³ en la pulpa del fruto *Crescentia cujete* L. En el grupo de Química de Productos Naturales de la Universidad del Cauca, se determinó la composición nutricional de la semilla de totumo encontrando que es rica en extracto etéreo y proteína.¹⁴ También se han identificado y cuantificado los ácidos grasos mayoritarios del aceite sin refinar de la semilla, determinando que tiene características muy parecidas a los aceites de oliva y girasol.¹⁵ Aunque para la semilla no se encuentran reportes de todo su valor nutricional como el contenido de macronutrientes y micronutrientes.

Teniendo en cuenta que la semilla puede ser utilizada en la producción de aceite, el residuo luego de la extracción denominado torta se convertiría en un desecho, por lo tanto, estudiar su composición fisicoquímica así como la presencia de factores antinutricionales, permitirá formular posibles aplicaciones en la alimentación humana o animal, para darle un aprovechamiento integral a la semilla.

1.2 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE SEMILLAS Y RESIDUOS AGROINDUSTRIALES UTILIZADOS EN LA ALIMENTACIÓN

Actualmente se realizan estudios encaminados a encontrar la composición química de plantas, frutos y semillas con el fin de orientarlas hacia un uso alimentario, un primer paso consiste en realizar un análisis proximal, que es una metodología de tipo preliminar para encontrar la composición nutritiva de un alimento.¹⁶

En la tabla 1 se observa que los cereales, son una buena fuente de carbohidratos, mientras que las semillas oleaginosas son ricas en lípidos, por ello ambos se encuentran en el grupo de los alimentos energéticos. Sin

¹² GÓMEZ BRENES, Roberto A. y BRESSANI, Ricardo. Evaluación nutricional del aceite y de la torta de la semilla de Jícaro o morro (*Crescentia alata*). Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Guatemala. 226 – 242 p.

¹³ LETTERME, Pascal, *et al.* Mineral content of tropical fruits and unconventional foods at the Andes and the rain forest of Colombia. Food Chemistry. 2006. vol 95, p 644-652.

¹⁴ ALEGRÍA, Jordan, *et al.* Informe de proyecto de investigación. ID 1483. Convenio Cooperación N° 123 de 2004 Colciencias-Universidad del Cauca: Caracterización Fisicoquímica de la Semilla del Totumo (*Crescentia cujete*) y Posibles Alternativas Agroalimentarias. Universidad del Cauca. Grupo de Investigación en Química de Productos Naturales (QPN). 2006

¹⁵ MUÑOZ, Juan Carlos. Identificación y cuantificación mediante cromatografía de gases de los ácidos grasos del aceite de la semilla de totumo (*Crescentia cujete* L). Trabajo de grado Químico. Popayán: Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Naturales Exactas y de la Educación, 2008

¹⁶ BERNAL DE RAMÍREZ, Inés. Análisis de alimentos. 1 ed. Bogotá. Guadalupe LTDA. 1998. 1 – 10 p.

embargo, las semillas oleaginosas presentan un contenido importante de proteína, fibra y minerales.

La composición de las tortas demuestra que después de la extracción del aceite, la cantidad de proteína, minerales y carbohidratos aumentan en comparación con la semilla entera de la cual provienen, por ello la utilización de las tortas en alimentación animal y como sustratos en la producción de enzimas y antibióticos. Por su contenido de minerales algunas tortas son utilizadas para la fertilización de suelos¹⁷.

Tabla 1. Composición proximal de algunos cereales, semillas oleaginosas y tortas (g / 100 g MH)

DESCRIPCIÓN	HUMEDAD	PROTEÍNA	GRASA	FIBRA	CENIZAS	CHO SOLUBLES
Avena grano entero	9.0	14.2	7.3	1.6	1.6	66.3
Centeno grano entero	13.5	10.8	1.6	3.3	1.5	69.3
Quinoa grano entero	13.0	16.4	2.0	6.0	3.0	59.6
Maní	4.8	31.3	51	2.3	2.6	8.0
Semilla de soya	10.0	37.5	18.0	5	4.6	24.5
Semilla de girasol		29	42.5	10	4	14.5
Semilla de ajonjolí	8.0	22.3	42.9	10.3	5.6	10.9
Semilla de colza		15.30	37.5	4	3.5	39.7
Torta de soya *	8.6	43.9	5.2	5.9	6.2	30.2
Torta de soya **	9.7	45.7	1.3	5.8	6.1	31.4
Torta de girasol **	10.8	19.6	1.1	35.9	5.6	27.0
Torta de ajonjolí*	6.3	43.3	9.0	6.2	11.6	23.6

Fuente: BERNAL DE RAMÍREZ, Inés. Análisis de alimentos. 1 ed. Bogotá. Guadalupe LTDA. 1998. 34 - 38 p.

* Prensado

** Extracción con solventes

¹⁷ RAMACHANDRAN, Sumitra, *et al.* Oil cakes and their biotechnological applications. En: Bioresource Technology. Agosto, 2006. Vol 98, p 2000 – 2009.

La extracción del aceite con solventes es mas eficiente que la extracción por prensado, debido a que aumentan el contenido de nutrientes como proteína, minerales, fibra y carbohidratos solubles, además que la cantidad de aceite en la torta es menor, como se puede observar para la torta de soya en la tabla 1.

El estudio de residuos agroindustriales, como es el caso de las tortas (residuo que queda de la semilla luego de extraer el aceite), busca darles mayor aprovechamiento y no solo utilizarla para elaborar concentrados para animales sino también en procesos biotecnológicos. Ramachandran, S.¹⁷, *et al* han realizado una revisión bibliográfica para diferentes tipos de tortas, encontrando que no solo tienen utilidad como suplementos alimenticios sino que, por su contenido de nutrientes y en especial por su alto contenido de proteína y carbohidratos, son nuevas fuentes para aplicaciones biotecnológicas. Las aplicaciones biotecnológicas van desde el uso de las tortas como fertilizantes por su contenido de minerales (tabla 1), hasta ser el medio de crecimiento de enzimas por ser fuentes de carbono y nitrógeno.

Una nutrición baja en proteína es un problema que ha llevado a estudiar las tortas con el fin de conocer sus componentes químicos y ser utilizadas con fines alimenticios. Entre los que se deben evaluar a parte de los macronutrientes son; minerales, vitaminas, aminoácidos y factores antinutricionales, para saber si cumplen con las concentraciones sugeridas. Por ejemplo la FAO (Food and Agricultural Organization) una organización encargada de sugerir la cantidad de aminoácidos que debe aportar un alimento para ser catalogado como proteico. A continuación se describirán con más detalle algunos nutrientes.

1.2.1 Minerales. Los alimentos contienen gran cantidad de minerales, los cuales están como sales orgánicas e inorgánicas o formando compuestos orgánicos como el caso del fósforo, que hace parte de las fosfoproteínas mientras que algunos metales se encuentran ligados a enzimas. Los metales se dividen en dos grandes grupos¹⁸.

Macroelementos: Incluyen Ca, P, K, Cl, Na, y Mg

Microelementos: También llamados elementos trazas porque se encuentran alrededor de 50 ppm. Estos elementos a su vez se dividen en tres grupos.

Elementos esenciales: Son los que tienen una función biológica definida, estos son: Fe, I, Co, Mn, Zn, Cr, Ni, Si, F, Mo y Se.

¹⁸ DEMAN, Jhon M. Principles of food chemistry. 3 ed. Guelph Ontario. An Aspen Publication, 1999. 209 – 226 p.

Elementos no esenciales: Son aquellos cuyo papel biológico todavía no es definido como el Al, B y Sn.

Elementos tóxicos: Se encuentran en los alimentos en niveles trazas y un aumento en su concentración pueden causar enfermedades hacen parte de este grupo el Hg, Pb, As, Cd y Sb.

Los minerales en alimentos son usualmente determinados a partir de la solubilización de las cenizas en ácido clorhídrico para obtener los cloruros respectivos, que luego se cuantifican por métodos volumétricos, colorimétricos o por absorción atómica¹⁶.

Las cenizas se determinan por incineración del alimento a elevadas temperaturas, eliminando de esta manera la materia orgánica, donde haber pérdidas de algunos minerales como el cloro, fósforo y el sodio, que pueden volatilizarse a temperaturas mayores de 600 °C, por ello es recomendable someter al alimento a 550°C.

El interés en conocer el contenido de minerales en alimentos, ha llevado a investigar sobre ellos para saber en que proporciones se encuentra cada mineral, debido a que cada uno es requerido por el organismo en concentraciones definidas dependiendo de la edad y de las necesidades de cada consumidor (tabla 2). También se debe tener en cuenta que los minerales interactúan con otros elementos de manera antagónica o sinérgica. En la sinergia, un elemento o grupo de elementos ayuda a la absorción de otros elementos, mientras que en el antagonismo un elemento inhibe, retarda o anula la acción de otro elemento¹⁹.

Tabla 2. Recomendaciones de consumo diario de algunos minerales

Categoría del consumidor	Edad (años)	Calcio (mg)	Fósforo (mg)	Magnesio (mg)	Hierro (mg)	Zinc (mg)
Infantes	0.5 – 1.0	540	360	70	15	5
Niños	1 - 10	800	800	150 - 250	10 - 15	10
Hombres	11 - 18	1200	1200	400-350	18	15
	19 - 51	800	800	350	10	15
Mujeres	11 - 18	1200	1200	300	18	15
	19 - 55	800	800	300	10.18	15
Embarazadas		+ 400	+ 400	+150	+ 30 - 60	+5
Lactantes		+ 400	+ 400	+150	+ 30 - 60	+10

Fuente: OVIEDO VARGAS, Wenceslao. 98 -116 p.

¹⁹ OVIEDO VARGAS, Wenceslao. Fundamentos de Ciencia Alimentaria. 1 ed. Bogota DC. Italgraf S. A, 1984. 98 -116 p.

El antagonismo y el sinergismo no solo se dan entre minerales, estas relaciones también pueden generarse con compuestos, un ejemplo es el ácido fítico el cual disminuye la absorción de minerales, como hierro y calcio sin embargo, la presencia de agentes reductores favorece la absorción del hierro¹⁹. La disponibilidad de los minerales en los alimentos varia dependiendo de factores genéticos, fitotécnicos y zootécnicos, tales como el tipo de especie, la variedad, el grado de madurez, la fertilidad del suelo y la elaboración de los productos, aunque estos últimos generan pérdidas (tabla 3). Las pérdidas para el trigo, centeno y arroz se deben a procesos de molienda y refinado. En los procesos de molienda se elimina gran cantidad de cascarilla en la cual se encuentra la mayoría de los minerales y en los procesos de refinado o blanqueamiento como en el caso del arroz las pérdidas de minerales son aun más drásticas, ya que en este proceso se utilizan agentes blanqueadores y el arroz es sometido a procesos de pulido eliminando completamente la cascarilla²⁰.

Tabla 3. Contenido de minerales en algunos cereales (mg / 100 g MS)

Alimento	Na	K	Ca	Fe	P
Grano de Trigo entero	7.8	502	43.7	3.3	406
Harina de Trigo	2.0	108	15	1.95	-
Salvado de trigo	2.0	1390	43	3.6	1240
Centeno integral	40	530	64	-	373
Harina de Centeno	1	240	31	2.2	-
Arroz integral	10	150	23	2.6	325
Arroz pulido	6	103	6	0.6	120
Maíz integral	6	330	15	-	256

Fuente: BELITZ, H. D; GROSCH, W. 451 p.

Siddhuraju y Becker²¹ determinaron P por UV – Visible y Ca, K, Na, Mg, Fe y Cu por espectrometría de absorción atómica, en semillas de tres variedades de *Canavalia*; *Canavalia gladiata*, *Canavalia ensiformis* y *Canavalia virosa*, una leguminosa de la India que es utilizada como alimento en algunas tribus de este país. Este estudio se realizó para conocer la cantidad de nutrientes que puede aportar esta leguminosa en la dieta diaria para introducirla en la alimentación de los menos favorecidos, ya que puede ser una fuente buena de proteínas y minerales de bajo costo y así tratar de disminuir las enfermedades y muertes causadas por una mala alimentación.

²⁰ BELITZ, H. D; GROSCH, W. Química de los Alimentos. Traducido por Maria Otilia López Buesa. 2 ed. Zaragoza España. ACRIBA, S.A., 1997. 459, 758 – 762 p.

²¹ SIDDHURAJU, P y BECKER, K. Species / variety differences in biochemical composition and nutritional value of India tribal legumes of the genus *Canavalia*. Nahurung / Food. 2001. Vol. 45 N° 4. p 224 – 233.

Para ésta leguminosa se encontró que en los macroelementos el de mayor abundancia fue el potasio 1299 ± 17 mg / 100 g MS para la variedad *Canavalia gladiata*, 1502 ± 12 mg / 100 g MS para la variedad *Canavalia ensiformis* y 977 ± 8 mg / 100 g MS para la variedad *Canavalia virosa* y en los microelementos el de mayor concentración fue el Zn desde 4.02 ± 0.06 mg / 100 g MS hasta 12.58 ± 0.46 mg / 100 g MS para las tres variedades²¹.

Para la semilla de totumo (*Crescentia cujete L.*) no se encuentran reportes del contenido de minerales, pero en un estudio reciente realizado por la Universidad Nacional de Colombia se evaluó el contenido de minerales en la pulpa de este fruto, por medio de espectrofotometría de absorción atómica, encontrando que es un fruto con alto contenido de hierro y potasio¹³.

Tabla 4. Contenido de minerales en pulpa de *Crescentia cujete L* (mg / 100 g MS).

Macroelementos	Cenizas	Ca	P	K	Mg	Na	Cl	S
	1195	30	7	593	46	17	22	11
Microelementos	Mn	Zn	Fe	Cu	Se	Co	Ni	Cr
	0.25	0.63	2.80	0.45	0.03	0.03	0.13	0.10

Fuente: LETTERME, Pascal, *et al.* p 644-652.

Materia seca: 25.1 %

La necesidad de encontrar nuevas fuentes de alimentación con alto contenido de nutrientes y bajo costo ha impulsado el estudio de cada mineral en semillas, frutos y tortas. En esta investigación se determinaron los contenidos de algunos minerales como el fósforo, calcio, hierro y magnesio, debido a que son los elementos de mayor importancia en nutrición y los que generalmente se encuentran reportados en las tablas de nutrición.

1.2 2 Vitaminas. Constituyen un grupo de compuestos orgánicos que no tienen similitud entre si, son componentes que se encuentran en menor concentración en los alimentos, aunque juegan un papel importante en la nutrición humana. Actúan como catalizadores en el metabolismo de otros nutrientes, esto explica por que se requieren en cantidades mínimas²². Las vitaminas se dividen en dos grandes grupos:

Vitaminas liposolubles: Se encuentran y se extraen de alimentos ricos en grasa. Dentro de este grupo tenemos la vitamina A, D, K y E. las cuales son difíciles de eliminar por lo que se acumulan en el cuerpo²³.

²² DEMAN, Op. cit., p. 355-361

²³ OVIEDO, Op. cit., p. 98-101

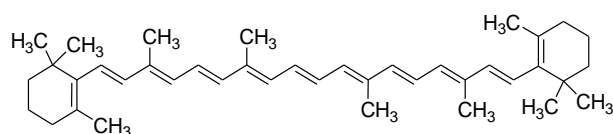
Vitaminas hidrosolubles: Se pierden fácilmente por procesos de preparación de los alimentos como por ejemplo en procesos de escaldado o cocción, aquí encontramos las vitaminas del grupo B, la nicotinamida, el ácido fólico y el ácido ascórbico. Por su carácter hidrosoluble estas vitaminas no se almacenan en el cuerpo²⁴.

El alto contenido de extracto etéreo que presenta la semilla de totumo (*Crescentia cujete L.*)²⁵ hace que ésta sea una posible fuente de vitaminas liposolubles. Por ello en este trabajo se cuantifica el contenido de una vitamina liposoluble, como la vitamina A, las otras vitaminas liposolubles no se cuantifican ya que no se presentan deficiencias notorias en los organismos y algunas de ellas son sintetizadas en el cuerpo, como es el caso de la vitamina D.

Las vitaminas hidrosolubles no son temas de estudio en esta investigación por que son muy susceptibles a pérdidas y los procesos para la obtención de la torta de la semilla de totumo requieren calor para el secado y para la extracción del aceite induciendo la disminución de estas vitaminas.

Vitamina A: Se encuentra en alimentos de origen animal como retinol, el cual aporta un 75 % de la vitamina que se necesita y en alimentos de origen vegetal esta como carotenos que son considerados provitaminas, los cuales aportan un 25 % de la ingesta diaria de vitamina A la cual para adultos es de 1.5 – 1.8 mg / día. Las provitaminas son compuestos que sufren cambio en el organismo y se transforman en la vitamina, un ejemplo es el trans- β -caroteno una especie de la provitamina A (figura 3.a) que produce dos moléculas de vitamina A (figura 3.b).²⁶

Figura 3. Estructuras del trans- β -caroteno y de la vitamina A

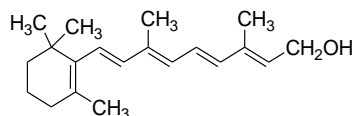


a) Trans - β - caroteno

²⁴ BELITZ, Op. cit., p. 431- 432

²⁵ MUÑOS, Op. cit., p 12, 60-61

²⁶ BELITZ, Op. cit., p. 431- 432



b) Vitamina A

Las vitaminas liposolubles son moléculas a las cuales se les atribuye actividad anticancerígena y propiedades antioxidantes debidas a sus dobles enlaces conjugados. Debido a la multiplicidad de sus enlaces es muy susceptible a la oxidación por la influencia de la radiación solar o artificial y los cambios de temperatura, y por estar conjugados (cromóforo) presenta una absorción de radiación entre 420 y 500 nm, por lo tanto se pueden cuantificar por espectrofotometría.²⁷

La vitamina A se encuentra como retinol en el hígado de los peces en la grasa láctea, en la yema de huevos y como carotenoides en la zanahoria, espinacas, berros, coles, tomates y en las frutas en los pepinos, naranjas, albaricoques y escaramujos. También se encuentra en aceites como el de palma, y en semillas con alto contenido de grasa, en la tabla 5 se indica el contenido de vitamina A en ciertos alimentos, incluyendo algunas semillas. Se observa que los cereales contienen bajas cantidades de carotenos, a diferencia de las semillas de calabaza y cacao las cuales contienen gran cantidad y son fuentes potenciales de vitamina A²⁸. En la bibliografía no se encuentran reportes del contenido de vitamina A en tortas, aunque si se encuentran investigaciones en harinas u otro tipo de alimentos.

Un estudio de carotenos en harinas, reportado por Belen²⁹ concluyó que el porcentaje en la harina del pericarpio del fruto de coroba, es de 40 ± 1 mg / 100 g de muestra, la cual la hace una fuente potencial de carotenos si se compara con el contenido de carotenos en granos o semillas.

²⁷ GUTIÉRREZ, Tania. M. Seguimiento de la degradación térmica y lumínica de las vitaminas A y C en la uchuva (*Physalis peruviana* L.). Tesis de Magister en Ciencias Químicas. Santiago de Cali: Universidad del Valle. Facultad de Ciencias, 2006. 9 p.

²⁸ INSTITUTO COLOMBIANO DE BIENESTAR FAMILIAR. Tabla de composición de los alimentos Colombianos. 1996.

²⁹ BELEN, D. R.; ALVAREZ F. J y ALEMAN R. Caracterización fisicoquímica de una harina obtenida del mesocarpio del fruto de la palma de coroba (*Jessenia Polycarpa* Karst). En: Rev. Fac. Agron. Julio, 2001, vol 18, 290 – 297 p.

Tabla 5. Vitamina A y carotenos contenidos en algunos alimentos

ALIMENTO	Vitamina A (IU / 100g)	Caroteno (mg / 100 g)
Queso	553 – 1078	-
Huevo	165 – 488	-
Leche	110 – 307	-
Tomate	-	0.5
Melocotón	-	0.34
Grano de trigo entero	-	0.02
Grano de maíz entero	-	0.37
Semillas de calabaza	15	18.5
Cacao sin cáscara	20	12

Fuente: INSTITUTO COLOMBIANO DE BIENESTAR FAMILIAR. 1996.

1.2.3 Aminoácidos. Las proteínas están formadas en su mayoría por 20 aminoácidos, esenciales y no esenciales. En la estructura general los aminoácidos contiene un grupo carboxilo y un grupo amino, unidos al carbono α , el cual a la vez esta unido a un hidrógeno y a una cadena lateral. Los aminoácidos se clasifican dependiendo de su cadena lateral, en tres grandes grupos³⁰:

- Aminoácidos con cadena lateral sin carga y apolar.
- Aminoácidos sin carga y polar.
- Aminoácidos con cadena larga cargada

Y se clasifican de acuerdo a su importancia nutricional (tabla 6):

- Aminoácidos esenciales: Aquellos que no pueden ser sintetizados por el cuerpo.
- Aminoácidos no esenciales: son los aminoácidos que el cuerpo necesita en menos cantidad y son sintetizados en el organismo.

³⁰ CAMPBELL, Mary K. y FARRELL, Shawn O. Bioquímica. Traducido por Maria T. Aguilar Ortega Qca. 4 ed. México. 2004. 64, 654 p.

Tabla 6. Aminoácidos esenciales y no esenciales

ESENCIALES	NO ESENCIALES
Arginina** (Arg)	Alanina (Ala)
Histidina* (His)	Asparagina (Asn)
Isoleucina (Ile)	Acido aspártico (Asp)
Leucina (Leu)	Cisteína (Cys)
Lisina (Lys)	Ácido glutámico (Glu)
Metionina (Met)	Glutamina (Gln)
Fenilalanina (Phe)	Glicina (Gly)
Treonina (Thr)	Prolina (Pro)
Triptofano (Trp)	Serina (Ser)
Valina (Val)	Tirosina (Tyr)

Fuente: CAMPBELL, Mary K. y FARRELL,. 654p.

** Es sintetizada pero la mayoría de este aminoácido se pierde en forma de urea.

* Esencial para niños pero no para adultos.

