

Tesis de Posgrado

Estudio de la composición química de la semilla y de los aceites de semilla de frutos de especies de "Prunus" de producción nacional. Harinas de extracción y aislamiento de proteínas

Funes, Jorge Armando

1978

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Funes, Jorge Armando. (1978). Estudio de la composición química de la semilla y de los aceites de semilla de frutos de especies de "Prunus" de producción nacional. Harinas de extracción y aislamiento de proteínas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1538_Funes.pdf

Cita tipo Chicago:

Funes, Jorge Armando. "Estudio de la composición química de la semilla y de los aceites de semilla de frutos de especies de "Prunus" de producción nacional. Harinas de extracción y aislamiento de proteínas". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1978.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1538_Funes.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESTUDIO DE LA COMPOSICION QUIMICA DE LA SEMILLA
Y DE LOS ACEITES DE SEMILLA DE FRUTOS DE ESPECIES
DE "PRUNUS" DE PRODUCCION NACIONAL. HARINAS DE
EXTRACCION Y AISLAMIENTO DE PROTEINAS.

JORGE ARMANDO FUNES

Tesis presentada para optar al título
de Doctor en Ciencias Químicas.

1978

1538
E.2

15-2

Agradezco particularmente al Dr. Pedro Cattáneo por haber posibilitado la realización de esta Tesis bajo su dirección, brindándome todo su amplio conocimiento y experiencia y demostrándome constantemente su hombría de bien.

Agradezco

a la Dra. María H. Bertoni, quien con sus inestimables enseñanzas y constante preocupación, hizo posible la realización de este trabajo.

a la Dra. Inge M. Thiel el apoyo brindado.

a mis compañeros de Bromatología su cordial y sincera amistad.

a mis compañeros, profesores y personal del Departamento de Química Orgánica, en particular al Dr. Luis F. Sala, por su cordialidad y estímulo permanente.

Agradezco también

a la firma Benvenuto SACI "La Campagnola" su valiosa colaboración al proveer las partidas de carozos de damasco, durazno y ciruela que fueron motivo de estudio. Asimismo y muy especialmente al Dr. Roberto A. Dubos, de la firma antedicha, por la diligente actuación para el logro de las partidas de carozos y por la importante información técnica suministrada acerca de la obtención de algunas de ellas.

al Sr. Ingeniero Agrónomo Milán J. Dimitri, Decano de la Facultad de Agronomía de la Universidad de La Plata por haber proporcionado una partida de frutos maduros de P. laurocerasus L.

al Sr. Arquitecto De Bary Tornquist de la Estancia Mamin-Co (Tornquist, Provincia de Buenos Aires), por la provisión de frutos maduros de P. mahaleb L. y con ello por el interés mostrado en posibilitar parte de este estudio.

A mis padres.

A mis hermanos.

A Héctor.

- INTRODUCCION -

1. El género Prunus (Rosaceae)
2. Antecedentes sobre Características y Composición Química de Semilla de Especies de Prunus.
 - 2.1. Composición y características de aceites seminales de especies de Prunus.
 - 2.2. Composición de las harinas residuales de la extracción de aceite seminal.
3. Compuestos Cianogénicos.
 - 3.1. Glicósidos cianogénicos.
 - 3.2. Lípidos cianogénicos.
 - 3.3. Glicósidos pseudocianogénicos.
 - 3.4. Aislamiento, purificación y caracterización de compuestos cianogénicos.
 - 3.5. Determinación cuantitativa de compuestos cianogénicos.

1.- EL GENERO PRUNUS

El género Prunus pertenece a la numerosa familia de las Rosáceas, la cual incluye alrededor de 90 géneros, que comprenden unas 1500 especies según Eckey¹ y 2000 según Dimitri y Parodi², ampliamente distribuidas en las regiones templadas y templado-cálidas de ambos hemisferios.

La familia de las Rosáceas puede ser dividida en seis subfamilias aunque algunas de las mismas son consideradas familias por ciertos autores.

A pesar de la amplitud de esta familia, es escasa la información existente sobre los aceites seminales de las especies pertenecientes a la misma, habiéndose estudiado pocos géneros a ese nivel. En general podemos afirmar que especies pertenecientes al mismo género producen aceites con características y composiciones similares, no así entre aquellas especies que pertenecen a distintos géneros. De acuerdo a esto Hilditch y Williams³ dividen a esta familia en dos grupos bien diferenciados:

- 1) Arbustos de "habitat" templado y subtropical (Prunus, Rubus, Crataegus, Cydonia, Geum, Sanguisorba) cuyas grasas son ricas en ácidos linoleico y oleico y ocasionalmente en linolénico, con bajos contenidos en ácidos saturados (5%).
- 2) Especies pertenecientes a géneros tropicales (Licania y Parnarium) en las cuales el contenido de ácidos saturados es más alto, con ácidos oleico y linoleico en cantidades semejantes a las de los saturados, siendo en cambio predominantes los

ácidos altamente insaturados conjugados en C₁₈.

Winton y Winton⁴ señalan las siguientes especies conocidas en el género Prunus:

- P. communis Fritsch = P. amygdalus Stokes = Amygdalus communis L (almendro).
- P. persica Sieb et Zucc = Amygdalus persica L = Persica vulgaris Mill (duraznero)
- P. persica var. nucipersica Schneid = Persica nucipersica Borkh (nectarina).
- P. armeniaca L = Armeniaca vulgaris Lam (damasco).
- P. domestica L = P. communis Huds (ciruelo).
- P. avium L = P. cerasus L var. avium L = C. avium Moench (ce-rezo).
- P. cerasus L = Cerasus vulgaris Mill (guindo).

De acuerdo a Dimitri y Parodi², el género Prunus comprendería unas 200 especies originarias en su mayoría del hemisferio Norte (unas pocas del Sur), mencionando las siguientes:

- 1) P. insititia L (P. domestica var. insititia Fiori et Paol)
Ciruelo.
- 2) P. cerasífera Ehrh (P. myrobalana Loisel) Mirabolán.
- 3) P. doméstica L Ciruelo europeo
- 4) P. salicina Lindl (P. triflora Roxb) Ciruelo japonés
- 5) P. armeniaca L (Armeniaca vulgaris Lam) Damasco, albaricoque
- 6) P. tenella Batsch (P. nana (L) Stokes, Amygdalus nana L)
Almendro enano.
- 7) P. triloba Lindl. (Amygdalopsis lindleyi Carr)

- 8) P. amygdalus Batsch (P. communis (L) Arcang, Amygdalus communis L.) Almendro.
- 9) P. persica (L) Batsch (Amygdalus persica L) Duraznero
- 10) P. serrulata Lindl. Cerezo japonés. Cerezo de flor.
- 11) P. sieboldii (Carr) Wittm. Cerezo japonés, cerezo de flor.
- 12) P. mahaleb L. Cerezo de Santa Lucía.
- 13) P. cerasus L (Cerasus vulgaris Mill) Guindo.
- 14) P. avium L (Cerasus avium (L) Moench) Cerezo.
- 15) P. laurocerasus L Laurel cerezo
- 16) P. serotina Ehrh
- 17) P. padus L (P. racemosa Lam. Cerasus padus (L) DC).
- 18) P. virginiana L.

El mismo autor observa que en nuestro país existen algunas especies de Prunus indígenas que no se cultivan, dado su escaso valor ornamental. Se conocen también diversos híbridos interespecíficos de Prunus tales como el Plumcot, originado por cruzamiento entre P. salicina (ciruelo japonés) y P. armeniaca (damasco) pero que carecen de interés frutícola. Otro híbrido es el P. blireiana Andr. (P. cerasifera f. atropurpurea x P. mume). También hace mención de otros Prunus tales como: P. davidiana (Carr) Franch, originario de la China, P. ilicifolia (Nutt) Walp de California y P. mume Sieb et Zucc del Japón.

P. insititia L (P. doméstica var. insititia Fiori et Paol)
Ciruelo.

Es un árbol de porte mediano con frutos en péndulo,

subgloboso u ovoide, con pulpa dulce. Es originario de Europa y Oeste de Asia, floreciendo en primavera. La variedad syriaca (Borkh) llamada ciruela Mirabella, se caracteriza por sus frutos amarillos, subglobosos. La variedad itálica (Borkh) constituye la ciruela llamada Reina Claudia, de fruto globoso verde, parcialmente teñido de púrpura o completamente purpúreo.

P. armeniaca (Armeniaca vulgaris Lam) Damasco, albaricoque.

Es un árbol con fruto subgloboso o ligeramente alargado de 3-5 cm de diámetro con un surco lateral bien notable, de color amarillo, anaranjado, rosado o blanquecino. Algunos lo consideran como un intermediario entre el durazno y la ciruela. Es originario del Oeste de Asia, siendo actualmente cultivado en muchas partes del mundo (Estados Unidos, Europa, Rusia y China). El carozo del damasco recuerda al de la almendra amarga excepto en que representa un pequeño porcentaje del fruto. Los carozos pueden ser usados con la misma finalidad que aquellas, en la producción de aceites y aceites esenciales. Se considera que este aceite esencial es prácticamente igual al obtenido de almendras amargas.

P. amygdalus Batsch (P. communis (L).Almendro

Es un árbol de fruto ovoide o elipsoide de 4-8 cm de largo, originario posiblemente del Oeste de Asia y Norte de Africa, siendo ahora cultivado extensamente en la región Mediterránea y del Oeste de Asia, como así también en California.

Antes se lo consideraba una variedad del duraznero, en razón de su gran parecido tanto en las flores como en el fruto. No obstante en éste último, la pulpa externa es mucho más delgada y menos rugosa que en el durazno, siendo además, no comestible. Se conocen dos clases principales:

- 1) var. amara (DC) Focke, con frutos de 3-6 cm de largo, variedad amarga y no comestible debido al alto contenido en glicósidos cianogénicos, siendo cultivado en el sur de Europa para obtener el aceite esencial llamado aceite de almendras amargas. Este se logra por maceración de las semillas de almendras molidas con posterior destilación del aceite volátil (producto de la hidrólisis de los compuestos cianogénicos, formado principalmente por ácido cianhídrico y benzaldehído). Este aceite se usa en productos farmacéuticos y una vez eliminado el ácido cianhídrico, se lo utiliza para aromatizar alimentos.
- 2) Variedades dulces con poco o casi nada de compuestos cianogénicos:
 - var. sativa (Ludw) Kock que posee el endocarpio duro y la almendra dulce y comestible.
 - var. fragilis (Bock) con endocarpio fácilmente quebradizo y la almendra dulce y comestible.

P. persica (L) Batsch. Duraznero.

Es un árbol de fruto subgloboso de 5-10 cm de diámetro, de color blanco amarillento, amarillo o rosado, con endocarpio leñoso, profundamente surcado y a veces adherido a la pulpa. Es

originario de la China. Se conocen algunas variedades entre las que se mencionan: Atropurpurea, Alba, Duplex, Camelliaeflora, Magnífica, Versicolor, Scleropérsica, Aganopérsica, Nectarina o pelones, Compressa.

P. serrulata Cerezo japonés, cerezo de flor.

Es un árbol ornamental, oriundo del Este de Asia con flores blancas o rosadas.

P. mahaleb. Cerezo de Santa Lucía

Es un pequeño árbol con flores blancas, en racimos. Sus frutos son pequeños, globosos, ácidos, de color negro y del tamaño de una arveja. Es oriundo de Europa y Oeste de Asia. Florece en primavera y se lo utiliza como portainjerto de los cerezos y guindos.

P. cerasus (Cerasus vulgaris) Guindo

Es un árbol con flores blancas y con frutos agrídulces o ácidos, de color rosado o purpúrea, más raramente amarillo. Es originario de Europa y Asia. Se conocen las variedades caproniana austera L y marasca.

P. avium L (Cerasus avium(L). Cerezo.

Es un árbol a menudo de gran porte, con flores blancas y fruto rojo o purpúreo. Originario de Europa y Asia. Se conocen las variedades Plena (West)Schneid, Pendulata (Seringa) Schneid, Juliana (L) Kock, Duracina (L) Kock.

P. laurocerasus L Laurel Cerezo.

Es un árbol pequeño con flores blancas, frutos ovoide-cónicos, de más o menos un centímetro de diámetro y de color negro-púrpura. Originario de Europa y Asia, su uso es ornamental y medicinal. Es venenoso por contener altos niveles de glicósidos cianogénicos.

2.- ANTECEDENTES SOBRE CARACTERISTICAS Y COMPOSICION QUIMICA DE SEMILLA DE ESPECIES DE PRUNUS.

Los contenidos de carozo por ciento de fruto así como los de semilla por ciento de carozo son de importancia respecto de los rendimientos en aceite seminal. Para frutos cosechados en los Estados Unidos de Norte América, la literatura menciona las siguientes cifras⁵.

	<u>carozo</u> <u>% fruta</u>	<u>semilla</u> <u>% carozo</u>	<u>aceite</u> <u>% pepa</u>
Damasco	5,6	20-25	40-47
Guinda	12-15	28	32-40
Durazno	7,5-12	5-8	40-46
Ciruela	2,3-6	5-27	30-43
Almendra	-	33-70	49-60

Según Winton y Winton⁴, el contenido de proteínas seminales en base seca, varía desde el 18% en la almendra hasta el 35% en la cereza. y el de aceite desde el 37% en la pepa de cereza hasta más del 60% en la de la almendra.

2.1 Composición y características de aceites seminales de especies de Prunus.

Los aceites seminales de duraznero, damasco y ciruelo tienen características y composición similares asemejándose al de almendro, por lo que se suelen usar como sustitutos de éste último. En cambio los aceites seminales de cerezo y guindo tienen características distintas por la presencia de ácido α -eleostéarico. Las Tablas 2 y 3 ilustran sobre las características fisicoquímicas y composiciones acídicas de estos aceites.

2.1.1. Aceite de almendro

La expresión "aceite de almendras dulces" se usa para designar los aceites de las almendras, siendo necesario distinguirla de la de "aceite de almendras amargas" que constituye el producto de destilación de la maceración de las almendras molidas. El nombre de "aceite de almendras dulces" no implica que solo se extraiga de frutos dulces, sino que principalmente el aceite de almendras se extrae de frutos amargos. Las almendras amargas se presionan para obtener aceite a una temperatura que no sea suficientemente alta como para inactivar las enzimas hidrolíticas, ya que después de ese tratamiento la torta se usa para la obtención del aceite de almendras amargas.

El aceite obtenido es de un color amarillo pálido, con un agradable olor y sabor, utilizándose principalmente en la preparación de cosméticos y productos farmacéuticos.

Las características del aceite de damasco son muy similares a las del aceite de almendras, de manera tal que es

muy difícil distinguirlos mediante análisis someros o corrientes. Por ello se han propuesto varios métodos para detectar adulteraciones de aceite de almendras. El ensayo más conocido es el de Bibiers, debido a Lewkowitzh⁷. El aceite de almendras puro no cambia de color cuando se le agrega el reactivo de Bibiers (mezcla de volúmenes iguales de agua, ácido sulfúrico concentrado y ácido nítrico fumante), mientras que el aceite de damasco produce una intensa coloración roja. Según Eckey¹ se puede evidenciar hasta un 15% de aceite de damasco por medio de esta reacción. Actualmente se sostiene⁸ que el componente responsable de la reacción es el γ -tocoferol (por nitración del mismo), ya que este compuesto es el principal constituyente de los tocoferoles totales en el aceite de damasco (tocoferoles totales según Taufel y Serisko⁹ 711 microgramos/g de aceite); en cambio en el aceite de almendras el α -tocoferol es el principal constituyente de esa fracción del insaponificable¹⁰.

En el aceite de almendras, los principales ácidos grasos son el oleico y el linoleico, con pequeños porcentajes de otros ácidos corrientes.

2.1.2 Aceite de damasco

Las pepas de los damascos constituyen aproximadamente el 20% de los carozos, conteniendo alrededor de 40-45% de aceite el cual, como ya se ha dicho, tiene características muy semejantes al de almendras, pudiendo ser usado para los mismos fines.

Lotti y colaboradores¹¹, con el objeto de contribuir al conocimiento de los aceites de semilla de especies del género Prunus y de valorar la eventual influencia de la variedad, han examinado los aceites extraídos de las semillas de 45 cultivos de damasco, procedentes de la región de Toscana (Italia). Determinaron las principales características analíticas de los aceites, el comportamiento al UV y al IR y la composición acídica por cromatografía gaseosa. Los resultados obtenidos mostraron que, a diferencia de lo que ocurre en otros aceites de semilla del género Prunus, en el caso del damasco la variedad influye poco, tanto en el contenido en aceite de la semilla como en el comportamiento al UV y en la composición acídica de los mismos.

2.1.3 Aceite de ciruelo

Las pepas de carozos de ciruela contienen alrededor de 30-40% de un aceite muy semejante al de almendras, que puede ser usado en reemplazo de éste último. La mayor parte de la producción de ciruelas se comercializa como fruta fresca o en forma deshidratada, conservando en ambos casos el carozo, de ahí el poco aprovechamiento del mismo. Según Eckey¹, se considera que en los Estados Unidos de Norte América, la producción de aceite puede alcanzar las 5000 toneladas anuales.

Lotti y colaboradores¹² estudiaron 27 variedades de ciruelas desarrolladas en condiciones climáticas similares, examinando el comportamiento al UV, al IR y la composición acídica

dica de los aceites seminales por CGL. Concluyeron que la com
posición acídica depende aparentemente de la variedad. Por
otra parte y en algunas variedades, detectaron pequeñas canti
dades de ácidos alfa y beta eleostéarico.

2.1.4 Aceite de duraznero

Las pepas de durazno contienen alrededor de 42% de
aceite, pudiendo ser usadas para la obtención de un aceite esen
cial de igual forma que las de las almendras. Mundialmente, se
produce poco aceite de duraznero, aunque en Europa se comercia
liza un aceite con el nombre de "aceite de durazno", que en
rigor es una mezcla de aceites de distintos Prunus (duraznero,
almendro, ciruelo y damasco).

Aunque la cantidad de duraznos industrializados es
grande, es poco significativa la producción de aceite. Ello es
debido a dos causas principales: 1) las máquinas cortadoras
seccionan el carozo de manera tal que la recuperación de los
fragmentos es dificultosa y 2) es un aceite cuya obtención no
resulta muy retributiva, pues si bien la pepita rinde alrede-
dor de 42% de aceite, ella representa tan solo el 10% del peso
total del carozo.

Lotti y colaboradores¹³ han examinado los aceites
extraídos de las semillas de 60 variedades de duraznos, culti-
vadas especialmente en Toscana. Analizaron las características
analíticas tradicionales y la composición acídica de los acei-
tes por CGL, así como su comportamiento al UV y al IR. Llega-

ron a la conclusión que la variedad influye notablemente tanto sobre el contenido en aceite de la semilla como sobre la composición acídica de los mismos, mientras que no ejerce influencia sobre su comportamiento al UV. Los valores que informaron fueron los siguientes:

η_{25}	: 1,4689 - 1,4728	(Valor medio: 1,4689)
Ind. de Yodo :	89,0 - 108,5	(Valor medio: 98,5)
Ind. de Sap. :	188,0 - 193,0	(Valor medio: 190,0)

Composición acídica (valores extremos):

16:0	6,1 - 12,3 %
16:1	0,2 - 0,9 %
18:0	1,0 - 3,2 %
18:1	44,6 - 80,5 %
18:2	11,6 - 41,2 %

2.1.5 Aceite de guindo

Las semillas de los carozos de frutos de guindo, P. cerasus, contienen alrededor de 30-38% de aceite. Los carozos, que se obtienen en gran cantidad en las fábricas de licores y dulces, se rompen, separando los leños por medio de soluciones salinas de Cl_2Mg o Cl_2Ca (densidad aproximada 1,15%) Las pepas que flotan en esas condiciones se separan, lavan, secan, muelen y prensan para obtener el aceite. Generalmente a este prensado en frío, sigue uno en caliente. El aceite obtenido en primer término es amarillo, teniendo un "flavor" agradable y suave, no así el obtenido en caliente que se usa en la

fabricación de jabones.

Se ha informado la presencia de ácidos insaturados conjugados en estos aceites. Así Weckel y Lee¹⁴ señalaron la presencia de ácido alfa-eleostéarico (c9-t11-t13 octadecatrienoico) y Popoff¹⁵, examinado los aceites de P. avium (cerezo) y P. cerasus (guindo) a través de UV y espectro de IR, determinó su concentración en los mismos (13,5 en P. avium y 7,5% en P. cerasus).

El aceite seminal del P. mahaleb (cerezo de Santa Lucía) presenta como característica más relevante una elevada concentración en ácido alfa-eleostéarico (según Saffet¹⁶ 36%).

2.2 Composición de las harinas residuales de la extracción de aceite seminal de especies de Prunus.

2.2.1 Almendra

A. Gonzales Moles¹⁷ ha realizado una recopilación sobre valores de composición química de las semillas de almendra, informando los siguientes datos:

	A %	B %	C %	D %
Proteínas	45,14	57,30	58,55	52,10
Hidratos de carbono	41,02	35,13	27,87	35,50
Fibra cruda	6,55	--	7,26	7,44
Cenizas	7,29	7,57	6,32	4,96

A) Watt y Merrill (1950)

B) Köning (1903)

C) Langley (1907)

D) Winton y Winton⁴

De acuerdo con la bibliografía, la composición química de la semilla de almendro es muy variable, dependiendo de condiciones tales como suelo, clima y grado de madurez. Jacobs¹⁸ afirma que durante el proceso de maduración la concentración de agua disminuye, la de grasa aumenta, en cambio los glúcidos permanecen constantes o se incrementan ligeramente y las proteínas disminuyen en relación al contenido graso, aunque los valores absolutos experimentan igualmente una elevación. Otro factor condicionante de la composición es la variedad, tal como ha sido demostrado por Morgan et al¹⁹ al estudiar semillas de diferentes variedades de almendros. Gonzales Moles¹⁷ también hace referencia a los estudios hechos sobre el valor nutritivo de esta especie. Cita a Mitchell y Beadles (1937) quienes compararon la digestibilidad de la proteína frente a la de carne de vacuno, representando un 94 % de esta última.

Por otra parte G. Moles¹⁷ comenta que según Hall, Moore y Guming, los diferentes tratamientos aplicados a las semillas de almendro como el escaldado y la fritura, hacen disminuir el coeficiente de eficiencia de la proteína para el crecimiento. Agrega también que Girard et al (1951) compararon el valor nutritivo de las almendras naturales y de las torrefactas encontrando que la proteína de almendra es de calidad mediocre (deficitaria en diversos aminoácidos esenciales, especialmente lisina, metionina y triptofano) y que el proceso de torrefacción afecta también a la calidad de la misma. La digestibilidad prácticamente no varía con este tratamiento, ya que sólo sufre un ligero incremento (92,3 % en las no torrefactas y 92,7 % en las

torrefactas). Se han llevado a cabo también ensayos de suplementación (agregado de aminoácidos, leche en polvo y caseína), habiéndose obtenido mejores resultados cuando se suplementó con lisina más metionina, leche en polvo y caseína, que cuando se incorporaron los aminoácidos metionina y lisina separadamente.

Gonzales Moles²⁰ realizó también una revisión de la composición en aminoácidos y características fisicoquímicas de las proteínas de semilla de almendra. La Tabla 1 ilustra sobre su composición aminoacídica.

2.2.2 Damasco

G. Moles¹⁷ presentó una revisión sobre la composición de la semilla de damasco, informando los siguientes valores:

	<u>A</u> %	<u>B</u> %	<u>C</u> %	<u>D</u> %	<u>E</u> %
Cenizas	4,31	6,01	3,84	6,15	6,04
Proteínas	44,62	42,77	42,30	73,67	38,77
Fibra Cruda	19,10	32,63	21,58	11,26	34,51
Hidratos de carbono	31,97	18,59	32,28	8,92	20,68

A) Galvez et al (1963)

D) Winton y Winton⁴

B) Dang et al (1964)²⁷

E) Dang et al (1964)²⁷

C) Sala (1942)

Uno de los inconvenientes que presentan estas harinas para su utilización como alimento es su toxicidad, debido a la presencia de glicósidos cianogénicos. Para posibilitarla

es necesario desarrollar una técnica económica de detoxificación que disminuya el contenido de ácido cianhídrico a dosis no tóxicas y que no afecte de manera significativa el valor nutritivo ni la aceptabilidad del alimento.

G. Moles¹⁷, con el objeto de utilizar la pepa de semilla de damasco en la alimentación, ha estudiado la digestibilidad de los distintos componentes de la misma, como así también la influencia de los métodos de detoxificación sobre su digestibilidad (el método de detoxificación consistió en un proceso hidrolítico, seguido de la eliminación del ácido cianhídrico y benzaldehído producidos, en corriente de vapor y a presión reducida). En el caso del damasco tratado la digestibilidad resultó más alta que la de la almendra común en lo que respecta a las fracciones de grasas y glúcidos; mientras que no existe diferencia con la proteica. En particular el tratamiento de detoxificación hace disminuir la digestibilidad de las proteínas y grasas, no afectando significativamente a las de los glúcidos. Estas experiencias se realizaron alimentando ratas con una dieta con más de 50% de semilla de damasco detoxificada habiéndose demostrado un alto aprovechamiento de la misma. Estos resultados confirman lo expuesto por otros autores sobre la posibilidad de utilización de tortas de extracción (material remanente de la separación del aceite).

En un trabajo posterior, Moles²⁰ estudió el valor biológico de las proteínas de semilla de damasco y los efectos que tiene sobre el mismo el tratamiento de detoxificación. Tam

bién consideró la posibilidad de aplicar un proceso de detoxificación más suave a fin de no eliminar completamente el ácido cianhídrico (se podrían dejar pequeñas cantidades del mismo, cuya eliminación obliga un tratamiento más severo y prolongado). También estudió el valor biológico de las proteínas de semillas de damasco correspondientes a distintas cosechas (1969 y 1970) para examinar posibles variaciones. Las conclusiones a que llegó fueron las siguientes:

- El valor biológico de las proteínas de semilla de damasco tratado es aceptable en comparación con el de la almendra común. Los aminogramas, para damasco tratado como sin tratar, indican que sus proteínas son deficitarias en metionina, cistina y lisina.
- Observó una gran variabilidad en la calidad proteica de semilla de damasco procedentes de dos cosechas diferentes (VB: 83 para la cosecha del año 1969 y 66,4 para la del año 1970), lo que atribuyó a distintos grados de maduración, en el momento de la recolección.
- La calidad nutritiva de las proteínas no varió por agregado de dosis subtóxicas de amigdalina, desde que para dosis de 0,33 y 0,66% de la misma, se obtuvieron valores biológicos de 68 y 66 respectivamente (estadísticamente semejantes al valor biológico de 66 encontrado para las proteínas de pepa de damasco libre de ácido cianhídrico).

En la Tabla 1 se puede apreciar la composición aminoacídica de la pepa de damasco.

2.2.3 Durazno

Salem S. et al⁴⁰ informan los siguientes valores de composición química para la semilla de durazno (expresados en base seca y libre de grasa):

	%
Hidratos de carbono	33,51
Proteínas	53,46
Cenizas	6,56
Fibra cruda	6,47

3.- COMPUESTOS CIANOGENICOS

La índole de los materiales que motivaron el desarrollo de esta Tesis (semillas de carozos de frutos de diversas especies de Prunus de producción nacional), propició una revisión de la bibliografía acerca de la presencia, estructuras, propiedades, toxicidad y evaluación de los diferentes tipos de compuestos orgánicos cianogénicos naturales. Ello fue objeto (por parte del autor) de dos exposiciones en el Seminario sobre "Temas Especiales de Bromatología y Tecnología de Alimentos" (1976). Un resumen de las mismas se expone a continuación.

Muchos vegetales sintetizan compuestos que son capaces de liberar ácido cianhídrico por procesos hidrolíticos o enzimáticos. Esta propiedad denominada cianogénesis es conocida desde hace tiempo en diversas especies vegetales, algunas de las cuales son de uso masivo tanto para consumo humano o como forraje. Han sido causa de muchos envenenamientos que han ocurrido tanto en seres humanos como en animales de ganado. Estas intoxicaciones se produjeron por el consumo de especies vegetales pertenecientes a las Rosáceas, Leguminosas, Euphorbiaceas y a miembros del género Sorghum en las Gramíneas. Aunque muchos de estos casos han sido accidentales (niños que bebieron tés de hojas de durazno o ganado que ingirió sorgo joven), gran cantidad de personas se hallan expuestas a bajas concentraciones de ácido cianhídrico producido por los alimen

tos que consumen diariamente. Un ejemplo de esto último sucede en Nigeria, donde por cada 750g de harina de mandioca (ingesta diaria individual) se ingieren 35 mg de ácido cianhídrico, lo que representa casi la mitad de la dosis letal. Aunque el organismo puede eliminar esa dosis eficiente y rápidamente, actualmente se cree que ello sea la causa de una serie de disturbios neurológicos provocados por envenenamiento crónico.

Químicamente, podemos reconocer distintos tipos de compuestos cianogénicos:

- a) glicósidos cianogénicos
- b) lípidos cianogénicos
- c) glicósidos pseudocianogénicos

Todos poseen la misma capacidad de producir ácido cianhídrico. Los dos primeros son α -hidroxinitrilos (cianhidrinas) que en condiciones de hidrólisis ácida o enzimática se descomponen en ácido cianhídrico, un compuesto carbonílico y un azúcar o un ácido graso según sea el caso. Los compuestos glicósidos pseudocianogénicos son derivados del metil azoximetanol, que en medio ácido liberan nitrógeno y en medio alcalino cianuro.

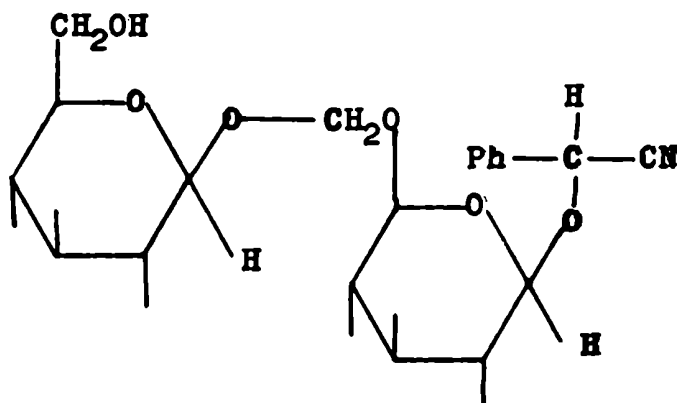
3.1 Glicósidos cianogénicos

Los glicósidos cianogénicos están distribuidos en por lo menos 800 especies vegetales pertenecientes a 70 u 89 familias; se los encuentra en hongos, helechos, gimnospermas, angiospermas (tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas) y

también en varios insectos⁴⁴.

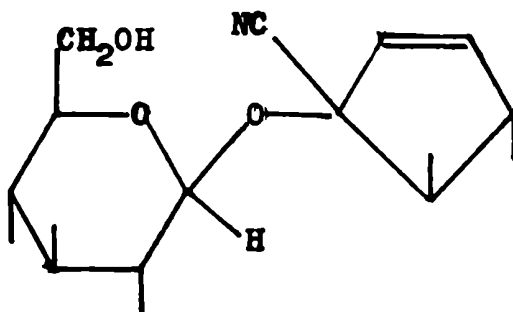
Estos compuestos ocurren en determinado lugar del vegetal; se los puede ubicar tanto en las raíces como en los tallos, hojas, flores, semillas, tubérculos, aunque generalmente es en las hojas donde se los encuentra en mayor concentración. No siempre las semillas contienen los compuestos cianogénicos. En el caso del sorgo, la semilla semilla rica en almidón, puede ser consumida sin temor, ya que la misma no los contiene o sólo en muy baja concentración. No obstante, al germinar la concentración de ácido cianhídrico puede alcanzar 3 a 5% de la materia seca.