Los aminoácidos son importantes en los alimentos ya que estos son necesarios para la síntesis proteica, además contribuyen al sabor de los alimentos y participan directamente en las reacciones enzimáticas o térmicas que se dan durante la preparación de los mismos.³¹

Las reacciones a temperaturas de 100 a 200 °C ocurren en la elaboración, cocción y asado de los alimentos, disminuyendo la calidad de los mismos. Una de las reacciones más importantes en aminoácidos es la reacción de Maillard, entre aminoácidos y azúcares reductores disminuyendo la calidad de la proteína.

La calidad de una proteína está determinada por la cantidad de aminoácidos esenciales y por su digestibilidad, en la tabla 7 se puede observar que el huevo y la leche tienen menor cantidad de proteína en comparación con el trigo, sin embargo el aporte de aminoácidos esenciales es mayor proporcionando mejores fuentes de proteína.

³¹ BELITZ, Op. cit., p. 11, 39.

Tabla 7. Contenido de proteína y aminoácidos esenciales en algunos alimentos (g aminoácido / 100 g de proteína)

Aminoácido	Leche	Huevo	Trigo*
Proteína	3.6	12.9	13.3
Val	7.4	6.8	4.4
Phe	6.9	5.7	4.5
Ile	6.5	6.2	3.3
Leu	12.5	8.8	6.7
Met	2.5	3.4	1.5
His	3.4	2.4	2.3
Arg	2.6	6.0	4.6
Thr	4.4	5.1	3.0
Lys	7.2	7.0	2.9
Tyr	6.3	4.2	3.0
Cys	-	2.4	2.5
Met + Cys	2.5	5.8	4.0
Phe + Tyr	13.2	9.9	7.5

Fuente: DEMAN, Jhon M. 209 – 226 p.

*Grano entero

Por la cantidad de aminoácidos que aportan y por la digestibilidad la proteína animal tiene mayor valor biológico que las proteínas vegetales. Uno de los alimentos con mejor calidad de proteína es el huevo y es considerada con un valor biológico del 100 %. El valor biológico se determina por la cantidad de nitrógeno absorbido y retenido por el cuerpo de un animal para un óptimo crecimiento y desempeño³², de hay que la FAO tiene como referencia el huevo para establecer la calidad de las proteínas, debido a que es un alimento en donde los aminoácidos esenciales cubren las necesidades diarias sugeridas. Otro parámetro utilizado es el computo aminoacídico³³ (Ecuación 1) o aporte de aminoácidos esenciales (% AAE) y se basa en comparar el aminoácido de la muestra problema con el de referencia en este caso con los de la FAO.

$$\% \text{AAE} = \frac{\text{Concentración del aminoácido problema}}{\text{Concentración del aminoácido de referencia}} * 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

En la tabla 8 se encuentran los aminoácidos limitantes es decir los que se encuentran por debajo de los valores sugeridos por la FAO para alimentos de tipo vegetal, se observa que en los cuatro alimentos el primer aminoácido

³² BELITZ, Op. cit., p 34-35

³³ MULLER, H. G. y TOBIN, G. Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Traducido por Andrés Marcos Barrado. Zaragoza, España. ACRIBA, S.A., ISBN 84 – 200 – 0585 - 1

limitante es la lisina seguida por la treonina y en el maíz el triptófano, aunque otro aminoácido limitante es la metionina. La proteína de tipo animal es deficiente en metionina y cisteína^{34, 35}

Tabla 8. Aminoácidos limitantes en algunas fuentes de proteína vegetal

ALIMENTO	PRIMER AMINOÁCIDO LIMITANTE	SEGUNDO AMINOÁCIDO LIMITANTE
Trigo	Lisina	Treonina
Maíz	Lisina	Triptófano
Arroz	Lisina	Treonina
Sorgo	Lisina	Treonina

Fuente: DEMAN, Jhon M. 209 – 226 p.

En una cantidad limitada de países las personas tienen la facilidad de adquirir proteínas de fuentes animales, pero en la mayoría del mundo la proteína que más se consume es la vegetal, puesto que es más asequible para las personas de bajos recursos. No obstante, la proteína vegetal es deficiente en uno o más aminoácidos esenciales (tabla 8). Actualmente se realizan investigaciones con el fin de encontrar proteínas de tipo vegetal que puedan competir a nivel nutricional con las de tipo animal y aprovechar así los recursos propios de las comunidades.

Debido a esta deficiencia es indispensable caracterizar los aminoácidos presentes en alimentos y conocer su contenido en estas fuentes, ya que no en todas se presentan con igual frecuencia. Un ejemplo de ello se observa en la tabla 9, las harinas de las semillas de sandía, pimentón y calabaza, tomando como referencia los valores de la FAO, presentan deficiencias en aminoácidos azufrados pero son ricos en aminoácidos aromáticos como tirosina y fenilalanina. La harina de las semillas de pimentón es rica en aminoácidos esenciales, como isoleucina, lisina, metionina y valina, ya que los valores reportados están por encima de los valores tomados como referencia también se observa en la tabla 9 que la suma de los aminoácidos esenciales es un valor mucho mayor que el de referencia³⁶.

³⁴ DEMAN, Op. cit., p. 112-113

³⁵ BELITZ, Op. cit., p. 731.

³⁶ TAREK, A, *et al.* Characteristics and composition of Waltermelon, pumpkin, and páprika seed oils and fluors. Journal Agriculture Food Chemistry. 2001, vol 49. 1253 – 1259 p.

Tabla 9. Composición aminoacídica en harina de semillas de sandía calabaza y pimentón (g aminoácido / 16 g de nitrógeno)

AMINOÁCIDOS	SANDIA	CALABAZA	PIMENTÓN	FAO
Isoleucina	2.80	3.21	3.89	2.8
Leucina	7.79	6.49	5.03	6.6
Lisina	3.14	4.17	8.18	5.8
Metionina	1.71	1.88	1.03	2.5
Fenilalanina	5.76	4.47	4.69	6.3
Treonina	3.09	3.30	5.10	3.4
Triptofano	1.15	0.86	1.22	-
Valina	3.98	4.71	4.45	3.5
Histidina	3.21	3.26	1.48	-
Arginina	18.58	19.03	8.65	1.9
Total de aminoácidos esenciales	34.63	33.43	38.85	36.0

Fuente: TAREK, A, *et al.* 1253 – 1259 p.

La cuantificación de aminoácidos se puede realizar por varios métodos analíticos, los más utilizados son: electroforesis capilar, HPLC en fase reversa utilizando un detector de ultravioleta o de fluorescencia con reactivos de derivatización como la ninidrina, fenilcarbamil y butilcarbamil. La derivatización es utilizada para formar moléculas que presenten absorbancias a una determinada longitud de onda, aunque algunos aminoácidos presentan absorbancias en el ultravioleta como el triptófano, que tiene máximos entre 200 – 230 nm y 250 – 290 nm, o la histidina, cisteína y metionina que absorben entre 200 y 210 nm sin necesidad de derivatizar³⁷.

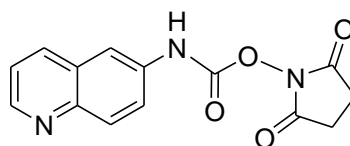
Dos de los métodos más utilizados son AccQ – tag que utiliza como reactivo derivatizante el AccQ–Fluor de Waters (6–aminoquinolil–N– hidroxisuccinimidil carbamato o ACQ), (figura 4), los derivados formados son separados o cuantificados por HPLC en fase reversa utilizando una columna de C₁₈ y detector de fluorescencia en un tiempo menor de 35 minutos³⁸. El otro método es el PICO-TAG en el cual se utiliza como reactivo derivatizante el fenilisocianato³⁹ (PICT, figura 4).

³⁷ BELITZ, Op. cit., p 20

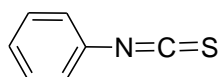
³⁸ D'AMICO SISTEMAS , S.A. Solución Waters para determinación de Aminoácidos. Waters Corp. Argentina.

³⁹ WHITE, J.A, et al. An evaluation of the Waters Pico – Tag system for the amino – acid analysis of food materials. Journal of Automatic Chemistry. 1986, Vol, 8. N° 4. 170 – 177 p.

Figura 4. Reactivos derivatizantes para aminoácidos



6 - aminoquinolil - N - hidroxisuccinimidil carbamato
(ACCQ)



Fenilisocianato
(PICT)

1.2.4 Proteínas: Las proteínas están formadas por aminoácidos unidos por enlaces peptídicos, entre el grupo α -carboxílico de un aminoácido y el grupo α -amino del siguiente aminoácido con eliminación de agua. La secuencia aminoacídica determina la conformación tridimensional de las proteínas.

Las conformaciones tridimensionales son⁴⁰:

Estructura primaria: determinada por la secuencia en que se enlazan los aminoácidos.

Estructura secundaria: se da por las interacciones en toda la proteína de los puentes de hidrogeno N – H. Se tienen dos tipos de estructura secundaria la α hélice y la lámina β plegada.

Estructura terciaria: encierra el acomodo de los átomos en el espacio, incluyendo las cadenas laterales y los grupos prostéticos (grupos que no hacen parte de los aminoácidos).

Así como los aminoácidos son los responsables de las conformaciones estructurales, estos también influyen en la naturaleza química de la proteína específicamente en su solubilidad en diferentes solventes. Un ejemplo son los residuos de aminoácidos polares en una proteína, los cuales incrementan su solubilidad en agua, y los no polares en solventes poco polares o apolares. Las proteínas se dividen en los siguientes grupos⁴¹:

Proteínas simples: son las únicas que producen aminoácidos cuando se hidrolizan e incluyen las siguientes clases:

⁴⁰ CAMPBELL, Op. cit., p. 87, 88

⁴¹ DEMAN, Op. cit., p. 113-114.

Albúminas: Solubles en agua neutra o agua libre de sal. En la mayoría de los casos estas proteínas son de bajo peso molecular. Ejemplos: la albúmina del huevo, la lactoalbúmina y la seroalbúmina del suero de la leche, la leucocin en los cereales y la legumelina en semillas de leguminosas.

Globulinas: Solubles en soluciones salinas y algunas insolubles en agua. Ejemplos: sero globulinas y β -lactoglobulina en leche, la miosina y actina en carnes y glicina en semilla de soya.

Glutelinas: Solubles en ácidos o bases e insoluble en solventes neutros, estas proteínas se encuentran en los cereales tales como gluteninas en trigo y orizeninas en arroz.

Prolaminas: Solubles en soluciones con un 50 % hasta un 90 % de alcohol e insolubles en agua, tienen grandes cantidades de prolamina y ácido glutámico y se encuentran en mayor cantidad en cereales.

La estructura de las fracciones proteicas de albúminas y globulinas tienen grandes residuos de aminoácidos ácidos y básicos, por ello son solubles en soluciones acuosas. Las fracciones proteicas de gluteninas y glianidinas tienen un contenido bajo de aminoácidos polares por lo tanto, son poco solubles en agua y su solubilidad es mayor en solventes polares.

Escleroproteínas: Insolubles en agua y solubles en solventes neutros son resistentes a la hidrólisis enzimática. Estas proteínas se encuentran en la estructura fibrosa y sirven de ligandos, como por ejemplo el colágeno proteína del tejido muscular, la elastina de los tendones, y la queratina del cabello y pezuñas.

Histones: Son proteínas básicas con altos contenidos de lisina y arginina, son solubles en agua y precipitan con amoniacó.

Protaminas: Son proteínas fuertemente básicas de bajo peso molecular (4000 a 8000 Daltons), ricas en arginina.

Proteínas conjugadas⁴²: Una parte del aminoácido se encuentra ligada a un material no proteico como: lípidos, ácidos nucleicos, carbohidratos. Algunas de estas son:

Fosfoproteínas: Es un importante grupo, incluido en la mayor parte de los alimentos, los grupos fosfatos se unen a hidroxilos de la serina y treonina. En este grupo se incluye la caseína de la leche y las fosfoproteínas de la yema del huevo.

⁴² DEMAN, Op. cit., p 114-115

Lipoproteínas: Son combinaciones de lípidos y proteínas y tienen gran poder de emulsificación. Estas proteínas se encuentran en la leche y en la yema de huevo.

Nucleoproteínas: Las nucleoproteínas se encuentran en el núcleo celular y es la unión de ácidos nucleicos y proteínas.

Glicoproteínas: Son moléculas en donde las proteínas están unidas a un porcentaje pequeño de carbohidratos. En algunas glicoproteínas los carbohidratos se encuentran entre un 8 - 20 %. Un ejemplo es la ovomucosina de la clara del huevo.

Cromoproteínas: Son proteínas con grupos cromóforos, algunos de estos compuestos son; la hemoglobina, mioglobina, clorofila, y las flavoproteínas.

En los alimentos, las proteínas son de vital importancia por las funciones que desempeñan, tales como proporcionar las características organolépticas o propiedades reológicas en harinas, y suministran los aminoácidos esenciales para la síntesis proteica. Un ejemplo son las fracciones de Osborne como prolaminas, glutelinas, albuminas y globulinas, donde las prolaminas dan viscosidad y las glutelinas son las responsables de la elasticidad, en harinas destinadas a la elaboración de pan, si están en una proporción 2:3 respectivamente. Mientras que en materias primas utilizadas en la elaboración de dulces, postres y cerveza, las globulinas y algunas albúminas como la seroalbumina ayudan a la formación de espumas⁴³.

Tabla 10. Fracciones de Osborne en proteínas de cereales (%)

FRACCIONES	TRIGO	CENTENO	CEBADA	AVENA	ARROZ	MIJO	MAÍZ
Albúminas	14.7	44.4	12.1	20.2	10.8	18.2	4.0
Globulina	7.0	10.2	8.4	11.9	9.7	6.1	2.8
Prolamina	32.6	20.9	25.0	14.0	2.2	33.9	47.9
Glutenina	45.7	24.5	54.5	53.9	77.3	41.8	45.3

Fuente: BELITZ, H. D; GROSCH, W. 731 – 736 p.

Algunos de los procesos como la extracción de lípidos, carbohidratos y agua dan origen a los concentrados y refinados con alto valor nutritivo, ya que aumentan la cantidad de proteína y otros nutrientes. Un ejemplo de concentrados son las tortas ya que el bajo contenido de humedad y lípidos, incrementan la proporción de nutrientes, como proteínas, cenizas, fibra y carbohidratos, razón por la cual son utilizadas comúnmente en la alimentación

⁴³ BELITZ, Op. cit., p. 735

animal, aunque en los últimos tiempos se han orientado en la nutrición humana como un complemento.

Por el valor de las proteínas y específicamente por las propiedades que estas dan a los alimentos, se han implementado varios métodos para su cuantificación por espectrofotometría, los cuales son aplicables a alimentos en los que la cantidad de proteína bruta sea importante. Los más utilizados son:

Método de Lowry: Se basa en la formación de complejos cúpricos y su color se intensifica con el Folín – Cicalteau realizando medidas de absorbancia a 750 nm o 540 nm dependiendo de la concentración de las muestras⁴⁴.

Método de Biuret: Los enlaces peptídicos forman complejos coloreados con el Cu^{2+} en medio alcalino los cuales absorben a 540 nm⁴⁵.

Método de Bradford: Este método es fácil y rápido de realizar y mas sensible que el método de Lowry, aunque esta sujeto a pequeñas interferencias dadas por los reactivos o componentes no proteicos que se encuentren formando parte de las muestras. Se fundamenta en la unión de un colorante, azul de Coomassie G250 con las proteínas, teniendo un máximo de absorbancia a 595 nm.⁴⁶

En todos los métodos antes mencionados se realizan curvas de calibración con patrones de proteínas que permiten su cuantificación en muestras problema.

1.2.5 Factores antinutricionales. Son componentes químicos generados en el metabolismo secundario de las plantas para defensa al ataque de mohos, bacterias e insectos, estos componentes disminuyen el valor nutricional de un alimento, cuando se encuentran en concentraciones por encima de las permitidas. Algunos compuestos catalogados como factores antinutricionales son:

Saponinas. Son moléculas de glicósidos solubles en agua que disminuyen su tensión superficial, razón por la cual al agitar sus soluciones forman una espuma, la altura de la espuma determina la cantidad de saponinas. El producto de la hidrólisis de las saponinas son carbohidratos y una aglicona llamada sapogenina (tabla 11)⁴⁷.

⁴⁴ WALKER, John M. The protein prtocols. Handbook. New Jersey. HUMANA PRESS, 1996. 15 – 19 p.

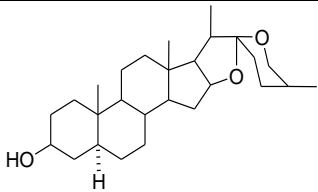
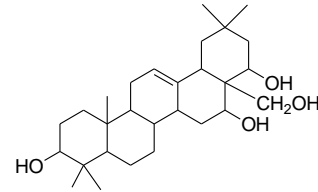
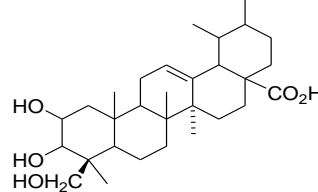
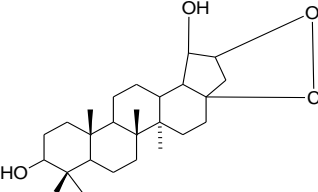
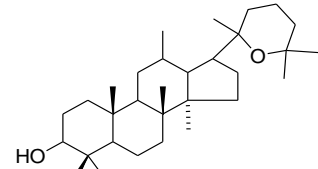
⁴⁵ Ibid., p. 15 - 19

⁴⁶ WALKER, Op. cit., p 15-19

⁴⁷ DOMÍNGUEZ, Xorge Alejandro. Métodos de investigación fotoquímica. 1 ed. México. Limusa, 1973. 149 p.

Se encuentran en la naturaleza otro tipo de sapogeninas tipo esferoidales que varían en el número de insaturaciones, grupos hidroxilos, grupos cetónicos y otros grupos oxigenados. En la actualidad se han aislado una cantidad considerable de saponinas, de diversos órganos vegetales, de las cuales 200 son de esqueleto esteroidal y otra cantidad de saponinas triterpenoides.

Tabla 11. Estructuras de algunas sapogeninas

ESQUELETO	TIPO	EJEMPLO	ESTRUCTURA
Esteroidal	Colano	Esmilagenina	
Triterpeno	β - amirina	Chichipegina	
	A - amirina	Ácido asiático	
	Lupeol	Estallogenina	
	Tetracíclico	Panaxadiol	

Fuente: DOMÍNGUEZ, Xorge Alejandro. 149 p.

Las saponinas son sustancias polares que se pueden extraer en caliente o en frío con agua, etanol, butanol y metanol, dan compuestos coloreados con los reactivos empleados para pruebas de esteroides, como el de Liebermann Burchard, Salkowski, cloruro de tionilo y tricloruro de antimonio, también con

los utilizados para carbohidratos, como Molish⁴⁸ y su cuantificación se puede realizar por espectrofotometría o HPLC en fase reversa con una columna de C₁₈ y un detector UV otra técnica utilizada es la cromatografía de gases con una columna de polimetilxiloxano y una temperatura de 270 °C.

Semillas tales como *Canavalia ssp* (tabla 12), soya, guisante y quinua son ricas en saponinas, por ejemplo en la quinua un seudocereal utilizado en la alimentación, presenta un sabor amargo por el contenido de saponinas, por lo que se requiere de un procesamiento previo a su consumo, el cual puede ser manual (lavando el grano con agua y frotándolo hasta que no salga mas espuma) o tecnificado (usando una peladora que pasa el grano por unas paletas friccionándolo contra una malla trenzada)⁴⁹. Donde su contenido depende de la variedad y esta en el rango de 0 – 6 % un valor mas alto que para las de *canavalia ssp*.

Tabla 12. Concentración de saponinas en tres especies de semilla de *Canavalia ssp* (g / 100 g MS)

MUESTRA	SAPONINAS
<i>Canavalia gladiata</i>	
Variedad roja	1.005 ± 0.014
Variedad café	0.813 ± 0.015
<i>Canavalia ensiformis</i>	0.571 ± 0.008
<i>Canavalia virosa</i>	0.82 ± 0.026

Fuente: SIDDHURAJU, P y BECKER, K. p 224 – 233

Fenoles totales⁵⁰. Los compuestos fenólicos se caracterizan por la presencia de al menos un anillo de benceno, unido a uno o varios grupos de hidroxilos libres o ligados con otra función (ésteres, metil ésteres o glucósidos). Entre estas moléculas encontramos los taninos o polifenoles que se producen vía condensación de compuestos fenólicos simples y se encuentran en todas las plantas o vegetales. Los taninos se dividen en dos grupos:

Taninos hidrolizables: Un ejemplo de taninos hidrolizables es el ácido gálico (figura 5), ester hexahidroxifenol y derivados, estos taninos se hidrolizan

⁴⁸ Ibid., p. 153.

⁴⁹ GAJARDO REPETTO, Pilar Inés. Caracterización y determinación de la estabilidad durante el almacenamiento de las proteínas de harina de quinua sin pulir y pulida proveniente de la vi región de Chile. Trabajo de grado Ingeniero en alimentos. Santiago de Chile: Universidad de Chile. Facultad de Ciencias químicas y farmacéuticas, 2005. 3 - 4 p.

⁵⁰ NACZK, M. y SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolic in food. Journal of Cromatography A. 2004. Vol, 1054. 95 – 111 p.

fácilmente en condiciones tanto ácidas como básicas e igualmente por acción de enzimas esterasas.

Figura 5. Estructura del ácido gálico



Taninos condensados: Se encuentran las proantocianinas que son polímeros del flavan-3-ol, y los leucoantocianinas, polímeros del flavan-3,4-diol. En la naturaleza abundan más que los hidrolizables y no son susceptibles a la hidrólisis.

Los taninos se encuentran en gran proporción en semillas de leguminosas o cereales ya que son la protección de las plantas a ataques de depredadores tales como; insectos, aves, herbívoros y enfermedades, además de previenen la germinación antes de tiempo. Estos compuestos pueden ser beneficiosos o pueden causar efectos adversos nutricionalmente ya que enlazan proteínas, carbohidratos y minerales como el hierro, disminuyendo el valor nutricional y la disponibilidad biológica de estos nutrientes en la dieta. Los compuestos fenólicos son los responsables del color, sabor, astringencia y olor, que caracteriza a algunos alimentos como en el caso de los vinos. Su capacidad como agentes antiinflamatorios, anticancerígenos, antimutagenico y antimicrobial se debe al poder antioxidante que poseen estas moléculas.

Para la extracción de los compuestos fenólicos se utilizan metanol, etanol, acetona, cloroformo en diferentes proporciones en agua o una mezcla de los solventes. Los métodos espectrofotométricos mas utilizados para la cuantificación de fenoles se encuentra el descrito por Folin – Cicalteau, el cual se fundamenta en su carácter reductor. El reactivo de Folin para fenoles se basa en una mezcla de ácido fosfowolfrámico y ácido fosfomolibdico en medio básico, que se reduce al oxidar los compuestos fenólicos originando óxidos de color azul de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), presentando máximos de absorbancia entre 700 - 765 nm,⁵¹ este método no es específico y detecta todos los grupos fenólicos, por lo que se evalúan los compuestos fenólicos totales.

⁵¹ KUSKOSKI, Marta E; ASUERO, Agustín G y TRONCOSO Ana M. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de fruta. Ciencia y Tecnología de Alimentos. Campinas. Vol 25 N° 4. 726 – 732 p.

En el análisis del contenido de fenoles totales para semillas de *Canavalia ssp* se utilizó el método de Folin – Cicalteau encontrando que la variedad roja tiene mayor contenido de fenoles totales en comparación con la variedad café para la especie *Canavalia gladiata* y los valores son muy similares para la especie de *Canavalia virosa* como se observa en la tabla 13 la especie *Canavalia ensiformes* presenta menor cantidad de estos compuestos²¹

Tabla 13. Contenido de fenoles totales en semillas de tres especies de *Canavalia ssp* (g / 100 g M.S)

MUESTRA	FENOLES TOTALES
<i>Canavalia gladiata</i>	
Variedad roja	1.818 ± 0.023
Variedad café	1.527 ± 0.023
<i>Canavalia ensiformis</i>	0.260 ± 0.032
<i>Canavalia virosa</i>	1.552 ± 0.050

Fuente: SIDDHURAJU, P y BECKER, K. p 224 – 233

Investigaciones en harinas de semillas de comfrey (*Symphytum officinale L*) indican, que el contenido de fenoles es de 1.39 ± 0.07 g / 100 g M.S un valor mucho menor que para las harinas provenientes de trigo, maíz y sorgo.⁵²

⁵² MALDONADO, R. y PACHECO, E. Estudio de la composición química y factores antinutricionales de la harina de comfrey (*Symphytum officinale L*). Facultad de Agronomía. Maracay. 2004.

2. METODOLOGÍA

2.1 REACTIVOS Y EQUIPOS

Para realizar cada uno de los análisis los equipos fueron calibrados según los parámetros establecidos en el laboratorio y los reactivos empleados fueron grado analítico.

2.1.1 Reactivos

Para la ejecución experimental se utilizaron los siguientes reactivos

- Acetona, 99,5% grado analítico (Merck)
- Ácido sulfúrico, 97% (Mallinckrodt)
- Ácido clorhídrico, 37 % (Merck), P.A.
- Ácido bórico, grado comercial
- Ácido gálico, 99.9 % (Merck)
- Ácido etilendiaminotetracético (EDTA), 100.2 % (Fischer Scientific)
- Acetato de sodio, 99% (Merck)
- Alcohol etílico, 96% (Merck)
- Tabletas Kjeldahl libre de Hg y Se (Merck)
- Cloruro estañoso, 98 % (Aldrich A.C. S)
- Carbonato de calcio anhidro, 99.5% (Merck)
- Cloruro de sodio, 100 % (Fischer Scientific)
- Éter etílico , 99.9% (Mallinckrodt)
- Fenofltaleina, 1 % en etanol
- Fenantrolina 1 % en etanol
- Fosfato diácido de potasio anhidro, 92% (Carlo Erba)
- Fosfato monoácido de sodio anhidro, 99,2% (Mallinckrodt)
- Glicerina, grado comercial
- Hidroxilamina, 99% (Merck)
- Hidroxido de amonio, 98 % (Carlo Erba)
- Hidroxido de sodio, 99.9% (Merck)
- Isopropanol, grado reactivo (Merck,)
- Murexida, 0.15 % p/p (Merck)

- Metanol, 99.9 % (Merck)
- Molibdato de amonio, 98% (Merck)
- Negro de eriocromo, Grado indicador (Merck)
- Rojo de metilo (Carlo Erba)
- Tritisol de hierro, 1000 ppm (Merck)
- Sero albúmina bobina, 99.7 % (Merck)
- Sulfato de potasio, 99% (Carlo Erba)

2.1.2 Equipos

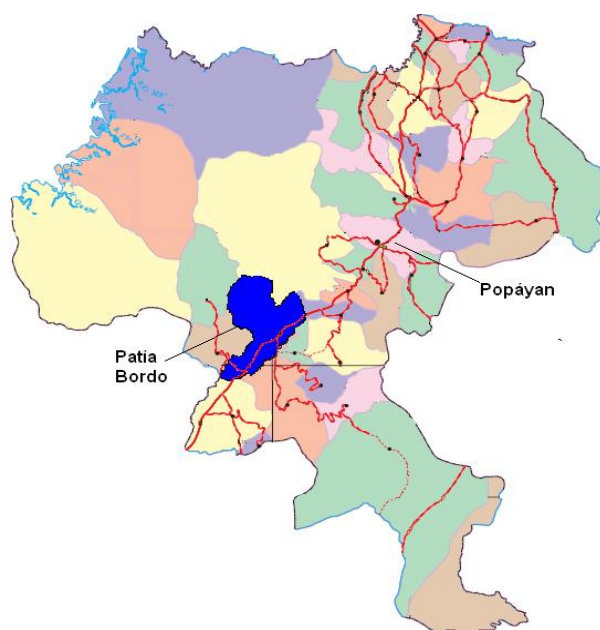
- Balanza triple brazo, OHAUS, serie 700 - 800 (20 Kg)
- Balanza electrónica semianalitica, AVENTURE OHAUS (310 ± 0.001)
- Balanza electrónica METTLER AE 200 (200g ±0.0001)
- Conductímetro, Termo Orion
- Centrifuga, Internacional Equipment Company ECB – 22 - M
- Despulpadora COMEX, referencia 200. Tamiz 0.05 mm
- Estufa, CORNING PC - 240
- Espectrofotómetro UV- Vis, TERMO electronic
- Evaporador rotativo, HEIDOLPH, 4001
- GPS, Map 76 Garmin
- Horno, FISHER SCIENTIFIC ISOTEMP OVEN, Mod. 737G
- Liofilizador, LABCONO
- Manta calefactora, Fischer Scientific
- Mufla, Terrigeno F2PGA
- MiniVap Supelco con pipa de nitrógeno
- pH metro, Fischer Scientific Accument Basic AB15.
- Refractómetro, Abbé
- Tubos para diálisis, (Fisherbrand, regenerated cellulose)
- Unidad de destilación para determinación de nitrógeno
- Ultrasonido, Brasonic 151 OR – MT

2.2 TOMA Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

Para el desarrollo de este trabajo se eligió una variedad de totumo (*Crescentia cujete L.*), producida en la región del Patía, el lugar donde fueron recolectados se eligió por su considerable producción de frutos. Estos se trasladaron al laboratorio para posteriormente realizar los análisis fisicoquímicos de la semilla, la extracción del aceite y así obtener la torta para los análisis.

2.2.1 Sitio de muestreo. El muestreo se realizó en tres zonas del valle del Patía, (figura 6) en el mes de Noviembre de 2007, se recolectaron y seleccionaron 95 frutos.

Figura 6. Mapa del Cauca indicando el sitio de muestreo (Patía, Bordo)



2.2.2 Índice de madurez. Con el fin de realizar un muestreo lo más homogéneo posible, se elaboró una tabla de madurez donde se tuvieron en cuenta características físicas como color y textura y, químicas como grados brix, pH e índice de refracción para frutos en seis estados de madurez desde el más verde hasta el sobremaduro.

2.2.3 Recolección de los frutos. Debido a que el árbol del totumo no presenta un sistema de cultivo tecnificado, no fue posible establecer un patrón definido de muestreo para la variedad seleccionada, por ello, se realizó teniendo en cuenta la norma ISO 874⁵³. De la muestra global se obtuvieron las muestras elementales según la siguiente tabla.

Tabla 14. Muestreo de productos a granel (Norma ISO 874)

Masa (Kg) o número total de unidades.	Masa total (Kg) o número de frutos para las muestras elementales
Hasta 200	10
201 – 500	20
501 – 1000	30
1001 – 5000	60
Mas de 5000	100

Fuente: Norma ISO 874 de 1980 actualizado 2001

La muestra elemental fue de 95 frutos, provenientes de un número total de frutos que están en el rango de 1001 – 5000 frutos, encontrados en los sitios de muestreo. Los frutos adquiridos se seleccionaron teniendo en cuenta la tabla de madurez y su estado fitosanitario, rechazando aquellos que presentaron daños por golpes, hongos entre otros y frutos inmaduros o sobre maduros.

2.2.4 Adecuación de la muestra. Los frutos se lavaron y se cortaron manualmente en mitades longitudinales; separando el pericarpio de la pulpa con cucharas, lo más rápido posible para evitar la oxidación. Para separar la semilla de la pulpa se utilizó una despulpadora marca COMEX (ref. 200) con un tamiz 0.05 mm. Las semillas obtenidas fueron lavadas hasta obtener una semilla limpia de pulpa. Luego se secaron a 60°C por 12 horas, posteriormente se trituraron en un molino de discos (CORONA), se rotularon y se almacenaron en un desecador para ser utilizadas en el laboratorio.

Rendimiento del despulpado. El material colectado se pesó unitariamente fruto por fruto, luego de la separación de la cáscara y del despulpado, es decir, de la separación de la pulpa de la semilla, se realizaron pesajes para cada componente. El rendimiento es calculado a partir del peso obtenido para componente (cáscara, semilla y pulpa) respecto al peso total de los frutos enteros.

⁵³ ISO 874: 1980. Fresh fruits and vegetables sampling. Fecha de ratificación 2000

2.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL FRUTO

Descripción general de la especie. Se determinaron parámetros físicos como color, forma y textura del fruto en general y de la semilla.

Tamaño, forma y peso. Los frutos fueron pesados de manera individual en una balanza triple de brazo marca OHAUS de 1 g de precisión. Posteriormente su tamaño se determinó midiendo su zona ecuatorial y su zona axial y por observación se estableció la forma más común que presentan.

Color y textura de las partes del fruto. Estos parámetros se evaluaron por observación directa.

Semilla. Los parámetros evaluados en la semilla fueron los mismos que se evaluaron para el fruto

Pulpa. Por observación directa se evaluaron algunas características de esta fracción, como: forma, color y textura.

Cáscara. Para esta fracción se procede de igual manera que con la semilla, evaluando color, apariencia y textura.

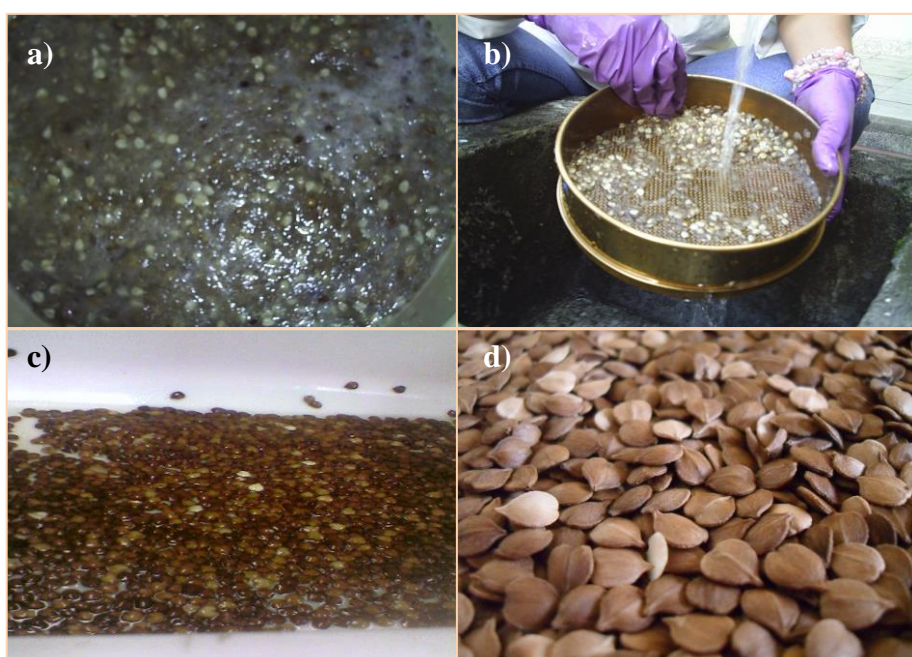
2.4 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA SEMILLA DEL TOTUMO

En el muestreo se seleccionaron los frutos de acuerdo a la tabla de madurez que se mencionó en el punto 2.2.2, tomando aquellos que tenían características iguales de color en la cáscara.

2.4.1 Tratamiento de la semilla. La semilla obtenida se sometió a un lavado para dejarla libre de pulpa y venaciones. El lavado se realizó utilizando un tamiz y bajo un chorro de agua. En la figura 7 se observa la semilla inmediatamente después del despulpado (a), el lavado de la semilla (b) y la semilla libre de pulpa y venaciones (c). Posteriormente se sometió a secado a 60 °C por un espacio de 24 horas para eliminar el agua que había ganado durante el lavado obteniendo la semilla seca.

La semilla, exenta del agua de lavado y de otros componentes del fruto, tales como, pulpa adherida a la semilla y venaciones se trituro por un molino de disco para obtener una muestra mas homogénea, se secó a 105°C, para determinar su humedad, se rotuló y se almacenó en un desecador.

Figura 7. Tratamiento de la semilla de totumo (*Crescentia cujete* L.) a) Semilla con residuos de pulpa y venaciones. b) Lavado de la semilla. c) Semilla húmeda. d) Semilla seca.



Fuente: Yohana Ortiz

2.4.2 Análisis fisicoquímico de la semilla

Análisis proximal de la semilla de totumo. A continuación se describen los métodos utilizados para el análisis proximal de la semilla (Tabla 15).

Tabla 15. Métodos analíticos para caracterización de la semilla de totumo

DETERMINACIÓN	DESCRIPCIÓN	MÉTODO DE ANÁLISIS
Humedad	Desecación a 100-105 °C en estufa a presión constante	A.O.A.C 7.003/84, 930.15/90
Cenizas	Calcínación a 550 °C	A.O.A.C 7.009/84, 942.05/90
Extracto eterno	Extracción Soxhlet	A.O.A.C 7.060/84, 920.39/90
Proteína bruta	Digestión ácida y destilación de nitrógeno	Método modificado de Kjeldahl
Fibra bruta	Digestión ácido – base y calcínación	A.O.A.C 7.066/84, 962.09/90
Extracto no nitrogenado	Por diferencia	—

Fuente: A.O.A.C., 2003 y normas para alimentos del grupo de Investigación de Química de productos naturales (QPN), adscrito a la Universidad del Cauca.

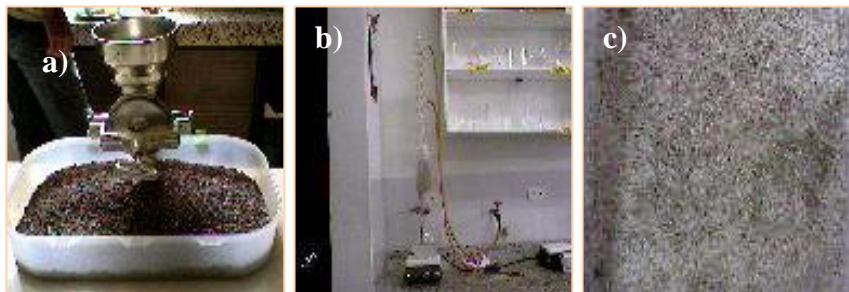
2.5 OBTENCIÓN DE LA TORTA TAMIZADA

A la semilla seca y molida se le realizó una extracción a 12 h, utilizando como solvente n-hexano en un equipo soxhlet de 1000 mL. Para eliminar los restos de solvente en la semilla desengrasada se dejó extendida sobre una superficie plana a temperatura ambiente. El residuo agotado luego de la extracción soxhlet se denomina a nivel industrial torta (figura 8) y su estudio es el objetivo principal de este trabajo.

Debido a que la almendra tiene adherida la cascarilla está se sometió a una molienda en un procesador de alimentos (black & deckcer ref. HC3000), de hay que el contenido de fibra se hizo más notorio, para disminuirla y facilitar el análisis, la torta se pasó por dos tamices, uno N° 12 y N° 18, obteniendo dos fracciones de residuos y la torta tamizada para el análisis, las fracciones se denominaron F12, F18 y T18 respectivamente. El proximal se realizó a los residuos, para verificar su composición y pérdidas de macronutrientes en el tamizado. A la torta tamizada se le hicieron todos los análisis descritos en la tabla 15. Para calcular los porcentajes de rendimiento de la torta, la semilla se peso antes y después de la extracción Soxhlet.

Figura 8. Proceso para la obtención de la torta

a) Molienda. b) Desengrasada. c) Torta o extracto agotado



Fuente: Yohana Ortiz

2.5.1 Análisis proximal de la torta tamizada

Este análisis se realizó utilizando los métodos citados en la tabla 15, exceptuando el de cenizas donde la calcinación se realizó a 650 °C por 18 h. Los resultados se compararon con el análisis de la semilla para determinar si la extracción etérea produjo algunos cambios en su composición.

2.6 DETERMINACIÓN DE MINERALES^{54, 55}

El análisis de minerales se realizó por medio de espectrofotometría de ultravioleta-visible utilizando métodos que ya se encuentran normatizados en el grupo de Investigación en Química de Productos Naturales (Q.P.N), de la Universidad del Cauca.

Preparación de la muestra. La muestra calcinada se sometió a digestión, para ello se pesaron 0.0030 ± 0.0001 g de cenizas y se adicionó 5 ± 0.1 mL de HCl (1:1), se calentó a ebullición hasta evaporar completamente. Este procedimiento se repitió dos veces más. En la tercera adición de ácido, la muestra ebulló durante 30 min, se dejó enfriar y se filtró utilizando un filtro Wattman N° 1, el líquido se transfirió a un matraz volumétrico de 50 ± 0.06 mL junto con los lavados y se aforó con agua desionizada. La digestión de la muestra se realizó por triplicado.

⁵⁴ BERNAL DE RAMIREZ. Op. cit., p 53-56

⁵⁵ ESTANDAR METHODS for examinations of water and wastes water. 20th edition. 1990. p. 3-139

2.6.1 Determinación de fósforo por el método del cloruro estañoso^{54, 55}. Para la determinación de fósforo por este método fue necesario preparar una curva, utilizando como patrón fosfato diácido de potasio.

Preparación de la curva de calibración:

Reactivo 1: Se pesaron $2.5000 \text{ g} \pm 0.0001$ de molibdato de amonio en un erlenmeyer de 50 mL y se adicionaron 17.5 ± 0.1 mL de agua desionizada, se mezcló con 28 mL de ácido sulfúrico, se diluyó y aforó a $100 \text{ mL} \pm 0.1$.

Reactivo 2: De cloruro estañoso II, se pesaron $1.2500 \text{ g} \pm 0.0001$ y se diluyeron en 50 mL de glicerina.

Solución patrón de fosfato: Se pesaron 0.0220 ± 0.0001 g de fosfato diácido de potasio anhidro, el cual previamente fue secado durante 1 h a $100\text{-}105 \text{ }^\circ\text{C}$, se transfirieron a un matraz volumétrico de 100 ± 0.1 mL y se completó con agua desionizada.

Procedimiento: A partir de la solución patrón se prepararon soluciones entre un intervalo de $0.05 - 0.35$ ppm de fósforo en matraz aforados de 25 ± 0.04 mL.

Se tomaron 25 mL de las soluciones patrón y se adicionó 1 ± 0.01 mL de reactivo 1 y 0.15 mL (3 gotas) del reactivo 2, se agitó y se dejó en reposo durante 10 min. La lectura en el espectrofotómetro se realizó entre los 10 min y 12 min siguientes, a una longitud de onda de 690 nm. A partir de los datos se determinó el coeficiente de linealidad.

Análisis de fósforo en la muestra: De la solución de digestión se tomaron $300 \pm 0.06 \mu\text{L}$, se transfirieron a un matraz aforado de 25 ± 0.04 mL y se aforó, con agua desionizada, se adicionaron 1 ± 0.01 mL del reactivo 1 y 0.15 mL (3 gotas) del reactivo 2, se agitó la solución y a los 10 min se midió su absorbancia a 690 nm.

2.6.2 Determinación de hierro por el método de fenantrolina^{54, 55}. En este método fue necesario realizar una curva de calibración con tritisol de hierro para poder determinar el contenido de hierro en la muestra por interpolación.

Reactivos:

Ácido clorhídrico libre de hierro, (38 % pureza P.A).

Solución de acetato de sodio: Se pesaron 20.0000 ± 0.0001 g de acetato de sodio y se llevaron a un matraz aforado de 100 ± 0.1 mL y se aforó con agua desionizada.

Reactivo de hidroxilamina: Se disolvieron 10.0000 ± 0.0001 g de hidroxilamina en 100 ± 0.1 mL de agua desionizada. Se envasó en un frasco color ambar.

Solución de fenantrolina: se pesaron 0.5030 ± 0.0001 g de 1,10-fenantrolina monohidratada en 100 ± 0.1 mL de agua desionizada.

Solución patrón de hierro: A partir de un tritisol de hierro de concentración 1000 ppm se preparó una solución de hierro de 100 ppm. Se tomaron 10 ± 0.02 mL de el tritisol y se aforaron a 100 ± 0.1 mL con agua desionizada. Se determinó el coeficiente de correlación de la curva como factor estadístico para determinar su aplicación en la cuantificación.