La Tabla 4 muestra los glicósidos cianogénicos más comunes, los vegetales donde más corrientemente se los encuentra y sus productos de hidrólisis⁴⁵. Estos están integrados por un compuesto carbonílico (aldehído o cetona) que con el ácido cianhídrico formaba una cianhidrina y la parte glicosídica, que puede estar constituida por un monosacárido o bien por un disacárido tal como la vicianosa y gentiobiosa



El átomo de carbono involucrado en la mitad glicosídica puede ser asimétrico, surgiendo entonces la posibilidad de existir formas enantiómeras (prunasina-sambunigrina, durrina y taxifilina).

Otros glicósidos cianogénicos interesantes son aquellos que poseen un anillo ciclopenténico como parte de la aglicona. Actualmente se conocen tres estructuras de este tipo (deidaclina, barterina y ginocardina). El primero que se describió fue la ginocardina, cuya estructura es:



dilucidada en 1966. Este compuesto fue encontrado por primera vez en las semillas de Gynocardia odorata, un vegetal que crece en Filipinas, perteneciente a la familia Flacourtiaceae. Más tarde se vió que este mismo compuesto ocurre en otras especies de la familia Passifloreaceae, relacionada con la anterior. Tanto la barterina como la deidaclina fueron encontradas también en especies vegetales pertenecientes a ambas familias⁴⁶. Cabe recordar que numerosas especies de plantas de la familia Flacourtiaceae contienen aceites seminales cuyos glicéridos son ricos en ácidos grasos derivados del ciclo penteno (ej: aceites de chaulmoogra e hydnocarpus).

3.1.1 Toxicidad

Aunque la capacidad cianogénica es importante en la determinación de la toxicidad del vegetal, se deben considerar otros factores como ser la clase y tamaño del sujeto, la velocidad de ingestión, el tipo de comida ingerida simultáneamente, la presencia de enzimas degradativas tanto en la planta como en el tracto digestivo del sujeto y la capacidad de eliminación del ácido cianhídrico. En los seres humanos se considera que la dosis mínima letal del ácido cianhídrico es de 0,5 a 3,5 mg/kg de peso corporal. Cuando se ingieren compuestos cianogénicos, el cuadro tóxico difiere de la intoxicación por cianuros alcalinos ya que los síntomas aparecen después de cierto tiempo y la muerte se produce al cabo de unas horas (si se ha ingerido en cantidad suficiente), mientras que el ácido cianhídrico o sus sales alcalinas producen la muerte en pocos segundos y en ocasiones, después de 30 a 40 minutos.

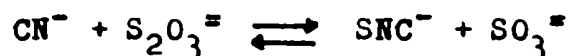
La intensidad del proceso hidrolítico depende del pH del medio y de la temperatura. Se acepta que en el estómago la hidrólisis se verifica en forma lenta y la sintomatología es escasa o nula por la velocidad de eliminación o transformación, pero en el intestino, dado el pH débilmente alcalino, se favorece la acción de la enzima, liberándose cantidades masivas de ácido cianhídrico, con lo cual aparece el cuadro típico de esta intoxicación.

El ácido cianhídrico se absorbe rápidamente y es transportado por el plasma sin combinarse aparentemente con la oxi

hemoglobina. Presenta marcada afinidad hacia el eritrocito y se combina de inmediato con la citocromo-oxidasa, que es una enzima terminal en la cadena respiratoria de los organismos aerobios, inhibiéndola e impidiendo el consumo de oxígeno a nivel de los tejidos, provocando la asfixia celular (hipoxia histotóxica). La citocromo-oxidasa es una enzima que contiene una ferroporfirina como grupo prostético y es inactivada por el monóxido de Carbono, el ácido cianhídrico y la azida sódica, que se unen al hierro impidiendo su combinación con el oxígeno, deteniendo así la respiración celular.

Se ha demostrado⁴⁷ que solo el ácido cianhídrico no disociado inhibe la citocromo-oxidasa, mientras que el ión cianuro aparentemente no tiene mayor efecto y que un mol de ácido cianhídrico se combina con el grupo activo de la respectiva oxidasa, inhibiendo su acción. También se debe tener en cuenta que el ácido cianhídrico puede inactivar otras enzimas que en su grupo prostético contengan Fe, Cu o Zn.

En condiciones no fatales, la inhibición de la respiración celular puede ser revertida, debido principalmente a la eliminación del ácido cianhídrico, ya sea por intercambio respiratorio o bien por metabolización de acuerdo a la reacción:



Esta reacción está catalizada por la enzima rodanasa, ampliamente distribuida en los tejidos animales, especialmente en hígado y glándulas suprarrenales. El tiocianato, que es un agente goitrogénico, se elimina principalmente por orina.

La presencia de glicósidos cianogénicos en vegetales utilizados como alimentos por seres humanos ha sido la causa de muchos envenenamientos, los cuales se producen por no haberlos eliminado o bien, por una incompleta eliminación de los mismos. Como ejemplo de lo primero se cita el consumo de almendras amargas, las cuales contienen amigdalina en cantidades importantes. También se recuerdan casos originados por ingestión de carozos de durazno, damasco o ciruela.

Como ejemplo de una mala eliminación puede mencionarse el consumo de mandioca o bien de porotos de manteca. En estos últimos la capacidad cianogénica depende de la variedad. Así, las variedades blancas americanas, producen solo 10 mg de HCN/100g de semilla, mientras que la variedad Burma produce 200 mg/100g y una variedad negra de Puerto Rico 300mg/100g, por lo que cien gramos de esta última pueden producir casos fatales en seres humanos. Es interesante mencionar que existe una correlación entre el contenido de compuestos cianogénicos y el color y tamaño del poroto. Así, aquellos muy coloreados, tienen alto contenido en linamarina, mientras que las variedades blancas, grandes y aplastadas son aptas para el consumo humano. Todo esto tiene importancia pues en ciertas regiones, las legumbres constituyen la base de la dieta pudiéndose llegar a consumir entre 200 y 300 g de legumbres. Hoy en día la importación de porotos está restringida en muchos países; así en los Estados Unidos de Norte América, solo pueden ingresar variedades con menos de 20 mg de HCN/100g de semilla.

Es interesante mencionar el caso de la mandioca, ya que es la causa de intoxicaciones crónicas en Nigeria, en donde se suelen consumir preparaciones no totalmente libres de ácido cianhídrico (8-48 mg de ácido cianhídrico diarios). Se ha podido constatar la relación que existe entre esta intoxicación cianogénica crónica y una neuropatía atáxica; estos individuos exhiben un alto nivel de tiocianato en sangre y en orina, como así también de cianuros en plasma (libre y ligado). También se ha dicho que es la causa de una ceguera tropical común en el Oeste de Africa y de otras neuropatías comunes en Jamaica y Malaya, donde se consume mandioca en cantidades importantes. Hay que tener en cuenta que si bien la causa principal de esos desórdenes puede deberse al consumo de estos vegetales, los casos pueden agravarse debido a una dieta no balanceada que puede aumentar la susceptibilidad del individuo al veneno.

Por todo esto es necesario indagar sobre otras posibles fuentes de envenenamiento crónico de tipo cianogénico; así por ejemplo se ha dicho que la ceguera o debilitamiento visual de algunos fumadores empedernidos se debe al ácido cianhídrico que es uno de los componentes del humo de cigarrillo. Una forma de combatir este envenenamiento crónico se ha logrado con administración de vitamina B₁₂ en forma de hidroxicobalamina, que tiene una alta afinidad por el cianuro. Otra consecuencia de este envenenamiento que se produce en Nigeria, es la alta incidencia de bocio que existe entre esos seres, como resultado

de sus altos niveles de tiocianato en plasma.

Hasta aquí nos hemos referido a envenenamientos producidos en seres humanos, pero no son menos importantes aquellos que ocurren en animales de ganado, que importan pérdidas económicas de significación. Especies de la familia de las Rosáceas han sido la causa de muchas muertes en los Estados Unidos de Norte América. Así, por ejemplo, las hojas frescas de cerezas silvestres del Este de ese país pueden producir hasta 200 mg de ácido cianhídrico/100g; de acuerdo a esto, un cuarto de libra de estas hojas podría matar un animal de 100 libras de peso. Especies cianogénicas de acacias han sido también la causa de muchas intoxicaciones en Australia, Sud Africa y en los Estados Unidos de Norte América. Del mismo modo es de conocimiento popular entre los ganaderos de este último país, no permitir al ganado comer sorgo muy joven, ya que es muy rico en durrina, ya que solo en las plantas maduras, la concentración baja lo suficiente como para permitir que el animal no se intoxique.

Muchas plantas de uso ornamental⁴⁸, como bambúes, Nandina doméstica (tejo) son también cianogénicos. El laurel cerezo, muy usado en cercos, es muy rico en prunasina. La concentración en sus hojas puede llegar al 1% de ácido cianhídrico en base seca. El fruto de Nandina doméstica puede llegar a contener hasta 150 micromoles/g. Obviamente si una cantidad suficiente de estos materiales es consumida, especialmente por un niño, puede ocurrir un envenenamiento rápido. Afortunadamente estas

plantas poseen otros componentes amargos que impiden su consumo en cantidades importantes.

La propiedad cianogénica ha sido propuesta como base taxonómica pero sucede que la literatura sobre cianogénesis en vegetales, es de un valor limitado ya que en la mayoría de los casos se refiere solamente a la producción de ácido cianhídrico, sin hacer mención del compuesto que lo origina. Si el compuesto cianogénico pudiese ser identificado en cada caso, la observación tendría un mayor valor taxonómico. Por otra parte especies muy relacionadas pueden diferir mucho en sus características cianogénicas. Así, por ejemplo, la arveja común (Vicia sativa) no contiene compuestos cianogénicos, mientras que la Vicia angustifolia (considerada por muchos botánicos como una variedad de la anterior) contiene el compuesto cianogénico vicianina.

3.1.2 Degradación enzimática de los glicósidos cianogénicos

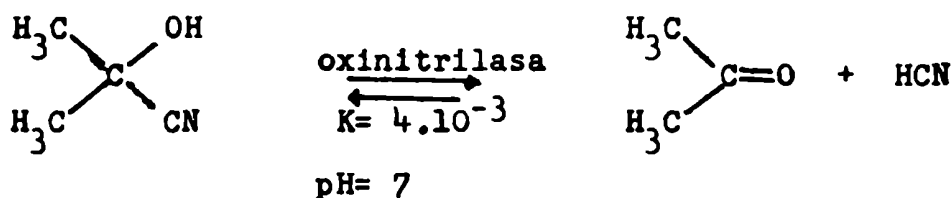
La literatura sobre cianogénesis, generalmente se refiere al contenido en ácido cianhídrico en un vegetal o en una determinada porción del mismo. Es necesario enfatizar que el ácido cianhídrico se produce, a través de un proceso hidrolítico, una vez que el vegetal ha sido triturado. Posiblemente en la planta intacta, el compuesto cianogénico y las enzimas responsables de su degradación se encuentren suficientemente separados para evitar que la misma se produzca en la planta intacta, aunque en el caso de producirse se eliminaría, por su

volatilidad o bien se metabolizaría.

Las plantas cianogénicas⁴⁸ aparte de poseer el compuesto cianogénico tienen también una serie de enzimas para catalizar su degradación en un azúcar, ácido cianhídrico y aldehído o cetona. Este proceso puede ser desdoblado en dos etapas enzimáticas. Así, en el caso de la amigdalina, una beta-glicosidasa rompe la unión glicosídica dando la correspondiente cianhidrina y el azúcar.



Esto es seguido por la disociación de la cianhidrina para dar el correspondiente aldehído o cetona y ácido cianhídrico; esta última reacción está catalizada enzimáticamente por la oxinitrilasa o hidroxinitriloliasa

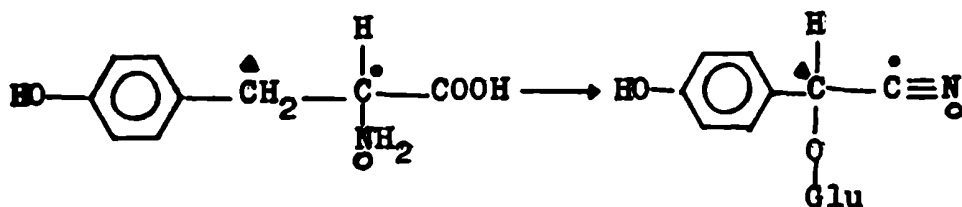


3.1.3 Biosíntesis de glicósidos cianogénicos

Sobre la biosíntesis de estos compuestos se ha trabajado intensamente llegándose a la conclusión que los glicósidos cianogénicos provienen de distintos aminoácidos⁴⁹. Es así por ejemplo, la tirosina es el precursor de la durrina en

el sorgo y engendra la taxifilina en el tejo. En cambio, la fenilalanina es la precursora de la prusina en las hojas del laurel cerezo, como así la valina de la linamarina y la isoleucina de la lotaustralina en el trébol y en el lino.

La biosíntesis de estos productos a partir de aminoácidos involucra la pérdida del carbono carboxílico y una oxidación del N del grupo NH_2 a nivel de nitrilo⁴⁸.



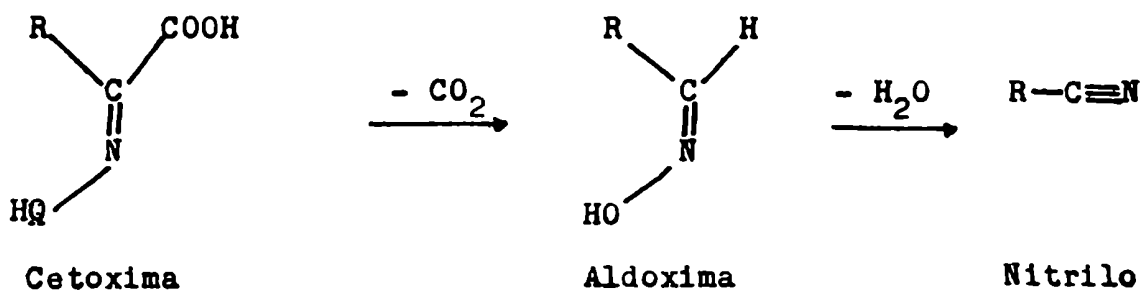
Interesaba conocer el mecanismo biosintético y en un comienzo se postuló la posibilidad de que estos glicósidos cianogénicos se formaran por un proceso inverso al de su degradación. Para ello se suministró ^{14}CNH en forma de gas a semillas de sorgo y de lino en germinación, sobre la hipótesis de que la marcación se incorporaría a los glicósidos cianogénicos si realmente ocurriese la inversa del proceso degradativo. Aunque el ácido cianhídrico marcado se metabolizó en gran medida, tanto en el lino como en el sorgo, no se encontraron cantidades significativas de compuestos cianogénicos marcados. Por todo esto, esa posibilidad se eliminó.

Por lo tanto se comenzó a trabajar sobre la hipótesis de que el aminoácido precursor proporcionaba todos los átomos de la parte de la aglicona. Para probar esto se suministró tiro

sina doblemente marcada con ^{14}C y ^{15}N , quedando demostrado que el grupo CN de la durrina derivaba directamente de la tirosina. Lo mismo sucedía con la conversión de la tirosina en taxifilina. Otras experiencias demostraron que esta hipótesis era cierta.

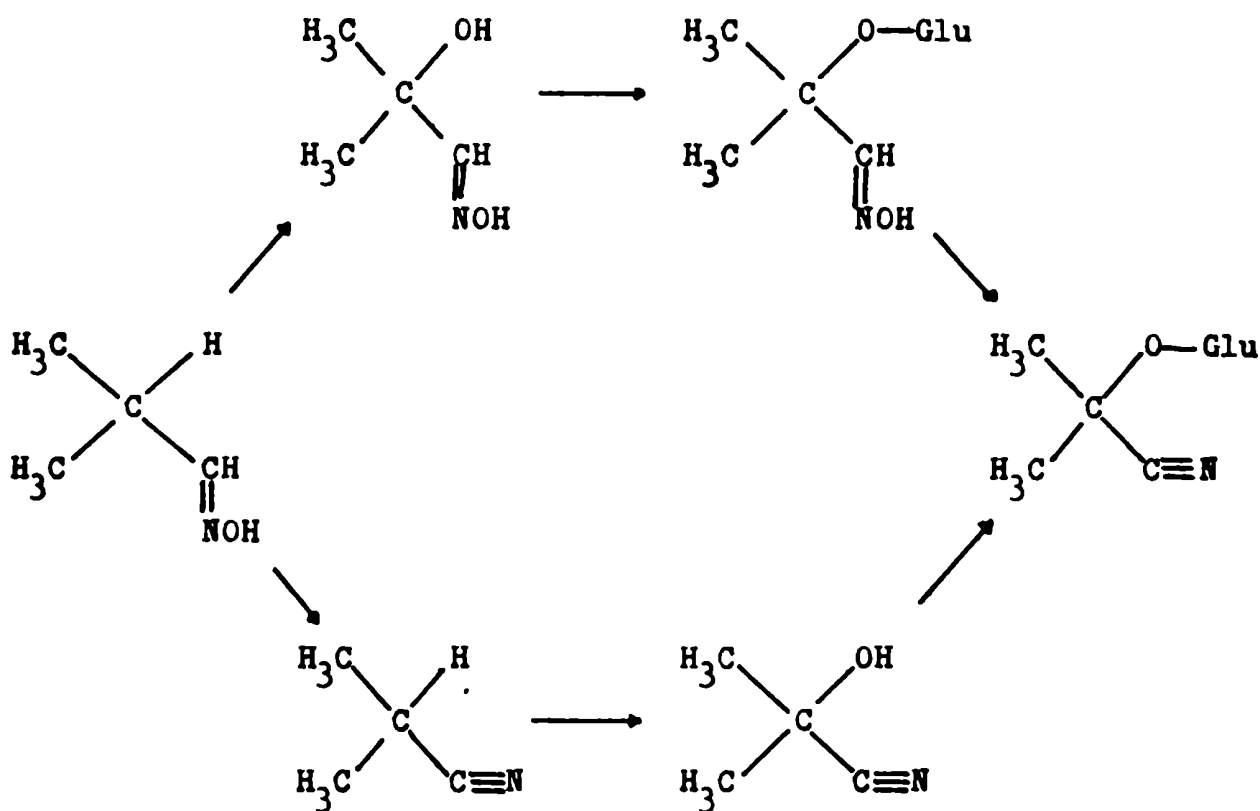
Con el objeto de detectar posibles intermediarios en el pasaje de aminoácido a glicósido, se hicieron distintos tipos de experimentos, pero al principio todos fracasaron al no poder aislarse ningún intermediario en cantidad suficiente como para dilucidar el mecanismo. Se probó, por ejemplo, hacer crecer la planta en la oscuridad o con la presencia de inhibidores metabólicos de forma tal que los recursos energéticos del vegetal fuesen escasos; o bien suministrar niveles bajos de glucosa para impedir la síntesis del glicósido. También se probaron condiciones anaerobias para inhibir las reacciones de óxido-reducción, pero como ya se ha dicho, nada de esto fue efectivo.

En 1961, al aparecer los trabajos de Ahmad y Spenser⁵⁰ sobre la descarboxilación de cetoximas, se sugirió que las mismas podrían llegar a ser intermediarios en la formación de nitrilos. De acuerdo a esto, la cetoxima de un cetoácido sería descarboxilada produciéndose una aldoxima, la cual por posterior deshidratación daría origen a un nitrilo.



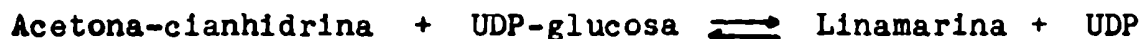
Quedó luego por demostrar qué sucede a partir de la aldoxima, pudiendo darse dos posibilidades:

- 1) que la aldoxima se deshidrate dando nitrilo y luego ocurra la hidroxilación.
- 2) que se hidroxile primero y luego se deshidrate.

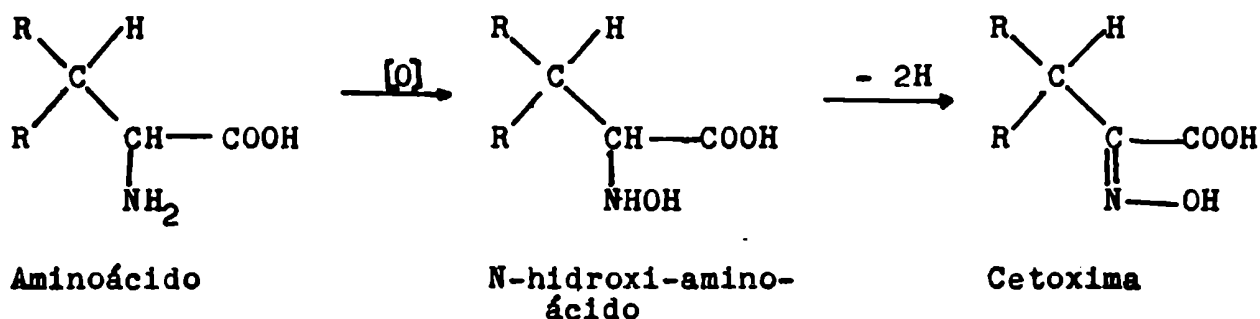


Por una serie de experimentos de marcación se llegó a la conclusión que el posible camino metabólico es el que pasa primero por el nitrilo con posterior hidroxilación.

Una vez que se formó la cianhidrina, la misma se debe glicosidar. En 1969 se llegó a detectar y purificar una enzima en lino, que cataliza esa reacción a través de la cianhidrina de la acetona más UDP-glucosa.

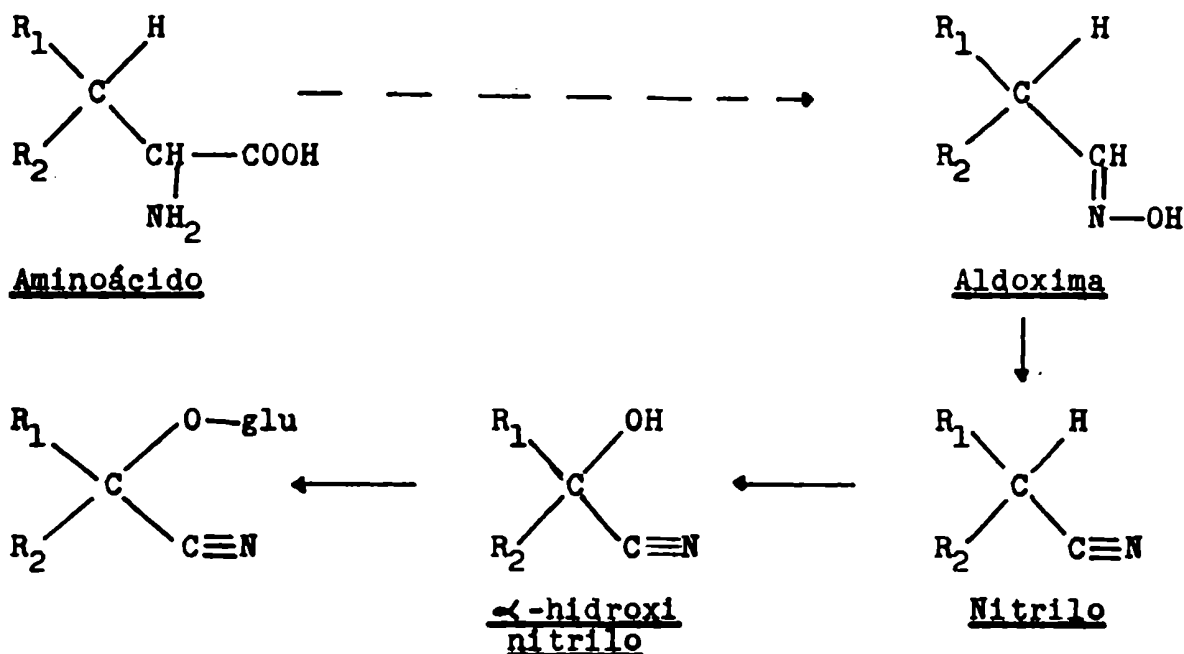


Aunque todavía no existe información fehaciente de cómo pasa el aminoácido a la cetoxima, actualmente se considera que un posible camino metabólico sería la oxidación del aminoácido al correspondiente N-OH aminoácido y una posterior oxidación a la cetoxima⁴⁹.



Podemos mencionar algo acerca de los controles genéticos de este tipo de compuestos. Así, estudios genéticos con Trifolium repens y Lotus corniculatus determinaron que por lo menos son dos los genes responsables de las propiedades cianogénicas de los mismos. Se ha probado que existe un gen dominante para la producción del glucósido y otro dominante para la beta-glucosidasa, por lo que existirían cuatro fenotipos que podrían ser naturales o bien obtenidos por selección.

En resumen, lo que se conoce actualmente, lo podemos esquematizar de la siguiente manera:



Hasta aquí, todo lo que se ha mencionado son suposiciones avaladas en mayor en menor grado con experimentos; pero para poder determinar fehacientemente el verdadero camino metabólico sería necesario detectar, purificar, aislar y caracterizar las distintas enzimas que intervienen en cada uno de los diferentes pasos.

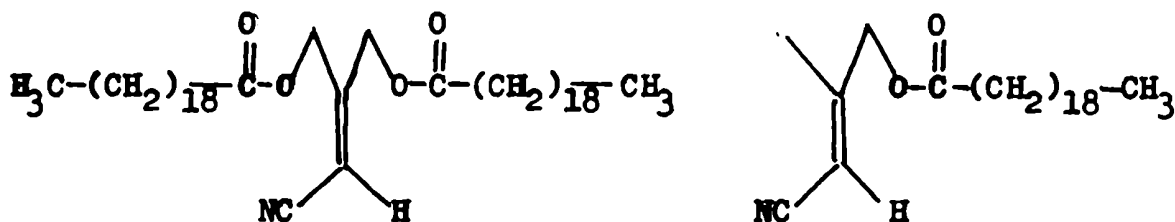
En cuanto al rol que estos compuestos cianogénicos tendrían en el reino vegetal han sido propuestas varias hipótesis⁴⁸. En 1930, se sugirió que los mismos podrían constituir una reserva de N, o ser precursores de la síntesis proteica o actuar en la eliminación de productos de desecho, o bien como sustancias protectoras. Con respecto a la síntesis proteica, diremos que actualmente es rechazada totalmente por el conocimiento que se tiene sobre la misma. La función como vía de ex-

creción, también ha sido criticada por la habilidad que poseen los vegetales para metabolizar el ácido cianhídrico. Más bien actuarían en una forma de almacenamiento de compuestos nitrogenados, ya que actualmente se sabe que el ácido cianhídrico puede pasar a formar parte de la amida de la asparagina. Lo que se sostiene actualmente es que durante un proceso evolutivo, algunas especies utilizaron la capacidad de biosintetizar estos compuestos de forma tal que ésta se mantuvo debido principalmente al valor protector que le conferían estos mismos compuestos.

3.2 Lípidos cianogénicos

Los compuestos cianolipídicos fueron informados ya en el año 1920, por Rosenthale, en el aceite seminal de Scheuchzeria trijuca⁵¹ perteneciente a las Sapindaceas, pero recién en 1970 fueron dilucidadas sus estructuras. Hasta ahora estos compuestos fueron solo aislados de los aceites de las semillas pertenecientes a la familia de las Sapindaceas, con una sola excepción ya que uno de ellos se encontró en Cordia verbeneacea perteneciente a las Boraginaceas (borraja).

Actualmente se conocen cuatro tipos de cianolípidos, todos con estructuras isoprenoide, pudiendo estar esterificados con distintos ácidos grasos, con predominio de aquellos en C_{20} y C_{18} .



De acuerdo a esas estructuras se puede observar que dos de ellos se encuentran doblemente esterificados, mientras que los otros dos son monoésteres.

La distribución de estos cianolípidos se resume en la Tabla 5⁵².

Se observa que el contenido en aceite varía desde el 1,3% para Litchi chinensis Sonner hasta el 63,2% en Ungnadia speciosa Endl. Los valores para Cardiosperum halicabum L y Stocksia brahuica Benth son probablemente más bajos ya que se hicieron los análisis con la semilla entera (con cáscara). El contenido de lípidos cianogénicos puede variar desde trazas hasta el 53%. Otro detalle que ha llamado mucho la atención es el relativo alto contenido de ácidos grasos en C₂₀ (única excepción, se encuentra en Litchi chinensis Sonner), existiendo además una incorporación preferencial de los mismos a la fracción

cianolípídica antes que a la de triglicéridos. Así, por ejemplo, el aceite de Koelreuteria paniculata contiene 46% de ácidos en C₂₀ y sólo el 27% de esa fracción se encuentra en los triglicéridos. Por otra parte la fracción de ácidos en C₂₀ es preferentemente monoetilénica. Así, el porcentaje de ácido araquídico varía desde el 1% en Stocksia brahuica Benth. hasta el 13% en Cardiospermum halicacabum L; aunque el aceite de semilla de Nephelium lappaceum L contiene 39% de ácidos en C₂₀, de los cuales el 33% es ácido araquídico. Por otra parte los valores de esa Tabla 5 muestran que la cantidad de cianolípidos está frecuentemente relacionada con la cantidad de ácidos en C₂₀, por lo que se podría estimar "grosso-modo" el contenido de cianolípidos a través de la determinación del contenido de ácidos en C₂₀.

El análisis de estos compuestos se realiza de la manera usual. Se separa el aceite por extracción con éter de petróleo, preparándose los ésteres metílicos por reflujo (2 horas) con metanol conteniendo 3% en peso de ácido sulfúrico, examinándolos posteriormente por CGL. En estas condiciones son estables. Cuando se comenzaron a estudiar, Hopkins hizo una metanolísis con ácido clorhídrico durante 16 horas, apareciendo entonces un producto formado como consecuencia de esas condiciones que posteriormente fue identificado como 4,4-dimetoxi-3-metoximetil-butirato de metilo.

El aislamiento de estos cianolípidos se realiza usualmente por medio de cromatografía en placa delgada preparativa;

aunque también se ha hecho uso de la técnica de cromatografía gaseosa del aceite en forma directa.

En cuanto al espectro IR de estos compuestos podemos decir que lo más característico es una banda en 2230 cm^{-1} que en general es una zona limpia del espectro, aunque no siempre se presenta. También se han hecho los estudios correspondientes a los espectros de Resonancia Magnética Nuclear^{51,52}.

Actualmente se puede hacer su análisis e identificación a través del espectro NMR del aceite, sin aislar los cianolípidos⁵³.

Debido a la naturaleza isoprenoide de estos compuestos y desde que las posibilidades biosintéticas son muchas, se trabaja actualmente para saber cómo y por qué estos vegetales los producen en tal cantidad. Ya se ha dicho que muchos compuestos cianogénicos tienen como precursores distintos aminoácidos, por lo que se está trabajando sobre la hipótesis de que la descarboxilación de la L-alanina podría dar el esqueleto necesario para la parte isoprenoide⁵².