Preparación de la curva patrón: De la solución patrón se tomaron los siguientes volúmenes 75, 125, 250, 500, 1000 y 1500 μ L en balones aforados de 25 ± 0.1 mL. A cada uno se le adicionó 1 ± 0.01 mL de HCl concentrado, 1 ± 0.01 mL de la solución de hidroxilamina, 5 ± 0.1 mL de la solución de acetato de sodio y 5 ± 0.1 mL de fenantrolina, se completó el volumen con agua desionizada, se dejó reposar durante 15 min y se registró la absorbancia a 510 nm para cada uno.

Análisis de hierro en la muestra: Se tomaron 12 ± 0.02 mL de la solución digestada y se adicionaron 1 ± 0.01 mL de HCl concentrado, 1 ± 0.01 mL de la solución de hidroxilamina, 5 ± 0.1 mL de la solución de acetato de sodio y 5 ± 0.1 mL de fenantrolina, se aforó a 25 ± 0.04 mL con agua desionizada se dejó reposar durante 15 min y se realizó la medida de absorbancia a 510 nm.

2.6.3 Determinación de calcio y magnesio por titulación con EDTA^{54, 55}

Reactivos:

Solución 0.01 M de EDTA: Se pesaron 0.3723 ± 0.0001 g de sal disódica de EDTA libre de humedad y se transfirió a un balón aforado de 100 ± 0.1 mL, se aforó el volumen con agua desionizada.

Solución de calcio estándar 0.01 M: 0.1000 ± 0.0001 g de carbonato de calcio anhidro grado analítico se transfirieron a un erlenmeyer de 50 mL, se adicionó HCl 1:1 hasta disolución total. Se agregaron 20 ± 0.03 mL de agua desionizada y se calentó hasta ebullición para expulsar el gas carbónico. Se dejó enfriar y se añadieron unas gotas de rojo de metilo ajustando el color naranja, luego se agregó hidróxido de amonio 3N o ácido clorhídrico 1:1, para ajustar el pH de la solución. Se aforó a 100 ± 0.1 mL con agua desionizada.

Indicador de Murexida: En un mortero se adicionó 0.100 ± 0.001 g de murexida con $0,900 \pm 0.001$ g de cloruro de sodio, se maceró para formar una mezcla del 1 % de cloruro de sodio.

Indicador de Negro de Eriocromo T: Se pesó 0.010 ± 0.001 g del indicador y 1 ± 0.001 g de cloruro de sodio, se maceraron y se mezclaron.

Solución tampón a pH 10: 6.400 ± 0.001 g de cloruro de amonio se disolvieron en agua desionizada y se agregaron 57 mL de hidróxido de amonio concentrado y se completó a 100 ± 0.1 mL con agua desionizada.

Solución de hidróxido de sodio pH 12: 24.000 ± 0.001 g de NaOH se disolvieron en 100 ± 0.1 mL de agua desionizada.

Procedimiento: Estandarización de la solución de EDTA. Se tomaron 2 ± 0.01 mL de la solución estándar de calcio en un erlenmeyer y 50 mL de agua desionizada. Se añadieron 1 a 2 mL de la solución tampón (pH 10), se adicionó 0.01 mg de la mezcla sólida de indicador Negro de eriocromo T, (aproximadamente la punta de la espátula) y se tituló con la solución de EDTA hasta viraje del indicador de rojo vino a azul.

Preparación de la muestra: 25 ± 0.1 mL de la solución de digestión se transfirió a un erlenmeyer de 200 mL, la muestra se alcalinizó con una solución de NaOH hasta alcanzar un pH entre 6.5 y 7. Se aforó a 100 ± 0.1 mL con agua deionizada. Esta solución se empleó para determinar calcio y magnesio.

Determinación de calcio y magnesio en la muestra: Se tomaron 25 ± 0.1 mL de la solución anterior y se adicionaron 3 gotas de trietanolamina, 1 ± 0.01 mL de la solución tampón y 0.01 mg (la punta de la espátula) de la mezcla sólida de indicador negro de eriocromo T. Se agitó por varios minutos y se tituló lentamente con agitación constante, con la solución de EDTA 0.01 M hasta viraje del color rojo al azul.

Determinación de calcio en la muestra: Con una alícuota 25 ± 0.1 mL de la solución de digestión se procedió de igual manera que la anterior, pero reemplazando el indicador negro de eriocromo T por el de Murexida y se añadió solución alcalinizante de NaOH hasta alcanzar un pH entre 12 y 12,5. Se tituló con EDTA 0,01M hasta viraje de rojo a violeta.

2.7 EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE TRANS-B-CAROTENO⁵⁶

Extracción del patrón. El patrón de β -carotenos se extrajo a partir de una zanahoria fresca, protegida de la luz para evitar degradaciones hasta su uso. La zanahoria se peló y fue molida en un procesador de alimentos y se pesaron 10.820 ± 0.001 g. Se trituro en un mortero utilizando como solvente de extracción 10 mL de acetona, este procedimiento se repitió tres veces hasta que la zanahoria tomó un color blancuzco, luego se filtró al vacío utilizando un embudo Gooch, el filtrado se llevó a un embudo de separación de 150 mL, que contenía 15 mL de éter etílico. Para separar la fracción de acetona del éter etílico. Se realizaron lavados con éter etílico hasta que la acetona tomó una tonalidad mas clara.

La solución de éter etílico-carotenos se llevó a sequedad con burbujeo de nitrógeno, utilizando un minivap. Se obtuvo 0.0200 ± 0.0001 g de caroteno que previamente se diluyeron en acetona para realizar un barrido de absorbancia desde 350 nm a 650 nm, y se establece la máxima absorbancia a 450 nm, como la longitud de onda de trabajo.

Preparación de la curva. Se pesaron 0.0200 ± 0.0001 g del caroteno extraído, se diluyó en acetona y se llevó a un matraz aforado de 10 ± 0.02 mL para obtener una solución patrón de 2000 ppm de carotenos, de la cual se prepararon soluciones de concentración 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 ppm. La lectura de absorbancia se realizó a una longitud de onda de 450 nm.

a) Preparación y medición de la muestra. Para el tratamiento de la muestra se pesaron 15.0000 ± 0.0001 g de torta tamizada, se maceraron en un mortero que tenía acetona, y se filtró por un embudo gooch, se concentró y se aforó en un matraz volumétrico de 10 ± 0.02 mL. La medición de absorbancia se realizó a 450 nm y se cuantifico por extrapolación.

2.8 DETERMINACIÓN DE AMINOÁCIDOS

La determinación de aminoácidos totales se llevó a cabo con el método AccQ – Tag⁵⁷, y fue realizado con realizado por Levapan (cede Tulua Valle del Cauca).

⁵⁶ GUTIÉRREZ, Op. cit., p.32-33

⁵⁷ WHITE, J. A *et al.* Op, cit., p 170-177

Determinación de aminoácidos totales. Se pesó 100 mg de torta tamizada y se adicionó a un tubo de ensayo de 16 x 25 mm, se agregaron 5 mL de HCl 6 N, y se burbujeó con nitrógeno para eliminar todo el aire contenido en el tubo, luego se llevó a un horno a una temperatura de 112 °C durante 22 h. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adicionó 10 mL de una solución 2.5 mM de ácido alfa-amino butírico y se aforó a 250 mL con agua grado HPLC. Se tomó una alícuota de 10 mL y se filtró a través de una membrana compatible para ácido de 0.45 µm.

Derivatización. 10 µL del filtrado se mezclaron con 70 µL del buffer AccQ – Tag luego se agregaron 20 µL del reactivo derivatizante ACCQ (6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidil carbamato) y se agitó. Se mantuvo a 55 °C durante 10 minutos.

Análisis: Se aplicaron las siguientes condiciones:

- Sistema de HPLC: Gradiente cuaternario y detector de fluorescencia
- Columna: AccQ – Tag equipada con guarda columna Nova-Pak Sentir C18
- Temperatura de la columna: 37 °C
- Volumen de inyección: 200 µL
- Fase móvil: AccQ – Tag eluyente , acetonitrilo y agua grado HPLC
- Tiempo de corrida: 30 minutos

2.9 EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LAS FRACCIONES PROTEICAS⁵⁸

Se realizó la extracción y cuantificación de cuatro fracciones proteicas: albúminas (ALB), globulinas (GLB), prolaminas (PRL) y glutelinas (GLT), para predecir algunas características reológicas de la harina y proponer un uso a la torta tamizada.

Fraccionamiento de las proteínas de la torta. Se pesaron muestras de 45.4818 ± 0.0001 g. El fraccionamiento se realizó por triplicado.

⁵⁸ GALLEGOS S. et al. Extracción y caracterización de las fracciones proteicas solubles del grano de *Phaseolus lunatus* L. Archivos latinoamericanos de nutrición. Mérida México. 2004. Vol 54. nº1. 81-87 p.

Pretratamiento de los tubos de diálisis⁵⁹:

- Los tubos de diálisis se lavaron en agua destilada durante 15 min
- Se calentó y se agitó el tubo de diálisis en una solución de bicarbonato de sodio 10 mM a 80 °C durante 30 min
- Las membranas se introdujeron en una solución de Na₂EDTA durante 30 min y luego se lavaron con agua desionizada a 80 °C con agitación constante durante 30 min.
- Se dejaron enfriar y se almacenaron en una solución de etanol al 30 % a una temperatura de 4°C, hasta su uso.

Para la extracción de la fracción de ALB y GLB se preparó una solución extractora Na₂HPO₄ 0.05 M + NaCl 0.4 M + K₂SO₄ 0.1434 M (1:1:1), la cual se adicionó a la harina teniendo en cuenta una relación 1:15 de harina / solución extractora. Se agitó de forma mecánica durante 1 h, posteriormente se centrifugó por 45 min a 16000 xg a 20 °C. El sobrenadante se dializó a 4 °C con agitación constante hasta que la conductividad del agua de diálisis fue cercana al valor inicial. Luego de la diálisis la muestra se centrifugó a 16000 xg a 20 °C, durante 25 min, para separar la fracción de ALB que es la soluble y la fracción de GLB que es la insoluble. Las fracciones de ALB y GLB se llevaron a sequedad en un liofilizador por un espacio de 72 h.

El residuo de la extracción se dispersó con isopropanol al 70 %, se agitó durante 2 h y se centrifugó a 16000 g a 20 °C por 45 min. El sobrenadante contiene la fracción de prolaminas (PRL), la cual se concentró en un rotavaporador a 30 °C y 160 atm de presión hasta obtener una muestra libre de alcohol. La fracción de PRL se liofilizó hasta sequedad durante 72 h.

Para la extracción de glutelinas (GLT) se utilizó como solución extractora NaOH 1 M, que se adicionó al residuo de las prolaminas, se agitó por 2 h y se centrifugó a 16000g a 20 °C durante 45 min. El sobrenadante que contiene la fracción de GLT, se dializó hasta que la conductividad del agua fue cercana a su valor inicial, la fracción de GLT quedó en el sobrenadante, el cual se secó en un liofilizador durante 72 h.

Para determinar la cantidad de proteína extraída se determinó nitrógeno realizó al residuo de torta (luego de las extracciones de cada fracción) y se comparó con la proteína de la torta inicial. Para calcular la cantidad de proteína extraída en cada una de las fracciones se utilizó la ecuación 2:

⁵⁹ Protocolo para tubos de diálisis. Laboratorio de biología molecular. Universidad del Cauca.

$$\text{Cantidad de proteína extraída} = \frac{\text{g de proteína extraída en la fracción}}{\text{g de proteína en la torta}} * 100$$

(Ecuación 2)

2.10. DETERMINACIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA DE FACTORES ANTINUTRICIONALES

Se realizaron pruebas cualitativas preliminares para establecer la presencia de la concentración de saponinas, y fenoles. Posteriormente se realizaron los análisis cuantitativos para las pruebas que dieron positivas.

Determinación de saponinas⁶⁰. 10 g de torta tamizada se maceraron en un mortero, se añadieron 30 mL de éter de petróleo y 30 mL de una mezcla 9:1 de metanol-agua. La mezcla se dejó por espacio de 15 min, se filtró y se separó en un embudo de separación la fase acuosa de la fase etérea. Esta solución se utiliza para la prueba cualitativa de saponinas.

Análisis cualitativo: Se tomó 1 mL de la fracción de metanol - agua del proceso anterior y se añadieron 9 mL de agua. Se filtró y se transvasó 1 mL del filtrado a un tubo de ensayo, se agitó vigorosamente por 30 s y se dejó en reposo durante 15 min. La presencia de saponinas, se estableció de acuerdo a la espuma sobrenadante y su altura en la muestra. Los resultados, se interpretaron según la tabla 16

Tabla 16. Nivel del contenido de saponinas

ALTURA (mm)	CONTENIDO DE SAPONINAS
Menor de 5	Negativa
5 - 9	Bajo
10 - 14	Moderado
Mayor de 15	Alto

Fuente: ALEGRÍA, J, *et al.* 30 p.

⁶⁰ DOMINGUEZ. Op. cit., p. 151

Determinación de fenoles totales⁶¹. Se pesaron 2.0000 ± 0.0001 g de torta tamizada y se adicionó 20 mL de una solución metanol en un tubo para centrifuga, el sistema se agitó durante 30 min, se centrifugó por 10 min a 4000 xg, la fase líquida se separó y se aforó a 25 ± 0.04 mL. Esta solución fue utilizada para el análisis cuantitativo y cualitativo, la extracción y los análisis se realizaron por triplicado.

Análisis cualitativo: A un tubo de ensayo se añadieron 10 gotas del extracto metanólico y se adicionaron 10 gotas de agua obteniendo un color amarillo, luego se mezcló con 5 gotas de cloruro férrico al 5 % en HCl 0.5 M. Para la interpretación de los resultados se tuvo en cuenta la tabla 17.

Tabla 17. Carta colorimétrica para la interpretación de resultados

COLOR	CONTENIDO DE TANINOS	TIPOS DE TANINOS
Amarillo	Bajo o nulo	
Azul oscuro	Medio	Taninos poligálicos (taninos hidrosolubles)
Verde oscuro	Alto	Taninos concentrados

Fuente: YI. C; SHI, J. y KRAMER, J. 570-576 p.

Análisis cuantitativo: La determinación de fenoles totales se realizó por ultravioleta – visible a 765 nm y se utilizó como patrón ácido gálico.

Preparación de la curva: Se pesaron 0.02501 ± 0.0001 g de ácido gálico y se aforó a 25 ± 0.04 mL con agua destilada, a partir de esta solución se prepararon soluciones patrones de concentración 9.92, 29.95, 39.97, 79.95, y 89.86 ppm. De cada solución se tomó 0.2 ± 0.01 mL y se le adicionaron 1 ± 0.01 mL de Folin 0.25 N, 0.8 ± 0.01 mL carbonato de sodio al 7.5 % (w/v) y 1 ± 0.01 mL de agua destilada. Se agitó y se dejó reposar durante 2 h en ausencia de luz. La absorbancia fue medida a 765 nm.

Medición de la muestra: Se tomaron 0.2 ± 0.01 mL del sobrenadante y se le realizó el mismo tratamiento que para la curva patrón.

⁶¹ YI. C; SHI, J. y KRAMER, J. Fatty acid composition and phenolic antioxidants of winemaking pomace powder. Food chemistry, Vol 114 . 2009. 570-576 p.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

A continuación se presentan y analizan los datos registrados durante el desarrollo experimental.







3.1 TOMA Y TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

Se dividió en varias etapas iniciando con la elaboración de la tabla de madurez, la recolección y selección de los frutos, seguido de la determinación de los parámetros físicos, del fruto, semilla y pulpa, se continuó con la separación de la pulpa y la semilla de la cáscara, y la obtención de la semilla, por último la extracción del aceite para obtener la torta y realizar los análisis de interés.

3.1.1 Índice de madurez: Para facilitar la caracterización física del fruto, se elaboró una tabla con la clasificación de los frutos de acuerdo a su estado de madurez (tabla 18) en la tabla se incluyeron frutos desde el estado verde (0) hasta el estado sobre maduro (5). Las características físicas para cada tipo de fruto se encuentran registradas en la tabla 18, y las observaciones se realizaron directamente sobre la cáscara.

Con el fin de dar una descripción mas detalla del estado de madurez de los frutos, se registraron los grados Brix, Índice de refracción y pH, datos que se reúnen en la tabla 19, así mismo se describen los colores y textura.

Tabla 18. Clasificación según el estado de madurez de los fruto de totumo (*Crescentia cujete L.*)

Nº	COLOR	pH	GRADOS BRIX	ÍNDICE DE REFRACCIÓN	DESCRIPCIÓN
0		5.2	4	1.3389	Color verde oscuro, completamente formados, y blandos al tacto.
1		5.34	4,6	1.3397	Color verde
2		5.35	4,9	1.3402	Aparecen visos de color amarillo sobre el verde
3		4.7		1.3570	Color amarillo con marrón y corteza dura
4		4.78	15,2	1.3559	Color amarillo con mayor proporción de color marrón
5		4,89	13,1	1.3526	Color marrón y corteza dura

Fuente: Yohana Ortiz

Se puede observar que el cambio de color y textura en la cáscara del fruto esta acompañada por un aumento en el valor de los grados brix, lo cual, indica que cuando el fruto se torna de color marrón el porcentaje de sacarosa o sólidos solubles totales se incrementa, esto se aprecia para los frutos que se encuentran entre el estado de madurez 3 y 4. En el estado de madurez 5 se las características químicas del fruto como la acidez aumenta y, los grados brix disminuyen esto se debe a una deshidratación parcial del fruto, indicando que ha empezado a deteriorarse.

3.1.2 Recolección y selección. Los frutos fueron recolectados en tres fincas del municipio del Patía (Cauca) (figura 2 y 6) los datos de la localización se encuentran en la tabla 19. Estas fincas se escogieron por que presentan una

considerable producción de frutos, su producción es de alrededor de unos 100 frutos de totumo por árbol y su plantación es de alrededor de unos 25000 árboles.⁷

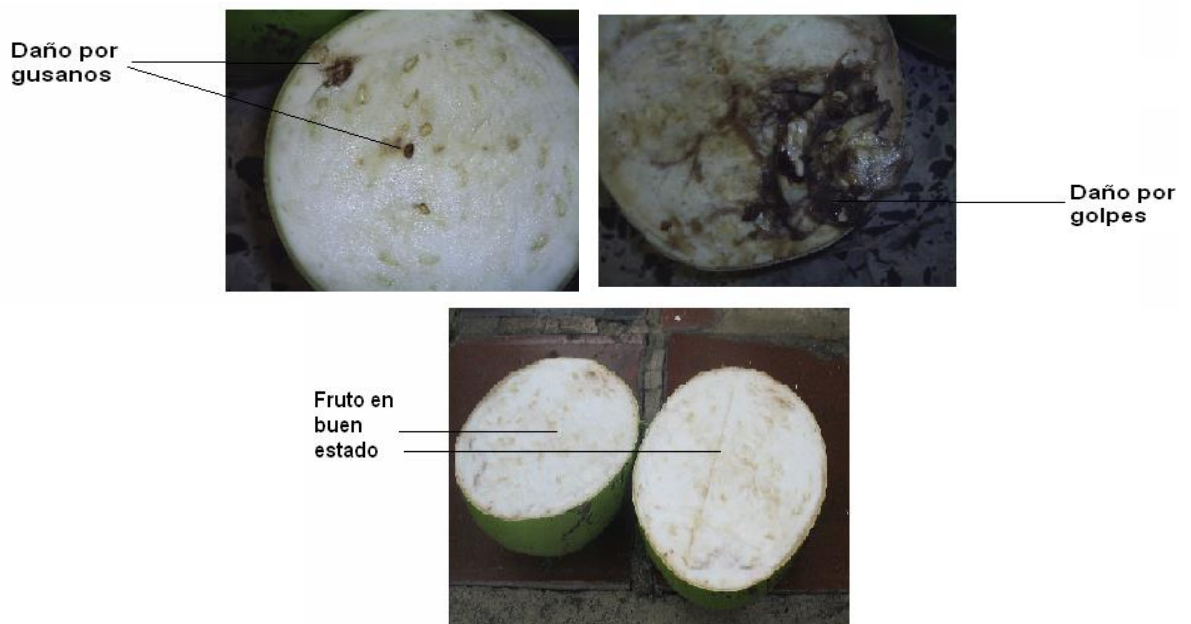
Tabla 19. Localización de los puntos de muestreo

PUNTO	ALTURA (msnm)	LATITUD NORTE	LATITUD OESTE
1	625.6	02° 04' 20.5"	77° 03' 31.5"
2	628.5	02° 04' 31.5"	77° 03' 27.79"
3	627.9	02° 03' 37"	77° 03' 51"

Fuente: Yohana Ortiz

Se recolectaron 96 frutos en estado de madurez 3 y 4 puesto que la cosecha por parte de los productores para la obtención del mate, se realiza en estos estados y es lo que constituirá gran parte del residuo al cual se le pretende dar aprovechamiento. Los frutos fueron trasladados al laboratorio, 12 de ellos se encontraban en mal estado como consecuencia de golpes, presencia de insectos u otros organismos tanto en el interior como en el exterior del fruto (figura 9). De esta forma el número de frutos seleccionados fue de 84 los cuales se destinaron para obtener la torta.

Figura 9. Frutos dañados por presencia de insectos y golpes, comparado con un fruto en buen estado.



Fuente: Yohana Ortiz

3.1.3 Caracterización física del fruto de totumo (*Crescentia cujete L.*). Los frutos tienen características físicas iguales a los frutos en estados de madurez 3 y 4. Un promedio general de los datos físicos registrados de los frutos seleccionados, se consignan en la tabla 20 y una tabla detallada se puede consultar en el anexo (Tabla 38).

Tabla 20. Caracterización física promedio del fruto de totumo (*Crescentia cujete L.*)




DIÁMETRO APROXIMADO (cm)		COLOR*	FORMA	PESO APROXIMADO
AXIAL	ECUATORIAL			
8.8 – 16.8	8.0 – 15.4	3 y 4	Ovalada - esférica	754.74

Fuente: Yohana Ortiz

* Tabla 19, se puede apreciar el color.

El fruto esta compuesto de tres grandes fracciones; cáscara, semilla y pulpa, en la tabla 21 es posible observar detalles de la apariencia de cada una de las partes del fruto una vez se han separado.

Tabla 21. Características físicas de la cáscara pulpa y semilla del fruto de totumo (*Crescentia cujete L.*)

FRACCIÓN	CARACTERISTICA FÍSICA	FOTO
Cáscara	Color amarillo con mayor proporción de marrón, su resistencia es firme.	
Pulpa	Es de color blanca consistencia blanda y fibrosa y en su interior tiene distribuidas las semillas.	
Semilla	Son de color marrón y su endospermo es de color blanco, su forma es cardiode y de consistencia firme	

Fuente: Yohana Ortiz

Al realizar la separación de la pulpa con semilla, de la cáscara, se observa que la pulpa es de color blanco. Si el proceso de despulpado es lento, la pulpa se oxida al exponerse al aire, presentándose una reacción de pardeamiento⁶² tomando un color café característico de las semillas.

3.1.3.1 Caracterización física de la semilla. Se registraron observaciones sobre su forma, color, textura y peso para semillas de los frutos recolectados en los estado de madurez 3 y 4, (ver tabla 22).

Las semillas se encuentran distribuidas sobre la pulpa y su color es amarillo. En el proceso de despulpado la pulpa adherida a las semillas se oxida confiriéndoles un color marrón. La semilla se encuentra constituida por testa y almendra, la testa es de color marrón y de textura firme y la almendra es de color amarillo, textura blanda y olor dulce al igual que su sabor.

Tabla 22. Características físicas de la semilla de frutos de totumo (*Crescentia cujete L*) en estado de madurez 3 y 4

CARACTERÍSTICAS		OBSERVACIÓN
Tamaño de la semilla	Diámetro	5 -6 mm
	Largo	7 – 9 mm
	Grosor	1 – 2 mm
Forma		Cardiode
W promedio (100 semillas)		4.02 g
Color		Marrón
Textura		Firme

Fuente: Yohana Ortiz

3.1.4 Rendimientos del despulpado. Debido a la dificultad para separar manualmente las semillas de la pulpa, puesto que son muy pequeñas frente a la cantidad de pulpa y teniendo en cuenta que la pulpa tiene una textura blanda y resbaladiza, la separación de las semillas se realizó con una despulpadora de frutas optimizando tiempo y rendimientos. Los porcentajes de rendimiento de las fracciones obtenidas se encuentran registrados en la tabla 23.

⁶² ALEGRÍA, Op. cit., 12-13

Tabla 23. Rendimientos por fracción en el proceso de despulpado del fruto de totumo (*Crescentia cujete L*)

PRODUCTO	PESO (g)	FRACCIÓN (g / 100 g)
Materia prima	63230	100
Pulpa + semilla	52002	82.24
Cáscara	11228	17.75
Semilla con pulpa residual	14405	22.78
Semilla húmeda lavada	1959.97	3.10
Semilla seca	723.55	1.14
Semilla molida	638.432	1.0

Fuente: Yohana Ortiz

Se obtienen tres fracciones, cáscara, pulpa y semilla que en conjunto representan el 100 % de la materia prima inicial. Al separar la semilla, se observa que retiene pulpa adherida en la superficie y es necesario lavarla sucesivamente hasta dejarla libre de pulpa. Este procedimiento deja las semillas impregnadas de agua que es eliminada por desecación a 60 °C con el fin de no afectar los componentes de la semilla, lo que permite determinar con mayor precisión en que proporción se encuentra la semilla en el fruto.

Durante el proceso de molienda realizado para desintegrar las semillas se generaron pérdidas de 11.76 % respecto a la semilla seca, debidas a salpicaduras y partes de semillas que se quedaron en los discos del molino utilizado.

Tanto la semilla seca como su harina integral representan el 1 % del peso global del fruto, aunque es un rendimiento bajo, debe considerarse que si en la zona del muestreo, cada árbol puede producir 100 frutos anualmente y se tiene aproximadamente 25000⁷ árboles, anualmente podría producirse 1547 toneladas de semilla más pulpa como residuos correspondientes a 21.5 toneladas de semilla seca. Esto permite aprovechar integralmente este fruto ya que actualmente solo se utiliza su cáscara o mate con fines artesanales o como empaque natural para alimentos. La pulpa y la semilla son utilizadas como alimento para el ganado y en la elaboración de medicamentos para la gripa de forma artesanal, no obstante gran cantidad de pulpa y semilla son residuos agroindustriales².

3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA SEMILLA DEL TOTUMO

Con el fin de ofrecer alternativas para el aprovechamiento integral del fruto del totumo y determinar como el proceso de extracción de lípidos influye en su valor nutricional, en el presente trabajo, se realizó un estudio comparativo de la composición química de la semilla y de la torta para ello se analizó la

composición en macronutrientes y minerales como calcio, hierro, fósforo y magnesio de la semilla.

3.2.1 Composición de la semilla entera. La semilla seca fue sometida a un proceso de molienda con el fin de lograr su homogenización, de esta forma se obtuvo como una harina integral debido a que no fue tamizada. Su análisis proximal fue comparado con los resultados obtenidos para la especie *alata* originaria de Honduras⁶³.

Tabla 24. Composición en macronutrientes de la semilla entera de *Crescentia cujete* L y *Crescentia alata*

DETERMINACIÓN	<i>Crescentia cujete</i> (%)		<i>Crescentia alata</i> (%)	
	M.S	M.H.	M.S	M.H.
Humedad	-	4.60	-	7.8
Materia seca	100	95.4	100	92.2
Proteína cruda *	22.5	21.81	25.1	23.1
Fibra cruda	25.93	24.74	16.8	15.5
Grasa	40.01	39.17	33.4	30.8
Ceniza	2.93	2.79	3.2	2.9
Carbohidratos solubles	8.63	6.89	21.5	19.9

Fuente: Yohana Ortiz

* Factor utilizado 6.25 (N * 6.25)

MS = Materia seca. MH = Materia humedad

La semilla seca y molida presenta un contenido de humedad del 4.60 %, debe indicarse que durante el secado previo a la molienda se eliminó el contenido de agua de lavado y parte de la humedad propia de la semilla. Al comparar los valores de humedad del material en estudio con cereales integrales (9 a 13.5 %) ⁶⁴ se encuentra que la cantidad de agua es menor en la semilla de totumo. Sin embargo, es semejante al de semillas oleaginosas que se encuentra entre 4.8 a 10 %, debido a que son deshidratadas antes de determinar su humedad por el alto contenido de aceite que presentan. La semilla de *Crescentia alata* tiene un contenido de humedad mas alto, puesto que el agua de lavado se eliminó por exposición al sol ⁶⁵ a diferencia de la semilla de *cujete* cuyo secado se realizó en estufa, previo a la humedad. Es importante resaltar que los procesos de secado a los que son sometidas las semillas determinan el contenido de agua en estas.

La proporción de agua en un alimento esta íntimamente relacionado con la actividad acuosa, una propiedad muy importante que indica la disponibilidad de

⁶³ GÓMEZ BRENES, Roberto A. y BRESSANI, Ricardo. Op. cit., p. 226 – 242

⁶⁴ BERNAL DE RAMIREZ. Op. cit., p. 35 - 38

⁶⁵ GÓMEZ BRENES, Roberto A. y BRESSANI, Ricardo. Op. cit., p. 226 – 242

agua en los alimentos y además es una herramienta que contribuye a determinar su estabilidad cuando son almacenados, debido a que permite predecir reacciones de deterioro. Frutas, legumbres y huevos con contenidos de humedad entre 75 a 90 % presentan una actividad acuosa de 0.97 que puede conducir al desarrollo de microorganismos, a diferencia de los frutos secos en los que el agua está entre 7.1 a 3.7 % y sus actividades acuosas en el rango de 0.72 a 0.80, porcentajes óptimos para reacciones enzimáticas e hidrólisis no enzimáticas. Otras reacciones como pardeamiento no enzimático y oxidación de lípidos se dan a actividades acuosas entre 0 a 0.7 disminuyendo así el valor nutritivo y las características organolépticas de los alimentos⁶⁶. Para la semilla de totumo (*Crescentia cujete* L.) la proporción de agua puede relacionarse con una actividad acuosa baja, factor que se debe tener en cuenta por su alto contenido de grasa ya que es un medio óptimo para reacciones de oxidación lipídicas catalizadas por enzimas lipasas y lipoxidasas⁶⁷ haciendo así difícil su almacenamiento. Con el fin de garantizar el valor nutritivo y las características organolépticas de esta semilla se recomienda controlar el secado evitando una disminución drástica de la humedad.

La semilla de totumo tiene una alta fracción lipídica, similar al contenido de girasol, que es de 42.5 %, esto permite catalogarla como semilla oleaginosa y realizar comparaciones con estas semillas. También se puede observar que el contenido lipídico en la semilla *cujete* es mayor que en la *alata*, indicando que los valores de grasa en las semillas varían dependiendo de la especie. Un estudio preliminar demostró que el aceite de las semillas de totumo es rico en ácidos grasos como palmítico, esteárico, oleico linoleico y linolénico razón por la cual, puede ser utilizado en el campo alimenticio, industrial o cosmético⁶⁸.

En la semilla entera de totumo la proteína es aproximadamente una cuarta parte de su peso (22.5%), valor que se encuentra en el intervalo establecido para semillas oleaginosas (22.3 a 37.5 %). Considerando que la extracción del aceite en estas semillas concentra el contenido de nutrientes, actualmente las investigaciones están enfocadas a determinar el valor biológico de las proteínas en las tortas para darles utilidad en el campo alimenticio⁶⁹. Al realizar la comparación con cereales (10.8 – 16.4 %) se observa que la semilla de totumo tiene una mayor proporción de proteína, puesto que este nutriente es indispensable en las semillas debido a que es parte fundamental en su germinación. Además se observa que la proporción de proteína en la especie *cujete* es menor que en la especie *alata*, esto se debe a que no pertenecen a la misma especie y a que la semilla de *cujete* tiene mayor contenido de otros nutrientes.

⁶⁶ CHEFTEL, Jean – Claude y CHEFTEL, Henri. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Vol. 1. Editorial ACRIBA. Zaragoza, España. 1999. 30 p.

⁶⁷ BELITZ. Op. Cit., p. 4-5.

⁶⁸ MUÑOS. Op. cit., p 79-80

⁶⁹ BERNAL DE RAMIREZ, Op. Cit., p. 9.

La fibra representa un 25.93 % de la semilla de totumo, un valor alto cuando se compara con el contenido de fibra de semillas como el maní, la soya, el girasol y el algodón, (2.3 a 10 %). Esto es de esperarse debido a que el tegumento o cascarilla no ha sido separado constituyendo así una parte considerable del peso de la semilla. Una alta cantidad de fibra en la nutrición humana disminuye la absorción de nutrientes como los minerales, pero es favorable en alimentación animal, particularmente, en animales poligástricos.⁷⁰ Si su aplicación se enfocara hacia la alimentación humana, sería indispensable aplicar un proceso de molienda y tamizaje con el fin de disminuir este nutriente sin eliminarlo totalmente, lo cual no es conveniente debido a que el porcentaje de fibra es alto, y este proceso influye negativamente sobre el porcentaje de rendimiento de la semilla. Además la fibra es importante a nivel digestivo debido a que estimula, el peristaltismo intestinal mejorando la digestión.⁷¹

El porcentaje de cenizas para la harina integral de totumo (2.93 %) se encuentra en el intervalo característico para semillas oleaginosas (2.3 a 5.6 %) que no han sido sometidas a ningún proceso de refinado⁷². Puesto que altos contenidos de cenizas suelen relacionarse con altos contenidos de fibra, sin embargo también dependen de la presencia de otros nutrientes como la grasa, la proteína y la fibra a que están en mayor proporción.

El análisis de minerales se realizó a calcio, fósforo, hierro y magnesio por que son los que frecuentemente se encuentran en mayor proporción en alimentos.

Tabla 25. Composición mineral de la semilla entera de totumo *Crescentia cujete* L (mg / 100 g)

CONTENIDO	<i>Crescentia cujete</i>	
	M.S	M.H
Calcio	69.40	66.62
Fósforo	662.3	631.83
Magnesio	158.57	151.28
Hierro	9.20	8.80

Fuente: Yohana Ortiz

Los resultados para minerales indican que la semilla entera es una fuente rica en fósforo, hierro y calcio debido a que sus valores se encuentran por encima al de otras semillas enteras que están entre 256 – 406 mg / 100g MS para el fósforo, 2.6 – 3.3 mg / 100g MS para el hierro y 15 – 64 mg / 100g MS para el calcio. Aunque hay que tener en cuenta que gran parte del fósforo podría

⁷⁰ *Ibíd.*, p. 9.

⁷¹ BATEMAN John V., *Nutrición Animal*, Primera edición, Editorial HERRERO HERMANOS. MEXICO, 1970. p 219 - 221

⁷² BERNAL DE RAMIREZ, Op. Cit., p. 35-37.

encontrarse como ácido fítico el cual disminuye la absorción de minerales como el hierro y el calcio⁷³

La fracción de carbohidratos solubles esta compuesta por azúcares, ácidos orgánicos, pentosas, almidón y hemicelulosa. Esta fracción es importante en los alimentos debido a la energía que aportan. En la semilla los carbohidratos solubles encontrados por diferencia (8.63 %) están dentro del intervalo para semillas oleaginosas (8 a 24.5 %). Este valor representa una fracción pequeña de la semilla debido a que nutrientes como proteína, grasa y fibra se encuentran en mayor cantidad. La observación directa de la semilla entera permite apreciar gran cantidad de fibra concentrada en la cascarilla y tegumento que la rodean las cuales no fueron separadas para el análisis; la almendra es pequeña y ligeramente grasosa al tacto. La semilla de la especie *alata* presenta un comportamiento similar, aunque se observa una proporción ligeramente mayor debido a que nutrientes como grasa y fibra están en menor cantidad que en la especie *cujete*.

El alto contenido de fibra en la semilla de totumo, dificultaría su aplicación en la alimentación humana, debido a que este nutriente disminuye la absorción de minerales, y sería indispensable un tamizado para su procesamiento. Dentro de este contexto, sería mas ventajoso proponerla como materia prima para la elaboración de concentrados para animales poligástricos, puesto que estos cuentan con las enzimas necesarias para degradarla en ácidos de cadena corta y convertir la fibra en fuente de energía. Sin embargo, es más conveniente aprovechar su contenido lipídico para la explotación del aceite y puesto que la proporción de proteína aumentaría en la torta resultante esta podría potenciarse hacia la nutrición animal o humana, como la torta de la semilla de la especie *alata*,¹² no obstante, se hace necesario conocer la composición nutricional de la torta la cual es el objetivo de este trabajo.

3.3 OBTENCIÓN DE LA TORTA TAMIZADA

Del estudio de la semilla de totumo se concluye que es de tipo oleaginosa, por lo tanto la producción de aceite puede industrializarse, con la subsecuente generación de grandes cantidades de torta que podría aprovecharse si se conoce su proporción de nutrientes. Con el fin de contar con un cálculo aproximado de la torta resultante después de la extracción del aceite, se procedió a optimizar este proceso.

3.3.1 Extracción del aceite. Para establecer el rendimiento máximo en la separación de aceite por el método de soxhlet, la semilla seca y molida se sometió a dos extracciones a 12 y 18 h con n-hexano, criterio que se decidió

⁷³ DEMAN, Op. cit., p. 216 - 218

basándose en estudios previos donde se reporta que a 8 h de extracción hay una eficiencia del 39.40 %.¹⁵ En la tabla 26 se reportan los rendimientos de extracción.

Tabla 26. Rendimientos en la extracción del aceite de la semilla de totumo

Nº DE EXTRACCIONES	1	2
Muestra (g)	46.75	46.72
Aceite (g)	19.63	20.71
Tiempo (h)	12	18
Grasa (%)	41.98	44.32

Fuente: Yohana Ortiz

De la comparación del porcentaje de aceite obtenido se concluye que entre las 12 y las 18 h la fracción lipídica extraída tiene un incremento de aproximadamente 1 g, lo que no justifica realizar la extracción por encima de este periodo, debido a que el tiempo y costos de extracción no son económicamente rentables. En este trabajo el aceite se obtuvo por medio de un procedimiento soxhlet con n- hexano durante 12 h

3.3.2 Porcentajes de rendimiento de la torta tamizada y las fracciones luego del tamizado. La proporción de torta entera obtenida luego de separar la fracción lipídica, corresponde a aproximadamente la mitad del peso de la semilla entera, teniendo en cuenta que el aceite extraído representa alrededor del 40 %. La tabla 27 registra las pérdidas que se presentaron durante el tamizado.

Tabla 27. Fracción porcentual de la torta entera y los productos del tamizado

PRODUCTO	PESO (g)	g / 100 g
Semilla entera	638.43	100
Torta entera	349.78	54.79
Aceite extraído	267.99	41.97
Perdidas de semilla*	20.67	3.24
Fracción tamiz 12 (F12) **	70.87	20.26
Fracción tamiz 18 (F18) **	85.26	24.37
Torta tamizada (T18) **	169.96	48.59
Perdida tamizado**	23.70	6.77

Fuente: Yohana Ortiz

* Respecto a la extracción del aceite

** Respecto al tamizaje de la torta

Las pérdidas de semilla entera que se dan durante la extracción de la fracción lipídica son bajas, por lo que no afectan la producción de torta. Estas pérdidas se deben a que los cartuchos utilizados tenían un poro grande y las partículas muy finas de almendra pasaron al solvente junto con el aceite, que a su vez debió filtrarse antes de separar el solvente. Esto se evita si se utiliza un material con un tamaño de poro más pequeño que el de las partículas de almendra.

Una vez terminada la separación de la fracción lipídica, la torta entera resultante se secó extendiéndose sobre una superficie plana hasta dejar de percibir el olor a n-hexano. La torta obtenida fue sometida a una segunda molienda para separar la almendra que se encontraba adherida a la cascarilla, luego se tamizó con el fin de disminuir el exceso de fibra proveniente de la testa y cascarilla y aumentar la proporción de almendra, donde se concentra la mayor variedad de nutrientes. Se obtuvieron dos fracciones residuales denominadas F12 (partículas de mayor tamaño que el tamiz N°12 representada principalmente por cascarilla), F18 (partículas de mayor tamaño que el tamiz N° 18 constituida por cascarilla y almendra) y como producto de este proceso la torta tamizada denominada T18 que contiene en su mayor parte almendra y una pequeña proporción de cascarilla, con un tamaño de partícula menor que el tamiz N° 18. Todas las fracciones y la torta tamizadas fueron pesadas para determinar los porcentajes de extracción de fibra.

La torta tamizada obtenida es del 48.59 % (tabla 27), este porcentaje se debe a que se extrajo un contenido considerable de fibra correspondiente a la mitad del peso de la torta entera y una cantidad mínima a pérdidas originadas en el proceso de molienda y tamizado. La fibra en la torta entera representa la proporción de testa y cascarilla que son mayores a la fracción de almendra en la semilla. La extracción de aceite aumentó la proporción de fibra de forma similar a lo observado en el tratamiento de la semilla de girasol, en la cual el porcentaje de fibra es del 10 % en la semilla y luego de la extracción del aceite, aumenta al 35.9 %.

Debido a que las fracciones de tamizado representan un alto porcentaje, además de que es complicado extraerlas sin almendra, se realizó un análisis proximal para determinar su composición en macronutrientes y formular posibles aplicaciones.

3.3.3 Caracterización química de la torta tamizada y sus fracciones. Con el fin de establecer los cambios en la relación de macronutrientes de la semilla producidos por la extracción del aceite y el tamizado de la torta, se procedió a caracterizar la torta tamizada (T18) y las fracciones obtenidas.

Tabla 28. Composición química de la torta tamizada (T18) y las fracciones de tamizaje. (g / 100 g MH)

DETERMINACIÓN	<i>Crescentia cujete</i>			<i>Crescentia alata</i> ¹²		
	T18	F12	F18	H40	F12	F40
Humedad	12.3	11.8	11.1	11.7	13.5	11.6
Grasa	1.2	11.9	11.1	0.9	1.4	0.7
Proteína cruda*	45.7	12.9	14.7	53.6	37.5	39.7
Fibra bruta	15.7	42.2	41.9	8.8	22.8	21.9
Cenizas	5.8	2.0	2.1	8.1	5.0	6.5
Carbohidratos solubles**	17.1	20.0	18.9	16.9	19.8	19.6

Fuente: Yohana Ortiz

* Factor utilizado 6.25 (N * 6.25)

** Obtenidos por diferencia

T18 torta tamizada, F12 fracción del tamiz N° 12, F18 fracción del tamiz N° 18

H40 harina, F40 fracción del tamiz N° 40, F12 fracción del tamiz N° 12.

El contenido de humedad para la torta tamizada (Tabla 28), está por debajo del rango de alimentos con humedad intermedia (15 a 35 %, a_w 0.6 y 0.8)⁷⁴ garantizando que durante el almacenamiento, no presentará deterioro por microorganismos, ni peroxidación lipídica debido a que el porcentaje de aceite es bajo.

Al comparar la humedad de la semilla entera (4.60 %) con el de la torta tamizada se observa un incremento de agua en esta última debido a que la torta tamizada es semilla sin grasa y sin fibra, por lo tanto se observa un aumento lógico en los nutrientes restantes, comportamiento que también presenta la harina de torta de la especie *alata* (tabla 28).

Asimismo, la cantidad de proteína en la torta tamizada es mayor que en la semilla, aunque este contenido es ligeramente menor cuando se compara con el de la especie *alata*, concordando con los resultados de este nutriente para las semillas integrales de las dos especies (Tabla 24). Con respecto a otras tortas de semillas oleaginosas que no han sido sometidas a ningún proceso mecánico para eliminar la fibra, como la de algodón y girasol con porcentajes de fibras similares y tortas que tienen bajos contenidos de fibra, se observa que la proteína en la torta tamizada es superior, catalogándola como una fuente rica en este nutriente.

Por el contenido de fibra en la torta tamizada, se esperaría que la cantidad de cenizas fuera menor que en la semilla integral ya que se concentran en la cascarilla, sin embargo, el porcentaje de cenizas en la torta tamizada aumento debido a la disminución de fibra y grasa en la semilla. Igualmente se observa

⁷⁴ BELITZ, Op. Cit, p. 4-5.

un incremento en los carbohidratos solubles en la torta aunque éste es bajo cuando se compara con tortas de semillas de algodón, girasol y canola puesto que esta semilla carece de endospermo, lugar en el cual los carbohidratos solubles se encuentran almacenados⁷⁵.