3.3. Glicósidos pseudocianogénicos

Los compuestos pseudocianogénicos son las sustancias responsables de la toxicidad de las Cicadidas. Estos vegetales⁵⁴ se usan como alimento para seres humanos y también como forraje, en distintas zonas tropicales y subtropicales del mundo. Las raíces, tallos y semillas de diferentes especies pertenecientes a distintos géneros de la familia de las Cyca-deaceas constituyen una buen fuente de almidón. Las cicadidas

son vegetales parecidos a las palmeras, aunque más bajos. En algunas regiones constituyen una buena reserva alimenticia ya que resisten muy bien a los tifones y períodos largos de sequía, condiciones que otros vegetales no soportan.

Muchas especies de esta familia son tóxicas para el ganado ovino, vacuno, porcino y también para el hombre. Se reconocen dos tipos de intoxicación⁵⁵ en animales. La intoxicación aguda se caracteriza por producir ictericia, anemia, gastroenteritis y hemorragia. En el estado crónico ocurre atrofia muscular parcial, que puede llegar a paralizar las patas del animal, conduciendo a un andar tembloroso característico. En estas condiciones, la muerte puede sobrevenir como consecuencia de la imposibilidad del animal para alimentarse, aunque se puede recuperar fácilmente si se lo alimenta. Esto se ha observado en Australia, donde crecen especies del género Macrozamia, perteneciente a la misma familia y que ocasionan importantes pérdidas económicas.

En la alimentación humana se usan las semillas de estas especies, las cuales se humedecen en un recipiente o bien bajo chorro de agua, secan y muelen obteniendo un polvo que se usa como harina. Los casos tóxicos en los seres humanos han sido del tipo agudo, generalmente atribuido a un mal lavado, aunque se considera que en ciertas regiones del mundo puede existir un envenenamiento crónico.

El material capaz de producir estos síntomas fue aislado por primera vez por Cooper, en estado de pureza de la semilla de Macrozamia spiralis. Luego de largos estudios se pudo

En cambio, en medio alcalino débil o bien como emulsina aislada de cicadidas, se obtienen el hidrato de carbono, ácido cianhídrico, nitrógeno y ácido fórmico (se producen también trazas de metilamina y amoníaco). Es necesario agregar que si bien se aceptan esas estructuras, la posición del oxígeno en el grupo azoxi todavía está en discusión.

En 1974 se informó que la macrozamina podría tener propiedades carcinogénicas, principalmente de hígado. Esta observación surgió al comprobar la alta incidencia de esa enfermedad entre los Bantus de Sud Africa, que son grandes consumidores de Encephalartos transvenosus (perteneciente a la familia de las Cicadaceas), que posee macrozamina⁵⁶.

3.4 Aislamiento, purificación y caracterización de compuestos Cianogénicos.

Al presente se han informado alrededor de 30 compuestos cianogénicos, cuyo aislamiento, purificación y caracterización han sido dificultosos debido a la facilidad de muchas agliconas para hidrolizarse, como así también a la existencia de enzimas que descomponen a estos compuestos cuando se disgregan los tejidos. Más aún, azúcares y otros glicósidos que suelen presentarse en las mismas fracciones hacen a los procesos de purificación muy dificultosos. Solo un compuesto, la amigdalina es un producto comercial, siendo difícil conseguir los otros, para disponerlos como patrones⁴⁴.

Estos glicósidos generalmente se aíslan a partir del

material vegetal desmenuzado, seguido de una extracción con solventes como etanol, metanol, agua o con mezclas apropiadas. En general, antes de ello, se suele hacer una extracción con solventes no polares para extraer los lípidos (o bien se extraen los extractos acuosos directamente). Si el material es fresco, suele hacerse un congelamiento con hielo seco, o con nitrógeno líquido para facilitar la molienda. Luego se calienta por unos minutos a 80° para inactivar enzimas, con una posterior centrifugación para desechar material insoluble. Últimamente y para evitar la acción enzimática, se operan extracciones a -80°, seguidas de filtración a temperatura ambiente.

Una vez hecha la extracción, se concentra y sobre los concentrados, se aplican diferentes métodos. En algunos se agrega acetato de plomo, seguido de ácido sulfhídrico para eliminar componentes acídicos indeseables. Actualmente se suelen emplear técnicas cromatográficas de distintos tipos, usando por ejemplo polivinilpirrolidona, resinas mixtas de intercambio iónico, kielselghur, celite, celulosa, tierras de diatomeas. También se ha empleado la cromatografía gaseosa para la separación y posterior identificación por espectroscopía de masa; ello se logra inyectando derivados silanizados.

En las distintas etapas de aislamiento y purificación, a veces es necesario reconocer las fracciones que contienen los glicósidos cianogénicos. Esto puede ser llevado a cabo por distintas técnicas; una de las más fáciles es hidrolizar

una porción de la fracción con enzimas, o bien con ácido y llevar a cabo uno de los "tests" para ácido cianhídrico, siendo uno de los más comunes el del ácido pícrico. Se ha desarrollado también un método "sandwich" para determinar estos compuestos directamente en la placa o papel cromatográfico⁵⁷.

Una vez aislado el compuesto cianogénico, su caracterización se realiza a través de sus propiedades físicas y espectroscópicas (IR, NMR y EM). Otras veces, resulta más fácil estudiar el compuesto carbonílico, resultante de la hidrólisis ácida o enzimática. En los métodos enzimáticos se ha usado la misma enzima que ya posee el vegetal o bien con una preparación enzimática de alguna otra especie. Para la hidrólisis ácida se suele usar ácido clorhídrico o sulfúrico de concentración adecuada (1N), aunque también se han usado bases diluidas. Tratamientos con ácido más concentrado suelen conducir a los hidroxiácidos correspondientes (se produce la hidrólisis del cianuro, sin racemización). Los tratamientos alcalinos concentrados producen también el ácido glicosídico pero con racemización. Luego de la hidrólisis, el compuesto carbonílico puede ser aislado por destilación, extracción o por cromatografía y su caracterización se puede realizar por las técnicas espectroscópicas usuales o bien a través de derivados. Los compuestos con ciclopentenos, una vez hidrolizados dan las correspondientes ciclopentanonas, cuyos derivados son muy fáciles de preparar. En el caso de los cianolípidos, los compuestos son inestables y no se han podido aislar como tales.

Los compuestos pseudocianogénicos, se revelan fácilmente por la presencia de formaldehído.

3.5 Determinación cuantitativa de los compuestos cianogénicos

La determinación cuantitativa de los compuestos cianogénicos resulta muy importante para establecer su grado de toxicidad. Esta caracterización se realiza a través de la determinación del compuesto tóxico activo o sea del ácido cianhídrico. Para ello se han establecido distintos métodos basados en diferentes principios⁵⁸:

- a) método autoenzimático: depende de la actividad de la enzima propia del vegetal.
- b) método de hidrólisis ácida: donde el glicósido es extraído con solventes adecuados y luego se continúa con una hidrólisis ácida.
- c) método con agregado de enzimas: se agregan enzimas de otras fuentes.
- d) método autoenzimático con preservativo: se deja la muestra un tiempo suficientemente largo como para que se produzca la liberación total del ácido cianhídrico, impidiendo la putrefacción con el agregado de preservativos.
- e) combinación de estos métodos.

El método más adecuado sería aquel que fuese capaz de liberar la misma cantidad de ácido cianhídrico que se produce en el tracto digestivo. Para ello se tuvo en cuenta si en el tracto digestivo del sujeto existe o no beta-glucosidasa

capaz de liberar la cianhidrina. Si el organismo no tuviera esa enzima, entonces el producto sería tóxico solo en el grado en que pudiese ser hidrolizado por la enzima natural del vegetal. Al respecto hubo opiniones encontradas. Así, algunos opinaron que en el tracto digestivo no había tal enzima y ponían como ejemplo que el sorgo guardado durante años (la enzima se destruiría) no era tóxico; pero sin embargo otros hechos demostraron lo contrario. Así porotos de Lima hervidos de manera tal que la enzima se destruyese, resultaban todavía tóxicos. Actualmente se sabe que muestras suficientemente puras de glicósidos cianogénicos (sin enzima) son tóxicas, por lo que debe admitirse que ocurre liberación de ácido cianhídrico en el proceso de digestión.

Por todo ello, los métodos cuantitativos deben reflejar el total de ácido cianhídrico que puede liberarse, pudiéndose hacer las siguientes críticas a los métodos antes mencionados:

- a) método autoenzimático: solo refleja el ácido cianhídrico que podría liberarse por la sola acción de la enzima propia del vegetal, que variará según las condiciones en que se encuentre el material.
- b) método de hidrólisis ácida: Estará limitado en razón que parte del compuesto cianogénico pasará a amida o ácido carboxílico dando error por defecto. No obstante sus resultados serán más reales que los del método autoenzimático.
- c) método con agregado de enzimas: estará limitado en razón

que las diferentes enzimas no tienen igual capacidad de liberación de ácido cianhídrico, debido a su especificidad. Por otra parte puede ocurrir un contacto parcial entre la enzima agregada y el sustrato, por lo que este método tendría las mismas limitaciones que el primero.

- d) método autoenzimático con preservativo: (generalmente HgCl_2) Es el que mejor resultados ha dado, ya que el vegetal convenientemente preparado se deja por un tiempo suficientemente largo como para que se produzca la liberación total del ácido cianhídrico. El problema está en fijar el valor de ese tiempo (a veces varias semanas). Este método se puede usar como patrón para evaluar los resultados de los otros.

Por todo lo dicho no existe un método efectivo basado en un único principio, por lo que generalmente se recomiendan métodos combinados. Se suspende a la muestra en agua y se deja liberar el ácido cianhídrico por la acción de sus propias enzimas y luego se hidroliza con ácido sulfúrico, arrastrando el ácido cianhídrico con vapor de agua y recogiéndolo en solución de hidróxido de sodio. Luego se procede a la valoración final del ión cianuro por los métodos convencionales.

2

1

2

2

2

- DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL -

1. Producción e Industrialización de Frutos de Especies de Prunus en el País.
2. Subproductos - Carozos y Semillas - Estudio de sus Características.
3. Obtención de Aceites Fijos Crudos.
4. Características Físico-químicas de los Aceites Crudos.
5. Contenidos en Tocoferoles y Esteroles Totales .
6. Composiciones Ácidas.
7. Composiciones Ácidas Exhaustivas.
8. Examen CGL de las Fracciones de Esteroles.
9. Estudios de Composición de Harinas de Extracción
 - 9.1. Valores de composición general
 - 9.2. Investigación y dosaje de azúcares reductores, invertibles y sacarificables.
10. Aislamiento de Proteínas de Harinas de Extracción
 - 10.1. Procedimiento de obtención.

10.2. Balance de Nitrógeno en la obtención de los aislados proteicos.

10.3. Análisis de los aislados proteicos.

10.4. Examen analítico de los extractivos etanólicos de los coágulos proteicos.

PRODUCCION E INDUSTRIALIZACION DE FRUTOS DE ESPECIES DE PRUNUS
EN EL PAIS.

De acuerdo a informaciones recogidas en la Dirección de Estimaciones Agropecuarias (Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación) las cosechas de durazno, damasco, ciruela, cereza y guinda en los períodos 1971/1972, 1972/1973, 1973/1974, 1974/1975, 1975/1976; señalan a este último, con excepción de las cerezas y guindas, como el más productivo (ver Tabla 6)

La Tabla 7 ilustra sobre la industrialización de los frutos de ciruelo, damasco y duraznero correspondientes a la cosecha 1975/1976. Se observa que la mayor parte de los damascos (97,2% de los frutos cosechados) han tenido ese fin, mientras que los duraznos y ciruelas lo han tenido en menor proporción (34,7 y 1,5% respectivamente). También se ilustra acerca de las cantidades de carozos obtenidos como subproducto de esa industrialización, siendo la mayor cantidad correspondiente a los duraznos (7000 t de carozos equivalentes a 507 t de pepas), siguiendo en orden decreciente damascos (1260 t de carozos equivalentes a 404 t de pepas) y ciruelas (74t de carozos equivalentes a 7 t de pepas).

En general con excepción de las cosechas del período 1972/1973, los tonelajes para estos frutos pueden considerarse poco variables, con una suave tendencia hacia el aumento. Las cosechas mayores corresponden a la de durazno y ciruela y si bien ha habido algunas variaciones en las últimas cinco

cosechas, la provincia de Mendoza ha sido la que más ha contribuido no solo en los totales, sino como la principal productora de durazno. Los totales de producción por provincia en la cosecha 1975/1976 señalan las siguientes cifras en orden decreciente: Mendoza (203.500); Buenos Aires (109.830); Santa Fe (27.963); Río Negro (25.760); Córdoba (12.350); San Juan (8.630); Salta (4.320); Neuquén (2.525); Catamarca (2.400); La Rioja (2.300); Jujuy (2150); Tucumán (1009) y Chubut (33 toneladas). Para la misma cosecha (1975/1976) y considerando las dos provincias de mayor producción, se observaron las siguientes cifras para los distintos frutos (en orden sucesivo para las provincias de Mendoza y Buenos Aires respectivamente): durazno (125.800 y 95.600); ciruela (62.300 y 12.400); damasco (14.500 y 1.400); cerezas más guindas (900 y 430 toneladas)

Estos guarismos en sí, son sumamente importantes, debiendo tener presente que salvo el durazno y alguna otra especie (ciruela, guinda) la mayor parte de la producción va a consumo directo. La industrialización se relaciona fundamentalmente con la gran producción de "durazno al natural", que constituye un producto de significación en las exportaciones anuales. Este mismo fruto se industrializa preservándolo por desecación y de resultas de los tres tipos de elaboración, junto al de la producción de dulces y mermeladas, se obtiene un subproducto (el carozo de durazno) que al presente no ha recibido atención suficiente respecto de su aprovechamiento en el país. En el caso de ciruela la industrialización se relaciona

directamente a la producción de productos desecados (en su mayor parte con carozo), dulces, mermeladas y jaleas (la producción de carozos no es significativa). Los damascos se industrializan fundamentalmente hacia la producción de dulces, y en este caso la separación de carozo es obligada.

Las cerezas y guindas se industrializan con fines de licorería, en elaboración de dulces y como frutos preservados (con carozo) con fines decorativos (enlatados, esterilizados y reforzados en su color). Como se verá en esta Discusión la industrialización de los carozos de guinda y cereza, hacia la producción de productos comestibles, además de no ser de significación (baja disponibilidad de carozos) no sería recomendable en razón de características de composición química que se expondrán más adelante.

Es propio de las semillas de muchas especies de Prunus, su riqueza en aceites fijos y en glicósidos cianogénicos. Los primeros han sido motivo de estudio desde hace muchos años (ver Introducción) con fines de aprovechamiento industrial y/o alimentario; los segundos en la producción de un aceite que puede competir y reemplazar al de "aceite de almendras amargas".

El objeto de este trabajo ha sido el de examinar la posibilidad de aprovechamiento de los carozos residuales de la industrialización de las especies comestibles que se cultivan en el país. Este trabajo constituye un primer esfuerzo a nivel de laboratorio, capaz de ilustrar sobre valores de compo-

sición química y rendimientos en productos útiles con fines industriales y/o de alimentación humana o animal, en base a tales subproductos. Comprende, además, la consideración con las mismas finalidades, de carozos y semillas de dos especies de Prunus que al presente solo tienen caracter ornamental, desde que sus frutos ni se consumen en forma directa ni se industrializan: P. mahaleb L (cerezo de Santa Lucía) y P. laurocerasus L (laurel cerezo).

2 SUPRODUCTOS - CAROZOS Y SEMILLAS - ESTUDIO DE SUS CARACTERÍSTICAS.

Las primeras partidas de carozos se recibieron en enero de 1975 y sirvieron para orientar y planificar el desarrollo del trabajo que se expone. En total se han examinado carozos procedentes de frutos maduros de 18 partidas que comprenden carozos y semillas de siete variedades de durazno a saber: var. Fortuna y var. Tuscán (1975) y los de las variedades Sullivan Cling, Palora Cling, Montevideo y Real Jorge (1976), todas procedentes de Mendoza y de la variedad corrientemente designada Cuaresmillo, separados de frutos cocidos y preservados en almíbar, cosechados en la provincia de Salta (1974) (todas estas partidas consistían de carozos separados manualmente de los frutos respectivos. En la industrialización de duraznos hacia la producción del "durazno al natural" es práctica industrial el uso de máquinas cortadoras que seccionan el fruto y el carozo en dos mitades) y de damasco, cosechas

1975 y 1976, consistentes en cuatro partidas, dos procedentes de frutos descaroizados a mano sin tratamiento término y dos provenientes de frutos sometidos a cocción en vapor de agua durante veinte minutos. Estos distintos tratamientos industriales se tuvieron en cuenta ante una posible incidencia de los mismos sobre valores de composición y/o características de los componentes seminales a estudiar.

Además se dispuso también de cerezas adquiridas en el comercio y procedentes de Mendoza de las variedades (Bing y Napolitana) y de una variedad de guindo consistente de carozos que habían sido sometidos a cocción (elaboración de dulces) cosechados en San Martín de los Andes (Neuquén, 1977). Procedentes de frutos cosechados en el Gran Buenos Aires (Unión Ferroviaria "El Trébol") se dispusieron de frutos maduros de ciruela que proporcionaron carozos no sometidos a cocción (cosecha 1976) y de una partida de carozos procedentes de la elaboración de dulce de ciruela, cosechados en la provincia de Mendoza, también en 1976.

Las dos especies incomedibles y no industrializadas consistieron de carozos separados de frutos maduros de P. laurocerasus L (laurel cerezo) cosechado en 1976 en la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Plata y de frutos, también maduros, de P. mahaleb L (cerezo de Santa Lucía) cosechados en enero de 1977 en Tornquist, Provincia de Buenos Aires. (Estancia Mamín-Co).

Como se expone en la Parte Experimental, los carozos

se resolvieron por rotura de la parte leñosa, en leño y semilla o pepa, calculando los valores porcentuales en cada caso. Aquellos carozos procedentes de Mendoza, que debido al pelado manual, estaban en parte recubiertos por pulpa desecada, fueron puestos en remojo (rehidratación de la pulpa), liberados de esta última, lavados a fondo y secados al aire antes de procederse a la resolución en sus partes. Igual procedimiento se observó con aquellos carozos procedentes de frutos enteros, maduros y frescos, o enteros preservados en conserva.

Desde que la parte de estos carozos aprovechable con fines alimentarios es fundamentalmente la semilla o pepa, la resolución en esas dos partes para cada especie o variedad dentro de la misma especie, permitirá conocer los valores de la relación leño-pepa y con ello, formar idea del potencial disponible o aprovechable de estos subproductos. La Tabla 8 resume los valores observados para el peso medio de carozo limpio y seco al aire, la relación porcentual leño-pepa, peso medio de la pepa y de la humedad en pepa.

De todas estas cifras las de la relación leño-pepa son tal vez las más significativas desde que lo que realmente importa es una mayor concentración en pepa y ello ocurre con un máximo en los carozos de P. mahaleb L, con 50% de pepa y en orden decreciente al P. laurocerasus L (especie tóxica no industrializada) con 32; el damasco con 26,7 a 32,7; cereza y guinda 22 a 27; ciruela con 10 a 20 y finalmente durazno con 4 - 8% de pepa (excepción hecha de la variedad comercial conocida co-

mo Cuaresmillo, que contenía 17% de pepa).

Los valores más elevados de peso medio de carozo se registraron en las variedades de durazno (3 a 6) siguiendo en orden decreciente damasco (1,7 - 2,7), durazno Cuaresmillo (1,6) ciruela (0,6 - 0,9), P. laurocerasus L (0,3), cereza y guinda (0,2 - 0,3) y finalmente P. mahaleb L (0,1g).

La observación de peso medio y contenido de pepa no permite establecer una relación entre ellos, destacando además, que dentro de una misma especie puede haber significativa diferencia respecto de los contenidos de pepa como se observa en durazno, damasco y ciruela. Estas constataciones son de interés en el supuesto de una futura industrialización. Los valores de humedad en pepa que fueron registrados oscilan entre 5 y 9% excepto para P. mahaleb L con 11,4%. Estas cifras son normales y muy aptas para operar extracciones directas con hexano técnico sobre producto previamente molido, circunstancia que es de interés ante una probable industrialización hacia la producción de aceites fijos.

Los valores de contenido en pepa % de carozo de durazno mencionados en la Tabla 8 son acorde con los citados en el país por Loew³⁶ (7,3%) y por Martínez y Torlaschi³⁴ (10%) y con los citados en literatura por Kester⁵ (5 - 8%), así como menciones anteriores de Winton y Winton⁴ (5,7%).

En relación a damasco, los valores citados por Kester⁵ (20 - 25%) son sensiblemente inferiores a los encontrados en productos nacionales (27 - 33%), estos últimos en acuerdo al

valor mencionado por Winton y Winton⁴ (29,2%).

En lo que respecta a los contenidos en semilla de los carozos de guinda y cereza (21,7 - 27,1% en los productos estudiados en este trabajo) son en un caso menor y en los demás del orden mencionado por Kester⁵ (28%).

En el caso de ciruela existe una gran variabilidad en estos valores (5 - 27%) según Kester⁵ y Winton y Winton⁴, al igual que los hallados en productos argentinos (10 - 20%).

No se han encontrado menciones que permitan comparar los valores hallados para P. laurocerasus L y P. mahaleb L (las cifras más elevadas 32,0 y 50,0%, respectivamente)

Es interesante hacer notar, por su importancia ante una explotación industrial, que en el caso de carozos de ciruela suelen ser muy elevados los porcentajes de carozos vanos (hasta el 50%).

3. OBTENCION DE ACEITES FIJOS CRUDOS

Las distintas partidas de semilla se agotaron por hexano técnico (ver Parte Experimental) obteniendo los aceites crudos respectivos con los valores de rendimiento (expresado como porcentaje de pepa seca) que figuran en la última columna de la Tabla 8. Como puede observarse, salvo el caso de P. mahaleb L en todos los demás se observaron rendimientos superiores a 35%, con un máximo de 55,6% para el caso de durazno Cuare-millo. La mayor concentración de valores se encuentra entre

40 - 50%, cifras acordes con las registradas en literatura^{1,4,5,6,11,13,14,34,36,39} entre otras, ya mencionadas en la Introducción.

Sin duda la riqueza en aceites de estos subproductos es de significación debiendo, en cambio, tener en cuenta la poca disponibilidad actual de los mismos en razón de los bajos contenidos de semilla en carozo y de los bajos porcentajes de frutos industrializados.

4. CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS DE LOS ACEITES CRUDOS

Con caracter previo a los estudios de composición acídica, los aceites crudos se consideraron respecto de sus principales características físico-químicas, obteniendo los valores consignados en la Tabla 9. De su examen surge con evidencia la influencia de la especie dentro del género sobre algunos de esos valores; así los de Índice de Yodo para P. pérsica (1) Batsch (duraznero) son poco variables y bajos (en un solo caso se registró un valor que se aleja de todos los demás var. Fortuna). Se concluiría que en los aceites de semilla de duraznero la influencia varietal no sería muy marcada en los casos estudiados (debe tenerse presente que las variedades consideradas procedían todas de Mendoza, salvo el Cuaresmillo, y que probablemente la influencia climática ha sido de muy poca significación sobre el grado de deshidrogenación). Análoga conclusión surge respecto de los valores de Índice de Yodo de los aceites crudos de las cuatro partidas consideradas para

damasco, así como para cereza, guinda y ciruela. Un valor sumamente elevado de Índice de Yodo (Wijs) se observó en el aceite crudo de P. mahaleb L. Las cifras de Índice de Yodo de los aceites crudos de las semillas de cereza, guinda y P. mahaleb L no pueden considerarse correctas desde que, como se informa más adelante, estos aceites revelaron la presencia de ácidos triénicos conjugados (ácido α -eleostéarico), por examen espectrofotométrico directo en UV. Las conclusiones a que se arriba del estudio de valores de Índice de Yodo de la Tabla 9, no coinciden respecto de los aceites de semilla de damasco con los mencionados por Lotti¹³, ya expuesta en la Introducción.

Otro dato de interés que surge de la Tabla 9 son las cifras muy parejas para valores de Índice de Saponificación, indicativas de composiciones acídicas, fundamentalmente en C₁₆-C₁₈ (como fue comprobado experimentalmente); de ahí los bajos valores registrados en literatura para los Índices de Reichert-Meissl y Polenske. (Tabla 2).

Una supuesta obtención industrial de estos aceites no encontraría problemas de neutralización desde que las cifras de número de acidez oscilaron entre 0,6 y 1,6 mg KOH/g. Los contenidos en insaponificable fueron máximos para los aceites de semilla de cereza (3,5 - 4,3%) y mínimos en algunos casos de aceites de semilla de damasco y de ciruela (1,2 - 1,5). Los de durazno oscilaron entre 2,3 y 3,0% con una mayor concentración de valores entre 2,4 - 2,9%. En general las cifras para insaponificable registradas fueron superiores a las tomadas

de la literatura, probablemente debido a que muchos de los valores de esta última responden al uso de éter de petróleo como solvente de extracción. Las consideraciones que se acaban de resumir surgen de la comparación de valores hallados frente a los consignados en la Tabla 2.

5. CONTENIDOS EN TOCOFEROLES Y ESTEROLES TOTALES

Los contenidos en tocoferoles totales se determinaron operando sobre insaponificable según la técnica Bertoni y Cattaneo⁵⁹ y la de esteroides totales por precipitación con digitonina⁶⁰ operando también sobre insaponificable. La Tabla 10 registra los valores obtenidos. Respecto de tocoferoles, todos los aceites son de bajo contenido (valor mínimo 5,1; valor máximo 41,4 como mg. de α -tocoferol por 100g de aceite.) con una concentración mayor de valores entre 8 y 20 mg/100g. Estas cifras son en la mayoría de los casos, sumamente bajas y suponen que estos aceites son de pobre resistencia frente a procesos de autooxidación. Surge también que su protección frente a estos procesos, al igual que en grasas de depósito de origen animal, requeriría el uso de antioxidantes primarios y de sinergistas. En literatura se registran muy pocos antecedentes sobre el contenido en tocoferoles de aceites de semilla de Prunus, la mayoría^{8, 42, 62, 61} entre 20 y 71 mg/100g (en aceite de damasco, citándose el γ -tocoferol como el principal componente); en ciruela se mencionan cifras superiores (43,8 - 47,0 mg/100g)⁶² a las encontradas en este trabajo, al igual que pa-

ra cereza (25,0 - 45,3)⁶² frente a 8 mg/100g registrados en aceite de cereza var. Napolitana (las cifras de literatura para aceites crudos seminales de cereza fueron concordantes con las observadas para aceite crudo de semilla de guinda en el presente estudio (41,4 mg/100g).

Las cifras observadas para esteroides totales oscilaron entre un mínimo de 300 y un máximo de 570 mg/100g de aceite (con una mayor concentración de valores entre 390 y 500 mg/100g), cifras acordes con las mencionadas en literatura para aceites vegetales de las más variadas especies (valores significativamente superiores a los mencionados en literatura⁶²).

La Tabla 10 comprende, además, los valores de Índice de Yodo (Rosenmund) de los insaponificables de estos aceites crudos, que oscilaron entre 81 y 125, con una mayor concentración de valores entre 90 y 100 (estas cifras son demostrativas de muy bajos N° de escualeno).

6. COMPOSICIONES ACIDICAS

En la Introducción se ha hecho referencia (Tabla 3) a valores de composición ácida de aceites de semilla de duraznero, damasco, almendro, guindo, laurel cerezo y ciruelo. En el estudio presente todos los aceites crudos se examinaron con carácter previo por espectrofotometría al UV (ver Parte Experimental) a fin de observar la existencia o no de conjugación preexistente (dienos y trienos). Asimismo se comprobó la ausencia de ácidos ciclopropénicos (reacción de Halphen nega-

tiva) y de Bellier (aceite de semilla) positiva. Los exámenes al UV para aceites de semilla de duraznero, damasco y laurel cerezo no evidenciaron la presencia de ácidos conjugados. Por el contrario y en orden creciente de concentración, se observó la presencia de trienos conjugados (que se calcularon como ácido α -eleostéarico) para los aceites de ciruela (0,01 - 0,05), cereza (7,4 - 9,7), guinda (13,7) y P. mahaleb L (42,7% de ácidos totales).

La identificación de ácido α -eleostéarico en aceites de semilla de guindo y de cerezo fue comprobada por vez primera y en forma incuestionable por Popoff¹⁵ al comprobar la existencia de tres máximos a 261,5; 271,5 y 281,5 nm por espectrofotometría en UV, por aislamiento de ácido α -eleostéarico (recristalización de los ácidos totales en etanol a -15° y determinación de su punto de fusión, 48 - 49°; y por transformación de este último en ácido β -eleostéarico de punto de fusión 69 - 70°). Con anterioridad Weckel y Lee¹⁴ habían observado los tres máximos mencionados (260, 270 y 280 nm) en aceite de semilla de guindo (P. cerasus). Por su parte Farrohi y Mehran³⁹ sugirieron que probablemente existían en los aceites de semilla de guindo y de cerezo componentes ácidos no revelables por CGL, cuya presencia justificaría las diferencias de valores de Índice de Yodo determinados y calculados experimentalmente en base a los cromatogramas. Por métodos de índole más bien tecnológicos Saffet¹⁶ en 1949, sugirió la presencia de ácido eleostéarico en el aceite de semilla de P. mahaleb

en razón de las propiedades secantes, típicas de los aceites ricos en ácido linolénico y/o eleostéarico u otros ácidos conjugados.

Más recientemente (1971) Lotti et al¹² han podido comprobar la presencia de ácidos alfa y beta eleostéarico en muy bajas concentraciones en aceites de numerosas variedades de semilla de ciruelo.

Los aceites de semilla de durazno presentan como componentes mayores a los ácidos oleico (53,2 - 74,1% sobre ácidos totales) y linoleico (18,4 - 36,7% sobre ácidos totales).

Las concentraciones en ácido palmítico fueron bajas (4,8 - 8,6% sobre ácidos totales) cifras que colocan a estos aceites entre los de más bajos tenores en esos componentes. También debe destacarse la baja concentración en ácido esteárico, en casi todos los casos en el orden de 1,0%. Un panorama similar observaron los aceites de semilla cruda y cocida de damasco, si bien estos registraron valores menos variables para los componentes mayores (oleico 60,7 - 67,8) y linoleico (27,1 - 32,3% sobre ácidos totales). Las concentraciones en ácido palmítico y en ácido esteárico fueron ligeramente inferiores a las observadas en los aceites de semilla de duraznero (4,8 - 5,7 y 0,6 - 0,8% respectivamente).

Características acídicas semejantes correspondieron también para los aceites de semilla de ciruelo, si bien y como ya ha sido expresado, el examen por UV reveló rastros de ácido α -eleostéarico (0,01-0,05% sobre ácidos totales)

Las cifras de la Tabla 11 para los aceites de Prunus

mencionados ofrecen muy poca dispersión si se los compara con las de los extremos mencionados para los distintos ácidos grasos en literatura (Tabla 3). Las composiciones acídicas cuyos resultados se han comentado se lograron (ver Parte Experimental) por cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales (libres de insaponificable) recuperados de los líquidos resultantes de las determinaciones de Índices de Saponificación.

Considerando las composiciones acídicas, determinadas en base a los respectivos cromatogramas, se calcularon los valores de Índice de Yodo de los ácidos totales y con éstos, los de contenido en ácidos totales, de insaponificable y de los de Índice de Yodo de estos últimos, se calcularon los valores de Índice de Yodo de los aceites de partida, que resultaron ser suficientemente concordantes con los determinados experimentalmente. Al aplicar este procedimiento en base a los cromatogramas obtenidos sobre ésteres metílicos de aceites de semilla de guindo, cerezo y P. mahaleb L, se observaron discrepancias significativas entre los valores de Índice de Yodo calculados y los determinados experimentalmente. Las constataciones previas en UV (presencia de trienos conjugados preexistentes) y los elevados valores para índice de refracción de los aceites mencionados, confirmaron la presencia de ácidos conjugados (los sistemas de insaturación conjugados producen significativa elevación de los valores de índice de refracción). Las concentraciones en ácido eleostéarico se encon

traron por espectrofotometría al UV (ver Parte Experimental), operando sobre ésteres metílicos de los ácidos totales o sobre aceite (las concentraciones se expresaron en por ciento de los ácidos totales, lo que requirió conocer las concentraciones en ácidos totales de los aceites luego de saponificación. La Figura 1 se refiere al examen espectrofotométrico en UV del aceite de semilla de P. mahaleb L. Estos aceites (cerezo, guindo y P. mahaleb se examinaron por CGL de los ésteres metílicos de sus ácidos totales, obteniendo así cromatogramas que comprendían todos los ácidos presentes en el aceite, excepto el pico correspondiente a los ácidos triénicos conjugados).

Por cálculo adecuado (teniendo en cuenta la composición porcentual deducida de los cromatogramas y los contenidos en ácido eleostéarico % ácidos totales respectivos) fue posible calcular la composición de los ácidos totales, incluyendo el ácido eleostéarico (no revelable por CGL). Como confirmación, los ésteres metílicos de los ácidos totales de cada uno de estos aceites, se hidrogenaron (Pd/C 10%, ciclohexano, presión y temperatura normales⁶³) obteniendo los ésteres hidrogenados que se examinaron por CGL. Considerando la composición acídica encontrada por el cálculo más arriba explicado se hicieron las sumatorias de todos los ácidos en C₁₈ (18:0 + 18:1 + 18:2 + α-eleostéarico) y en C₁₆ (16:0 + 16:1). La comparación de estos valores con los porcentuales para los 18:0 y 16:0 calculados en los cromatogramas de los ésteres hidrogenados, resultó sumamente concordante, como se aprecia en el cuadro siguiente:

	<u>16:0+16:1</u>	<u>16:0</u> Hidrog.	<u>18:0+18:1+</u> <u>+18:2+18:3</u> <u>+ eleost.</u>	<u>18:0</u> Hidrog.
Cereza Bing	9,6	9,4	90,0	88,6
Cereza Napolitana	9,3	9,1	88,7	90,2
<u>P. mahaleb</u> L	3,5	3,7	96,5	96,3
Guindo	6,0	5,5	94,0	94,5

Las Figuras 2, 3, 4 y 5 reproducen los cromatogramas correspondientes a los ésteres metílicos de un aceite de semilla de duraznero (var. Palora Cling), de damasco (cosecha 1974/1975, crudo), de ciruelo (Mendoza 1975/1976) y de P. laurocerasus L; todos los cuales responden a idénticos componentes en lo cualitativo. La Figura 6 reproduce el cromatograma de los ésteres metílicos de los ácidos totales del aceite de semilla de cerezo (Var. Bing) y la Figura 7 la de los ésteres metílicos de los ácidos totales de este aceite, después de hidrogenación catalítica. Similarmente, las Figuras 8 y 9 representan los cromatogramas de los ésteres metílicos de los ácidos totales del aceite de semilla de P. mahaleb L antes y después de hidrogenación, respectivamente.

7. COMPOSICIONES ACIDICAS EXHAUSTIVAS

El examen por CGL de los ésteres metílicos de los ácidos totales de un aceite no permite cuantificar componentes que figuran en el orden de trazas (concentraciones inferior-

res a 0,05%). A menudo resulta dificultosa la identificación de estos componentes y generalmente los cromatogramas no se extienden más allá de los picos correspondientes a ésteres de ácidos en $C_{18}-C_{20}$. Estos inconvenientes se pueden subsanar (disponiendo de suficiente cantidad de ésteres metílicos de ácidos totales) por destilación fraccionada en vacío, en equipo de eficiencia apropiada (12-15 platos teóricos) y operando a presiones del orden de 0,5 a 1,0 Torr.. Obteniendo el mayor número de fracciones posible (en función de las magnitudes moleculares de los componentes), los que se encuentran en el orden de trazas se concentran junto a componentes de números de átomos de Carbono similares o próximos. Los componentes en $C_{20}-C_{24}$ se acumulan en los llamados residuos de destilación. El examen posterior por CGL de cada uno de las fracciones y de los residuos de destilación permite identificar componentes en el orden de las trazas, cuantificarlos y de igual modo, aquellos de muy elevado peso molecular ($C_{20}-C_{24}$). Este criterio se aplicó a ésteres metílicos de ácidos totales de un aceite de semilla de duraznero, de damasco y de ciruelo, en razón de no contener ácido α -eleostéarico (cuya presencia originaría productos de polimerización térmica durante la destilación, debido a su conjugación), no pudiéndoselo en cambio aplicar a los ésteres metílicos de los ácidos totales de los aceites de semilla de cerezo, P. mahaleb L y guindo.

En la parte experimental se exponen detalles de la destilación fraccionada en vacío, de los aceites mencionados,

así como los pesos y composiciones acídicas encontradas por CGL para las distintas fracciones y residuos de destilación, que permitieron calcular las composiciones de los ácidos totales respectivos, incluyendo componentes menores o en el orden de trazas. La Tabla 12 resume los valores de composición exhaustiva así hallados para durazno, damasco y ciruela. Las Figuras 10, 11, 12 y 13 reproducen los cromatogramas de la fracción 1 y residuo de destilación de los ésteres metílicos de los ácidos totales del aceite de semilla de damasco (antes y después de hidrogenación, con fines de identificación de picos componentes).

A fin de evidenciar componentes menores en aceites de semilla de especies de Prunus que contienen ácido eleostéarico, se hidrogenaron ésteres metílicos de los ácidos totales de los aceites de semilla de las dos variedades de cerezo, de guindo y de P. mahaleb L. Se procedió entonces a inyectar cantidades más elevadas de estos ésteres hidrogenados (aproximadamente 10 μ l de solución de ésteres al 10% en éter etílico) con lo cual los componentes mayores produjeron picos que excedieron en mucho el ancho del papel del registrador. En cambio se evidenciaron numerosos picos de ésteres de ácidos en número impar de átomos de carbono y de ácidos ramificados correspondientes a distintas series. Las Figuras 14 y 15 reproducen los cromatogramas así obtenidos para los ésteres hidrogenados de las dos variedades de cerezo, evidenciándose la presencia en ambos de los siguientes componentes: 12:0; 13:0;

r14:0; 14:0; r15:0; r16:0; r17:0; 17:0; r18:0 (dos series); 20:0, r21:0; 22:0; r23:0 (tres series); 23:0; r24:0 (dos series); 24:0 y r25:0.

Del mismo modo, la Figura 16, reproduce el cromatograma amplificado de los ésteres metílicos hidrogenados del aceite de guindo que difiere notoriamente de los de cerezo (sólo se observan picos de componentes menores en 12:0; 13:0; 14:0; r15:0; 15:0; 17:0; 20:0 y 21:0 (?) y prácticamente ausencia de componentes en más de C₂₁.

Similarmente los ésteres hidrogenados del aceite de P. mahaleb L revelaron 14:0; 15:0; 17:0, 20:0 y 21:0 (?) (Figura 17).

No se han registrado en la literatura trabajos que se refiriesen a composiciones acídicas de estos aceites en relación a componentes menores y en el orden de las trazas.

8. EXAMEN CGL DE LAS FRACCIONES DE ESTEROLES

Según se expone en la Parte Experimental, los insaponificables de los distintos aceites considerados se fraccionaron en placas preparativas de sílica gel, según Fedeli et al⁶⁴ aislando por raspado la banda de esteroides que, por elución con éter etílico, proporcionó a estos últimos para su examen por CGL. En todos los casos se observaron picos que se identificaron en orden creciente de concentraciones como: colesterol (rastros - 0,6); (?) con valores de $Tr/Tr_{\text{colesterol}}$ de 0,80 (1,2 - 3,4); Δ^5 -avenasterol (2,1 - 6,5); campesterol (2,5-4,9) y sitosterol (87,5 - 94,1% de esteroides totales). En so-

lo dos casos (durazno var. Tuscán y Sullivan Cling) no se registró colesterol pero se supone que una inyección conteniendo mayor cantidad de esteroides habría mostrado a este componente en el orden de los rastros.

Los valores que figuran en la Tabla 13 fueron encontrados por computación de áreas y muestran una señalada uniformidad para las concentraciones de los distintos componentes en los aceites de las especies estudiadas, con una muy elevada concentración (prácticamente superior al 88%) para sitosterol. La presencia de colesterol es ya un hecho reconocido en muchos aceites seminales o en lípidos vegetales, si bien, en la mayoría de los casos que la literatura registra, figura en concentraciones inferiores al 1% o en el orden de rastros, mientras que en otros, como en aceite de semilla de tomate^{65,66,67} se han encontrado valores de 6,7 a 27,0% sobre esteroides totales, así como 10,4% en aceite de salvado de arroz⁶⁸ 9% en aceite de semilla de especies de Capsicum⁶⁹.

La única referencia encontrada sobre composición en esteroides de aceites de especies de Prunus es la debida a Zürcher y Hador³² quienes en aceite de semilla de almendras dulces, amargas y de damasco mencionan la presencia de campesterol y sitosterol (este último como componente principal) y un pico no identificado con retención mayor que la del sitosterol (no mencionan la presencia de colesterol). A modo de ejemplo la Figura 18 reproduce el cromatograma correspondiente a la fracción de esteroides del aceite de semilla de guindo.

9. ESTUDIOS DE COMPOSICION DE HARINAS DE EXTRACCION

9.1 Valores de Composición General

La Tabla 14 resume los valores hallados para la composición química de las harinas de extracción de semilla de las especies de Prunus estudiadas. Se consignan en ella los valores correspondientes a humedad, cenizas, proteína bruta, fibra cruda, glicósidos cianogénicos (expresados como ácido cianhídrico) e Índice de Solubilidad de Nitrógeno (ISN) para las siete variedades comerciales de duraznero (Sullivan Cling, Palora Cling, Montevideo, Real Jorge, Fortuna, Tuscán, Cuareg millo), de damasco (cocidos y no cocidos, cosechas 1975 y 1976), de dos de cerezo (Bing y Napolitana), de guindo, de dos de ciruelo (procedentes de las provincias de Mendoza y Buenos Aires), de P. laurocerasus L y de P. mahaleb L. En el caso de las harinas de semilla de duraznero se analizó una mezcla (partes iguales en peso de harinas de las variedades Sullivan Cling, Palora Cling, Montevideo y Real Jorge) en razón de presentar todas ellas características de composición semejantes.

Se puede apreciar que la humedad varía desde 2,58 a 13,26% con la mayor concentración de valores entre 7 y 9%. En cuanto a los valores de cenizas (sobre base seca) se observa que los mismos varían entre 2,83 y 9,38% aunque la mayoría se encuentra entre 5 y 7%.

Sin duda el valor de mayor interés en la composición química de estas harinas es el de contenido proteico que osciló entre 32,54 y 54,96% con la mayor concentración de valores

entre 45 y 50% (N x 6,25, base seca). El menor contenido se observó en la harina de P. mahaleb (32,54%), debiéndose recordar que esta harina proviene de carozos enteros (de ahí el valor más bajo en su contenido proteico). En cambio, el mayor se encontró en la harina de semilla de duraznero, var. Cuaresmillo.

Es necesario indicar que si bien los contenidos de proteínas fueron altos, las mismas no eran de una buena calidad ya que como se discutirá más adelante, los valores de lisina disponible fueron relativamente bajos. Además, de acuerdo a la literatura, en el caso de la harina de semilla de damasco, las proteínas son deficitarias en lisina, metionina y cistina²⁰. Por otro lado, según se ha mencionado en la Introducción, los contenidos de proteínas de las harinas de semilla de especies de Prunus presentan los siguientes valores (en base libre de grasa): almendras 53, damasco 48, durazno 53% (valores promedio de varias fuentes bibliográficas), cifras que concuerdan con las obtenidas en el presente estudio.

Si bien los contenidos de proteínas en las harinas de semilla de damasco sometidas a cocción y sin cocción fueron similares, se observó entre ellas una gran diferencia en los valores de Índice de Solubilidad de Nitrógeno (27,0 y 82,2 de N extraído % N total, respectivamente). Este mismo comportamiento se observó en las harinas de ciruela proveniente de Mendoza (sometidas a cocción) (36,2 y 77,7). Esto indicaría que el tratamiento de cocción sobre los frutos (20 minutos a baño de vapor) produciría cambios en las proteínas (desnaturali

zación), disminuyendo su solubilidad, medida por la determinación de ISN. Bressani et al⁷⁰ mencionaron los efectos de la cocción sobre la calidad de la proteína para el caso de los frijoles (Phaseolus vulgaris), señalando que una cocción por treinta minutos produjo una disminución del valor de la lisina disponible. Por otra parte y más recientemente, Bressani et al⁷¹ observaron que el calentamiento (10-30 minutos, 121^o, 15 psi, condiciones de autoclave) provocó una disminución en el valor de PER como también en el valor de Digestibilidad. En cambio el análisis de los valores de solubilidad de Nitrógeno (realizados en tres condiciones distintas: solución de NaCl 1N, NaOH 0,05N y H₂O) determinados para distintos tiempos de cocción, muestran que los mismos tienden a aumentar ligeramente (las variaciones son pequeñas). Aunque en ese trabajo los autores no informaron valores de solubilidad de Nitrógeno para porotos sin cocción, en uno posterior Bressani et al⁷² comunicaron que los valores de solubilidad de Nitrógeno (como porcentaje del N total) para porotos sin tratamiento alguno (comparados con aquellos sometidos a cocción a 121^o, 15 psi, entre 2 y 30 minutos o a vapor de agua entre 2 y 30 minutos) fueron más bajos que los encontrados para los frijoles sometidos a cocción; es decir, que el calentamiento provocaría un aumento de la solubilidad. Este resultado es opuesto al encontrado en este estudio, para las harinas de semilla de Prunus.

Otros datos que se informan en la Tabla 14 son los valores obtenidos para las determinaciones de fibra cruda, en

las harinas de semilla de especies de Prunus. Como se puede observar, los valores variaron entre 5,22 para P. laurocerasus y 48,23% para P. mahaleb L, si bien la mayor concentración de valores se halló entre 7 y 12%, para las otras especies. En el caso del P. mahaleb L, el valor fue alto debido a que la harina procedía de semilla entera, con un elevado porcentaje de leño (50%, ver Tabla 8), aportando fibra.

Otra determinación de importancia se refiere a la presencia de compuestos cianogénicos que, como se ha expuesto, permite juzgar sobre la toxicidad de las harinas de diversas especies de Prunus, puesto que ello constituye una de las limitaciones más significativas para el consumo humano o animal de las mismas.

En nuestro estudio se han establecido los contenidos de glicósidos cianogénicos a través de las determinaciones del ácido cianhídrico producido a partir de ellos. Se adoptó un método combinado, según se ha discutido en la Introducción, Compuestos Cianogénicos, basado en la liberación del ácido cianhídrico por acción de las propias enzimas de la harina y posterior hidrólisis de los glicósidos cianogénicos remanentes con ácido sulfúrico 30%, arrastre con vapor de agua, recolección en solución de hidróxido de sodio y valoración final, de acuerdo al método propuesto por Winkler⁵⁸.

Los valores obtenidos variaron desde 7,9 a 323 mg HCN % g de harina, aunque la mayoría de los valores se encontraron entre 180 y 260 para harinas de semilla de duraznero y

72

y ciruelo; y 304 a 323 para damasco. Stoewsand et al⁷³ informaron valores de 12 y 123 mg HCN % g de semilla entera de damasco. Estos mismos autores comentaron que estos contenidos de ácido cianhídrico varían de acuerdo a los métodos de irrigación, fertilización y uso de pesticidas. Por otro lado se han estudiado los peligros industriales del ácido cianhídrico producido en el procesamiento de semillas de damasco en la manufactura de aceite y "flavoring pastes". Nachek y Dosresett⁷⁴ informaron valores de 43 a 46 mg HCN % g de pepa entera de durazno. Los valores encontrados en el presente estudio concuerdan más con los hallados por Souty et al⁷⁵ quienes señalaron que la mayoría se encontraban entre 200 y 400 mg HCN % g de pepa en 31 variedades de damasco cultivadas en Francia.

En el caso del P. laurocerasus L se ha podido determinar el valor de contenido en compuestos cianogénicos en la pulpa del fruto, ya que se pudo disponer del mismo, comprobándose que era prácticamente nulo. Podemos entonces admitir que la alta toxicidad de este fruto se debe a la semilla la cual sí posee glicósidos cianogénicos. La intoxicación se produce cuando se mastica el fruto; junto con la pulpa se muerde el carozo cuyo leño es muy delgado y frágil, ingiriéndose semilla tóxica.

Otro dato interesante para evaluar la calidad nutritiva de las harinas en estudio, lo constituyeron los valores de lisina disponible. En la bibliografía no se ha encontrado cifras al respecto, sólo valores de lisina total; así

por ejemplo Gonzales Moles²⁰ informa 3,60 y 3,90 para semilla de damasco (ver Tabla 1) y 2,90 para almendras; mientras que Salem, Sayed et al⁴⁰ 5,60g de lisina total/16g N. En el presente trabajo se han determinado los valores correspondientes a lisina disponible, variando las mismas entre 1,55 para harina de semilla de duraznero var. Cuaresmillo y 3,87 para la de cerezo var. Bing, aunque la mayor concentración de valores se encontró entre 2 y 3g de lisina/16g N. (ver Tabla 14). Los valores más altos se encontraron para las harinas de cereza y guinda (3,87; 3,50 y 3,77), aunque comparados con los correspondientes a harinas de otro origen, son relativamente bajos (es necesario tener en cuenta que el patrón de referencia FAO 1973, fija 5,50g/16g N para lisina total). En cambio, las cifras encontradas para harina de semilla de duraznero (promedio 2,30; salvo para la var. Cuaresmillo 1,55), de damasco cocido (2,80), ciruela de Mendoza (3,00) y P. laurocerasus L (2,37) son decididamente mediocres.

Es interesante notar que aquellas semillas que sufrieron un proceso de cocción dan valores de lisina disponible más bajos que los de las correspondientes semillas que no experimentaron calentamiento alguno (durazno crudo 2,30; Cuaresmillo 1,55 - damasco crudo 3,10; damasco cocido 2,75 - ciruela Provincia Buenos Aires 3,03; ciruela Provincia Mendoza 2,96). Estos resultados concuerdan con los hallados para los porotos por Bressani et al⁷⁰ (disminución del contenido en lisina disponible por acción del calor).

9.2 Investigación y dosaje de azúcares reductores, invertibles y sacarificables.

En la Tabla 15 figuran los valores obtenidos en las determinaciones de contenido en azúcares reductores (expresados en glucosa), azúcares invertibles (expresados en sacarosa) e hidratos de carbono sacarificables (expresados en almidón). De la observación de estos datos surge que los hidratos de carbono sacarificables se encuentran en mayor concentración (10,34 para harina de semilla cocida de damasco y 14,37% en harina mezcla de semilla de duraznero). En ningún caso se observó la presencia de almidón (reacción con reactivo de Bouchardat). Los contenidos en azúcares reductores fueron relativamente bajos (0,90 - 2,48) con máximo para la harina de ciruela de Mendoza y mínimo para la de damasco cocido. Los valores para azúcares invertibles fueron más elevados (5,10 y 7,10%), máximo para ciruela de Mendoza y mínimo para damasco cocido.

Zürcker y Hadorn³² encontraron valores de 0,90 - 0,14% para azúcares reductores (fructosa 0,40 - 0,70) y de 4,60 - 3,80% para azúcares invertibles en semilla de damasco. Esos valores concuerdan con los encontrados en este estudio. En cambio Salem, Sayed et al⁴⁰ informan 15,59% para hidratos de carbono en total (33,51% sobre base desgrasada) en semilla entera de duraznero, valores más altos que el encontrado para las analizadas en este trabajo (21,74% de hidratos de carbono totales, sobre base desgrasada).

Estas determinaciones se complementaron (ver Parte

Experimental) con la identificación cromatográfica de los azúcares reductores e invertibles preexistentes (cromatografía antes y después de inversión) y de los azúcares integrantes de los hidratos de carbono sacarificables. Los resultados obtenidos se evidencian en la Tabla 16. Se observa en ella que las harinas de semilla de las tres especies estudiadas: damasco, ciruela y durazno, presentan los mismos hidratos de carbono. Así, en la muestra tal cual se encontraron glucosa, fructosa y sacarosa, mientras que cuando se sometieron a inversión sólo glucosa y fructosa. El examen realizado sobre el líquido proveniente de las hidrólisis de los hidratos de carbono sacarificables evidenció la presencia de arabinosa y xilosa, además de glucosa y fructosa.

Estos resultados concuerdan en gran parte con los de Salem, Sayet et al⁷⁶ quienes encontraron fructosa, glucosa y sacarosa en muestra tal cual; xilosa, arabinosa, glucosa y galactosa en el hidrolizado de los polisacáridos de pepas de damasco. En cambio Zúrcker y Hadorn³² encontraron en semilla de damasco, maltosa, rafinosa y melecitosa, aparte de glucosa, fructosa y sacarosa (cromatografía gas-líquido sobre muestra tal cual).

10. AISLAMIENTO DE PROTEINAS DE HARINAS DE EXTRACCION

10.1 Procedimiento de obtención

La literatura no menciona antecedentes sobre aislados proteicos provenientes de harinas de semilla de especies de Prunus. En nuestro trabajo se han obtenido aislados proteicos

de las harinas de semilla de damasco (cocido y crudo, cosecha 1976), ciruela (cocida, procedente de la provincia de Mendoza) y durazno (harina mezcla formada por partes iguales en peso de las harinas de semilla de duraznero de las variedades Sullivan Cling, Palora Cling, Montevideo y Real Jorge).

Como primer paso hacia la obtención del aislado proteico, se determinó el valor de pH de máxima dispersión de Nitrógeno. Para ello (ver Parte Experimental) se determinó el porcentaje de Nitrogeno dispersado con respecto al Nitrógeno total a distintos valores de pH, obteniendo así las cifras que figuran en la Tabla 17, representadas en la Figura 19.

Según se observa, las harinas de semilla no sometidas a cocción tuvieron comportamiento similar (durazno y damasco crudo) llegando en ambos casos a valores de dispersión de Nitrógeno altos (a pH 10,5: 92,4 y 92,9%, respectivamente). En cambio aquellas harinas provenientes de semillas que sufrieron cocción, tendieron a dar valores de dispersión de Nitrógeno mucho más bajos (damasco y ciruela cocidos, a pH 10,5: 45,5 y 42,0 de N dispersado % N total, respectivamente). Estos resultados refuerzan lo dicho anteriormente, que el proceso de cocción produjo cambios en las características funcionales de las proteínas de estas harinas, disminuyendo sus solubilidades.

En todos los casos el aumento de pH produjo un aumento en el grado de dispersión, tal como se había comprobado para el caso de las harinas de semilla de lino⁷⁷, girasol⁷⁸, zapallo⁷⁹, sésamo⁸⁰, palma Acrocomia totai Mart. ("mbocaya")⁸¹,

cártamo⁸², tomate⁸³ y cítricos⁸⁴.

A pesar que a pH 11,5 se lograron mayores porcentajes de dispersión que a pH 10,5 se eligió este último valor desde que a valores de pH superiores a 11,0 aumenta la posibilidad de formación de lisino-alanina, con la consiguiente disminución del valor nutritivo de las proteínas a obtener.

Determinado el valor de pH de óptima dispersión, se procedió a determinar el de máxima precipitación (pH isoelectrico) operando sobre los extractivos obtenidos a pH 10,5 para cada una de las harinas consideradas (ver Parte Experimental). Para ello se precipitaron las proteínas a distintos valores de pH y una vez que éstas fueron separadas por centrifugación se determinó, para cada tipo de harina y para cada valor de pH, el N sobrenadante % del N dispersado. Se obtuvieron de esta manera las cifras de la Tabla 18, representadas en la Figura 20.

Se observa que tanto para los damascos (crudos y cocidos) como para durazno mezcla, el pH de máxima precipitación fue 4,50, mientras que en el caso de la ciruela fue 4,75. Se puede observar también que en los extractivos provenientes de productos sometidos a cocción, los valores de N sobrenadante % N dispersado (damasco cocido 23,90; ciruela 35,80) son más altos que los correspondientes a las semillas no sometidas a cocción alguna (damasco crudo 11,90; durazno mezcla 15,70%).

Elegidos los valores de óptima dispersión y precipitación, se procedió a obtener cantidades suficiente de aislados

proteicos con el fin de poder determinar sus propiedades. Operando con suficiente cantidad de harina (400, 200 y 70g., ver Parte Experimental), se lograron los rendimientos que figuran en la Tabla 19.

Los valores de rendimiento, significativamente menores para el caso de las semillas sometidas a cocción (damasco cocido 11,86; ciruela cocida 10,63; damasco crudo 28,57 y durazno mezcla crudo 27,26% de harina) evidenciaron un proceso de desnaturalización en las mismas influyendo adversamente tanto en la etapa de dispersión (menor extracción a pH alcalino) como en la etapa de precipitación (menor rendimiento en aislado proteico).

Se obtuvieron los aislados proteicos bajo la forma de polvos livianos, insípidos, blanco en el caso de las proteínas de semilla de duraznero, con un leve color rosa en las de damasco y rosa más acentuado en las proteínas provenientes de las de ciruelo.

A través de un ensayo cualitativo para ácido cianhídrico, propuesto por Goldstone⁸⁵ (ácido pícrico en medio alcalino) se pudo evidenciar la presencia del mismo en los aislados proteicos obtenidos. Se procedió luego a la determinación cuantitativa del ácido cianhídrico, empleando el mismo método que en las harinas (ver Parte Experimental), obteniendo los siguientes valores: aislado proteico de harina de semilla cruda de damasco, 6; durazno 4,6 mg HCN % g de proteína (en los otros dos aislados no se pudo determinar el contenido en HCN

por no disponer cantidad suficiente de los mismos). Estos resultados han sido sorprendentes, pues no se esperaba encontrar ácido cianhídrico en las proteínas, ya que para su obtención mediaron procedimientos acuosos (alcalinos y ácidos), etanólicos y secado a vacío (45°, 0,5 Torr.). Posiblemente el ácido cianhídrico provenga de iones cianuros que estén salificando a la proteína (a través de aminoácidos de naturaleza básica) al valor de pH isoeléctrico de obtención.

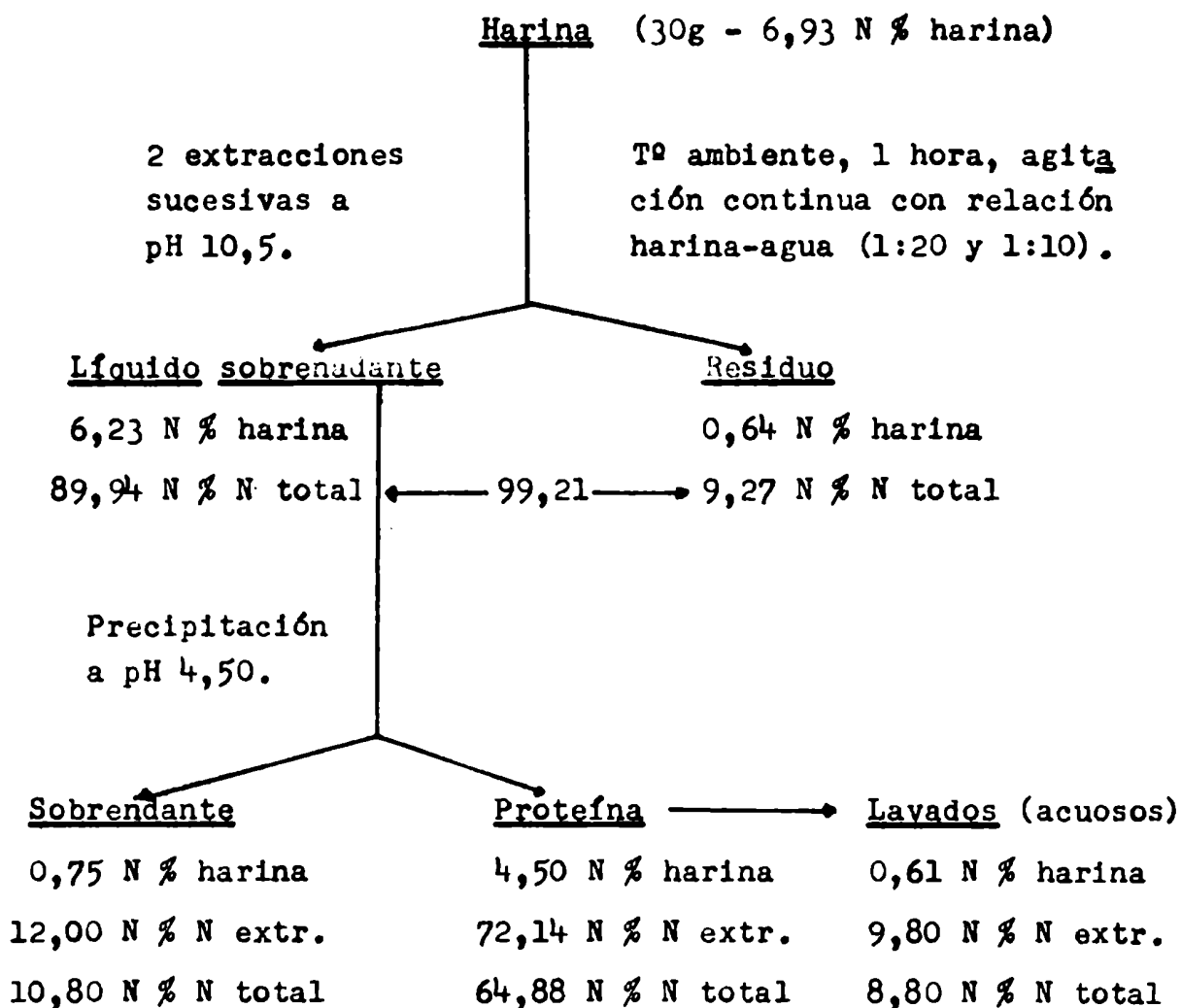
Los valores de ácido cianhídrico obtenidos son más elevados que los permitidos por el Código Alimentario Argentino para productos que lo podrían contener ("pepipán", "mazapán", pasta de almendras; máximo permitido 4mg % producto) por lo que una utilización futura de estas proteínas exigirá una depuración de las mismas.

Estas características de los aislados se lograron sometiendo los respectivos precipitados a pH isoeléctrico, a tratamientos con agua a ese pH, seguidos de centrifugación y lavados con etanol 96% (eliminación de pigmentos y fundamentalmente lípidos asociados). Este sistema de purificación había sido ya establecido para el caso de la semilla de lino⁷⁷. Finalmente las proteínas así purificadas se llevaron a peso constante en vacío (0,5 Torr, 45°).