La proporción de fibra continúa siendo alta, puesto que el tamiz N° 18 no retiró completamente la cascarilla, a diferencia de la especie *alata* donde el tamizado disminuyó significativamente la cantidad de fibra, debido a la utilización de un tamiz N° 40, que facilita una mayor retención de cascarilla (Tabla 28). De todas formas la torta tamizada de totumo presenta mayor contenido de fibra que tortas no tamizadas, debido probablemente a que la proporción de testa y cascarilla que se encuentra en la semilla de totumo es mayor que en otras semillas y su separación dependerá de su posterior aplicación.

Tabla 29. Composición de tortas de semillas oleaginosas enteras (g / 100 g MS)

TORTA	PROTEÍNA	CENIZAS	FIBRA	CHO SOLUBLES*
Soya	47.5	6.4	5.1	25.8
Semilla algodón	40.3	6.8	15.7	31.5
Canola	33.9	6.2	9.7	40.2
Girasol	34.1	6.6	13.2	37.1
Coco	25.2	6.0	10.8	46.8
T18 totumo	52.05	6.62	15.71	22.2

Fuente: RAMACHANDRAN, Sumitra, *et al.*, p 2000 – 2009.

* Obtenidos por diferencia

La extracción de aceite y fibra en la semilla de totumo trae como consecuencia un aumento en la proporción de proteína, cenizas y carbohidratos solubles, destacando el alto contenido de proteína, que está por encima de los valores reportados para tortas de semillas oleaginosas utilizadas en la elaboración de hidrolizados de proteína para animales con malnutrición proteica⁷⁶. La torta tamizada de totumo puede servir como una alternativa en esta área, sin embargo, es importante antes de orientarla como un suplemento proteico conocer la disponibilidad de aminoácidos esenciales y su valor biológico.

Las fracciones F12 y F18 se encuentran constituidas principalmente por cascarilla, presentando no solamente altas cantidades de fibra, sino de carbohidratos solubles y lípidos. Los valores de carbohidratos son similares para ambas F12 (22.322%) y F18 (20.376%), el contenido lipídico es mayor

⁷⁵ SALAZAR, R., SOIHET, C. Nota Técnica 145. Nota Técnica sobre Manejo de Semillas Forestales. En: Manual Técnico (CATIE) No. 48. Costa Rica. Servicio de Información y Documentación Agropecuaria de las Américas. (2001). p, 89.

⁷⁶ RAMACHANDRAN, Op.cit., p. 2000-2009

que para la torta tamizada como consecuencia de la disminución de proteína y cenizas, otro factor a tener en cuenta es la presencia de capas cerosas en la cascarilla de la semilla, cuya función es protegerla del ataque de hongos.¹⁸ La fracción F12 de la especie *alata* tiene menor cantidad de fibra que la F12 de la *cujete* puesto que, este nutriente en la semilla de esta especie se encuentra en mayor proporción, generando así una marcada diferencia en las proporciones de los demás nutrientes en las fracciones de las dos especies.

Los nutrientes presentes en las fracciones de la especie *cujete* pueden ser aprovechados en la elaboración de forrajes de fibra para animales poligástricos porque su contenido de fibra, proteína y grasa están por encima de alimentos utilizados para este fin, como en la paja de trigo (fibra 38.3 %, proteína 3.2 % y grasa 1.4 %) y el grano de maíz (proteína 8.9 % y grasa 3.9 %)⁷⁷. El forraje elaborado a partir de estas fracciones no solo sería energético sino además de tipo proteico.

3.4 DETERMINACIÓN DE MINERALES EN LA TORTA TAMIZADA DE TOTUMO

Puesto que la extracción de lípidos y el tamizaje incide en la proporción de los nutrientes en la torta tamizada, es importante conocer como afecta la proporción de minerales como calcio, hierro, magnesio y fósforo respecto a la semilla entera.

Tabla 30. Comparación de algunos minerales de la torta tamizada de totumo (*Crescentia cujete L.*) (T18) con tortas de semillas oleaginosas (mg /100 g MS)

TORTA	CALCIO	FÓSFORO	HIERRO	MAGNESIO
T18 totumo	134	111	22	275
Soya	130	390	-	-
Semilla algodón	310	110	-	-
Canola	790	1060	-	-
Girasol	300	1300	-	-
Maní	110	740	-	-

Fuente: Yohana Ortiz

La cantidad de cenizas aumenta en la torta tamizada (tabla 28), así como la proporción de minerales como calcio, hierro y magnesio es mayor que en la

⁷⁷ CHURCH, D.C et al. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. 2 Ed. México D:F.: Editorial Limusa, 2002. 19 p.

semilla entera, mientras que la concentración de fósforo disminuyó indicando que gran parte de este mineral se encuentra en la testa y cascarilla, retirada en las fracciones del tamizado. La torta tamizada presenta una composición en minerales muy similar a los granos de trigo, donde por ejemplo, el calcio esta en menor proporción en el grano entero (43.70 mg / 100) que en el germen (69 mg / 100), igualmente el contenido de hierro para el grano entero (3.3 mg / 100) y en el germen (8.1 mg / 100)⁷⁸.

La concentración de calcio y de fósforo en la torta tamizada son semejantes, a diferencia de otras tortas (tabla 30) donde se observan grandes discrepancias en los contenidos de estos dos minerales. La cantidad de calcio en la torta tamizada es parecido al de la torta de soya y el contenido de fósforo es similar al de la torta de semilla de algodón, puesto que la proporción y distribución de los minerales en las fuentes vegetales varia dependiendo de factores como la especie, el tipo de fertilizantes y la disponibilidad de los minerales en el suelo de cultivo.²⁰

El contenido de hierro y magnesio encontrado en la torta tamizada de totumo es alto comparado con el del grano entero de trigo (Mg: 110 mg / 100 g y Fe: 3.3 mg / 100 g), sugiriendo que es una fuente importante de estos minerales, en especial de hierro, ya que en la torta se encuentra por encima de los valores reportados para cereales (tabla 3).

La torta tamizada de totumo es una fuente potencial de calcio, que puede ser aprovechada en alimentación animal debido a que su contenido esta por encima de materias primas utilizadas para este fin, como lo son la torta de soya y la torta de almendra. Además los valores de hierro y magnesio son mayores que los reportados en cereales, lo que la haría atractiva y podría utilizarse en la alimentación humana siempre y cuando el contenido de los otros nutrientes se encuentren en la proporción requerida. Sin embargo, presenta valores de fósforo menores a los de las tortas y cereales, por lo que es conveniente suplementar esta torta con una fuente rica en este macroelemento.

Asimismo, debe tenerse en cuenta que un limitante en la utilización de la torta tamizada o de alimentos de tipo vegetal en la alimentación es la biodisponibilidad de los minerales, ya que se encuentran en formas insolubles o de difícil absorción.⁷⁹ Por ejemplo, el fósforo y el calcio se encuentran en la mayoría de los casos como sales insolubles sulfatos y fosfatos o como fitatos, de difícil absorción presentándose algunas deficiencias que afectarían las funciones en el organismo. Igualmente el hierro que está como ión férrico (Fe³⁺) en alimentos de tipo vegetal, no se absorbe tan fácil como el ión ferroso (Fe²⁺), el cual está sólo en alimentos de tipo animal.

⁷⁸ DEMAN, Op. cit., p. 217.

⁷⁹ Ibid, p. 216-217.

3.5 DETERMINACIÓN DE *TRANS*- β -CAROTENO

La semilla de totumo es una semilla oleaginosa, por consiguiente el contenido de vitaminas liposolubles como la vitamina A (figura 3.b) es alto, sin embargo, la extracción de la fracción lipídica disminuye significativamente la proporción de estas vitaminas. En vegetales, la vitamina A se encuentra en forma de provitamina A, como carotenos, de los cuales el que mayor actividad presenta es el *trans*- β -caroteno (figura 3.a), es por esto que su cuantificación permite conocer la cantidad de vitamina A disponible en la torta tamizada.

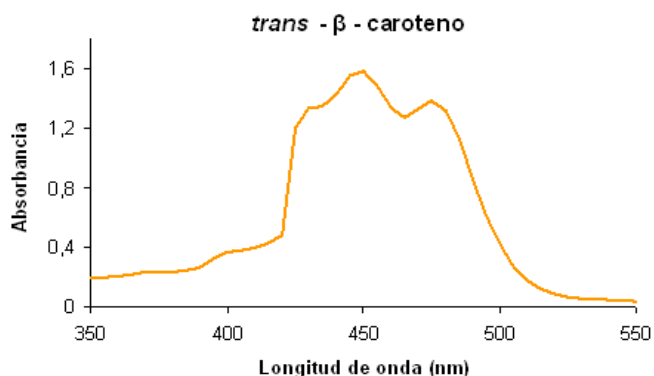
El *trans*- β -caroteno tiene dobles enlaces conjugados, por lo cual absorbe en la región visible presentando tres bandas correspondientes a los dobles enlaces (425, 450 y 478 nm)⁸⁰. Es por esto que su cuantificación se realiza espectrofotométricamente, no obstante, la longitud de onda exacta depende del solvente utilizado durante la medición. Trabajos previos reportan que la máxima absorción de radiación para el *trans*- β -caroteno en acetona es 450nm⁸¹, condiciones utilizadas para su análisis en este trabajo.

El β -caroteno patrón necesario para la cuantificación, se extrajo a partir de una zanahoria fresca⁸¹ y su espectro UV-Visible fue comparado con un patrón certificado. De esta forma, la velocidad de degradación disminuye, pues la materia prima no se sometió a ningún proceso de deshidratación y se cuenta con un patrón fresco fácilmente. En la figura 10, se observa el espectro de absorción entre 350 nm a 650 nm realizado al *trans*- β -caroteno extraído, donde el máximo de absorbancia a 450 nm corresponde a esta provitamina y es semejante al del patrón certificado (figura 11).

⁸⁰ GUTIÉRREZ YEVERINI, Myrna Laura. Determinación cuantitativa de carotenoides en hojas de cinco especies del género "*Leucaena*". Tesis de magíster en ciencias con especialidad en alimentos. Monterrey. Universidad Autónoma Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. 1997. 17 p.

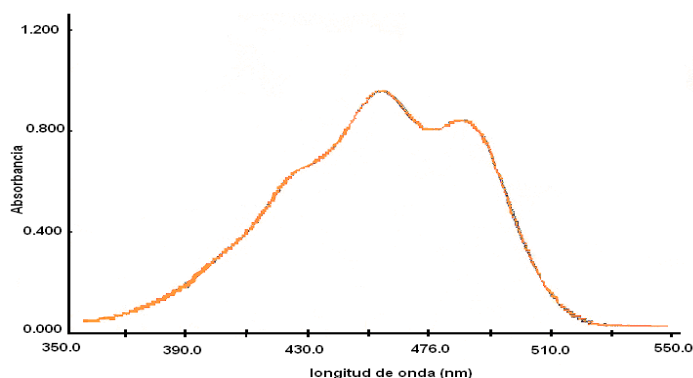
⁸¹ GUTIERREZ, Op. cit., p. 55- 56.

Figura 10. Espectro UV- VIS del patrón del *trans*- β -caroteno extraído de la zanahoria en acetona.



Fuente: YOHANA ORTIZ

Figura 11. Espectro UV- VIS del patrón certificado (Merck) de *trans*- β -caroteno en acetona



Fuente:
GUTIÉRREZ, Tania. M. p10 – 1

La curva de calibración para el análisis cualitativo se realizó a la longitud de onda de mayor absorbancia 450 nm. Para evitar reacciones de oxidación causadas por factores como la luz, el agua y el oxígeno, que inducen la isomerización del *trans*- β -caroteno, la medición se realizó en ausencia de luz y en el menor tiempo posible. Se obtuvo un coeficiente de correlación de $r \geq 0.999$ y $r^2 \geq 0.999$ indicando que existe una relación lineal entre la absorbancia y la concentración del *trans*- β -caroteno, por lo tanto se utilizó para cuantificar por interpolación la provitamina en las muestras extraídas de la torta. El contenido de *trans*- β -caroteno encontrado se registra en la tabla 31, donde también se reportan los contenidos de vitamina A y equivalentes de retinol calculados a partir de la concentración *trans*- β -caroteno.

Tabla 31. Concentración de *trans*- β -caroteno en la torta tamizada de totumo y en algunos cereales

MUESTRA	<i>TRANS</i> - β -CAROTENO (μg / 100g MS)	U.I VITAMINA A	E.R **
Torta tamizada de totumo	75.5	0.0604	0.0126
Grano de maíz blanco*	20.0	0.016	0.0033
Grano de maíz amarillo	3600	28.8	6
Grano de trigo*	370.0	0.296	0.0617
Arroz integral	0	0	0
Cebada *	0	0	0

* Grano entero

** Equivalentes de retinol

Puesto que los β -carotenos son moléculas que absorben en el visible (400 y 700 nm) son los responsables de que algunos alimentos presenten una coloración entre amarilla y anaranjada. Por ello, la baja concentración es predecible en la torta tamizada pues su coloración es blanca, además, la extracción lipídica disminuye notoriamente esta provitamina por ser liposoluble y esto se observa en el color amarillo del aceite de esta semilla, igualmente, factores como la temperatura que causan reacciones de isomerización.

La torta de totumo y el grano de maíz blanco (20.0 μg / 100 g muestra) presentan bajas cantidades de *trans*- β -caroteno al igual que la mayoría de cereales que no tienen el color característico de estas provitaminas, por el contrario, el maíz amarillo tienen un contenido importante de esta provitamina como consecuencia de su color, otro factor que influye en la concentración de esta provitamina es un alto contenido lipídico como se observa en las semillas de calabaza del (51.01 %).

A pesar de que el valor de β -carotenos en la torta tamizada se encuentra dentro del intervalo para vegetales (20 -12000 μg / 100 g) no satisface las necesidades de vitamina A, por ello si se orienta hacia la alimentación animal especialmente de rumiantes se debe fortificar con fuentes ricas en esta provitamina o adicionar vitamina A, con el fin de evitar deficiencias que conducirían a enfermedades como la ceguera nocturna y la xeroftalmia, igualmente si se aplica en la alimentación humana.

3.6 COMPOSICIÓN DE AMINOÁCIDOS DE LA TORTA TAMIZADA

La importancia de conocer la proporción de los aminoácidos esenciales, es que son parte fundamental en la nutrición, tanto animal como humana, puesto que de ellos depende la calidad de la proteína que tienen los alimentos. Además, esta debe proporcionar los aminoácidos esenciales en cantidades iguales o mayores a los requeridos por un organismo.

En la alimentación animal, los aminoácidos esenciales son los mismos que en la humana, pero los requerimientos dependen de factores genéticos, etapas de crecimiento y utilidades, donde animales poligástricos no tienen un perfil aminoacídico debido a que pueden sintetizarlos.

Para definir la factibilidad de su aplicación en la nutrición animal o humana, de la proteína en la torta tamizada de totumo, se evaluó su composición aminoacídica y se estableció el aporte de aminoácidos esenciales de la torta tamizada respecto a la cantidad sugerida por la FAO/OMS, para encontrar los aminoácidos limitantes, es decir, los que se encuentran en menor proporción y por ende, disminuyen su valor biológico (tabla 32).

Todos los aminoácidos esenciales en la torta tamizada (T18) están por debajo de los requerimientos de la FAO/OMS⁸² aportando aproximadamente el 60 % de la cantidad total de aminoácidos esenciales recomendada, donde aminoácidos azufrados (metionina y cisteína), aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina) y treonina se encuentran en mayor cantidad, Indicando que esta torta es una fuente potencial de treonina pues es el responsable de disminuir el valor biológico de gran parte de proteínas de fuentes vegetales. (Tabla 32). Además, la torta tamizada es buena fuente de arginina debido a que está en mayor proporción y, dentro del valor esperado para cereales (3-6 %), aunque, no es un aminoácido esencial la mayoría de éste se pierde en el ciclo de la urea, lo que puede contribuir a restablecer la concentración de arginina en el organismo.

⁸² PEREZ, Op cit., p. 459-468

Tabla 32. Composición aminoacídica de la torta de totumo y su aporte de aminoácidos esenciales (%AAE) respecto a la FAO/OMS.

	AMINOÁCIDO	<i>Crescentia cujete*</i>	<i>Crescentia cujete**</i>	FAO/OMS ⁸³ 1991	%AAE*	%AAE**
AMINOÁCIDOS ESENCIALES	Val	1.28	2.29	3.5	36.66	65.47
	Phe	1.40	2.49	-	-	-
	Ile	0.98	1.76	2.8	35.04	62.57
	Leu	1.95	3.48	6.6	29.50	52.67
	Thr	1.37	2.45	3.4	40.38	72.12
	Lys	1.16	2.07	5.8	27.78	35.72
	Met	0.68	1.20	-	-	-
	Arg	4.15	7.42	-	-	-
	His	1.14	2.03	-	-	-
	Met + Cys	1.10	1.96	2.5	43.88	78.36
	Phe + Tyr	3.05	5.44	6.3	48.37	86.33
	Total esenciales	18.71	19.44	32.0	58.46	60.75
	AMINOÁCIDOS NO ESENCIALES	Tyr	1.65	2.94	-	-
Cys		0.42	0.75	-	-	-
Ala		1.67	2.98	-	-	-
Pro		1.46	2.62	-	-	-
Ser		1.77	3.16	-	-	-
Asp		2.85	5.08	-	-	-
Glu		5.81	10.37	-	-	-
Gly		1.90	3.40	-	-	-

**Calculados para 8.8 % de fibra

*Harina torta de totumo (HI18); Tamiz 18 y 12, Fibra 15.714 %

Fuente: PEREZ BELLO, Luís A, et al. 459-468 p.

Con el fin de comparar los valores reportados para la especie *alata* se cálculo el contenido de aminoácidos correspondiente a un porcentaje de fibra de 8.8 %. La disminución de la fibra, implicó un aumento poco notable en la cantidad de aminoácidos aportando el 60 % del total de aminoácidos esenciales. Respecto a la torta de *Crescentia alata* la mayoría de los aminoácidos se encuentran en concentraciones mayores que en la *cujete* y, a pesar de que aminoácidos como valina e isoleucina están por encima de los sugeridos por la FAO/OMS, presenta deficiencias en metionina y lisina de hay que estás tortas no pueden ser formuladas como alimentos únicos de tipo proteico para la nutrición humana. No obstante para establecer el valor biológico de una proteína se debe tener en cuenta la digestibilidad de está indicativo, que no fue realizado para la torta en estudio.

⁸³ PEREZ BELLO, Luís A, et al. Composición química de la semilla de *Okenia hypogaea* Agrociencia. Mexico. 2001. vol, 35. 459-468 p.

La proporción de fibra en las tortas no aumenta notablemente la concentración de los aminoácidos en una torta. Este comportamiento se observa cuando se compara las tortas de girasol y olivo con la de canola en donde las tortas de girasol (13.2 %) y olivo (40.0 %) tiene porcentajes de fibra mas elevados que la de canola (9.7 %) y sin embargo su aporte de aminoácidos esenciales es mayor ¹⁷.

Tabla 33. Contenido de aminoácidos en algunas tortas (g aminoácido/100 g proteína)

	Aminoácido	<i>Crescentia cujete</i>	<i>Crescentia alata</i> **	Canola	Olivo	Girasol
AMINOÁCIDOS ESENCIALES	Val	1.28	5.33	1.71	3.30	5.8
	Phe	1.34	-	1.54	2.70	5.1
	Ile	0.98	4.32	1.41	2.30	4.2
	Leu	1.95	5.44	2.39	4.20	6.9
	Thr	1.37	2.40	1.50	2.80	3.4
	Lys	1.16	-	2.02	0.70	3.5
	Met	0.68	1.28	0.77	0.20	2.2
	Arg	4.15	3.68	2.12	2.40	9.1
	His	1.14	2.34	1.13	0.70	2.8
	Met + Cys	1.10	-	-	-	-
	Phe + Tyr	3.05	-	-	-	-
AMINOÁCIDOS NO ESENCIALES	Ala	1.67	-	-	-	-
	Pro	1.46	-	-	-	-
	Ser	1.77	-	-	-	-
	Asp	2.85	-	--	-	-
	Glu	5.81	-	-	-	-
	Cys	0.42	-	-	-	1.8
	Gly	1.90	-	1.75	3.10	5.6
	Tyr	1.65	-	1.05	0.60	1.4

** Harina de torta. Tamiz 40 y 12. Fibra 8.8 %

La torta tamizada presenta mayor contenido en metionina, arginina e histidina respecto a las de canola y de olivo, asimismo, la proporción de lisina es mayor en la torta en estudio que en la de olivo. Sin embargo, sus valores no logran a estar entre los sugeridos por la FAO/OMS por lo que es necesario si se orienta hacia a la nutrición humana mezclar la torta tamizada con alimentos ricos en estos aminoácidos especialmente alimentos de origen animal debido a su alto valor biológico y a que no presentan deficiencias en los mismos aminoácidos que los de origen vegetal.

Teniendo en cuenta que si se destina a la nutrición humana debe de mezclarse con otros alimentos por lo tanto resulta mas favorable destinar la torta tamizada a la nutrición animal, especialmente poligástricos como el caso de ganado vacuno, debido a que estos animales cuentan con enzimas en el rumen capaces de sintetizar aminoácidos a partir de nitrógeno no proteico⁸⁴ además la torta presenta un alto contenido de fibra nutriente que pueden ser aprovechado al máximo.

3.7 FRACCIONES PROTEICAS

Un alimento con alto contenido proteico, presenta algunas propiedades funcionales como elasticidad, viscosidad y capacidad de formación de espumas y geles dependiendo de la proporción en que se encuentren las albuminas (ALB), gluteninas (GLT), globulinas (GLB) y prolaminas (PRL) llamadas fracciones de Osborne⁸⁵. Se realizó el fraccionamiento proteico a la torta tamizada de totumo para estudiar su comportamiento frente a procesos de transformación.

El fraccionamiento fue realizado mediante la metodología utilizada por Gallegos S. et al con algunas modificaciones. Esta se basa principalmente en la solubilidad de cada fracción, las ALB solubles en agua, GLB en soluciones salinas, PRL en soluciones alcohólicas y GLT en soluciones ácidas involucrando diferentes condiciones como agitación mecánica durante cada extracción, temperatura, tiempo, tamaño de partícula y concentración de proteína en la muestra. En la tabla 34 está registrado el porcentaje total de proteína extraída en la torta.

Tabla 34. Porcentaje de proteína extraída como fracciones de Osborne

PROTEÍNA TORTA	PROTEÍNA RESIDUO	PROTEÍNA EXTRAIDA	% PROTEÍNA EXTRAIDA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	COEFICIENTE DE VARIANZA
52.05	16.41	35.64	68.47	0.45	2.72

Fuente: Yohana Ortiz

La cantidad de proteína remanente en el residuo, indica que durante la extracción de ALB, GLB, GLT y PRL por el método utilizado se obtiene un porcentaje de extracción alto (68.47 %). si se tiene en cuenta que en muestras desengrasadas la cantidad de proteína extraída en promedio es 42 %⁵⁸. El porcentaje de extracción de la torta tamizada se puede mejorar aumentando el tiempo y la fuerza de agitación, además al disminuir el tamaño de partícula la

⁸⁴ CHURCH, Op. cit., p. 48-49.

⁸⁵ BELITZ, Op. cit., p. 732.

superficie de contacto con el solvente es mayor. Otro factor importante que pudo haber interferido es la cantidad de fibra que tiene la torta tamizada de totumo.

Las fracciones proteicas para la torta tamizada de totumo *Crescentia cujete L* que se encuentran en la tabla 35, muestran porcentajes altos de glutenina (GLT 37.73 %) y globulinas (GLB 15.21 %), siendo la primera, característica de semillas de cereales especialmente el trigo, pues es la responsable de propiedades reológicas como la elasticidad de harinas que se utilizan en la industria de la panificación (tabla 10).

En legumbres se tiene que es mayor la fracción de globulinas (GLB) las cuales son proteínas de reserva, para la torta tamizada esta fracción es la siguiente en contenido después de la glutenina. Este porcentaje puede deberse al estado de maduración del fruto escogido para obtener la torta tamizada, ya que son proteínas que se movilizan durante la germinación, es decir, en un grado mayor de maduración del fruto.

Las prolaminas al igual que las gluteninas, contribuyen a mejorar las propiedades reológicas de harinas para panificación, proporcionando viscosidad a la masa. La cantidad de esta proteína encontrada en la torta no es suficiente para que la harina presente la proporción 2:3 de prolaminas:gluteninas adecuada para que pueda ser empleada en esta industria, a esto se suma el bajo porcentaje de lípidos en la torta analizada el cual no es apto puesto que la presencia de lípidos se encuentra relacionada con la viscosidad y elasticidad mencionadas⁸⁶. Sin embargo puede mezclarse con harinas que tengan altos porcentajes de prolaminas y bajos de gluteninas para obtener una harina con la proporción óptima de estas proteínas o con harina de trigo como suelen hacer para la elaboración de pan de harinas de maíz o achira.

La fracción de albuminas se encuentra en menor concentración que las anteriores, esto se puede deber al alto porcentaje de fibra que dificulta la solubilidad de la fracción en el solvente. Por su bajo contenido de albuminas, la harina de totumo no tiene la característica de formar espumas o geles y por lo tanto no se podría utilizar directamente en repostería.

⁸⁶ BELITZ, Op. cit., p. 735.

Tabla 35. Proporción de las fracciones proteínicas de la torta tamizada de totumo de *Crescentia cujete L.*

FRACCIÓN	PROTEÍNA EXTRAÍDA (g)	PROTEÍNA EXTRAÍDA (%)	% RELATIVO
GLT	8.93	37.73	55.11
GLB	3.60	15.21	22.21
PRL	2.37	10.00	14.61
ALB	1.31	5.53	8.07
Total	16.21	68.47	100.00

Fuente: Yohana Ortiz

Las gluteninas y prolaminas, son proteínas características de cereales y las globulinas y albuminas están en mayor proporción en legumbres⁸⁷ por el contrario en la torta tamizada se observa que para esta clase de semillas estas proteínas se encuentran en diferentes proporciones variación que presentan las proteínas de pastos tropicales los cuales son ricos en albuminas y prolaminas y deficientes en gluteninas y globulinas.⁸⁷

La harina de totumo puede ser utilizada para fortificar harinas destinadas a la elaboración del pan con contenidos bajo de gluteninas y porcentajes altos en prolaminas, también cabe resaltar que para darle un uso a esta harina se debe disminuir el porcentaje de fibra y realizar ensayos de elasticidad y cohesión de la harina.

3.8 FACTORES ANTINUTRICIONALES

Saponinas. En el análisis cualitativo para saponinas en la torta tamizada de totumo, la prueba dio negativa (tabla 36) indicando que no tiene el sabor amargo que le confiere estas moléculas a los alimentos. Cabe señalar que las saponinas en el fruto de totumo deberían encontrarse en la pulpa, por la formación de espuma generada durante el despulpado como se puede observar en la figura 12.

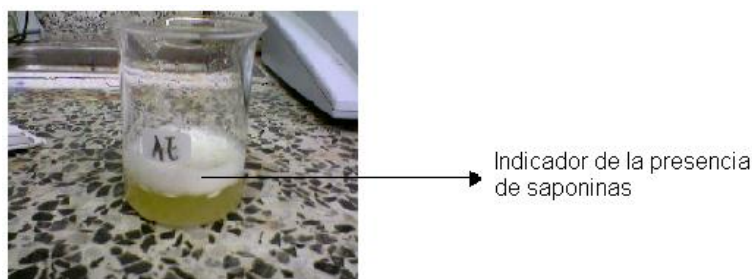
⁸⁷ AREVALO SERRATOS, JUAN C. Aislamiento y caracterización de proteínas de las semillas maduras de *Enterolobium cyclocarpum* para su aprovechamiento alimenticio. Tesis Doctoral en Ciencias Pecuarias. Colima: Universidad de Colima. 2000. 63 – 65 p.

Tabla 36. Pruebas cualitativas fitoquímicas

FACTOR ANTINUTRICIONAL	COLOR	
Saponina	NP	-
Fenoles totales	Azul oscuro	+

Fuente Yohana Ortiz

Figura 12. Jugo obtenido de la pulpa del fruto de totumo



Fuente: Yohana Ortiz

Los lavados realizados a la semilla eliminan la pulpa junto con las saponinas, razón por la cual aumenta la palatabilidad de alimentos elaborados a base de la torta tamizada permitiendo así su aplicación en el campo alimenticio animal o humano.

Fenoles totales. La prueba cualitativa dio un color azul oscuro indicando que la concentración de fenoles en la torta tamizada es media, razón por la cual se evaluaron cuantitativamente por el método de Folin - Cicalteuo.

El contenido de fenoles totales en la torta tamizada de totumo es de 1.41 g AG / 100 g de MS un valor alto, puesto que la mayoría de estos compuestos se encuentran en la cascarilla de las semillas y esta torta tiene gran cantidad de fibra. Los derivados de los compuestos fenólicos forman coloraciones pardeas en los alimentos y esto se observa en el despulpado, ya que la semilla en el fruto es de color amarilla y durante este proceso se torna color marrón. Al comparar este valor con el de semillas de leguminosas (tabla 12) como las de *Canavalia gladiata* éstas tienen valores de compuestos fenólicos por encima de este valor, y son utilizadas en la alimentación humana. No obstante se hace necesario realizar pruebas de precipitación de proteínas y minerales para la torta tamizada con el fin de establecer si esta concentración afecta su valor nutricional debido a que los complejos formados entre fenoles- proteínas y fenoles-minerales no se hidrolizan fácilmente disminuyendo su absorción por el organismo.

Por el contenido de fenoles en la torta tamizada de totumo puede servir para la elaboración de concentrados para animales poligástricos puesto que no afectaría la asimilación de los nutrientes, y por el contrario actuaría como desparasitante y como antioxidantes ayudando a la digestión y a prevenir enfermedades⁸⁸.

3.9 POSIBLES APLICACIONES DE TORTA TAMIZADA DE TOTUMO.

Teniendo en cuenta que la torta tamizada de totumo presenta una alta proporción en macronutrientes como: proteína, fibra y cenizas esta puede ser utilizada con fines alimenticios. Sin embargo, su bajo contenido en aminoácidos esenciales limita su aplicación en la nutrición humana como un alimento único de tipo proteico debido, al valor biológico de la proteína. Por ello es necesario formular mezclas con alimentos con alto valor biológico y así aumentar el contenido de aminoácidos esenciales. Además la torta puede servir en la industria de la panificación si se utilizan harinas ricas en prolaminas o harina de trigo con el fin de proporcionar mayor elasticidad y viscosidad a la masa. No obstante un factor a tener en cuenta es su alta concentración de fenoles debido a que puede afectar la absorción de algunos nutrientes.

Si se orientara hacia la elaboración de concentrados para rumiantes, el contenido en aminoácidos esenciales no produciría consecuencias adversas, puesto que estos cuentan con microorganismos capaces de sintetizarlos a partir de nitrógeno no proteico. Además, pueden digerir la fibra por medio de enzimas capaces de degradar la celulosa y la hemicelulosa, obteniendo de esta manera energía. Otra ventaja de la torta en este campo es su contenido de fenoles totales los cuales ayudarían a desparasitar y a prevenir enfermedades por su poder antioxidante. No obstante es importante conocer el contenido de lignina puesto que disminuye el valor nutricional de la torta por su difícil absorción.

Por otra parte el contenido de minerales y nutrientes, permiten considerar su aplicación en la producción industrial de enzimas, antibióticos o como fuente de energía. Además la baja concentración de fósforo permite su utilización como sustrato en fermentación de fase sólida, para la producción de fitasas, puesto que tortas como la de algodón con contenido de fósforo similar ha presentado buenos rendimientos.¹⁷

⁸⁸ McALLISTER, T. A *et al.* Characterization of condensed tannins purified from legume forages: Protein precipitation and inhibitory effects on cellulose digestion. On: *Journal of chemical ecology*. Vol. 31, No. 9 September 2005; p. 2049 – 2068

4. CONCLUSIONES

- Los porcentajes de rendimiento para la semilla libre de pulpa son bajos, debido a que la mayor parte del fruto de totumo (*Crescentia cujete* L.) es pulpa además, durante el proceso de despulpado es sometida a varios lavados ocasionando pérdida de semilla.
- La elaboración de la tabla de madurez permitió observar que a medida que los frutos maduran los grados brix se incrementan como consecuencia del aumento en las concentraciones de sacarosa o sólidos solubles, sin embargo, cuando el fruto empieza a deteriorarse estos disminuyen. Asimismo ayudó a establecer el color de los frutos en el estado de madurez en el que las semillas tienen mayor contenido de almendra, permitiendo así una toma de muestra más homogénea.
- Al comparar los datos obtenidos en la caracterización fisicoquímica de las semillas de *Crescentia cujete* L. con las de *Crescentia alata* se observan grandes diferencias en el contenido de extracto etéreo y fibra con valores mas altos de estos componentes para la especie *cujete*, mientras que la especie *alata* presenta mayor cantidad de proteína, cenizas y carbohidratos solubles lo cual se puede justificar por la diferencia de especie.
- La torta tamizada presenta deficiencias en todos los aminoácidos por lo cual no satisface los requerimientos de la FAO/OMS para constituir un único alimento de tipo proteico para el consumo humano, sin embargo, es mas factible emplearla para la elaboración de concentrados para rumiantes puesto que la ingesta requerida de aminoácidos es menor y/o no tiene un valor establecido. Además no sería necesario tamizar pues las fracciones F12 y F18 compuestas en su mayor parte por fibra tienen cantidades de proteína, cenizas y extracto etéreo que pueden ser aprovechadas.
- Las proporciones de gluteninas, prolaminas y albúminas en la torta tamizada no se encuentran en la relación óptima para conferir viscosidad, elasticidad y formación de geles y espumas, razón por la cual, esta torta como único ingrediente no puede ser utilizada en la industria de la panificación ni de la repostería de hay que debe de realizarse formulaciones para su posible aplicación.
- El contenido de factores antinutricionales en la torta tamizada de totumo como las saponinas es nulo facilitando así la utilización de esta torta en la alimentación. Sin embargo la concentración de fenoles totales encontrados en la torta son altos por lo que podría disminuir la digestibilidad de proteínas y algunos minerales como el hierro si se orientara en la nutrición humana sin embargo no presenta ningún problema si su campo de aplicación fuese la nutrición de rumiantes.

RECOMENDACIONES

- Para poder dar un aprovechamiento industrial a la semilla de totumo se deben realizar estudios sobre su separación del fruto puesto que el método utilizado en ese trabajo es tedioso.
- Se sugiere cuantificar que cantidad de fósforo se encuentra como ácido fítico puesto que éste es un factor antinutricional el cual, disminuye la disponibilidad de los minerales encontrados en la torta de totumo.
- Se recomienda realizar estudios *in vivo* con el fin de conocer el valor biológico (VB), la relación de la eficiencia proteínica (REP) y el aprovechamiento neto de las proteínas (ANP) o valor proteínico neto (VPN) y así determinar el valor nutritivo de la proteína en la torta tamizada de totumo.
- Desarrollar un método analítico para la cuantificación de las fracciones proteicas puesto que en este trabajo, se dan aproximaciones de su concentración en la torta.
- Sería importante realizar ensayos de precipitación de proteínas con el contenido de fenoles en la torta para determinar si esta concentración influye en la absorción de los nutrientes especialmente de proteínas y minerales.

BIBLIOGRAFÍA COMPLEMENTARIA

- 1 SERRATOS AREVALO, Juan Carlos. Extracción y caracterización de proteínas de almendra de las semillas maduras de *Enterolobium cyclocarpum* para su aprovechamiento alimenticio Tesis de doctorado en ciencias pecuarias. Tecoman Colima México: Universidad de Colima. Facultad de Postgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias, 2001
- 2 KWASEK, Karolina, *et al* Free amino acids as indicators of nutritional status of silver bream(*Vimba vimba*), when using commercial and purified diets. En: Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. Enero, 2009.
- 3 EKNAYAKE, Sagarika; JANSZ Errol y NAIR, Bamboo. Proximate composition, mineral and amino acid content of mature *Canavalia gladiata* seeds. En: Food Chemistry Diciembre, 1998. Vol 66, p 115- 119
- 4 BARRET, G. C. y ELMOR D. T. Amino acid and peptids. 1 ed. Australia. Cambridge University Press, 1998.
- 5 GOYCOLEA ACUÑA, Pedro Alejandro. Estudio de prefactibilidad técnico económico para la obtención de hidrolizado de proteína vegetal a partir de Lupino. Trabajo de grado Ingeniero Civil Industrial, Mención Agroindustria. Temuco: Universidad de la Frontera. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Departamento de Ingeniería Química, 2001.
- 6 KEVIN, Williams. C. A review of feeding practices and nutritional requirements of postlarval groupers. EN: Aquaculture. Abril, 2009. Vol 292. P. 145- 152.
- 7 MARQUES FONSECA, M. F. y BORA, P.S.Composición química y análisis de aminoácidos de alubias. EN: Ciencia y Tecnología. Marzo, 2000. Vol 2. no 5,. p 248- 255.
- 8 CHAVAN, U. D; SHAHIDI, F. y NACZK, M. Extraction of condensed tanins from beach pea (*Lathyrus maritimus L.*) as affected by different solvents. EN: Food Chemistry. Mayo, 2001. Vol 75. P 509- 512.
- 9 MILLER, James N. y MILLER, Jane C. Estadística y quimiometría para Química Analítica. 4 ed. España: Prentice Hall, 2002.

ANEXOS

A. DETALLES DE RECOLECCIÓN Y SELECCIÓN DE FRUTOS

Durante el muestreo se cosecharon 96 frutos, de los cuales 84 estaban en óptimas condiciones los cuales fueron procesados para obtener la semilla, sin embargo para calcular porcentajes de rendimiento se tuvo en cuenta el peso de todos los frutos.

Tabla 37. Características físicas de los frutos de totumo *Crescentia cujete L.* que se encontraron en óptimas condiciones

Número de totumos	Peso (g)	Tamaño (cm)		Color N°	Forma
		Axial	Ecuatorial		
1	730	10,4	12,2	4	Ovalada
2	560	11,3	10	4	Ovalada
3	430	10,1	10	4	Esférico
4	880	13,2	12,5	4	Ovalada
5	840	11,5	14,4	4	Ovalada
6	850	12,4	12,6	4	Esférico
7	620	11,2	11,5	4	Esférico
8	480	8,9	10	4	Ovalada
9	850	10,5	14	4	Ovalada
10	750	10,5	13	4	Ovalada
11	460	8,5	10	4	Ovalada
12	370	7,8	10	4	Ovalada
13	900	12,5	13	4	Esférico
14	1100	12	14,8	4	Ovalada
15	950	11,6	14,7	3	Ovalada
16	950	11,3	14,5	3	Ovalada
17	620	11,5	10	3	Ovalada
18	630	11,5	10,3	3	Ovalada
19	530	10,2	10,7	3	Ovalada
20	550	10,5	10,5	3	Esférico
21	640	13,3	10,5	3	Ovalada
22	850	13,4	13	3	Ovalada
23	1100	13,8	13,2	3	Ovalada
24	970	13	13,5	4	Ovalada
25	850	10	12,5	4	Ovalada
26	860	11,5	12,5	4	Ovalada
27	660	11,5	11	4	Esférico
28	650	12,6	10,6	4	Ovalada
29	640	11	11	4	Esférico
30	1060	13	13	4	Esférico
31	840	16,8	13	4	Ovalada
32	1040	13,1	12,5	3	Ovalada
33	640	11,4	12	3	Ovalada

34	720	11,3	12,5	3	Ovalada
35	480	9,5	9,6	3	Esférico
36	620	11,5	10,5	3	Ovalada
37	420	10	9	3	Ovalada
38	360	8,1	9,5	3	Ovalada
39	360	9,6	8,6	3	Ovalada
40	500	8,8	10	4	Ovalada
41	410	9,6	9,2	4	Ovalada
42	450	8,5	10,3	4	Ovalada
43	460	9,3	10	4	Ovalada
44	510	9,2	10,7	4	Ovalada
45	480	9	10,6	4	Ovalada
46	350	10,3	9,9	4	Ovalada
47	550	12,5	10,3	4	Ovalada
48	590	11,5	11,3	4	Esférico
49	500	10,1	11	4	Ovalada
50	660	11	12,1	4	Ovalada
51	600	10,5	10,7	4	Esférico
52	870	14,1	11,5	4	Ovalada
53	560	11,8	11	4	Ovalada
54	770	11,7	12	4	Esférico
55	520	11,3	9,6	4	Ovalada
56	760	12,6	11,1	4	Ovalada
57	370	9,2	9,1	4	Esférico
58	920	11,5	13	4	Ovalada
59	750	14,5	11	4	Ovalada
60	910	10	12,4	4	Ovalada
61	300	9,5	8	4	Ovalada
62	580	10,6	10,7	4	Ovalada
63	700	10,3	12	4	Ovalada
64	590	10,6	12	4	Ovalada
65	700	13,8	11,5	4	Ovalada
66	780	12,1	12,5	4	Esférico
67	600	11	11,6	3	Ovalada
68	980	10,1	14,5	3	Ovalada
69	610	11,2	11,7	4	Ovalada
70	1220	11,9	17	3	Ovalada
71	1220	12,2	15,3	4	Ovalada
72	890	10,5	14	4	Ovalada
73	1800	18,5	13,7	4	Ovalada
74	1150	12	15,4	4	Ovalada
75	1160	14,4	13	4	Ovalada
76	1000	14	15,2	4	Ovalada
77	1110	13	13,5	4	Ovalada
78	1220	12	15	4	Ovalada

79	1400	16,5	14	4	Ovalada
80	1220	12	15	4	Ovalada
81	1140	12	14,5	4	Ovalada
82	820	12,5	12,5	4	Esférico
83	760	12,5	12,5	4	Esférico
84	980	11,1	14,5	4	Ovalada

Tabla 38. Características físicas de los frutos de totumo *Crescentia cujete* L. rechazados por encontrarse dañados por presencia de insectos y golpes

Número de totumos	Peso (g)	Tamaño (cm)		Color N°	Forma
		Axial	Ecuatorial		
1	370	10	9,5	3	Esférico
2	1430	17,6	13,5	4	Ovalada
3	950	13,5	13,6	4	Esférico
4	1020	11,5	14,7	4	Ovalada
5	375	9,7	9,1	4	Ovalada
6	1100	11,4	15,6	4	Ovalada
7	610	12	11,5	3	Ovalada
8	780	12	13	3	Ovalada
9	1060	13	13,5	3	Esférico
10	830	12,6	11	4	Ovalada
11	360	8,4	8,7	3	Ovalada
12	630	9,4	11,3	4	Ovalada

Tabla 39. Peso y media de las características físicas de los frutos recolectados durante el muestro

	Peso (g)	peso	Media tamaño	
			Axial	Ecuatorial
Muestreo completo	72745	772.83	11.62	12.01
Frutos dañados	9515	792.92	11.76	12.08
Frutos en buen estado	63230	752.74	11.47	11.94

B. CÁLCULOS DEL ANÁLISIS PROXIMAL REALIZADO A LA TORTA TAMIZADA T18 Y SUS FRACCIONES

Tabla 40. Contenido de humedad en la torta tamizada (T18), y en las fracciones F12 y F18

Muestra	W caja (g)	W muestra (g)	W caja + muestra (g)	Tiempo (h)	W caja + muestra (g)	W muestra seca (g)	% Humedad	% Materia seca	Media T18	Desviación estándar	CV
T18 (1)	85,560	6,002	91,562	5	90.830	5.270	12.196	87.804	12.295	0.0549	0.448
T18 (2)	96,658	6,006	102,664	5	101.925	5.267	12.304	87.696			
T18 (3)	89,088	6,001	95,089	5	94.353	5.265	12.265	87.735			
F12 (1)	88,729	6,014	94,743	6	94,035	5,306	11,773	88,227	11,785	0,0368	0,312
F12 (1)	87,572	6,012	93,584	6	92,873	5,301	11,826	88,174			
F12 (3)	93,714	6,014	99,728	6	99,021	5,307	11,756	88,244			
F18 (1)	95,183	6,004	101,187	6	100,468	5,285	11,975	88,025	11,996	0,071	0,592
F18 (2)	89,329	6,004	95,333	6	94,608	5,279	12,075	87,925			
F18 (3)	94,677	6,006	100,683	6	99,966	5,289	11,938	88,062			