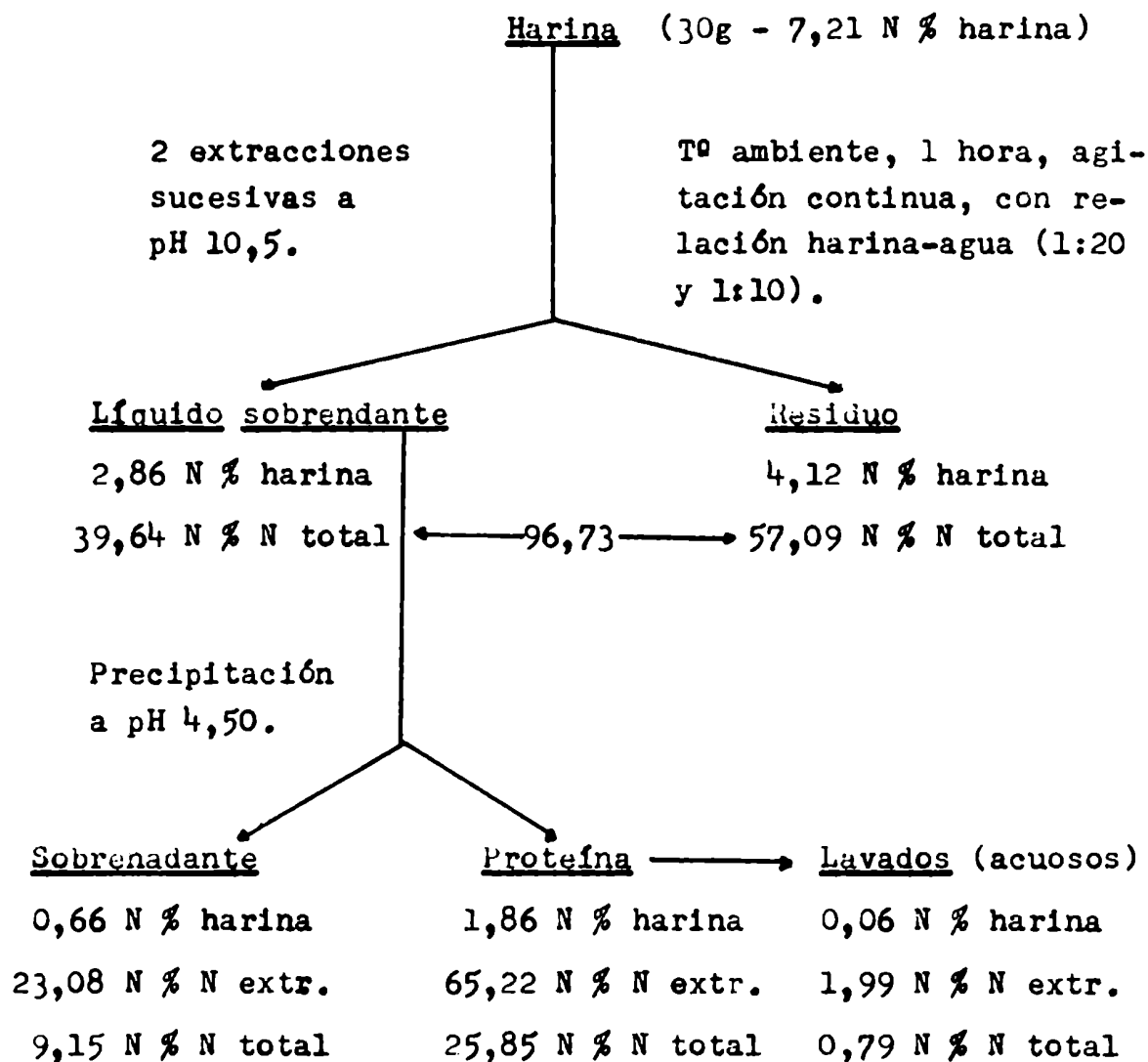
10.2 Balance de Nitrógeno en la obtención de los Aislados Proteicos.

Una vez elegidos los valores de pH de extracción y

de máxima precipitación, se procedió a hacer un balance cuantitativo de las distintas fracciones separadas durante el aislamiento de las proteínas de semilla de damasco crudo y cocido. El siguiente esquema ilustra los resultados obtenidos para el caso del aislado proteico del damasco crudo (ver Parte Experimental).



En el caso del aislamiento de las proteínas de semilla de damasco cocido, el balance ha sido el siguiente:



10.3 Análisis de los Aislados Proteicos.

Con los métodos que se mencionan en la Parte Experimental, se determinaron los valores correspondientes a: Pérdida de peso a 100° (vacío), Cenizas, Nitrógeno total, Fósforo total, Fósforo de ácido fítico, Lisina disponible, Hidratos de carbono totales, Lípidos residuales y Acido cianhídrico, habiendo obtenido los resultados que figuran en las Tablas 19 y 20.

Se puede observar que los valores de Pérdida de peso a 100° (vacío) y Cenizas fueron bastantes semejantes en los cuatro aislados proteicos. La Pérdida de peso a 100°, varió desde 5,40 a 8,90%, siendo máxima en el aislado proteico de la harina de semilla de ciruelo (procedencia Mendoza). Las Cenizas (en base seca) variaron entre 0,21 y 0,40%, correspondiendo el valor máximo a las proteínas de semilla de ciruelo. Estos valores fueron semejantes a los obtenidos para otros aislados proteicos.

Uno de los datos más interesantes resulta el de contenido de Nitrógeno, que varió entre 16,60 y 17,54% (base seca). Además, estos aislados resultaron prácticamente libres de polisacáridos, inversamente a lo registrado para aislados provenientes de semilla de lino⁷⁷ y de cítricos⁸⁴.

Los valores de lisina disponible variaron entre 1,54 para el aislado proteico de la harina mezcla de semilla de duraznero y 2,38g lisina/16g N para la de damasco crudo. Comparando esos valores con los correspondientes a los de las harin

nas, se observa una disminución en los mismos, tal como se ha registrado para otros aislados proteicos. El porcentaje de disminución de lisina disponible (entre aislado proteico y harina) fue máximo para la proteína de durazno (30%) y mínimo para la de damasco cocido (19,4%). De todas maneras los valores de lisina disponible indicarían que estos aislados son de mediocre calidad nutricional.

Los valores de contenido en hidratos de carbono totales, determinados por el método Fenol-SO₄H₂, variaron entre 1,1% en el aislado proteico de semilla de duraznero hasta el 3,9% en el de damasco crudo. Estas cifras son algo elevadas respecto a otros aislados proteicos, aunque sin llegar a los valores propios de proteínas unidas a polisacáridos (lino⁸⁶ 19,5 y cítricos⁸⁴ 13,42%).

Debido a la importancia que posee el ácido fítico en el campo nutricional, se determinó el contenido del mismo, expresándolo como Fósforo, observando que se encuentra en el rango de valores consignados para otros aislados proteicos. El valor máximo fue obtenido para el aislado proteico de semilla cocida de damasco (0,61%) y el mínimo para el de ciruela (0,14%).

También se ha determinado el valor de Fósforo total, variando el mismo entre 0,32 y 0,65%. Es de importancia la relación porcentual P fítico/P total, pues la misma da idea de la existencia de otras fuentes de fósforo en el aislado proteico. Se observa que en el caso del aislado de proteínas de se-

milla de duraznero, el P de ácido fítico representa el 91% del P total. Con el objeto de ilustrar sobre relaciones de P fítico/P total, mencionamos los siguientes valores determinados con los mismos métodos para aislados proteicos de semilla de zapallo⁸⁷, de tomate⁶⁷ (90-91%), de semilla de lino⁷⁷, de girasol⁷⁸, de soja⁸⁸ (69-80%) y para aislados de harina de semilla de cártamo⁸², cítrico⁸⁴ y sésamo⁸⁰ (45-55%).

A fin de formar idea sobre las propiedades funcionales de estos aislados se determinaron los valores de Índice de Solubilidad de Nitrógeno observando, que salvo en el caso de las proteínas provenientes de semilla de damasco crudo (39%), los valores son aceptables ya que variaron entre 60,4 y 70,5% (lo que indicaría un grado de desnaturalización de poca significación).

Durante el proceso de purificación (lavados etanólicos de los coágulos proteicos) se eliminan pigmentos y lípidos, pero a pesar de ello los aislados retienen lípidos, que se pueden determinar luego de una saponificación drástica, tal como se indica en la Parte Experimental. La Tabla 20 resume los valores de porcentaje de lípidos residuales con respecto a la proteína seca (0,63 a 1,82%), constituidos por ácidos grasos (47,6 - 70,2% lípidos) e insaponificable (29,8 - 52,4% lípidos). Lo antedicho no significa que tales componentes preexistan en los aislados como tales, desde que en su obtención medió un proceso de saponificación drástica.

Por otra parte se consideró el estudio de la composición acídica de esos lípidos residuales y con ese objeto los ácidos grasos totales se transformaron en ésteres metílicos y examinaron por CGL, obteniendo los valores que figuran en la Tabla 21. Se observa en ella que los lípidos provenientes de los aislados proteicos presentaron mucha similitud en cuanto a su composición acídica, salvo el de ciruela que reveló pequeñas diferencias en cuanto a componentes menores. (Figura 21).

10.4 Examen analítico de los extractivos etanólicos de los Coágulos Proteicos.

Tal como se expone en la Parte Experimental, de los líquidos etanólicos resultantes de la purificación de los coágulos proteicos se aislaron residuos lipídicos, cuyas características se pueden observar en la Tabla 22.

Los contenidos en lípidos % proteína seca, en el caso de aislados provenientes de ciruelas y damasco cocidos (6,85 y 6,87% respectivamente) son comparables a los hallados para otros aislados.

Los elevados valores de número de acidez (13,6 - 66,4mg HOK/g) sugieren que se habrían originado por saponificación de glicéridos y/o fosfolípidos durante el proceso alcalino de extracción de la proteína, liberándose los ácidos al valor de pH isoeléctrico y coprecipitando con las proteínas. Este comportamiento ha sido siempre observado en lípidos extraí

bles por etanol a partir de coágulos proteicos de otras semillas. Se sugiere entonces que los lípidos preexistentes en las harinas de partida sufren transformaciones en el sentido señalado durante el aislamiento de proteínas.

En general los valores de composición acídica de los lípidos aislados de los extractos etanólicos presentan una mayor concentración de 16:0 y 16:1 y menor en 18:2, respecto a la composición acídica de los aceites seminales. La Tabla 23 resume los valores de composición acídica (% de ácidos totales) de los lípidos extraídos por etanol de los coágulos proteicos procedentes de las harinas consideradas. La Figura 22 reproduce el cromatograma de los lípidos de extracción por etanol del aislado proteico de harina de semilla de ciruelo.

Los lípidos residuales (extraíbles luego de saponificación drástica del aislado proteico) muestran una mayor concentración en 16:0 y 18:0 y menor en 18:1 respecto a la composición acídica de los aceites seminales (ver Tablas 21 y 11)

Las experiencias expuestas respecto de la obtención de aislados proteicos a partir de harinas de semillas de especies de Prunus han esclarecido las condiciones operatorias a escala de laboratorio. Además, proporcionaron una primera información acerca de valores de extracción de Nitrógeno y de rendimiento en aislados así como características analíticas de los mismos. Este estudio merece ser complemen

tado con los siguientes objetivos:

- Determinación de composición en aminoácidos esenciales de los aislados.
- Evaluación biológica de los aislados (valor de utilización neta proteica) y valores de digestibilidad, luego de haber eliminado los restos de ácido cianhídrico que restan en los mismos.



- PARTE EXPERIMENTAL -

1. Materia Prima, Obtención de Aceites Crudos.
2. Estudio sobre Aceites Crudos.
 - 2.1. Características físico-químicas y contenido en componentes menores.
 - 2.2. Estudio de composiciones acidicas.
 - 2.3. Composiciones acidicas exhaustivas.
 - 2.4. Examen de la composición de la fracción de esteroides.
3. Harinas de Extracción de Semilla
 - 3.1. Análisis de composición general.
 - 3.2. Índice de Solubilidad de Nitrógeno.
 - 3.3. Glicósidos cianogénicos determinados como ácido cianhídrico.
 - 3.4. Análisis cuantitativo de hidratos de carbono.
4. Aislamiento de Proteínas a partir de Harinas de Semilla de Especies de Prunus.
 - 4.1. Equipos y reactivos.

- 4.2. Técnica de dispersión de la proteína. Elección de pH óptimo.
- 4.3. Elección de pH de máxima precipitación (isoelectrico).
- 4.4. Obtención en escala macro de laboratorio.
- 4.5. Examen analítico del aislado proteico.
- 4.6. Determinación del contenido y características de los lípidos residuales en el aislado purificado y seco.
- 4.7. Estudio de los lípidos extraídos por etanol en el proceso de purificación del aislado.

1. MATERIA PRIMA - OBTENCION DE ACEITES CRUDOS

Se dispusieron 18 partidas de carozos de diversas especies de Prunus, a saber:

Durazno: (cosecha 1975), variedades Fortuna y Tuscán; (cosecha 1976) variedades Sullivan Cling, Palora Cling, Montevideo y Real Jorge (todas procedentes de Mendoza) y además, carozos de la variedad conocida como Cuaresmillo procedentes de una conserva de frutos en almibar, elaborada en Salta. Excepto esta última, los carozos de las demás variedades de durazno fueron expresamente preparados en fábrica (Mendoza) de modo que estaban recubiertos en parte por restos de pulpa. Esta se eliminó, previa humectación, por cepillado exhaustivo, dejando secar al aire.

Damasco: dos partidas procedentes de Mendoza correspondientes a la cosecha 1975 y dos de 1976, cada una consistente de carozos procedentes de frutos maduros, no tratados y de frutos que habían sido sometidos a cocción (20 minutos en baño de vapor de agua). Estos últimos provenían de frutos destinados a la producción de dulces y mermeladas.

Ciruela: una partida pequeña consistientes de carozos de ciruela roja cosechada en el Gran Buenos Aires (Unión Ferroviaria) y otra procedente de Mendoza que había sido tratada por calor como se mencionó para el caso de damascos (cosecha 1975 y 1976, respectivamente).

Cereza: dos partidas de carozos de las variedades Bing y Napolitana, adquiridas en el comercio y procedentes de Mendoza.

Guinda: una partida de carozos procedentes de frutos sometidos a cocción (elaboración de dulces) cosechados en San Martín de los Andes, Neuquén, en 1977.

Además se dispusieron frutos de dos especies de Prunus inexplotadas: P. mahaleb L o "cereza de Santa Lucía", cosechados en la estancia Mamín-Co, Tornquist, Provincia de Buenos Aires en 1977 y de P. laurocerasus L o "Laurel cerezo" cosechados en la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de La Plata en 1976. Los carozos se separaron manualmente y liberaron de restos de pulpa como se ha expuesto para el caso de durazno.

Como se expone en la Tabla 8, los carozos se resolvieron por rotura mecánica en leño y pepa o semilla, determinando los valores de peso medio de carozo, relación leño: pepa, peso medio de pepa y humedad (100%, vacío) en pepa previamente molida.

Para la obtención de aceites crudos de extracción se operó sobre cantidades que oscilaron entre 12 y 400g de semilla (según la disponibilidad de las mismas). En la mayoría de las variedades de durazno se operó alrededor de 400, en damasco 100-450, en cereza 12-20, guindo 66 y ciruela en un caso 16 y en la semilla procedente de fábrica 365g. De las especies inexplotadas para P. laurocerasus L se partió de 80g de semilla y para P. mahaleb L de 200g de carozo entero (en razón de su pequeñez y delgadez de la parte leñosa).

Previa molienda se agotaron con hexano técnico en

equipo Soxhlet (24 horas de extracción, seguida de remolido y reextracción por 24 horas más). Los extractos en hexano se concentraron recuperando el solvente en baño de agua hirviente y de los aceites crudos se eliminaron los últimos restos de hexano por arrastre con vapor de agua. Los aceites se tomaron por éter etílico y trataron con solución acuosa semisaturada de Na_2SO_4 . Los líquidos etéreos se deshidrataron con Na_2SO_4 anhidro, recuperó el éter por destilación y llevó a peso constante en estufa de vacío (100° ; 0,5 Torr), determinando así los valores de rendimiento que se expresaron como porcentaje de pepa o semilla seca.

2. ESTUDIO SOBRE ACEITES CRUDOS

2.1. Características físico-químicas y contenido en componentes menores.

Con carácter previo a los estudios de composiciones acídicas, se determinaron : Índice de Yodo (Wijs); Índice de Saponificación (A.O.C.S. Official Method Da 15-48); Índice de Refracción a 25° (A.O.C.S. Official Method CC 7-25); Densidad relativa a $25^\circ/4^\circ$ (picnómetro); Nº de Acidez (I.U.P.A.C. 11.D.1, sobre 0,5 g de aceite); Insaponificable total (A.O.C.S. Ca 6b-53, adaptado a los líquidos residuales de la determinación de Índice de Saponificación); Índice de Yodo del Insaponificable (Rosenmund); Esteroles totales (Digitonina)⁶⁰; Tocoferoles⁵⁹ totales. Los resultados correspondientes a estas determinaciones figuran en las Tablas 9 y 10; y fueron comentados y discutidos anteriormente.

2.2 Estudio de composiciones acídicas.

Previamente se efectuaron sobre los aceites crudos las reacciones de Bellier (aceites de semilla) con resultado positivo; la reacción de Halphen (A.O.C.S. Official Method Cb 1-25) con resultado negativo (ausencia de ácidos ciclopropenoicos) y la reacción bromada de Halphen (glicéridos de ácido linolénico), negativa.

También se examinaron por espectrofotometría en UV (A.O.C.S. Official Method Cd 7-58, 1960) no observando conjugación en la zona de dienos, trienos y tetraenos para los aceites de semilla de durazno, damasco y P. laurocerasus L. En cambio, se observó una muy baja concentración en trienos conjugados (0,01 - 0,05% de aceite, expresado como ácido α -eleostéarico) en los aceites de semilla de ciruela, y cantidades mayores en los de cereza (7,4 - 9,7), guindo (13,7) y P. mahaleb L (42,7% de ácidos totales). Para calcular la concentración de ácido α -eleostéarico se siguió el método propuesto por Bickford et al⁸⁹.

Operando sobre los líquidos remanentes de las determinaciones de valores de Índice de Saponificación (aproximadamente 2g de aceite añadidos de 25 ml de solución de KOH al 4% en etanol de 96% libre de aldehídos) se diluyeron con 40 ml de agua y extrajo por tres veces con 70 ml de éter etílico por vez; los extractos etéreos reunidos se lavaron con agua (40 ml por vez); con solución al 1% de KOH en etanol-agua, y nuevamente con agua hasta reacción neutra al tornasol de

los líquidos acuosos. Se recuperó el éter etílico sobre baño de agua hirviente y los insaponificables resultantes se llevaron a peso constante (100°, vacío). La fase hidroalcohólica reunida con los líquidos procedentes de la purificación de los extractos etéreos de los insaponificables, se acidificó con ClH (1:4, heliantina) extrayendo exhaustivamente los ácidos liberados mediante tres extracciones con 40 ml de éter etílico por vez. De los extractos etéreos reunidos, lavados con agua y deshidratados con Na_2SO_4 anhidro, se recuperó el éter etílico, eliminando las últimas trazas con gas N_2 en caliente.

Los ácidos totales libres de insaponificable así obtenidos se reflujaaron (2 horas) con 20 ml de metanol anhidro conteniendo 1,5% en peso de ácido sulfúrico como catalizador⁹⁰. Luego de enfriar se diluyó con 40 ml de agua, extrayendo por dos veces con 60 ml de éter etílico por vez. Los extractos etéreos reunidos se lavaron con agua (hasta reacción neutra al tornasol, con solución acuosa de K_2CO_3 al 0,05% (eliminación de ácidos no esterificados) y finalmente con agua, recuperando el éter etílico y estacionando los ésteres metílicos en ampollas de vidrio cerradas a la lámpara y preservadas a -15°, hasta su examen por CGL (rendimiento de esterificación superior al 99%).

Las composiciones acídicas se determinaron en un equipo Perkin Elmer Vapor Fractometer, Mod 154, equipado con detector de ionización de llama, columna de vidrio Pyrex de

3m x 4,5 mm de diámetro interno, material de relleno formado por Chromosorb W lavado ácido (granulometría 60-80) y adipato de etilenglicol poliéster (15% sobre relleno total). Se operó a 194° regulando la temperatura del "block" de inyección en la indicación 90 (escala empírica de registro), nitrógeno como fase móvil (presión de entrada 18 - 24 psi) y con inyecciones de 2 - 4 μ l. de ésteres al 5 % en éster etílico. Los componentes se identificaron en base al tiempo de retención (T_r) y las evaluaciones cuantitativas se resolvieron por triangulación. Las respuestas cuantitativas han sido verificadas por examen CGL de mezclas de ésteres metílicos de ácidos grasos de composición conocida, estableciendo concordancia de resultados para la determinación de ácidos linoleico y linolénico por CGL y por examen espectrofotométrico luego de isomerización alcalina (A.O.C.S. Method Cd 7-58, 1960) y por determinación del contenido en ácidos saturados totales según el método de Bertram, así como a través del cálculo de los valores de los índices de Yodo y de Saponificación.

En la Discusión se ha hecho referencia al examen por CGL de ésteres metílicos de ácidos totales y de ésteres metílicos de ácidos totales previamente hidrogenados⁶³ a presión y temperatura normales con Pd 10%/C en ciclohexano, para los casos de cereza, guindo y P. mahaleb L a fin de posibilitar el cálculo final de composición de los ácidos totales, teniendo en cuenta las concentraciones en ácido α -oleos₃ téarico previamente determinados por espectrofotometría al UV.

La Tabla 11 resume los valores de composición acídica así encontrados y que fueron comentados en la Discusión.

2.3 Composición acídica exhaustiva.

A fin de evidenciar componentes ácidos en el orden de trazas (concentraciones menores de 0,05%) y aquellos en más de C_{20} (hasta C_{24}), se combinó la destilación fraccionada en vacío (0,5 - 1,0 Torr,) de ésteres metílicos de los ácidos totales libres de insaponificable, con el examen CGL de las distintas fracciones y residuos de destilación. Entre 15 y 17g (según los casos) de aceites de semilla de damasco cocido, de ciruelo (Mendoza) y de durazno (Sullivan Cling), se saponificaron por reflujo (2 horas) con 4,5g de KOH y 75 ml de etanol 96%. Después de enfriar, se diluyó con 150 ml de agua y efectuaron cinco extracciones con 80 ml de éter etílico por vez (la primera con 200 ml), aislándose los insaponificables y recuperándose los ácidos totales prácticamente libres de insaponificable, que se esterificaron por reflujo (2 horas) con 120 ml de metanol anhidro conteniendo 1,5% de ácido sulfúrico⁹⁰. Los totales de ésteres así obtenidos se fraccionaron por destilación en un equipo según Longenecker⁹¹ (eficiencia 12 platos teóricos, medida con mezcla benzol/ Cl_4C), en vacío de 0,5 - 1,0 Torr. Se obtuvieron series de fracciones de destilación y residuos de destilación, entendiéndose por estos últimos los ésteres aislados por lavado de la columna, balón de destilación y triángulo de separación de

fracciones con éter etílico, una vez concluida cada destilación. Desde que en estos residuos se acumulan las partes de insaponificable no extraídas al comienzo, se procedió a su saponificación, aislando los insaponificables con éter etílico y recuperando los ácidos totales del residuo, que se reesterificaron con metanol.

Cada fracción de destilación (previamente pesada), así los ésteres del residuo se examinaron por CGL, empleando el equipo y las condiciones antes señaladas, calculando sus composiciones acídicas en ácidos % de ácidos totales en cada fracción y residuo. Teniendo en cuenta estos valores y los pesos de cada fracción y residuo, se calcularon las composiciones finales de los ácidos grasos totales de cada aceite, que figuran en la Tabla 12.

A continuación se resume para los tres aceites considerados, los pesos de cada fracción y residuo, y las composiciones acídicas de los mismos.

Damasco cocido (cosecha 1976).

Fracción 1: (0,09g); 12:0 (0,1); r-14:0 (0,1); 14:0 (0,8);
r-15:0 (0,1); r-16:0 (vest); 16:0 (67,2); 15:1
 (0,5); 16:1 (13,0); 17:1 (0,4); 18:1 (11,7);
18:2 (6,1).

Fracción 2: (0,28g); 12:0 (vest); r-14:0 (vest); 14:0 (0,4);
r-15:0 (vest); 15:0 (0,1); r-16:0 (vest); 16:0
 (61,6); 15:1 (0,3); 16:1 (7,6); 17:1 (0,4); 18:1

(18,2); 18:2 (11,4).

Fracción 3: (0,51g); 12:0 (vest); 14:0 (0,1); 15:0 (0,2);
16:0 (44,51); 15:1 (0,1); 16:1 (6,2); 17:1 (0,3);
18:1 (31,9); 18:2 (16,7).

Fracción 4: (1,27g); 16:0 (13,7); 18:0 (0,3); 16:1 (1,3); 17:1
(0,3); 18:1 (54,4); 18:2 (30,0).

Fracción 5: (2,22g); 16:0 (4,0); 18:0 (0,2); 16:1 (0,4);
18:1 (63,4); 18:2 (32,0).

Fracción 6: (8,53g); 16:2 (0,9); 18:0 (0,5); 16:1 (vest);
18:1 (68,4); 18:2 (30,2).

Fracción 7: (retenido en columna) (1,47g); 16:0 (vest);
18:0 (1,6); 20:0 (0,3); 18:1 (71,4); 20:1 (0,4);
18:2 (26,3).

Residuo : (0,93g); 16:0 (vest); 18:0 (1,5); 20:0 (1,0);
r-21:0 (0,3); 21:0 (vest); 22:0 (0,3); r-23:0
(vest); 23:0 (0,2); r-24:0 (0,6); 24:0 (0,6);
18:1 (70,6); 20:1 (1,0); 18:2 (23,9).

Durazno Sullivan Cling (cosecha 1976, Mendoza)

Fracción 1: (0,75g); 12:0 (vest); 14:0 (0,4); 15:0 (0,1);
16:0 (31,9); 18:0 (vest); 15:1 (0,1); 16:1 (3,8);
18:1 (48,4); 18:2 (15,3).

Fracción 2: (0,96g); 14:0 (0,1); 15:0 (vest); 16:0 (25,7);
18:0 (0,4); 15:1 (0,1); 16:1 (2,1); 18:1 (54,9);
18:2 (16,7).

Fracción 3: (1,85g); 14:0 (vest); 15:0 (vest); 16:0 (15,8);
18:0 (0,5); 15:1 (vest); 16:1 (1,2); 18:1 (61,5);
18:2 (21,0).

Fracción 4: (3,59g); 16:0 (6,2); 18:0 (0,8); 16:1 (0,6);
18:1 (72,3); 18:2 (20,1).

Fracción 5: (4,06g); 16:0 (2,0); 18:0 (1,0); 18:1 (76,6);
18:2 (20,4).

Fracción 6: (3,15g); 16:0 (0,5); 18:0 (1,3); 18:1 (76,3);
18:2 (21,9).

Fracción 7: (Retenido en columna) (2,59g); 18:0 (1,7); 18:1
(80,0); 18:2 (18,3).

Residuo: (0,62g); 18:0 (1,1); 18:1 (89,0); 18:2 (9,9).

Ciruela (procedencia Mendoza, cosecha 1976).

Fracción 1: (0,15g); 12:0 (0,1); 14:0 (1,1); 15:0 (0,2);
16:0 (80,8); 15:1 (4,8); 16:1 (7,0); 18:1 (4,2).

Fracción 2: (0,68g); 12:0 (vest); 14:0 (0,6); 15:0 (0,1);
16:0 (70,5); 15:1 (0,2); 16:1 (12,5); 18:1 (11,3);
18:2 (4,8).

Fracción 3: (0,55g); 14:0 (0,1); 15:0 (vest); 16:0 (37,8);
15:1 (vest); 16:1 (3,8); 18:1 (38,8); 18:2 (19,3);
17:1 (0,2).

Fracción 4: (2,01g); 16:0 (9,6); 18:0 (0,3); 16:1 (1,7); 18:1
(61,5); 18:2 (26,9).

Fracción 5: (3,71g); 16:0 (2,5); 18:0 (0,4); 16:1 (0,5);
18:1 (70,5); 18:2 (26,1).

Fracción 6: (7,55g); 16:0 (0,2); 18:0 (0,5); 18:1 (71,5);
18:2 (27,8).

Fracción 7: (Retenido en columna) (1,16g); 18:0 (4,0); 18:1
(35,4); 18:2 (60,6).

Residuo: (2,18g); 18:0 (1,6); 18:1 (73,9); 18:2 (22,6);
20:0 (0,6); 22:0 (0,2); 23:0 (0,1); 24:0 (0,1)

20:1 (0,8); ? (0,1).

Las Figuras 10 y 11, se refieren a los cromatogramas antes y luego de hidrogenación⁶³ de la Fracción 1 de la destilación de los ésteres metílicos del aceite de semilla de damasco cocido (el cromatograma luego de hidrogenación se realizó para posibilitar la identificación de algunos componentes menores). Asimismo, las Figuras 12 y 13, representan los cromatogramas del residuo de destilación de los ésteres metílicos de los ácidos totales de este mismo aceite antes y después de hidrogenación, con análoga finalidad.

En los casos de aceites que contenían cantidades significativas de ácido α -eleostéarico no fue posible aplicar la destilación fraccionada en vacío, y como se ha expuesto en la Discusión se recurrió a la obtención de cromatogramas de ésteres previamente hidrogenados con inyecciones masivas (10 μ l de solución de ésteres hidrogenados de ácidos totales al 10% en éter etílico). Este fue el caso de las dos variedades de cerezo, guindo y P. mahaleb (Figuras 14, 15, 16 y 17).

2.4 Examen de la composición de la fracción de Esteroles.

Se procedió a separar los esteroides en forma conjunta a partir de los materiales insaponificables de los aceites de semilla de extracción de las especies de Prunus que figu-

ran en la Tabla 13, según la técnica de Fedelli et al⁶⁴. Se emplearon placas de 20 x 20cm de lado recubiertas de Sílica-gel G (5g de Sílicagel en 10 ml de agua) utilizando 60g de esta suspensión por placa (espesor 1 mm). Las placas se activaron por calentamiento en estufa a 110° durante 90 minutos, sembrando en forma de banda el insaponificable disuelto en mezcla de éter etílico-metanol (1:1). Se sembraron alrededor de 10 mg de insaponificable (aproximadamente de 10 - 15 mg de esteroides totales). Paralelamente y en forma separada se sembró una banda de 2 cm de largo con solución de insaponificable y a su lado una mancha de 0,5 cm con patrón colesterol, desarrollando durante 35 minutos con mezcla hexano-éter etílico (1:1). Las placas secas al aire, se revelaron en las bandas pequeñas con 2,7 diclorofluoresceína al 2% observando (bajo luz UV, 368nm) la posición del colesterol y la banda de esteroides del insaponificable (fluorescencia verde clara sobre fondo azul oscuro). Excepcionalmente los raspados de la banda principal se recromatografiaron en otra placa en las condiciones ya señaladas. Los raspados de las zonas de esteroides se eluyeron con éter etílico obteniendo los esteroides que posteriormente se examinaron por CGL.

A estos fines se empleó un equipo Aerograph Gas Chromatograph, modelo 204, equipado con detector de ionización de llama, columna de vidrio Pyrex de 2 m. de largo por 3 mm. de diámetro interior, relleno constituido por Chromosorb G-HP (silanizado, granulometría 80 - 100), conteniendo 2% de

fase fija (polaridad media) OV-17, temperatura de horno 260°, temperatura de inyector y detector 315°, N₂ como fase móvil (presión de entrada 75 - 80, escala empírica), atenuación x 12,8 y con inyecciones de 10 µl. de esteroides en solución al 5% en éter isopropílico.