Tabla 41. Extracción del aceite, tiempo de extracción cuatro horas utilizando como solvente hexano

Muestra	W balón + perlas (g)	W muestra (g)	W grasa + balón (g)	W grasa (g)	% de grasa B.S	% de grasa B.H	Media B.S	Media B.H	Desviación estándar	CV
T18 (1)	111,915	2,507	111,95	0,035	1,396	1,396	1,409	1,352	0,0227	1,611
T18 (2)	109,328	2,508	109,364	0,036	1,435	1,435				
T18 (3)	107,189	2,507	107,224	0,035	1,396	1,396				
F12 (1)	88,641	2,002	88,91	0,269	13,437	13,437	13,537	11,942	0,09	0,665
F12 (1)	106,163	2,005	106,435	0,272	13,566	13,566				
F12 (3)	109,193	2,006	109,466	0,273	13,609	13,609				
F18 (1)	111,667	2,003	111,92	0,253	12,631	12,631	12,638	11,162	0,136	1,076
F18 (2)	109,076	2,003	109,328	0,252	12,581	12,581				
F18 (3)	106,941	2,002	107,198	0,257	12,837	12,837				

Tabla 42. Determinación de cenizas o material mineral

Muestra	W crisol (g)	W muestra (g)	W muestra + crisol (g)	W cenizas + crisol (g)	W cenizas (g)	% cenizas B.S	% cenizas B.H	Media BS	Media BH	Desviación estándar	CV
T18 (1)	28,915	1,006	29,921	28,981	0,066	6,561	5,757	6,622	5,811	0,054	0,809
T18 (2)	21,065	1,007	22,072	21,132	0,067	6,653	5,838				
T18 (3)	19,256	1,007	20,263	19,323	0,067	6,653	5,838				
F12 (1)	28,859	1,004	29,863	28,882	0,023	2,291	2,021	2,29	2,020	0,001	0,0437
F12 (1)	41,2	1,004	42,204	41,223	0,023	2,291	2,021				
F12 (3)	41,665	1,005	42,67	41,688	0,023	2,289	2,019				
F18 (1)	20,083	1,004	21,087	20,107	0,024	2,390	2,104	2,39	2,104	0,0048	0,20 1
F18 (2)	21,696	1,002	22,087	21,72	0,024	2,395	2,108				
F18 (3)	26,293	1,006	27,299	26,317	0,024	2,386	2,099				

Tabla 43. Determinación de nitrógeno o proteína bruta

Muestra	W muestra (g)	mL de HCl	Concentración HCl	% nitrógeno	% proteína B.S	% proteína B.H	Media BS	Media BH	Desviación estándar	CV
T18 (1)	0,151	9,22	0,0975	8,335	52,091	45,708	52,046	45,668	0,068	0,131
T18 (2)	0,153	9,34	0,0975	8,333	52,080	45,697				
T18 (3)	0,153	9,32	0,0975	8,315	51,968	45,599				
F12 (1)	0,154	2,46	0,0975	2,180	13,628	12,022	13,776	12,152	0,256	1,858
F12 (1)	0,154	2,46	0,0975	2,180	13,628	12,022				
F12 (3)	0,154	2,54	0,0975	2,251	14,071	12,413				
F18 (1)	0,153	2,98	0,0975	2,659	16,616	14,623	16,804	14,788	0,422	2,511
F18 (2)	0,154	2,98	0,0975	2,641	16,509	14,528				
F18 (3)	0,152	3,08	0,0975	2,766	17,287	15,213				

Tabla 44. Fibra bruta o extracto no nitrogenado

Muestra	W muestra (g)	W crisoles (g)	W crisoles + muestra digestada (g)	W crisoles + cenizas (g)	Perdida de peso (g)	% fibra BS	% fibra BH	Media BS	Media BH	Desviación estándar	CV
T18 (1)	2,004	42,056	42,423	42,055	0,368	18,363	16,113	17,908	15,714	0,431	2,407
T18 (2)	2,005	40,828	41,18	40,829	0,351	17,506	15,361				
T18 (3)	2,005	31,471	31,829	31,471	0,358	17,855	15,667				
F12 (1)	1,010	39,087	39,582	39,091	0,491	48,614	42,885	48,075	42,409	0,665	1,383
F12 (1)	1,017	50,376	50,868	50,377	0,491	48,279	42,590				
F12 (3)	1,012	49,697	50,176	49,697	0,479	47,332	41,754				
F18 (1)	1,011	36,236	36,727	36,241	0,486	48,071	42,305	47,792	42,059	0,572	1,197
F18 (2)	1,012	43,169	43,653	43,176	0,477	47,134	41,480				
F18 (3)	1,011	47,975	48,464	47,977	0,487	48,170	42,392				

C. DATOS Y CÁLCULOS SOBRE LA DETERMINACIÓN DE MINERALES LA TORTA TAMIZADA

Tabla 45. Datos de la estandarización para la determinación de calcio y magnesio por titulación con EDTA

Estandarización del EDTA								
Replicas	W CaCO ₃ (g)	mL EDTA	mol CaCO ₃	Concentración CaCO ₃ (M)	Concentración EDTA (M)	Media EDTA (M)	Desviación estándar	CV
1	0,1	2,84	0,000999	0,00999	0,00735	0,00724	0,00018	2,486
2	0,1	2,72	0,000999	0,00999	0,00704			
3	0,1	2,72	0,000999	0,00999	0,00735			

Tabla 46. Datos de la determinación de calcio y magnesio por titulación con EDTA

Replicas	W cenizas (g)	W muestra (g)	Blanco Ca y Mg (mL)	mL EDTA Ca y Mg	mL EDTA Ca	mg de Ca / 100 muestra BS	mg de Mg / 100 muestra BS
1	0,0063	0,0951	0,06	0,48	0,12	146,398	266,324
2	0,0060	0,0906	0,06	0,46	0,10	128,098	279,640
3	0,0060	0,0906	0,06	0,46	0,10	128,098	279,640
Media de Ca				134,198			
Desviación Ca				10,565			
CV Ca				7,873			
Media de Mg				275,201			
Desviación Mg				7,688			
CV Mg				2,794			

Figura 13. Curvas de calibración para determinar hierro, fósforo y en la torta tamizada (T18)

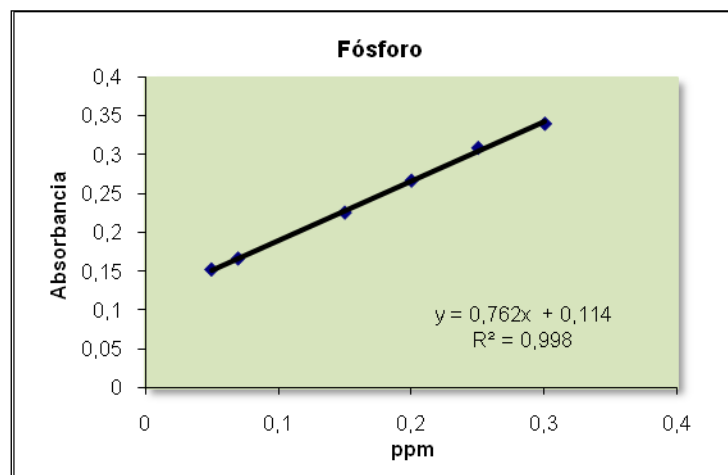
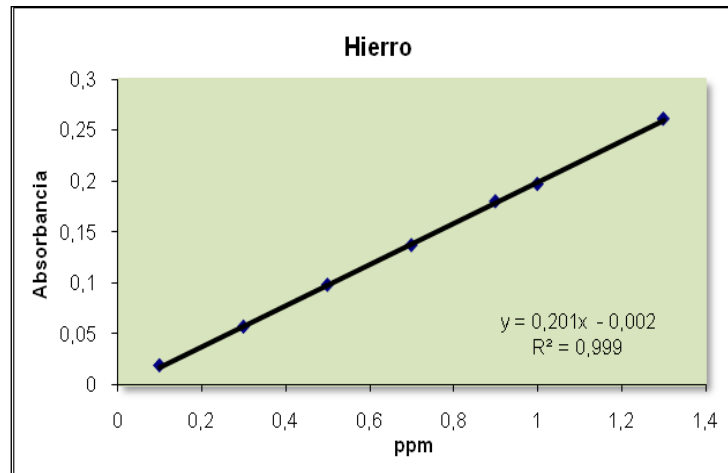


Tabla 47. Datos para hierro y fósforo

Fósforo					Hierro				
Replicas	Absorbancia	W cenizas (g)	W muestra (g)	mg P /100g de MS	Replicas	Absorbancia	W cenizas (g)	W muestra (g)	mg Fe /100g de MS
1	0,124	0,0031	0,0468	115,607	1	0,022	0,0039	0,0589	21,659
2	0,125	0,0032	0,0483	123,306	2	0,023	0,0040	0,0604	21,973
3	0,124	0,0031	0,0468	115,607	3	0,022	0,0039	0,0589	21,659
Media	118,173				Media	21,764			
Desviación estándar	4,445				Desviación estándar	0,181			
CV	3,762				CV	0,832			
A	0.002				a	0.114			
B	0.201				b	0.762			
R ²	0.999				R ²	0.998			

D. DETERMINACIÓN DE TRANS-B-CAROTENO.

Se realizó una curva patrón y por interpolación se calculo la concentración de esta provitamina en la muestra, a partir de esta concentración se encontró UI de vitamina A y los equivalentes de retinol. Las equivalencias utilizadas son las siguientes:

$$1 \text{ mg de } \beta\text{-caroteno} \equiv 0,8 \text{ U.I vitamina A}$$

$$6 \text{ mg de } \beta\text{- carotenos} \equiv 1 \text{ equivalente de retinol}$$

Figura 14. Curva de calibración para trans- β -caroteno

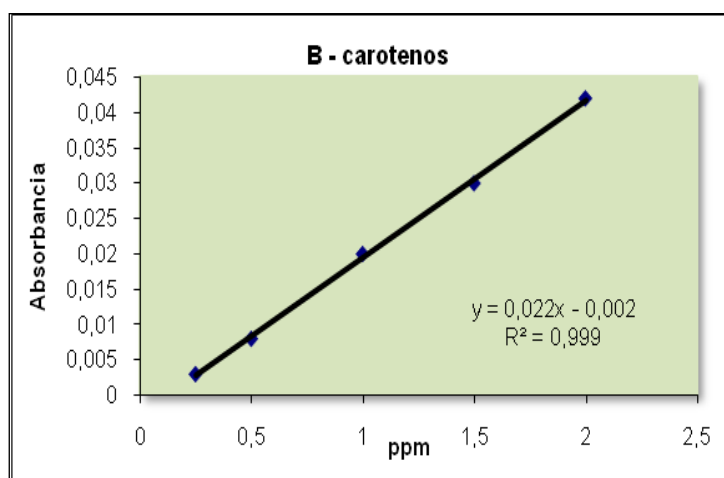


Tabla 48. Datos para trans- β -caroteno

Replicas	1	2	3
W de muestra (g)	15,001	15,000	15,001
Absorbancia	0,022	0,023	0,022
mg β -carotenos/ 100 g de muestra	0,0745	0,0775	0,0745
U.I vitamina A	0,000596	0,000620	0,000596
U.I vitamina A / 100 g de muestra	0,0596	0,0620	0,0596
Equivalentes de retinol ER	0,000124	0,000129	0,000124
ER / 100 g de muestra	0,0124	0,0129	0,0124
Media β - carotenos	0,0755		
Media vitamina A	0,0604		
Media ER	0,0126		
Desviación estándar	0,00174		
CV	2,300		
a	-0.002		
b	0.022		
R ²	0.999		

E. DATOS PARA AMINOÁCIDOS Y PROTEÍNAS

Cálculos de aminoácidos. El análisis de aminoácidos se realizó en base húmeda para los cálculos se tuvo en cuenta el porcentaje de humedad (12.255%), además, del contenido de nitrógeno (8.327%) y proteína (52.046%) de la torta tamizada.

Figura 15. Cromatograma de aminoácidos totales (% MH)

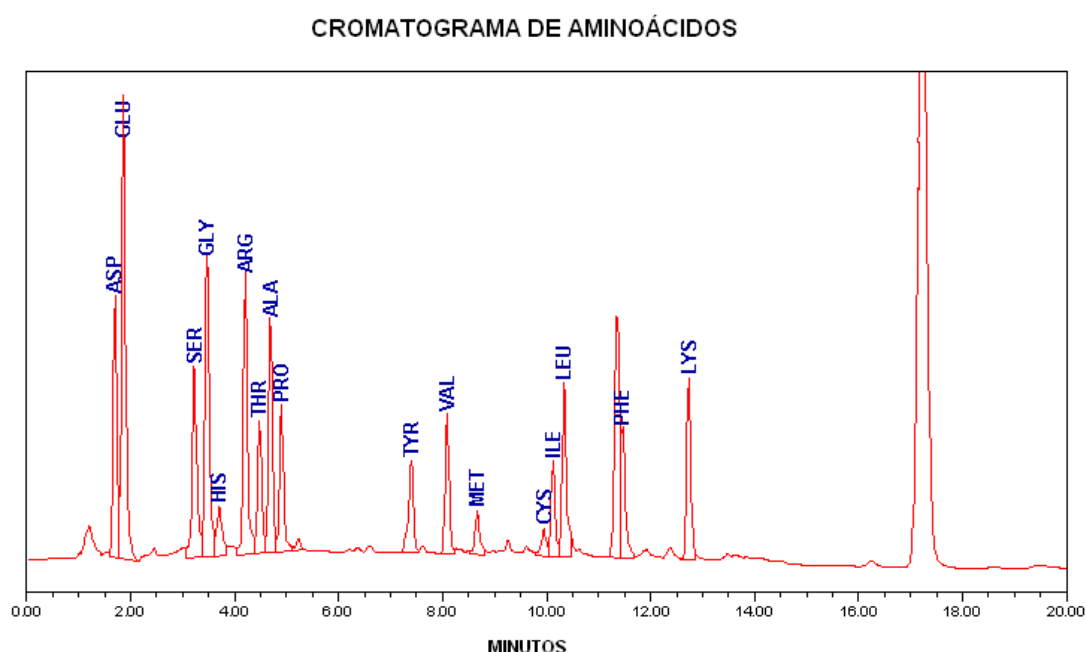


TABLA 49. Concentración aminoacídica en base húmeda y su respectiva conversión a base seca

Aminoácido	% BH	% BS	mg aminoácido/ g nitrógeno	g aminoácidos /100 g proteína
Tirosina	0,753	0,858	103,059	1,649
Valina	0,586	0,668	80,202	1,283
Fenilalanina	0,638	0,727	87,319	1,397
Isoleucina	0,448	0,511	61,315	0,981
Leucina	0,889	1,013	121,672	1,947
Metionina	0,309	0,352	42,291	0,677
Alanina	0,762	0,868	104,290	1,669

Prolamina	0,669	0,762	91,562	1,465
Serina	0,808	0,921	110,586	1,769
ácido aspartico	1,300	1,482	177,923	2,847
ácido glutamico	2,653	3,024	363,100	5,809
Glisina	0,869	0,990	118,935	1,903
Histidina	0,520	0,593	71,169	1,139
Arginina	1,897	2,162	259,631	4,154
Treonina	0,627	0,715	85,814	1,373
Cisteina	0,192	0,219	26,278	0,420
Lisina	0,53	0,604	72,538	1,161

Cálculos y desviaciones estándar para las fracciones proteicas. Los valores reportados para las fracciones de Osborne de la torta tamizada son aproximaciones debido a que las cantidades reportadas son mediante el peso de cada fracción extraída. En esta metodología se realizó diálisis para separar albuminas y globulinas y para gluteninas teniendo en cuenta la conductividad del agua utilizada.

Tabla 50. Reportes de conductividad de la diálisis

Conductividad del agua albuminas y globulinas			
Hora y fecha		Conductividad inicial	Conductividad final
28-11-08	5pm-11:30am	1,17	194,2
29-11-08	11:30am 4:30pm	1,92	10,26
30/11/2008	4:30pm-12:30 pm	1,57	7,98
1-12-08	4:30 pm-9:00 am	1,57	2,7
1-12-08	9:00am-6:00pm	1,57	2,51
2-12-08	6:00pm-11:00pm	1,57	6,21
2-12-08	11:00pm-1:00pm	1,58	1,83
2/12/2008	1:00pm-2:00pm	1,58	2
28-11-08	5pm-11:30am	1,17	189,8
29-11-08	11:30am 4:30pm	1,17	11
30/11/2008	4:30pm-12:30 pm	1,55	7,94
1-12-08	4:30 pm-9:00 am	1,55	2,66
1-12-08	9:00am-6:00pm	1,55	2,57
2-12-08	6:00pm-11:00pm	1,55	7,7
2-12-08	11:00pm-1:00pm	1,58	1,89
2/12/2008	1:00pm-2:00pm	1,58	1,89
28-11-08	5pm-11:30am	1,06	229
29-11-08	11:30am 4:30pm	1,06	11,8
30/11/2008	4:30pm-12:30 pm	1,06	7,94
1-12-08	4:30 pm-9:00 am	1,26	6,5

1-12-08	9:00am-6:00pm	1,26	9,04
2-12-08	6:00pm-11:00pm	1,06	2,8
2-12-08	11:00pm-1:00pm	1,06	2,4
2/12/2008	1:00pm-2:00pm	1,06	2,4

Conductividad del agua gluteninas			
Hora y fecha		Conductividad inicial	Conductividad final
02-12-08	2:15 pm -3:0 pm	1,33	989,4
02/12/2008	3:00 pm- 4:00 pm	1,33	49,28
03 -12 09	4:00 pm- 8:16 am	1,06	24,96
04-12-09	8:16 am - 2:15pm	1,26	8,16
04-12-09	2:15 pm-10:30 am	1,28	3,47
04-12-09	10:30am - 11:30pm	1,28	2
04-12-09	12:0m - 3:00pm	1,16	1192
04-12-09	3:00 pm - 6:00pm	1,16	34,68
05-12-09	6:00pm - 8:45am	1,02	17,87
06/12/09	8:45am-10:45 pm	1,02	2,31
06/12/09	10:45 pm-1:45pm	1,02	2,17
06/12/09	1:45 pm-3:00pm	1,02	2,17
04-12-09	12:0m - 3:00pm	1,16	1176
04-12-09	3:00 pm - 6:00pm	1,16	50,31
05-12-09	6:00pm - 8:45am	1,02	19,63
06/12/09	8:45am-10:45 pm	1,02	1,8
06/12/09	10:45 pm-1:45pm	1,16	1,2
06/12/09	1:45 pm-3:00pm	1,16	1,2

Tabla 51. Peso de las fracciones proteicas y sus desviaciones

Replicas	1	2	3
W de torta	45,4816	45,482	45,4814
GLT (%)	37,489	37,851	37,863
GLB (%)	15,4971	15,0649	15,0613
PRL (%)	10,0020	10,0036	10,0033
ALB (%)	5,4826	5,5503	5,5430
	GLT	GLB	PRL
Media	37,7342	15,2078	10,0029
Desviación estándar	0,2128	0,2506	0,0009
CV	0,5640	1,6478	0,0085
			ALB
			5,5253
			0,0372
			0,6728

Para determinar el porcentaje de extracción de las fracciones en la torta se realizó proteína bruta o Kjeldahl a la torta sobrante de las extracciones y el porcentaje de humedad (79,759 %).

Tabla 52. Proteína Kjeldahl al residuo de torta

Replicas	1	2	3
W de muestra humedad	0,814	0,814	0,818
volumen HCl (L)	0,00328	0,00336	0,00346
% de nitrógeno BH	0,519	0,547	0,529
% de proteína BH	3,241	3,419	3,304
% de proteína BS	16,014	16,893	16,324
Promedio Proteína Base Seca en el residuo	16,410		
Desviación	0,446		
C.V	2,716		
Proteína T18 BS	52,046		
Proteína extraída	35,636		
% proteína extraída	68,470		

F. DATOS DE FACTORES ANTINUTRICIONALES

Determinación de fenoles totales en la torta tamizada.

Figura 16. Curva de calibración utilizada para calcular la concentración de fenoles totales en la torta tamizada

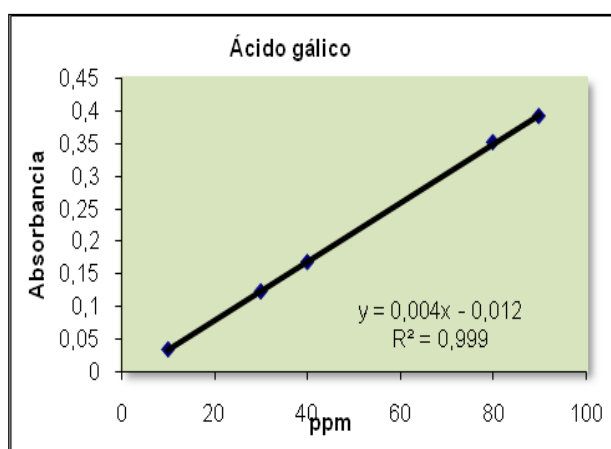


Tabla 53. Datos de concentración de fenoles totales en la muestra y desviación

Replicas	1	2	3
w de muestra	2,0417	2,043	2,0469
Absorbancia	0,246	0,250	0,253
ppm de ácido gálico	1149,333	1167,111	1180,444
mg de ácido gálico	28,7333	29,1778	29,511
mg de ácido gálico/ g de muestra	14,073	14,282	14,417
% de ácido gálico/ muestra	1,407	1,428	1,442
Media	1,426		
Desviación estándar	0,0173		
CV	1,216		
a	-0.012		
b	0.004		
R²	0.999		