Habiéndose señalado⁹² que la CGL de esteroides libres puede verse afectada por el empleo de columnas de acero inoxidable, se utilizó la de vidrio Pyrex ya mencionada, reemplazando el inyector metálico original del equipo por una prolongación vacía de la columna de vidrio hasta el "septum".

Los valores de presión de entrada y de temperaturas de columna, inyector y detector fueron fijadas para encontrar las condiciones más convenientes de resolución de una mezcla de campesterol, sitosterol y stigmasterol obteniendo el cromatograma correspondiente, registrando los siguientes valores de T_r (expresados en cm a partir del comienzo del pico del solvente); colesterol 17.05; campesterol 21.90; stigmasterol 26.65 y sitosterol 27.05 correspondientes a los siguientes valores de T_r/T_r colesterol: colesterol 1.00; campesterol 1.28; sitosterol 1.59 y stigmasterol 1.41.

Los valores de T_r para distintos esteroides, expresados en centímetros señalaron variaciones en los distintos días de trabajo, sin duda debido a pequeñas variaciones de la presión de entrada de nitrógeno. Por ello, inmediatamente después de la puesta en marcha del equipo se corrió siempre una mezcla de los patrones señalados.

En todos los casos se registraron los siguientes picos: colesterol, campesterol, sitosterol, Δ^5 -avenasterol (?) y un pico con valor de T_r/T_r colesterol^{0,80} (no identificado). La mención de Δ^5 -avenasterol surge del valor de T_r relativo a colesterol que concuerda con el mencionado en literatura^{92, 93}.

Por evaluación de áreas se determinaron las composiciones en esteroides individuales de los esteroides totales de los aceites examinados, con los resultados que figuran en la Tabla 13. A modo de ejemplo se reproduce el cromatograma correspondiente a los esteroides totales del aceite de semilla de guindo (Figura 18).

3. HARINAS DE EXTRACCION DE SEMILLA DE ESPECIES DE PRUNUS.

3.1 Análisis de composición general.

Las harinas resultantes de la extracción de aceites, se liberaron de solvente (45%, vacío) y sometieron a un análisis de composición general. Se analizaron harinas procedentes de siete variedades de semilla de duraznero (variedades Tuscán, Fortuna, Palora Cling, Sullivan Cling, Real Jorge, Montevideo y Cuaresmillo), una harina formada por partes iguales en peso de las harinas de semilla de duraznero de las variedades Palora Cling, Sullivan Cling, Real Jorge, Montevideo, de damasco (dos partidas sometidas a proceso de cocción -cosechas 1975 y 1976- y dos sin proceso alguno correspondientes a las mis-

mas cosechas), de cerezo (variedades Bing y Napolitana), de guindo (procedente de San Martín de los Andes, con proceso de cocción), de ciruelo (una variedad de la provincia de Buenos Aires y otra de la de Mendoza, ésta última con cocción), de P. laurocerasus L y de P. mahaleb L (semilla entera).

Se efectuaron las siguientes determinaciones:

- Humedad: (A.O.A.C. Official Method 13,3; 1950), operando sobre 2g. de muestra (vacío, 100° hasta constancia de peso).
- Cenizas (A.O.A.C. Official Method 13.6; 1950), operando sobre 1g de muestra por calcinación en cápsula de Pt a 500 - 550° hasta obtención de cenizas blancas y peso constante.
- Nitrógeno total (Macrométodo Kjeldahl, A.O.A.C. Official Method 2.24; 1950).
- Fibra Cruda (A.O.A.C. Official Method 21.038; 1965).
- Lisina Disponible⁹⁴
- Índice de Solubilidad de Nitrógeno (de acuerdo a la técnica descripta más adelante).
- Glicósidos cianogénicos expresados como ácido cianhídrico (de acuerdo a la técnica descripta más adelante).

3.2 Índice de Solubilidad de Nitrógeno

Técnica de determinación

Todos los valores de Índice de Solubilidad de Nitrógeno (ISN) se lograron por aplicación de la técnica del A.O.A.C.⁹ luego de haber ajustado a 7,00 el valor de pH (usando para ello soluciones de ClH o HONa 0,5N). 5g de harina o aislado

proteico, según correspondiera, previamente tamizado a través de una malla 149 ASTM (equivalente a 100 mallas) se pesaron en un vaso de 400 ml. Se midieron 200 ml de agua destilada (a 30°), de los cuales 150 ml se agregaron en pequeñas porciones dispersando el material con una varilla de vidrio (utilizando la última porción para lavar a esta última). Se llevó al pH 7,00 y agitó 120 minutos a 120 rpm a 30° con un agitador de vidrio cuyo diámetro de paleta fue de 50 mm. El pH se controló hasta estabilización utilizando los 50 ml restantes para enjuagar el electrodo en cada determinación. Al cabo de las dos horas se transfirió a un matraz aforado de 250 ml, llevando a volumen con agua destilada, se agregaron 1-2 gotas de antiespumante (alcohol octílico), enrasó y homogenizó. Se esperó unas minutos y decantó 40 ml en tubo de centrifuga de 50 ml, centrifugó 10 minutos a 1500 rpm y decantó el sobrenadante a través de un embudo con lana de vidrio para evitar el pasaje de sólidos. El filtrado se recogió en un vaso y se tomaron alícuotas por triplicado para determinar N (Kjeldahl). Con los valores obtenidos y teniendo en cuenta el N total del material de partida se calcularon los valores de ISN (Nitrogeno dispersado % N total).

3.3 Glicósidos cianogénicos determinados como ácido cianhídrico

Los compuestos cianogénicos se determinaron por evaluación del ácido cianhídrico producido a partir de ellos, según el método propuesto por Winker⁵⁸.

En un balón Kjeldahl de 800 ml (con una tubuladura lateral por la cual se pasó vapor de agua) se introdujeron 20g de harina o aislado proteico, junto con 200 ml de agua. Un cabezal de destilación adecuado permitió conducir el ácido cianhídrico producido a un refrigerante (para condensar el vapor de agua destilado), recogiéndose luego en un Erlenmeyer conteniendo 10 ml de solución de NaOH 5% (retención del HCN).

Se dejó la mezcla harina-agua durante la noche y al día siguiente se agregaron rápidamente 100 ml de solución de ácido sulfúrico 30% (v/v). Se sumergió el balón en un baño de agua hirviente y se pasó una corriente de vapor de agua durante 12-15 minutos. Luego de ese tiempo se suspendió la corriente de vapor, pero se siguió manteniendo el balón Kjeldahl en el baño de agua hirviente por 4 horas. A las 2 y 4 horas se volvió a pasar corriente de vapor de agua durante 15 minutos por vez, para arrastrar el ácido cianhídrico que se hubiese liberado. A las 4 horas, se desconectó el refrigerante, se lavó con agua, juntando los líquidos de lavado con el destilado; se transvasó este último a un matraz aforado de 250 ml, llevando a volumen y se tomaron alícuotas de 100 ml para la posterior valoración.

Se tituló con solución de AgNO_3 0,02N valorada (en bureta de 25 ml), usando como indicador p-dimetilaminobenzalrodanina (0,02% en acetona), hasta que el color amarillo inicial virara a rojo salmón⁹⁵. Se corrió también un blanco con-

teniendo la misma cantidad de álcali (10 ml HONa 10%) y agua, de manera tal de efectuar la posterior corrección (0,05 ml).

3.4 Análisis cuantitativo de hidratos de carbono.

3.4.1. Azúcares reductores.

10 gramos de harina se pesaron en un Erlenmeyer, neutralizado por agregado de 1g de CaCO_3 , se agregaron 125 ml de etanol 50% (v/v) y se mantuvo en baño de agua (1 hora, 83-87°) empleando un refrigerante como condensador. Una vez frío se estacionó por una noche, diluyó a 250 ml con etanol 95% neutro, centrifugó 15 minutos a 1500 rpm, lavó por dos veces el residuo con 25 - 30ml de etanol neutro por vez, reuniendo los líquidos de lavado al sobrenadante original. El líquido se concentró en Rotavapor (45°, vacío parcial) hasta un volumen de 20 - 40ml (eliminación de etanol) y se transfirió a un tubo de centrifuga en donde se procedió a la defecación por agregado de solución de acetato neutro de Pb, agitó, estacionó por 15 minutos, observando la formación de un precipitado flo-culento. El exceso de plomo se eliminó por agregado de solución saturada de oxalato de potasio seguida de centrifugación (20 - 25 minutos a 2500 rpm). Finalmente se llevó a volumen en matraz aforado (250 ml) (A.O.A.C. Official Method 22.043, 1965). Los azúcares reductores se determinaron gravimétrica-mente por el método de Munson y Walker (A.O.A.C. Official Method 29.038; 1965).

3.4.2 Azúcares invertibles

A una alícuota de 50 ml de la solución obtenida para la determinación de azúcares reductores, se agregaron 5 ml de HCl $\delta=1,10$ y calentó en baño de agua a 60° durante 30 minutos. Se neutralizó la solución con NaOH 10% (tornasol) y se llevó a volumen en matraz aforado. Sobre una alícuota de esta solución se determinaron los azúcares invertibles (expresados como sacarosa) por el método de Munson y Walker antes mencionado (A.O.A.C. Official Method 29,026; 1965).

3.4.3 Hidratos de carbono sacarificables⁹⁶.

Se partió de 1,5g de harina que se suspendieron en 100 ml de agua agregando 10 ml de HCl $\delta=1,125$. Se hirvió durante dos horas, a reflujo y una vez fría, la solución se neutralizó con NaOH 10% (tornasol) y centrifugó llevando el sobrenadante a un volumen final de 200 ml. Los hidratos de carbono sacarificables se determinaron por el método anteriormente citado.

3.4.4 Identificación de los hidratos de carbono.

Se operó sobre las soluciones preparadas para las determinaciones de azúcares reductores y de azúcares invertibles y directamente sobre el residuo remanente de la extracción etanólica de azúcares se realizó la sacarificación (HCl $\delta=1,125$) para obtener la solución de los hidrolizados de los hidratos

de carbono sacarificables. En todos los casos se procedió a la purificación de las soluciones para su posterior análisis cromatográfico.

Una vez obtenidas las soluciones problema se las concentró en Rotavapor (45^o, vacío parcial) hasta unos 20 ml. Cada solución se pasó por columnas de intercambio iónico (para eliminar interferencias debidas a las sales presentes). Las resinas utilizadas fueron: Bio-Rad AG3-X4A (aniónica, basicidad media) y Zeo Karb 225 (catiónica, acidez fuerte), previamente activadas. Se sembró la columna con la totalidad de la muestra problema (aproximadamente 20 ml) y eluyó con agua destilada, recogién dose los primeros 500 ml (goteo lento); las columnas se lavaron con 2 - 3 litros de agua destilada para eliminar los azúcares remanentes. Los primeros 500 ml recogidos se evaporaron en Rotavapor (40^o, vacío parcial) con pequeños agregados de alcohol para ayudar la evaporación hasta sequedad. El residuo se tomó con etanol para la siembra cromatográfica.

3.4.5 Identificación cromatográfica de los hidratos de carbono.

Se prepararon placas de 20 x 20 cm con aplicador Desaga (250 μ de espesor), según la técnica de Lewis y Smith⁹⁷.

Se sembraron 2-3 gotas de patrones (10 mg/ml) cada 2 cm. con capilar de vidrio y en las muestras la siembra varió entre 5-15 gotas según la concentración de azúcares presentes.

Para la identificación de glucosa, galactosa, xilosa y arabinosa se prepararon placas del espesor indicado con 20g de Kieselghur G con 40 ml de buffer fosfato pH 5,0 (para 5 placas), dejándolas secar al aire durante una noche. El solvente de desarrollo utilizado fue: n-butanol-acetona-buffer fosfato pH 5,0 (40-50-10) y se reveló con ácido ftálico-anilina⁹⁸, obteniendo un color rojo ciruela para las pentosas y marrón para las hexosas.

Para la identificación de sacarosa, las muestras se sembraron en placas de Silicagel G (30g de Silicagel G en 60 ml de solución de acetato de sodio 0,02M para 5 placas). Estas placas se activaron por 30 minutos a 110° antes de su uso. El solvente de desarrollo fue acetona-cloroformo-agua-metanol (75-10-5-10) y el revelador anilina-difenilamina-PO₃H₃^{99,100,101}.

La fructosa se identificó en cromatografía en papel descendente, usando la misma concentración de siembra que en placa, tanto para el patrón como para las distintas muestras. Se corrió durante 20 horas en forma descendente, con una mezcla de butanol-etanol-agua (10-4-4)¹⁰² y una vez seco el papel se reveló con resorcina-butanol-HCl 0,25N (reactivo de grupos ceto), dando la fructosa una mancha rosada.

Los resultados de este análisis cualitativo fueron considerados en la Discusión.

4 AISLAMIENTO DE PROTEINAS A PARTIR DE HARINAS DE SEMILLAS DE ESPECIES DE PRUNUS.

4.1 Equipos y reactivos.

En los ajustes de pH se usaron soluciones de NaOH o de HCl 5N y las respectivas soluciones diluidas (0,5N). Se controlaron los valores de pH con electrodo de vidrio (pHmeter E 3963-Methrom).

Durante la extracción del material nitrogenado, la temperatura de la solución se mantuvo a 30° (circulador de agua con termostato) y la precipitación de las proteínas se efectuó a temperatura ambiente.

En las etapas de extracción y precipitación se utilizó un agitador mecánico de vidrio, y en las separaciones por centrifugación se operó con una centrífuga Universal Junior IIS, a 2800 rpm.

En la etapa de purificación de las proteínas precipitadas, se usó en todos los casos, agua destilada previamente ajustada al valor de pH de precipitación correspondiente. En los lavados subsiguientes se utilizó etanol 95% (destilado).

4.2 Técnica de dispersión de la proteína. Elección de pH óptimo.

En balón de tres bocas, provisto de agitador mecánico, se colocaron 5g de muestra y suspendieron en 100 ml de agua destilada (relación sólido:líquido 1:20). Se agitó en forma permanente durante 1 hora, manteniendo constantes la

temperatura de 30° y el valor del pH de dispersión a ensayar (7,5; 8,5; 9,5; 10,5; 11,5), con solución de NaOH 5N, ajustando con solución diluida de NaOH 0,5N. El conjunto se transvasó a matraz aforado (250ml) decantándolo a través de tela metálica (acero inoxidable, 200 mallas/cm). El residuo se lavó por agitación con 25 ml de agua destilada previamente ajustada al pH de dispersión y centrifugó durante 20 minutos (2800 rpm). El líquido sobrenadante se agregó al separado en la primera extracción.

Se operó una segunda dispersión similar a la primera con relación sólido:agua 1:10, en iguales condiciones, reuniendo el líquido separado después de centrifugación con los anteriores. Se llevó finalmente a volumen y midieron alícuotas (por triplicado) para determinar nitrógeno dispersado a los diferentes valores de pH ensayados. Los valores promedio obtenidos de Nitrógeno dispersado % Nitrógeno total se utilizaron para el trazado de las curvas de la Figura 19.

4.3 Elección del pH de máxima precipitación (isoelectrico).

En balón de tres bocas provisto de agitador mecánico, se colocaron 60g de muestra que se suspendieron en 1200 ml de agua destilada previamente ajustada al valor de pH 10,5 (elegido de acuerdo con la experiencia anterior), correspondiendo a una relación sólido:agua de 1:20. Manteniendo la temperatura a 30° y el pH señalado, se agitó en forma permanente durante 1 hora para su máxima dispersión.

El conjunto se centrifugó (30 minutos, 2800rpm) y el líquido sobrenadante se transvasó a matraz aforado, decantando a través de tela metálica (malla 200 de acero inoxidable). El residuo se lavó por agitación con 300 ml de agua destilada previamente ajustada a pH 10,5 (relación sólido:agua 1:5), centrifugó nuevamente (20 minutos, 2800rpm) y el líquido decantado se reunió al anterior después de pasarlo por malla 200. El residuo se transfirió nuevamente al balón donde se procedió a una nueva dispersión del material nitrogenado a pH 10,5 (relación sólido:agua 1:10, 30*), con agitación permanente durante 1 hora.

El líquido decantado después de centrifugar se reunió con los anteriores y finalmente se llevó a volumen de 3000 ml (se utilizaron dos matraces de 2000 y 1000 ml respectivamente que se mezclaron íntimamente antes de medir alícuotas). Se fraccionó en alícuotas de igual volumen (200 ml cada una) colocadas en sendos vasos de precipitación y se midieron separadamente (por triplicado) volúmenes convenientes para determinar nitrógeno dispersado total. Se operó la precipitación de las proteínas a distintos valores de pH, cubriendo el ámbito de 3,00 a 5,75, con agitación que continuó hasta unos 2 minutos después de alcanzado el valor de pH deseado y a temperatura ambiente. Para regular el pH se usó solución de HCl 5N, ajustando finalmente con solución diluida de HCl 0,5N.

Los precipitados obtenidos se separaron por centrifugación (30 minutos, 2800 rpm), lavando en todos los casos

con el mismo volumen mínimo de agua previamente llevada al valor de pH correspondiente (50 ml) y los sobrenadantes respectivos se decantaron en matraces aforados (500ml). Se llevó a volumen y midieron alícuotas para determinar nitrógeno en el sobrenadante, para cada valor de pH.

Los datos obtenidos, consignados en la Figura 20, muestran el porcentaje de material nitrogenado soluble (sobrenadante) en función de los valores de pH, registrándose cifras mínimas en la zona de máxima precipitación (isoelectrico).

4.4 Obtención en escala macro de laboratorio

Se procedió de acuerdo con condiciones operativas establecidas en un trabajo previo sobre aislamiento de proteínas de harina de extracción, en el cual se fijaron los valores de pH óptimos de dispersión y de máxima precipitación de dichas proteínas.

a) Dispersión del material nitrogenado.

En balón de tres bocas provisto con agitador, se dispersaron por separado partidas de 200 g de harina por agitación permanente durante 1 hora, a temperatura ambiente en 4000 ml de agua destilada (relación harina: agua 1:20), manteniendo el valor de pH de óptima dispersión (10,5) por añadido de solución de NaOH 5N. Por centrifugación se separó el líquido sobrenadante del residuo que contiene toda la fibra.

Este último se trató por agitación con 1000 ml de agua destilada ajustada previamente al pH de dispersión (10,5) (relación 1:5) y centrifugó nuevamente para separar el líquido sobrenadante que se reunió con el anterior. El residuo se sometió a una nueva extracción con 2000 ml de agua destilada (relación harina:agua 1:10) manteniendo por otra hora el valor de pH de dispersión (10,5), en las condiciones antes mencionadas. Al término de ese lapso se centrifugó y el sobrenadante se unió a los anteriores. En todos los casos los líquidos decantados se pasaron por tela metálica (acero inoxidable, 200 mallas/cm).

b) Precipitación

Se llevó a cabo por añadido de solución de HCl 5N y ajuste al valor de pH de máxima precipitación con HCl diluido (0,5N), a los líquidos de extracción, a temperatura ambiente y con agitación permanente hasta lograr un pH estable (4,50 en durazno y damasco; 4,75 en ciruela). El precipitado se separó por centrifugación, después de lo cual se lavó con 1200 ml de agua ajustada previamente al valor de pH isoeléctrico (resuspensión del precipitado por fuerte agitación) (relación harina:agua 1:6), centrifugando luego del lavado. Los líquidos decantados se desecharon.

c) Purificación

Los coágulos anteriores se lavaron por agitación enérgica y por tres veces consecutivas, a temperatura ambiente

con 1200 ml de etanol 96% (las dos primeras veces) y 600 ml (la tercera), lavando finalmente con aproximadamente 300 ml de éter etílico. Se centrifugó después de cada lavado. Las proteínas así purificadas presentaron color blanco-cremoso, siendo su consistencia compacta.

d) Secado

Los precipitados se dejaron aproximadamente 12 horas en desecador y luego se extendieron en capa delgada, secándolos a temperatura de 45° (vacío; 0,5 Torr). Se obtuvieron en forma de polvo fino, levemente coloreado y liviano.

En el caso del aislado proteico de la harina de semilla de ciruelo (Mendoza), la extracción se efectuó a partir de 70 g de harina, adecuando proporcionalmente los volúmenes de agua y solventes usados.

4.5 Examen analítico de los aislados proteicos.

Se efectuaron las siguientes determinaciones:

- Pérdida de peso (100°, vacío)
- Cenizas (550°)
- N total (Kjeldahl)
- P total^{87, 103}
- P de ácido fólico¹⁰⁴
- Lisina disponible⁹⁴
- Hidratos de carbono^{105, 106}

- Indice de Solubilidad de Nitrógeno

4.6 Determinación del contenido y características de los lípidos residuales en el aislado purificado y seco.

5,00 g de proteína seca (0,40g en el caso del aislado proteico proveniente de semillas de ciruelo) se reflujaaron durante 1 hora con 50 ml de solución al 6% de KOH en etanol. Se enfrió, acidificó con ácido sulfúrico (1:1, heliantina, placa de toque) y centrifugó a 2800 rpm durante 20 minutos. El residuo se lavó por centrifugación por dos veces con 15 ml de etanol por vez. Los líquidos alcohólicos reunidos se diluyeron con 60 ml de agua y extrajeron por tres veces con 60 ml de hexano por vez previamente pasado por el insoluble inicial. Los extractos en hexano reunidos se trataron en ampolla con agua y la fase hexano se llevó a seco (Rotavapor, 40°, vacío parcial). El residuo se disolvió en 30 ml de una mezcla etanol-agua (2-1, v/v), se alcalinizó (KOH, fenolftaleína) y extrajo el material insaponificable con éter etílico, recuperando los ácidos grasos libres de insaponificable. Se obtuvieron los siguientes datos:

<u>Aislado proteico</u>	<u>masa aislado(g)</u>	<u>ac.grasos+ insaponific(g)</u>	<u>Insaponif. (g)</u>
Ciruela	0,40	0,0073	-
Damasco crudo	5,00	0,0519	0,0156
Damasco cocido	5,00	0,0496	0,0177
Durazno	5,00	0,0313	0,0164

Los porcentajes correspondientes se encuentran en la Tabla 20.

Los ácidos grasos obtenidos se esterificaron con 10 ml de metanol anhidro conteniendo 1,5% de ácido sulfúrico concentrado como catalizador y los ésteres metílicos se examinaron por CGL (ver Figura 21).

4.7 Estudio de los lípidos extraídos por etanol en el proceso de purificación del aislado.

Los líquidos etanólicos procedentes de la purificación de los aislados proteicos obtenidos se concentraron a un volumen de 100 ml (Rotavapor, 60°, vacío parcial), transfiriendo el concentrado a una ampolla de decantación donde se extrajo exhaustivamente con éter etílico. Los extractos etéreos reunidos se trataron en ampolla con solución acuosa de Na_2SO_4 a media saturación y la capa etérea, tratada con Na_2SO_4 anhidro, se filtró, destilando el éter en baño de agua hirviendo y secando el residuo en estufa de vacío (100°, 0,5 Torr). Se obtuvieron los siguientes valores:

<u>Aislado proteico</u>	<u>Harina de partida (g)</u>	<u>proteína purificada obtenida (g)</u>	<u>lípidos obtenidos (g)</u>	<u>lípidos / proteína purificada seca</u>
Damasco crudo	400	94,95	3,4720	3,66
Damasco cocido	400	55,93	3,8415	6,87
Ciruela	70	7,44	0,5100	6,85
Durazno	200	54,51	0,4735	0,88

Sobre el material lipídico obtenido de esa manera se determinaron los valores de Acidez libre; Índice de Saponificación, Índice de Yodo, contenido en material insaponificable; ácidos grasos totales y a composición acídica (CGL), con los resultados que figuran en la Tabla 22.

La Figura 22 muestra el cromatograma correspondiente a los lípidos extraídos por etanol, de la semilla de ciruelo.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1 COMPOSICION AMINOCACIDICA DE HARINAS DE
EXTRACCION DE SEMILLA DE "PRUNUS"²⁰

	<u>DAMASCO(a)</u>	<u>DAMASCO(b)</u>	<u>ALMENDRA(c)</u>
Nitrógeno (%)	5,68	8,32	9,18
Proteína (%) (Nx6,25)	35,50	51,97	57,29
Alanina (g/16gN)	4,88	5,62	4,05
Arginina "	9,01	10,48	10,41
Ac. Aspártico "	12,73	11,58	9,93
Cistina "	1,20	1,80	1,93
Fenilalanina "	5,12	5,92	4,56
Glicocola "	5,16	5,91	5,37
Ac. glutámico "	21,87	22,36	26,22
Histidina "	1,66	2,91	2,91
Isoleucina "	3,76	4,81	3,60
Leucina "	6,76	8,52	6,69
Lisina "	3,57	3,88	2,85
Metionina "	0,89	1,11	0,71
Prolina "	4,27	5,33	6,12
Serina "	4,51	4,96	3,99
Tirosina "	3,10	3,80	2,64
Treonina "	3,24	3,48	2,52
Valina "	4,65	5,27	3,54
Cómputo químico	27,80	34,70	22,20
Aminoácido limit.	met.	met.	met.

(a): Harina de semilla de damasco, desgrasada, sin tratamiento alguno; cosecha 1969.

(b): Harina de semilla de damasco, desgrasada, con tratamiento de eliminación de glicósidos cianogénicos, cosecha 1969

(c): Harina de almendra común, variedad Malagueña.

Tabla 2 CARACTERÍSTICAS DE ACETOS DE SEMILLA DE ESPECIES DE "PRUNUS"

Indice de Acidez mg %OH/g	Indice de Saponif.	Indice de Yodo Wjjs	Indice de M. Meissl	Indice de Polenske	Insaponif.	Indice de Refraccion +09	Peso Especifico 25°/25°	
MENDINA	0,1-3,0	188-197 185-198 ²¹	93-105 113,9 ²²	0-0,4 0,5-2,0 ²¹	0,2-0,8 1 ²¹	0,4-1,0	1,4630-1,4655 1,4617-1,4636 ²³ 1,462 -1,466 21	0,910-0,916
MASCO	0,2-4,0	188-200 185-199 ²¹	97-109 80-94 ²⁵	0-0,6 0,2-2,0 ²¹	0,1-0,5 1 ²¹	0,4-1,4 0,7-1,2 ²¹	1,462 -1,465 1,4706-1,4720 ²⁵ 1,4601 ²⁶ 1,4638-1,4739 ¹¹ 1,4710 ²⁸	0,912-0,916 0,928 ²⁸ 0,910-0,916 ²¹
RAZNO	0,4-3,0 4,46 ³³	189-194 200,4 ³³	95-110 89,2 ³³	1,4 ³³ 1,0 ²¹	0,3-0,5 8,6 ³³	0,7 2,2 ³³	1,462 -1,465 1,4690(25°) ³⁴ 1,4702(25°) ¹³	0,913-0,918 0,9116 ³⁴ (25°/4°)
RUELA	0,5-3,0	188-195 182 ³⁸	100-110 98,6 ³⁸	0,3	0,3	0,4-0,9	1,462-1,465	0,913-0,918
INDO	0,8-5,0	190-198	110-118 103,3 ¹⁴ 123-128 ³⁹	0,3	0,2	0,4-0,7 0,8-1,2 ³⁹	1,466-1,471 1,4692-1,4721 ³⁹	0,916-0,925

Referencias adicionales (Salvo indicación contraria, estos datos fueron tomados de la ref.1)

Mendra: 24 Darasco: 27, 29, 30,31,32 Durazno: 3⁴, 35, 36, 28 Ciruela: 12, 37 Guinda: 39

Tabla 3 COMPOSICIONES ACIDICAS DE ACEITES DE SEMILLA
DE ESPECIES DE "PRUNUS" (% de ácidos totales)

	<u>14:0</u>	<u>16:0</u>	<u>18:0</u>	<u>20:0</u>	<u>16:1</u>	<u>18:1</u>	<u>18:2</u>	<u>18:3</u>	<u>Ref.</u>
<u>DAMASCO</u>	1,3	4,1	2,1	-	-	69,3	23,2	-	27
	-	6,2	0,4	1,7	-	60,3	31,4	-	11
	-	5,2	1,2	-	0,8	58,7	33,4	0,7	42
	-	9,2	1,3	-	1,8	69,1	18,6	-	31
	-	2,6	1,2	-	-	64,4	31,8	-	3
	2,7	4,5	1,1	0,5	-	69,2	22,0	-	3
	-	5,1	1,2	-	0,8	69,3	23,6	-	32
<u>DURAZNO</u>	2	6,1- 12,3	1,0- 3,2	-	0,2- 0,9	44,6- 80,5	11,6- 41,2	-	13
	6,5	6,2	5,6	2,5	-	72,9	6,3	-	33 (a)
	1,2	3,1- 5,4	1,1	-	0,4	77,0- 78,7	14,5- 20,0	-	43
<u>ALMENDRA</u>	traz.	6,0- 8,1	0,4- 1,4	-	0,4- 1,9	67,6- 80,0	11,9- 24,4	-	23
	-	8,9	4,0	-	-	62,6	24,5	-	3
	-	9,8	2,1	-	-	43,8	44,3	-	3
	-	6,3	1,5	-	0,4	70,4	21,4	-	32
<u>GUINDA</u>	traz	7,8	2,4	0,7	0,4	43,4	44,8	0,5	39
	0,2	4,3	2,9	0,8	-	49,5	42,3	-	3
<u>LAUREL</u> <u>CEREZO</u>	1,8	9,9	1,7	-	-	73,4	13,2	-	24
<u>CIRUELA</u>	←	7	→	-	-	69,0	24,0	-	3

(a) P. persica Batsch (India)

Tabla 4 GLICOSIDOS CIANOGENICOS 52

<u>GLICOSIDO</u>	<u>DISTRIBUCION</u>	<u>PRODUCTOS DE HIDROLISIS</u>
AMIGDALINA	Miembros de la familia <u>Rosaceae</u> (almendra, manzana, damasco, cereza, durazno, pera, ciruela)	Gentobiosa + HCN + Benzaldehído
PRUNACINA	Miembros de la familia <u>Rosaceae</u> (laurel cerezo, <u>Eucalyptus cladocalyx</u> , <u>Linaria striata</u> Dc)	Glucosa + HCN + Benzaldehído
SAMBUNIGRINA	<u>Sambucus nigra</u> L, <u>Acacia</u> sp (acacias australianas)	Glucosa + HCN + Benzaldehído
VICIANINA	<u>Vicia</u> sp (arveja)	Vicianosa + HCN + Benzaldehído
DURRINA	<u>Sorghum</u> sp (sorgo)	Glucosa + HCN + p-hidroxibenzaldehído
TAXIFILINA	<u>Taxus</u> sp	Glucosa + HCN + p-hidroxibenzaldehído
LINAMARINA	<u>Phaseolus lunatus</u> L (poroto de manateca), <u>Linum usitatissimum</u> L (lino) <u>Manihot</u> sp (mandioca), <u>Trifolium repens</u> L (trébol blanco), <u>Lotus</u> sp (trébol), <u>Dimorphotheca</u> sp.	Glucosa + HCN + acetona
LOTOAUSTEALINA	Se presenta junto con linamarina	Glucosa + HCN + 2-butanona
ACACIPTALINA	<u>Acacia</u> sp.	Glucosa + dietilcetena cianhidrina
TRIGLOCHININA	<u>Triglochin maritimum</u> L	Glucosa + HCN + ácido triglochinico.

Tabla 5 CONTENIDO DE CIANOLIPIDOS EN ACEITES SEMINALES 52

SANTALACEAE	Aceite % semilla	C20 % aceite	I % aceite	II % aceite	III % aceite	IV % aceite
<u>Allophylus edulis</u> St. Hil.	59,7	44	30	traz.	-	-
<u>Cardiospermum halicacabum</u> L	18,6	47	49	6	-	-
<u>Litchi chinensis</u> Sonner	1,3	0,4	-	-	-	-
<u>Nephelium lappaceum</u> L	34,2	39	-	21	-	-
<u>Paullinia meliæfolia</u> Juss.	54,8	72	53	-	-	-
<u>Sapindus mukorossi</u> Gaertn.	35,4	21	-	13	-	-
<u>Urvillea unilobe</u> Radlk	46,5	50	19	4	-	-
<u>Koelreuteria paniculata</u> Lam	41,9	46	-	25	17	-
<u>Stocksia prahuica</u> Benth	19,4	42	-	traz.	35	-
<u>Unnedia speciosa</u> Endl	63,2	48	-	traz.	traz.	29

BOEAGINACEAE

Cordia verbenacea DC.

38,4

43

35

-

-

-

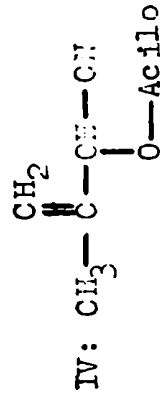
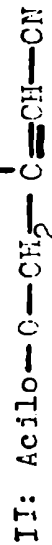
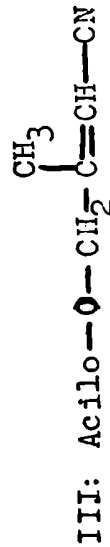
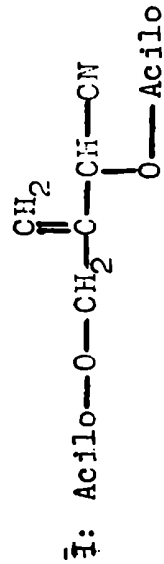


Tabla 6 PRODUCCION DE FRUTOS DE ESPECIES DE PRUNUS EN EL PAIS (Ton.)

	<u>1971/1972</u>	<u>1972/1973</u>	<u>1973/1974</u>	<u>1974/1975</u>	<u>1975/1976</u>
DURAZNO	265.000	90.400	265.300	251.900	287.900
DAMASCO	18.200	7.400	18.100	19.000	21.600
CIRUELA	72.400	29.000	86.500	74.000	92.200
CEPEZA + GUINDA	2.730	990	2.660	3.030	2.070
<u>TOTALES</u>	<u>358.330</u>	<u>127.790</u>	<u>372.560</u>	<u>347.930</u>	<u>403.770</u>

Tabla 7 PRODUCCION Y ELABORACION DE FRUTOS DE ESPECIES DE PRUNUS

EN EL PAIS - COSECHA 1975/1976 (Ton.)

	<u>Frutos Cosechados</u>	<u>Frutos Elaborados</u>	<u>Carozo y Fruta</u>	<u>Ton. Carozos</u>
CIRUELA	92.200	1.350	5,5	74
DAMASCO	21.600	21.000	6,0	1.260
DURAZNO	287.900	100.000	7,0	7.000

Referencias: Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería de la Nación e Informaciones de la
Industria.

Tabla 8 CARACTERISTICAS DE CAROZOS, SEMILLAS Y VALORES DE RENDIMIENTO EN ACEITES CRUDOS (HEXANO) DE SEMILLA DE DIVERSAS ESPECIES DE "PRUNUS" CULTIVADOS EN EL PAIS.

	<u>Peso medio carozo</u>	<u>Relación leño-pepa</u>	<u>Peso medio pepa</u>	<u>Humedad %pepa</u>	<u>Aceite %pepa seca</u>
<u>DURAZNO</u>					
Fortuna (1975)	3,48	93,87- 6,13	0,22	7,52	38,55
Tuscán (1975)	5,50	95,60- 4,40	0,24	7,20	41,12
Sullivan Cling (1976)	5,79	92,40- 7,60	0,45	6,33	48,82
Palora Cling (1976)	5,00	92,90- 7,10	0,36	4,78	48,84
Montevideo (1976)	5,89	92,58- 7,42	0,43	6,82	48,35
Real Jorge (1976)	5,42	93,12- 6,88	0,39	5,97	48,36
Cuaresmillo (1974) (4)	1,58	82,90-17,10	0,25	9,84	55,60
<u>DAMASCO</u>					
Crudo (1975)	2,33	71,43-28,57	0,66	5,03	49,20
Cocido (1975)	2,67	74,34-26,66	0,71	5,98	50,21
Crudo (1976)	1,69	68,60-31,40	0,53	5,15	50,71
Cocido (1976)	1,68	76,30-32,70	0,55	5,08	52,24
<u>CEREZA</u>					
Bing (1975)	0,28	78,30-21,70	0,06	8,82	34,95
Napolitana (1975)	0,24	72,90-27,10	0,06	8,76	39,73
<u>GUINDA</u> (1977)	0,27	77,80-22,20	0,06	8,06	40,02
<u>CIRUELA</u>					
Pcia.Bs.As.(1976)	0,58	80,12-19,82	0,12	6,98	41,64
Mendoza(1)(1976)	0,91	90,20- 9,80	0,10	6,74	35,71
<u>P.laurocerasus</u> L(2)	0,30	68,00-32,00	0,17	8,81	41,04
<u>P.mahaleb</u> L (3)(1977)	0,08	50,00-50,00	0,04	11,40	20,36

(1); 50% de carozos vanos

(2): Relación carozo-pulpa 14,64-85,36. Peso medio fruto 1,75. 1976

(3): Aceite extraído sobre carozo entero

(4): Obtenido por extracción de semilla de fruto entero conservado en almbibar.

Tabla 9 ACEITES CRUDOS (HEXANO) DE SEMILLA DE VARIAS ESPECIES DE "PRUNUS" DE PRODUCCION NACIONAL, CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS.

	<u>Indice de Yodo</u> (b)	<u>Indice de Sapon.</u>	<u>Indice de Acidez</u> (c)	<u>Insapon.</u>	<u>Indice de Refracc.</u> (a)	<u>Densidad relativa 25º/4º</u>
<u>DURAZNO</u>						
Fortuna	112,3	190,5	0,78	2,97	1,4704	
Tuscan	99,2	189,2	0,74	2,47	1,4694	
Sullivan Cling	96,4	189,7	1,06	2,41	1,4683	0,9078
Palora Cling	96,6	189,7	0,70	2,48	1,4683	0,9061
Montevideo	94,6	187,5	0,75	2,71	1,4676	0,9043
Real Jorge	94,6	188,0	1,05	2,87	1,4676	0,9035
Cuaresmillo	97,6	189,3	1,02	2,25	1,4685	
<u>DAMASCO</u>						
Crudo (1975)	105,6	192,4	0,66	2,12	1,4697	
Cocido(1975)	107,2	190,2	0,78	2,30	1,4701	
Crudo (1976)	103,5	192,6	0,64	1,16	1,4693	0,9125
Cocido(1976)	102,9	190,0	0,62	1,53	1,4690	0,9108
<u>CEREZA</u>						
Bing	128,8	189,9	1,62	3,50	1,4800	
Napolitana	125,8	190,2	1,60	4,28	1,4781	
<u>GUINDA</u>	128,8	191,7	1,35	2,31	1,4790	
<u>CIRUELA</u>						
Pcia. Bs.As.	101,3	191,4	1,34	1,53	1,4691	
Mendoza	101,0	189,7	0,75	2,45	1,4690	0,9051
<u>P.mahaleb L</u>	148,2	193,1	1,21	2,56	1,4952	
<u>P.laurocerasusL</u>	86,9	190,8	1,06	1,95	1,4680	

(a): Corresponde a 25º.

(b); Wijs

(c): Tanto el Indice de Saponificación como el Indice de Acidez están expresados en mg KOH/g aceite.

Tabla 10 ACEITES CRUDOS (HEXANO) DE SEMILLA DE VARIAS ESPECIES
DE "PRUNUS" DE PRODUCCION NACIONAL-
CONTENIDOS EN COMPONENTES MENORES

	<u>Tocoferoles</u> <u>mg % g</u>	<u>Esteroles</u> <u>mg % g</u>	<u>Indice de</u> <u>Todo</u> <u>Insaponif</u>
<u>DURAZNO</u>			
Tuscán		570,5	96,0
Fortuna	20,3		100,5
Palora Cling	9,4	338,7	100,2
Sullivan Cling	5,6	398,9	95,6
Real Jorge	10,2	292,2	95,8
Montevideo	6,7	412,0	94,3
Cuaresmillo			91,4
<u>DAMASCO</u>			
Crudo (1975)			100,6
Cocido (1975)			97,4
Crudo (1976)	20,3	420,2	98,9
Cocido (1976)	34,7	426,3	95,8
<u>CEREZA</u>			
Bing			71,0
Napolitana	8,1		80,8
<u>GUINDA</u>	41,4	518,6	118,4
<u>CIRUELA</u>			
Pcia. Bs.As.			88,5
Mendoza	8,8	456,5	97,0
<u>P.mahaleb L</u>	27,2	445,3	125,6
<u>P.laurocerasusL</u>	5,1	304,9	98,2

Tabla 11 ACEITES CRUDOS (HEXANO) DE SEMILLA DE VARIAS ESPECIES
DE "PRUNUS" DE PRODUCCION NACIONAL.
COMPOSICIONES ACIDICAS CGL (% de Acidos Totales)

	<u>16:0</u>	<u>16:1</u>	<u>18:0</u>	<u>18:1</u>	<u>18:2</u>	<u>20:0</u>	<u>20:1</u>	<u>α-eleostéarico</u>
<u>DURAZNO</u>								
Tuscán	7,8	0,3	1,3	64,3	26,3	-	-	-
Fortuna	8,6	0,4	1,1	53,2	36,7	-	-	-
Real Jorge	5,6	0,9	0,9	74,1	18,5	-	-	-
Palora Cling	4,8	0,8	1,1	72,3	21,0	-	-	-
Sullivan Cling	6,6	0,6	1,1	73,3	18,4	-	-	-
Montevideo	6,2	0,6	1,0	70,8	21,4	-	-	-
Cuaresmillo	4,8	0,6	0,8	73,9	19,9	-	-	-
<u>CIRUELA</u>								
Peña Bs. As. (a)	6,3	0,5	1,8	64,1	27,3	-	-	-
Mendoza (b)	6,6	0,6	0,8	67,8	24,2	-	-	-
<u>DAMASCO</u>								
Cocido (1975)	5,7	0,6	0,8	60,7	32,2	-	-	-
Crudo (1975)	5,4	0,7	0,6	62,9	30,4	-	-	-
Cocido (1976)	4,8	0,6	0,6	66,5	27,5	-	-	-
Crudo (1976)	5,3	0,4	0,6	66,6	27,1	-	-	-
<u>P. laurocerasus</u> (c)	10,6	2,6	1,1	69,2	16,5	-	-	-
<u>P. mahaleb</u> (d)	2,9	0,6	0,7	22,5	30,6	-	-	42,7
<u>GUINDO</u>	5,6	0,4	0,7	33,0	46,6	-	-	13,7
<u>CEREZA</u>								
Bing (e)	9,1	0,5	1,5	35,6	43,0	0,4	0,2	9,7
Napolitana	8,7	0,6	1,5	42,4	37,4	1,4	0,6	7,4

a: Insaturación triénica conjugada preexistente (como α -eleostéarico 0,01%)

b: Insaturación triénica conjugada preexistente (como α -eleostéarico 0,05%)

c: 14:0 (vest)

d: 14:0 (vest); 17:0 (vest); 17:1 (vest)

e: 12:0 (vest); 13:0 (vest); 14:0 (vest); 17:0 (vest); 17:1 (vest).

Tabla 12 ACEITES CRUDOS (HEXANO) DE SEMILLA DE CIRUELO, DURAZNERO
Y DAMASCO DE PRODUCCION NACIONAL.

COMPOSICIONES ACIDICAS EXHAUSTIVAS (% de Acidos Totales)

	<u>Ciruela</u> ^a	<u>Durazno</u> ^b	<u>Damasco</u> ^c
<u>12:0</u>	vest.	vest.	vest.
<u>14:0</u>	vest.	vest.	vest.
<u>15:0</u>	vest.	vest.	vest.
<u>16:0</u>	6,2	6,3	5,2
<u>18:0</u>	0,8	1,0	0,6
<u>20:0</u>	0,1	vest.	0,1
<u>21:0</u>	-	vest.	vest.
<u>22:0</u>	vest.	-	vest.
<u>23:0</u>	vest.	-	vest.
<u>24:0</u>	vest.	-	vest.
<u>15:1</u>	vest.	vest.	-
<u>16:1</u>	0,9	0,5	0,6
<u>17:1</u>	vest.	vest.	0,1
<u>18:1</u>	64,4	72,6	64,5
<u>20:1</u>	0,1	vest.	0,1
<u>18:2</u>	27,5	19,6	28,8

a: Ciruela procedente de la provincia de Mendoza, 1976.

Vestigios de r-14:0; 13:0; 14:1 ó 15:0; 17:0 y un pico no identificado revelado en el residuo de destilación (entre los co-correspondientes a 23:0 y 24:0)

b: Durazno variedad Sullivan Cling, 1976. Vestigios de 13:0; r-14:0 (?); 17:0

c: Damasco cocido, 1976. Vestigios de r-14:0(?); r-15:0; 15:1 ó r-16:0; r-21:0; r-23:0 y r-24:0.

Tabla 13 ACEITES CRUDOS (HEXANO) DE SEMILLA DE VARIAS ESPECIES
DE "PRUNUS" DE PRODUCCION NACIONAL.
COMPOSICION EN ESTEROLES (% de esteroides totales).

	<u>Tr/Tr</u> <u>colest.</u> <u>0,80</u>	<u>Coles-</u> <u>terol</u>	<u>Campes-</u> <u>terol</u>	<u>Sitos-</u> <u>terol</u>	<u>Δ^5-Avenas-</u> <u>terol(?)</u>
<u>DURAZNO</u>					
Palora Cling	1,5	rastros	3,3	91,7	3,5
Tuscán	1,2	-	2,5	94,1	2,2
Sullivan Cling	2,4	-	3,8	91,3	2,5
Real Jorge	1,8	rastros	2,6	92,4	3,2
Montevideo	2,0	0,2	3,3	91,7	2,8
<u>CIRUELA</u>					
Mendoza	2,2	rastros	4,9	90,5	2,4
<u>DAMASCO</u>					
Cocido (1976)	3,4	rastros	3,5	91,0	2,1
Crudo (1976)	3,3	rastros	3,7	88,4	4,6
<u>P.mahaleb</u> L	2,6	rastros	3,6	90,8	2,9
<u>P.laurocerisus</u> L	1,8	0,6	3,6	87,5	6,5
<u>GUINDO</u>	1,7	0,3	3,0	90,1	4,9

**Tabla 14 HARINAS DE EXTRACCION. (HEXANO) DE SEMILLA DE ESPECIES
DE "PRUNUS" DE PRODUCCION NACIONAL.
COMPOSICION GENERAL.**

	<u>Hume- dad %</u>	<u>Ceni- zas s. b. s</u>	<u>Prot. bruta s. b. s.</u>	<u>Fibra cruda s. b. s.</u>	<u>HCN mg/g</u>	<u>ISN</u>	<u>Lisina/ /16gN</u>
<u>DURAZNO</u>							
Tuscán	12,11	6,70	46,44	12,75	-	-	-
Fortuna	13,26	6,90	43,66	12,09	-	-	-
Palora Cling	7,42	5,64	48,12	8,51	223,6	87,66	2,45
Sullivan Cling	8,33	5,65	50,56	8,17	187,4	82,20	2,25
Real Jorge	9,78	6,05	45,56	9,09	262,5	86,33	2,51
Montevideo	9,90	5,23	53,87	8,11	220,6	85,05	2,33
Cuaresmillo	8,16	5,19	54,69	-	-	-	1,55
Mezcla ^a	9,29	5,58	50,94	8,49	247,7	83,03	2,20
<u>DAMASCO</u>							
Crudo (1975)	6,27	5,16	51,62	7,44	-	-	-
Cocido(1975)	7,84	5,42	51,00	7,38	-	-	-
Crudo (1976)	7,74	5,09	47,76	7,66	304,5	82,20	3,10
Cocido(1976)	7,11	5,17	48,75	7,78	322,9	27,20	2,79
<u>CEREZA</u>							
Bing	8,48	5,85	50,94	11,18	-	-	3,87
Napolitana	9,38	5,50	50,14	10,73	-	-	3,50
<u>GUINDA</u>	8,21	4,53	49,62	13,64	-	-	3,77
<u>CIRUELA</u>							
Pcia. Bs. As.	2,58	7,57	38,10	-	-	77,67	3,03
Mendoza	5,93	6,39	44,25	11,34	196,9	36,16	2,96
<u>P. laurocerasus</u>	12,29	9,38	38,31	5,22	79,5	-	2,37
<u>P. mahaleb^b</u>	9,35	2,83	32,54	48,23	7,9	-	3,36

a: Mezcla por partes iguales en peso de las harinas de los duraznos de las variedades: Palora Cling, Sullivan Cling, Montevideo y Real Jorge.

b: Harina obtenida a partir de semilla entera.

Tabla 15 HARINAS DE EXTRACCION (HEXANO) DE SEMILLA DE ESPECIES
DE "PRUNUS" DE PRODUCCION NACIONAL.
COMPOSICION EN HIDRATOS DE CARBONO.

	<u>Damasco cocido (1976)</u>	<u>Damasco crudo (1976)</u>	<u>Durazno mezcla (1)</u>	<u>Ciruela Mendoza</u>
% <u>Az. Reductores</u> (en glucosa)	0,90	1,80	1,40	2,48
% <u>Az. Invertibles</u> (en sacarosa)	5,07	5,70	5,97	7,14
% <u>Hidratos de car- bono sacarificables</u> (en almidón)	10,34	11,50	14,37	12,35
<u>Total</u>	16,31	18,28	21,74	21,97

1: Mezcla formada por partes iguales de harinas de durazno de las variedades: Sullivan Cling, Palora Cling, Montevideo y Real Jorge.

Tabla 16 HARINAS DE EXTRACCION (HEXANO) DE SEMILLA DE ESPECIES
DE "PRUNUS" DE PRODUCCION NACIONAL
IDENTIFICACION DE LOS HIDRATOS DE CARBONO PRESENTES EN
LAS MISMAS.

DAMASCO (crudos y cocidos, 1976)

Muestra tal cual:	Glucosa - Fructosa - Sacarosa
Muestra invertida:	Glucosa - Fructosa
Hidratos de carbono: sacarificables	Glucosa - Fructosa - Arabinosa - Xilosa

(No existe diferencia cualitativa entre ambos damascos)

CIRUELA (procedencia Mendoza)

Muestra tal cual:	Glucosa - Fructosa - Sacarosa
Muestra invertida:	Glucosa - Fructosa
Hidratos de carbono: sacarificables	Glucosa - Fructosa - Arabinosa - Xilosa

DURAZNO (Mezcla por partes iguales de las harinas de durazno de las variedades Sullivan Cling, Palora Cling, Montevideo y Real Jorge).

Muestra tal cual:	Glucosa - Fructosa - Sacarosa
Muestra invertida:	Glucosa - Fructosa
Hidratos de carbono: sacarificables.	Glucosa - Fructosa - Arabinosa Xilosa.

Tabla 17 AISLADOS PROTEICOS DE HARINAS DE EXTRACCION DE SEMILLA
DE ESPECIES DE "PRUNUS".

VALORES DE DISPERSIBILIDAD DE NITROGENO EN FUNCION DEL
pH.

<u>pH de Extracción</u>	<u>Damasco crudo^a</u>	<u>Damasco cocido^a</u>	<u>Durazno mezcla^b</u>	<u>Cirucla^c</u>
7,5	83,2	31,2	87,2	36,5
8,5	89,4	34,8	88,0	37,1
9,5	91,2	35,5	92,3	40,8
10,5	92,9	45,5	92,4	42,0
11,5	97,6	65,0	-	-

a: Cosecha año 1976

b: Mezcla formada por partes iguales de las harinas de durazno de las variedades Sullivan Cling, Palora Cling, Real Jorge y Montevideo

c: Procedencia provincia de Mendoza.

Tabla 18 AISLADOS PROTEICOS DE HARINAS DE EXTRACCION DE SEMILLA
DE ESPECIES DE "PRUNUS".

ELECCION DEL VALOR DE pH DE MAXIMA PRECIPITACION

<u>pH de precipitación</u>	<u>N sobredante % de N dispersado</u>			
	<u>Damasco crudo^a</u> (pH extracción=10,5)	<u>Damasco cocido^a</u>	<u>Durazno mezcla^b</u> (pH extracción=10,5)	<u>Ciruella Mamioza</u>
3,00	60,3	50,0	-	-
3,50	45,4	29,6	77,7	75,6
4,00	12,3	25,0	66,7	62,2
4,25	-	-	26,8	42,9
4,50	11,9	23,9	15,7	35,8
4,75	13,3	25,3	16,2	32,7
5,00	30,1	41,5	28,1	34,1
5,25	62,8	80,9	-	-
5,50	-	-	-	84,7
5,75	-	-	-	92,8
<u>pH isoeléctrico</u>	4,50	4,50	4,50	4,75

a: Cosecha año 1976

b: Proteína extraída de una mezcla de harinas, por partes iguales, de las variedades de durazno: Sullivan Cling, Palora Cling, Real Jorge y Montevideo.

Tabla 19 AISLADOS PROTEICOS DE HARINAS DE EXTRACCION DE SEMILLA DE ESPECIES DE "PRUNUS"

VALORES ANALITICOS DE COMPOSICION

	<u>Pendim.</u> %	<u>Humedad</u> %	<u>Ceni-</u> <u>zas</u> % b.s.	<u>Nitro-</u> <u>geno</u> % b.s.	<u>Nitro-</u> <u>geno</u> % b.s. y libre cenizas	<u>Lisi-</u> <u>na</u> <u>disp.</u> g/10gN	<u>INS</u>	<u>Hidra-</u> <u>tos</u> <u>de C</u> %	<u>P</u> <u>total</u> %	<u>P</u> <u>fiti</u> <u>co</u> %	<u>Pfit</u> <u>% P</u> <u>total</u> g
Damasco crudo ^a	28,57	5,39	0,21	16,60	16,63	2,38	39,0	3,5	0,65	0,51	78,5
Damasco cocido ^a	11,86	5,97	0,30	16,80	16,85	2,25	65,1	3,9	0,77	0,61	79,2
Durazno tezcla ^b	27,26	5,64	0,23	17,54	17,58	1,54	60,4	1,1	0,33	0,30	90,0
Ciruela Mendoza	10,63	8,92	0,40	17,37	17,44	1,86	70,5	3,9	0,32	0,14	44,0

a: Cosecha año 1976

b: Mezcla formada por partes iguales de las harinas de durazno de las variedades Sullivan Cling, Paola Cling, Montevideo y Real Jorge.

Tabla 20 AISLADOS PROTEICOS DE HARINAS DE EMERLECCION DE SEMILLA DE TRITICO DE TRINIDAD
LIPIDOS ASOCIADOS - CARACTERISTICAS

	<u>Ac. Grasos + Inseaponif.</u> <u>% protefina</u>	<u>Inseaponif.</u> <u>% protefina</u>	<u>Inseaponif.</u> <u>% lípidos</u>	<u>Ac. Grasos</u> <u>% lípidos</u>
CITRUELA ^a	1,82	-	-	-
MAZARCO CRUDO ^b	1,04	0,31	29,81	70,19
MAZARCO COCIDO ^b	0,99	0,35	35,35	64,65
DUYARINO ^c	0,63	0,93	52,38	47,62

a: Ciruela procedente de la provincia de Mendoza (1976)

b: Cosecha año 1976

c: Protefina extraída de una mezcla por partes iguales en peso de las harinas de durazno de las variedades Sullivan Cling, Palora Cling, Montevideo y Real Jorge.

Tabla 21 AJILAROS MECANICOS DE MANIJAS DE EXTRACCION DE SEMILLA DE ESPECIES DE "RUMIS".
COMPOSICIONES QUIMICAS (% DE AGUAS TOTALES) DE LINDROS ASOCIADOS.

	<u>12:0</u>	<u>13:0</u>	<u>13:1+</u>	<u>14:0</u>	<u>15:0</u>	<u>15:1+</u>	<u>16:0</u>	<u>16:1</u>	<u>17:0</u>	<u>17:1</u>	<u>18:0</u>	<u>18:1</u>	<u>18:2</u>
DURAZNO (mezcla)	-	-	-	0,2	-	-	21,4	-	-	-	3,3	48,2	26,9
DAMASCO CRUDO (1976)	-	-	-	-	-	-	22,1	-	-	-	2,4	48,0	27,5
DAMASCO COCIDO (1976)	-	-	-	-	-	-	16,6	-	-	-	1,4	53,0	29,0
CIRUELA (Mendoza)	0,2	0,3	0,3	2,6	1,0	0,4	29,7	4,4	0,3	0,1	5,8	28,3	26,6

Durazno: rastros de 15:0, 17:0 y 17:1 (La protefna fue extraída de una harina formada por partes iguales en peso de las harinas de durazno de las variedades Sullivan Cling, Palora Cling, Montevideo y Real Jorge)

Damasco crudo: rastros de 14:0 y 17:0.

Damasco cocido: rastros de 14:0 y 17:0.

Ciruela: rastros de 14:1 + 15:0 y 17:0.

Tabla 22 AISLADOS PRÁCTICOS DE HARINAS DE ENTIBACIÓN DE SEMILLA DE ESPÉCIE DE TRINIDAD -
CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DE LOS LÍPIDOS EXTRAÍDOS POR ETANOL

	<u>Índice</u> <u>Saponif.</u> <u>mg KOH/g</u>	<u>Índice</u> <u>de Kodo</u> <u>Wijs</u>	<u>Índice</u> <u>Acidez</u> <u>mg KOH/g</u>	<u>Insaponif.</u> <u>%</u>	<u>Ácidos</u> <u>totales %</u>	<u>Lípidos %</u> <u>proteína sec.</u>
Damasco cocido ^a	225,4	49,7	22,10	3,15	73,41	6,87
Damasco crudo ^a	213,1	61,7	49,80	4,50	51,32	3,66
Durazno mezcla ^b	-	24,4	65,40	8,85	65,71	0,89
Ciruela ^c	-	81,3	13,60	5,17	54,58	6,85

a: Cosecha año 1976

b: La proteína fue extraída de una harina formada por partes iguales en peso de las harinas de durazno de las variedades Sulliven Cling, Palora Cling, Montevideo y Real Jorge.

c: procedente de la provincia de Mendoza.

Tabla 23 AISLADOS QUÍMICOS DE LAS HARINAS DE EXTRACCIÓN DE SEMILLA DE ERUPECIOS DE BRUNUS
COMPOSICIONES ACÍDICAS DE LOS LÍPIDOS EXTRAÍDOS POR ETANOL (%) DE ÁCIDOS TOTALES)

	<u>11:0</u>	<u>16:0</u>	<u>16:1</u>	<u>18:0</u>	<u>18:1</u>	<u>18:2</u>
DUFATNO ^a	0,8	17,0	2,1	3,2	54,1	22,8
DAMASCO COCINO ^{b,d}	-	12,2	2,5	1,6	46,4	37,3
DAMASCO CRUDO ^b	-	7,0	0,9	0,6	61,3	30,2
CITRUELA ^c	-	9,3	0,9	0,8	56,9	32,1

a: Vestigios de 12:0, 14:0 y 17:0. La proteína fue extraída de una harina formada por partes iguales en peso de las harinas de durazno de las variedades Sullivan Cling, Palora Cling, Montevideo y Real Jorge.

b: Cosecha año 1976

c: procedente de la provincia de Mendoza.

d: Vestigios de 11:0 (?), 12:0, 14:0 y 17:0

1

2

3

4

5

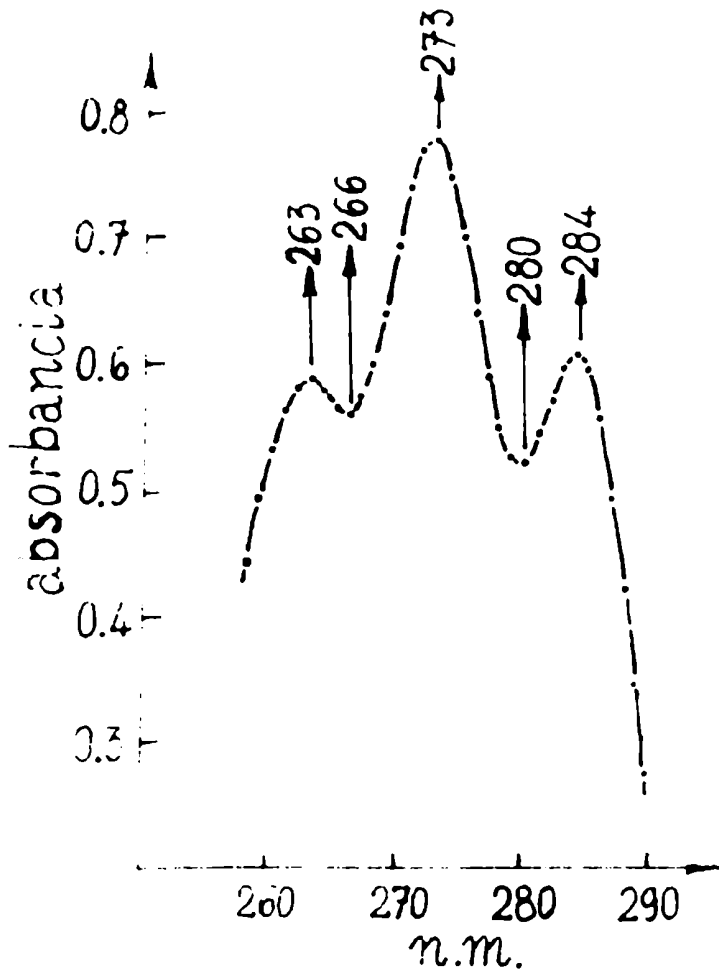


Figura 1: Aceite de semilla de P. mahaleb L.
Examen espectrofotométrico en UV.
(solución de 0,0131g de aceite/l.
de ciclohexano, cuba de 1 cm.).

Figura 2: Aceite de semilla de du raznero, variedad Palora Cling. Cro matografía gas- líquido de los és teres metílicos de los ácidos to- tales.

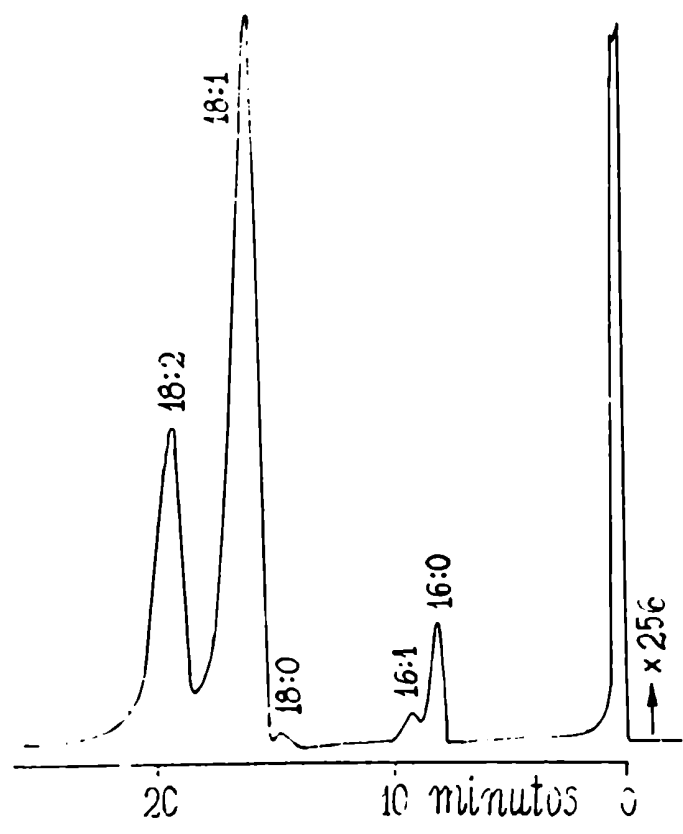
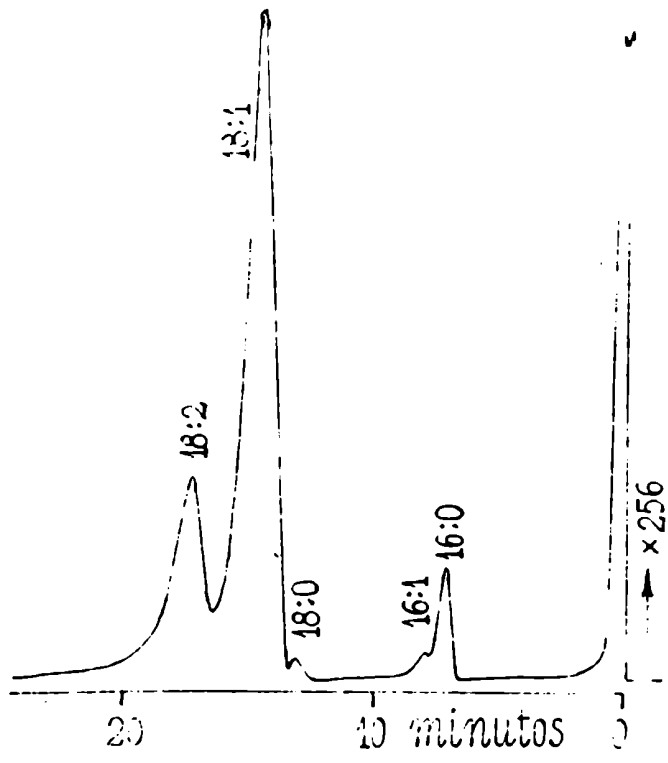


Figura 3: Aceite de semilla de da masco (cosecha 1974/1975, crudo) Cromatografía gas-líquido de los ésteres metí licos de los áci dos totales.



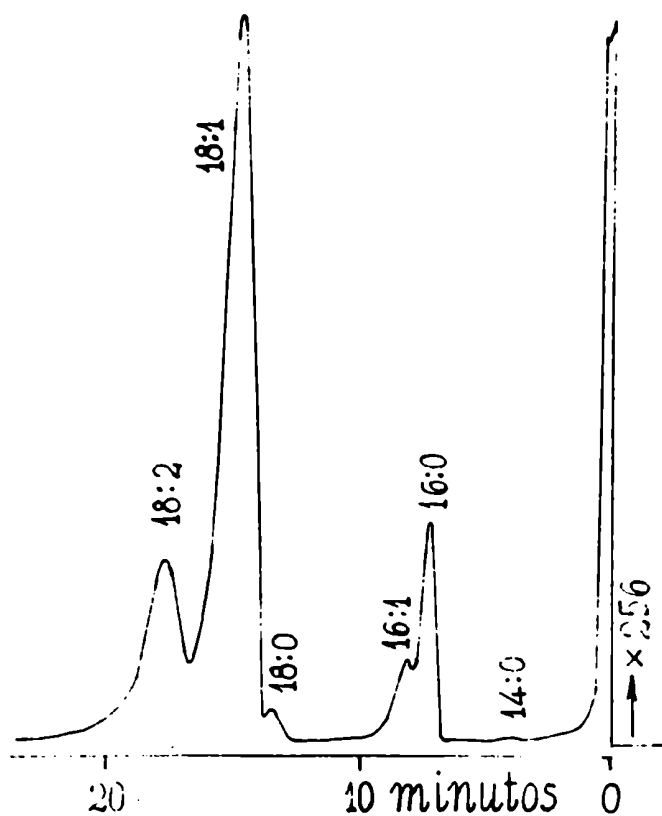
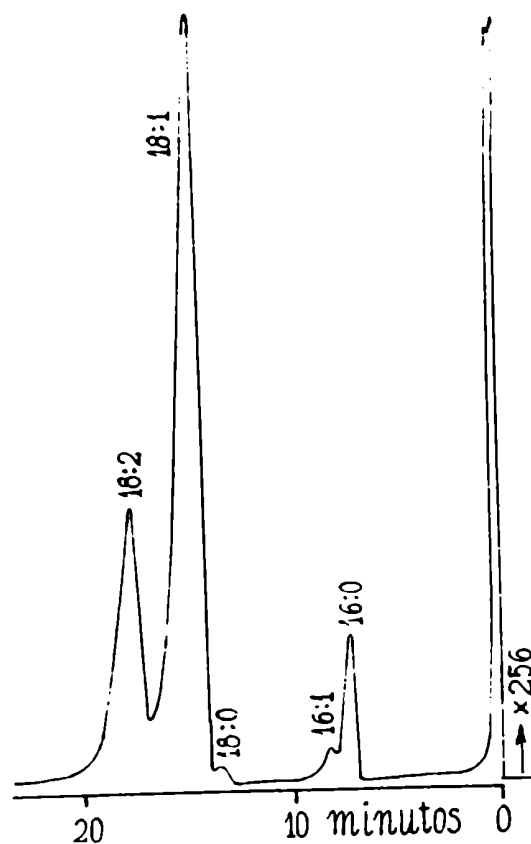


Figura 4: Aceite de semilla de ciruelo (Mendoza, cosecha 1975/1976). Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales.

Figura 5: Aceite de semilla de P. lauro-cerasus. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales.



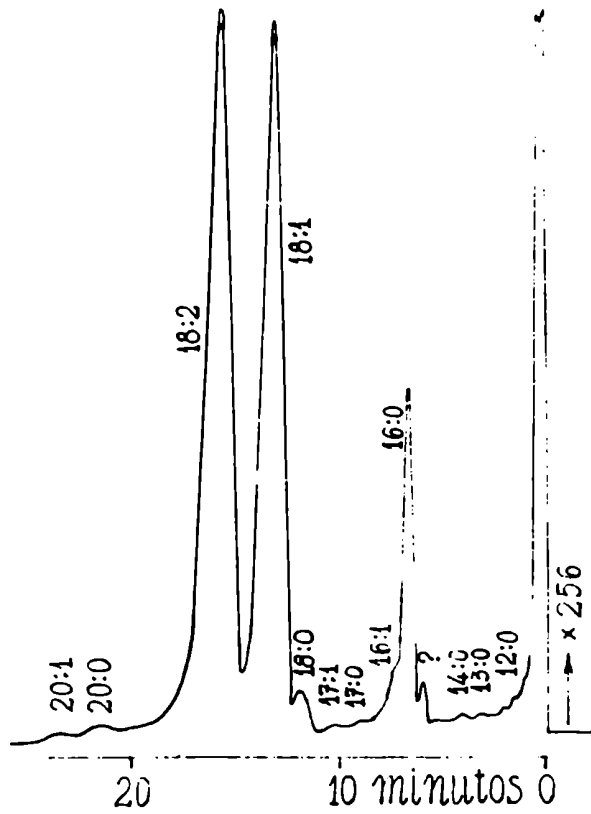
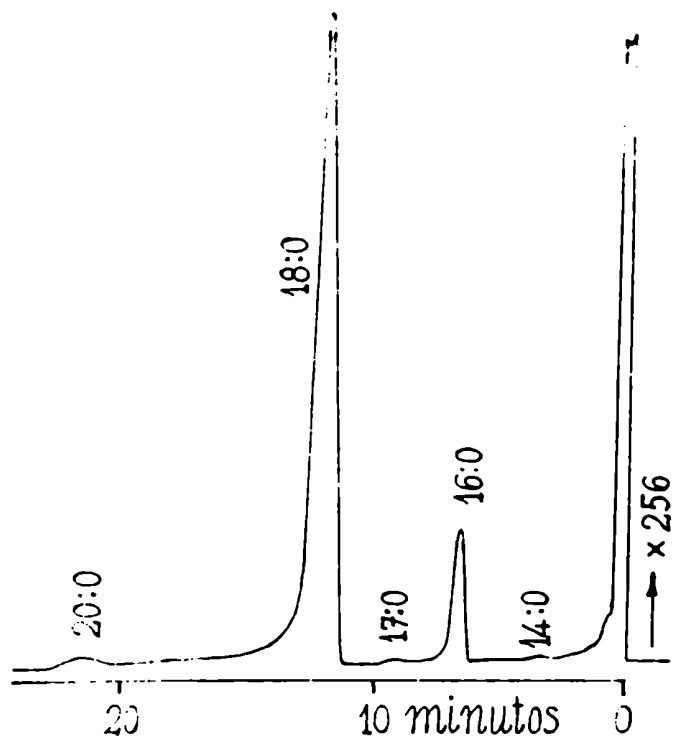


Figura 6: Aceite de semilla de cerezo, variedad Bing. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales (no incluye el pico de eleosteato de metilo).

Figura 7: Aceite de semilla de cerezo variedad Bing. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos hidrogenados de los ácidos totales.



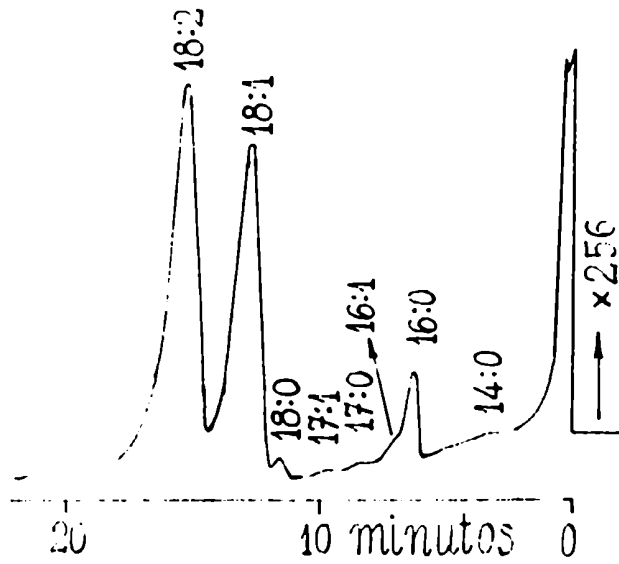
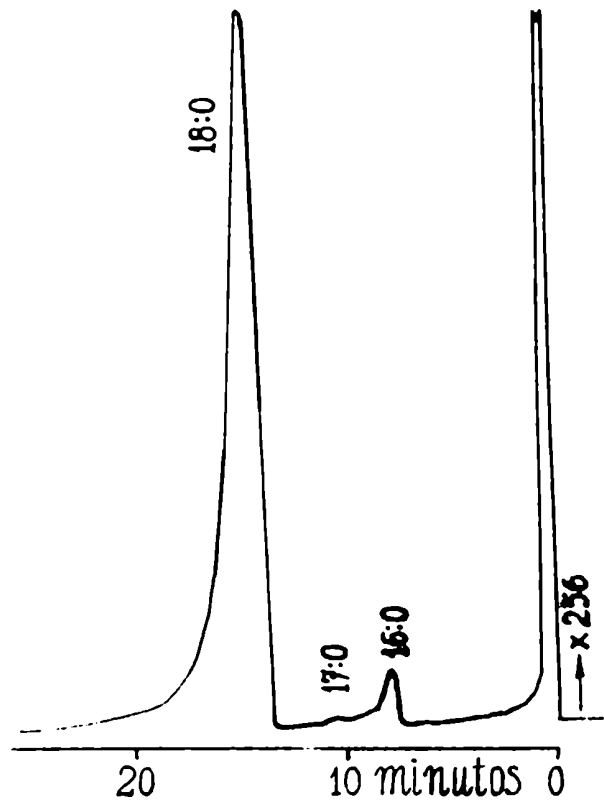


Figura 8: Aceite de semilla de *P. mahaleb* L. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales (no incluye el pico de eleostearato de metilo).

Figura 9: Aceite de semilla de *P. mahaleb* L. Cromatografía gas-líquido de los ésteres hidrogenados de los ácidos totales.



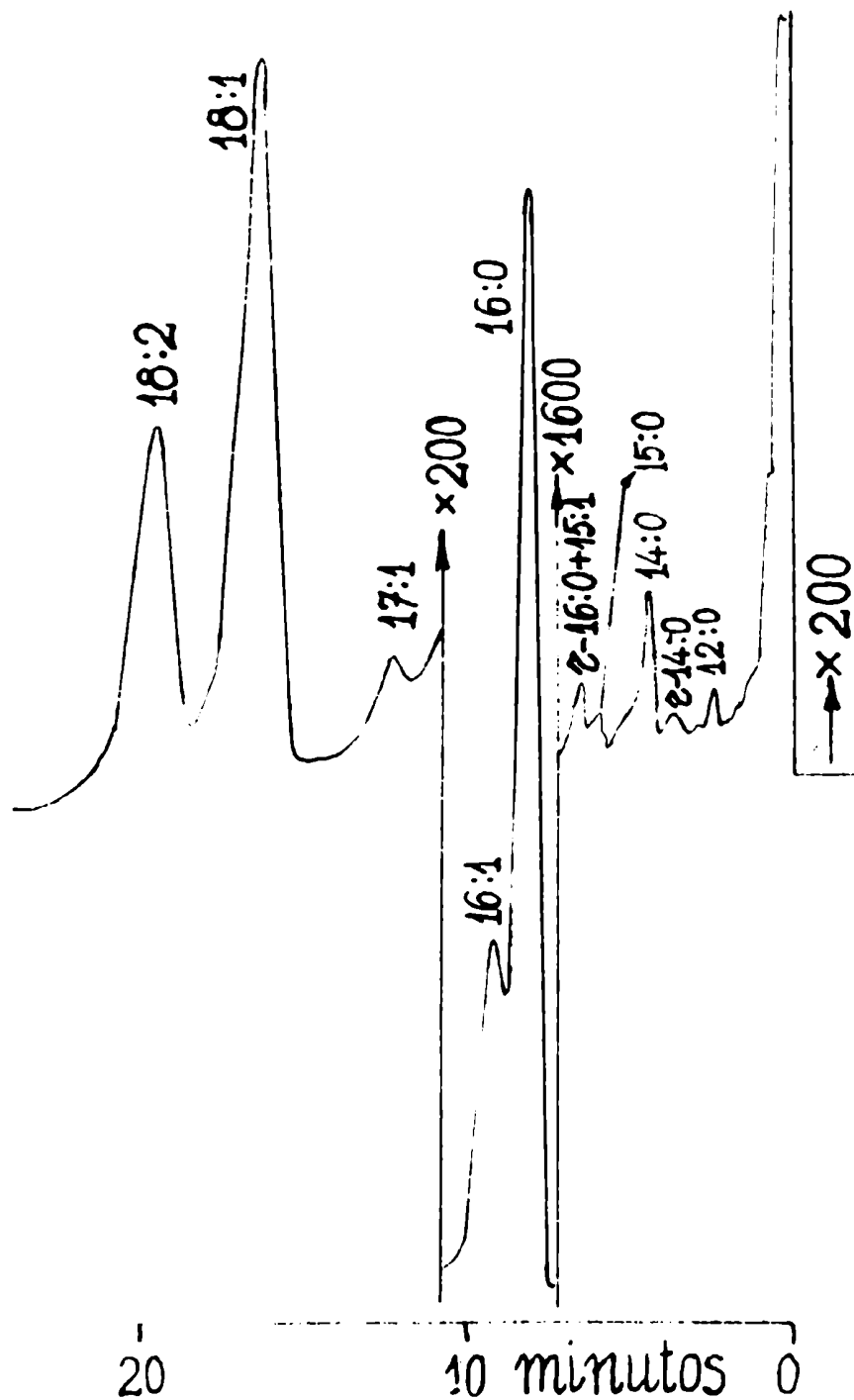


Figura 10: Examen exhaustivo de la composición ácida de aceite de semilla de damasco cocido. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de la fracción 1 de la destilación de los ésteres metílicos de los ácidos totales.

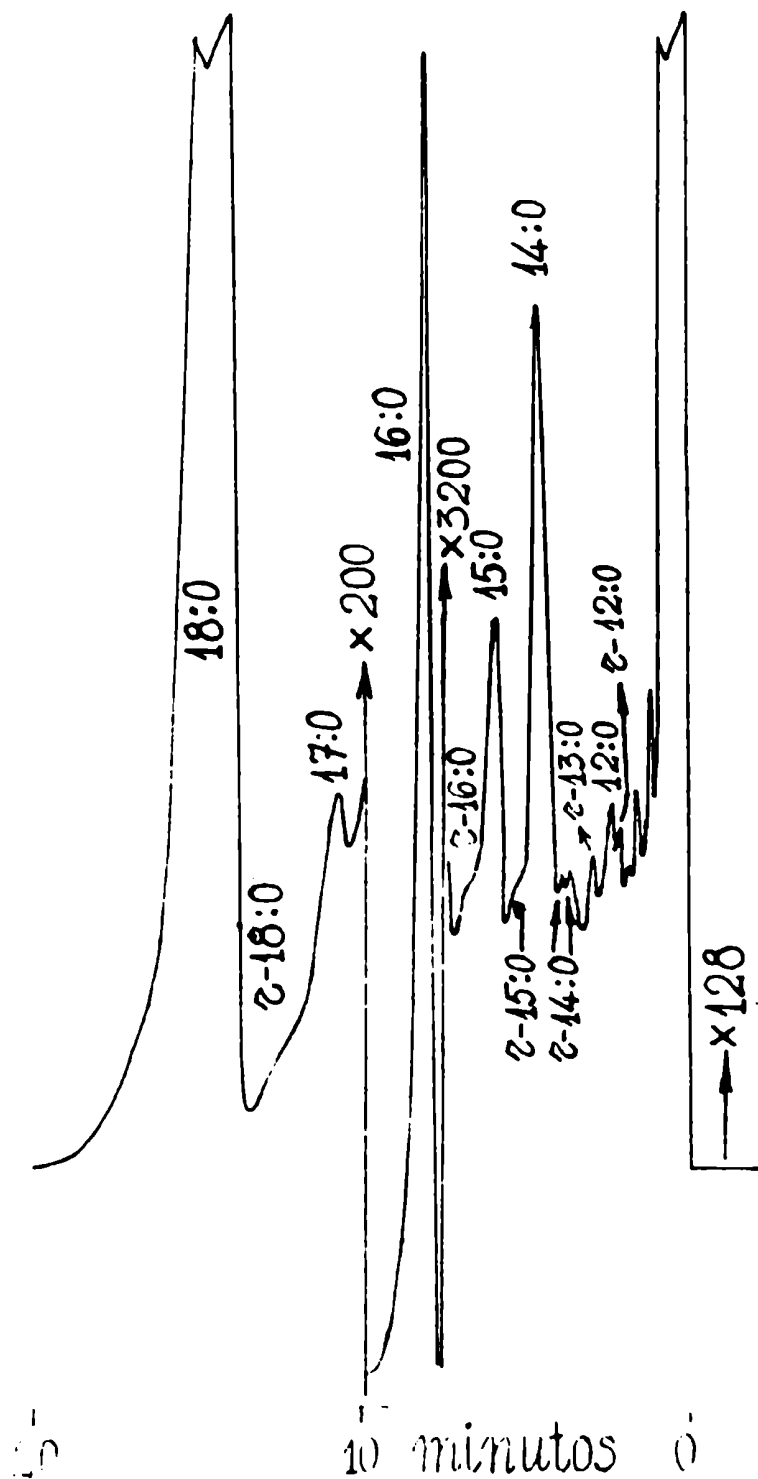


Figura 11: Examen exhaustivo de la composición ácida de semilla de damasco cocido. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos hidrogenados de la fracción 1 de la destilación de los ésteres metílicos de los ácidos totales.

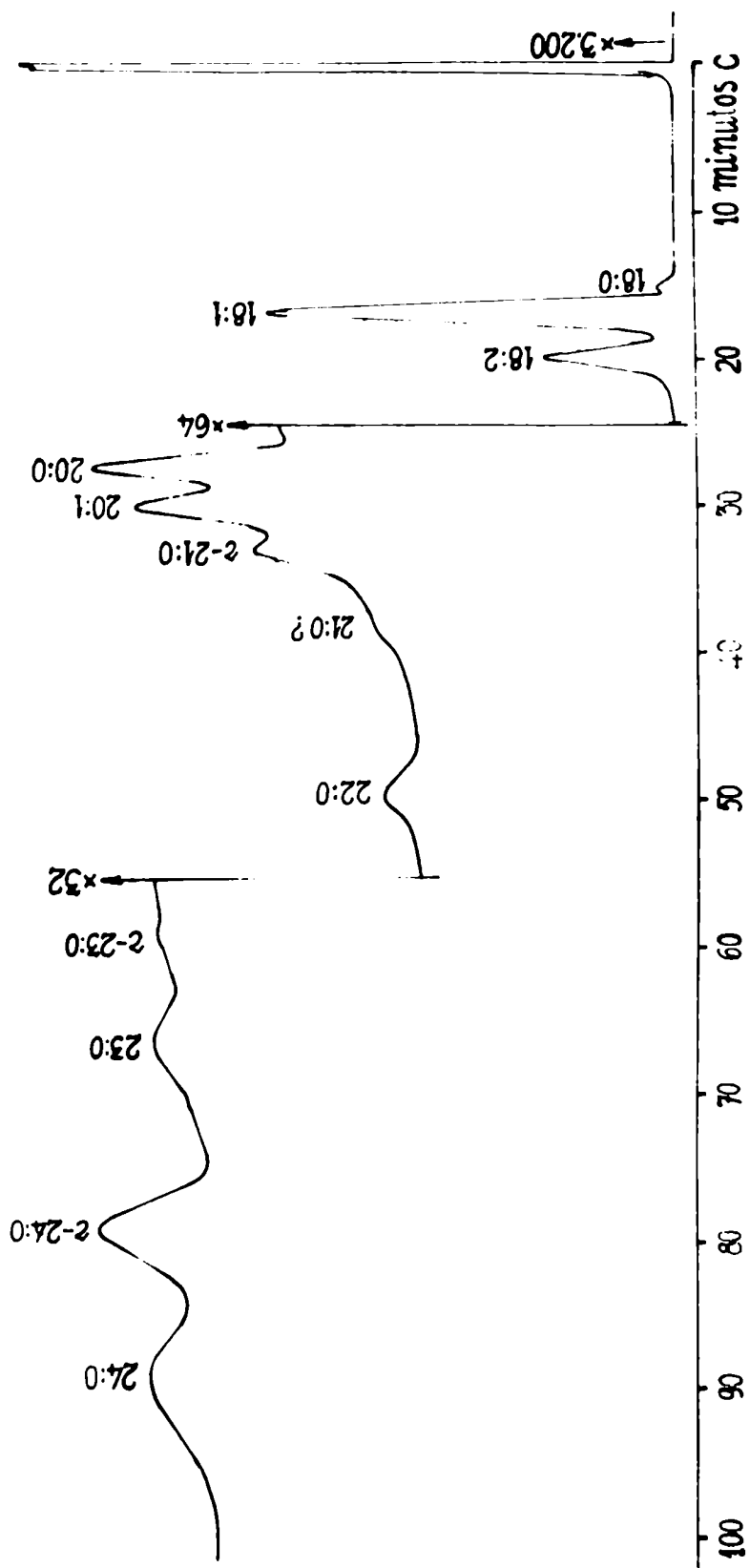


Figura 12: Examen exhaustivo de la composición acidica de aceite de semilla de damasco cocido. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos del residuo de destilación de los ésteres metílicos.

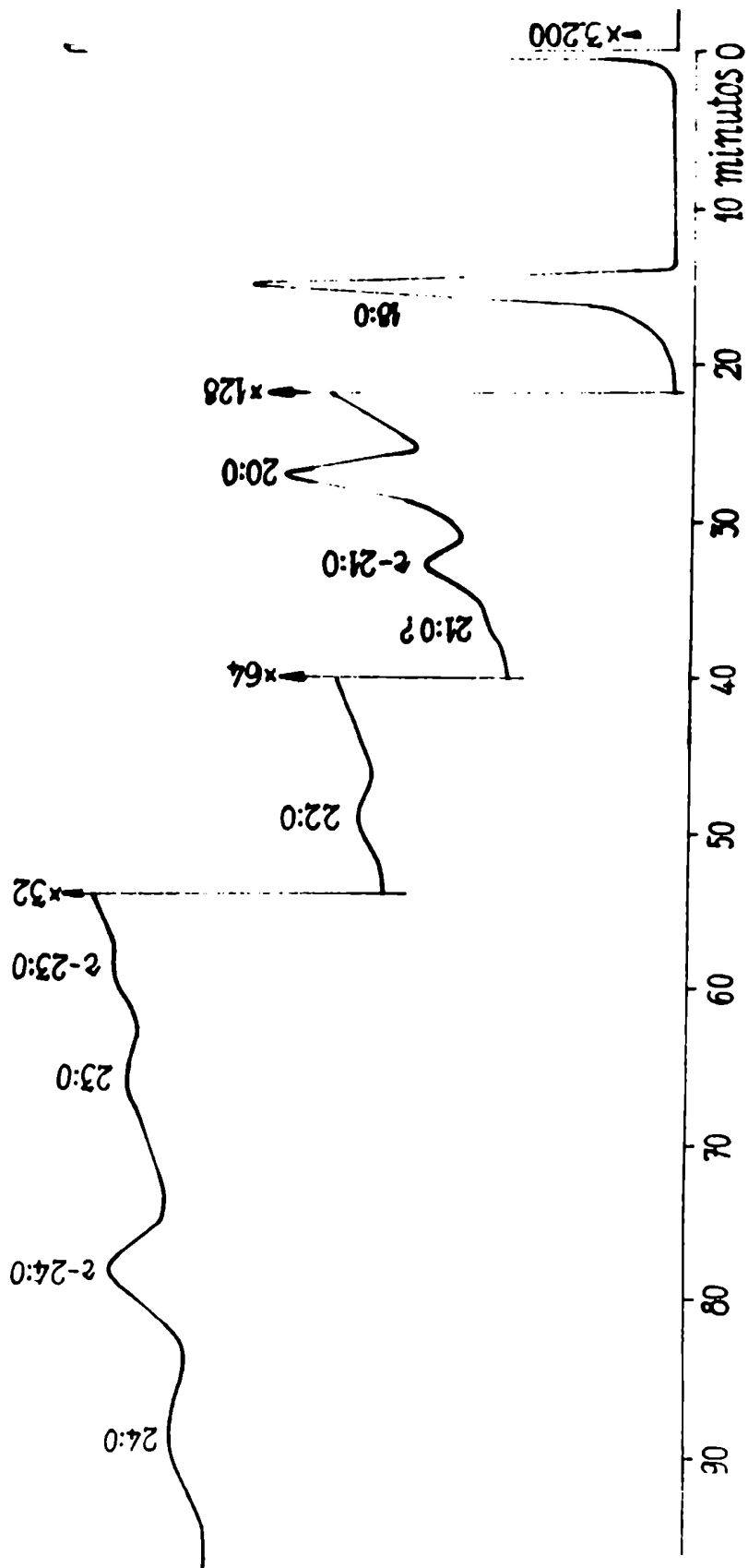


Figura 13: Examen exhaustivo de la composición ácida de aceite de semilla de damasco co-
cido. Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos hidrogenados del resi-
duo de destilación de los ésteres metílicos de los ácidos totales.

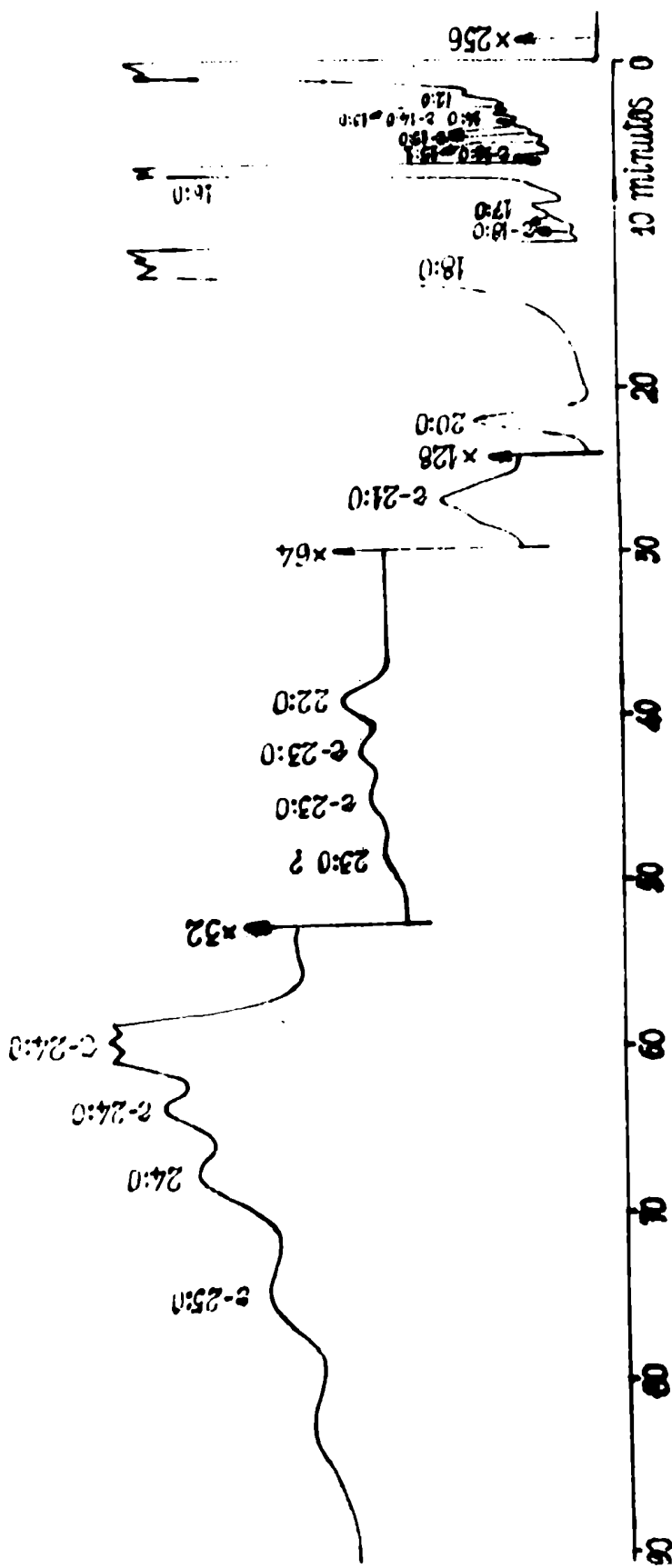


Figura 14: Aceite de semilla de cerezo, variedad Bing. Cromatografía gas-líquido ampli-
ficada de los ésteres metílicos hidrogenados de los ácidos totales.

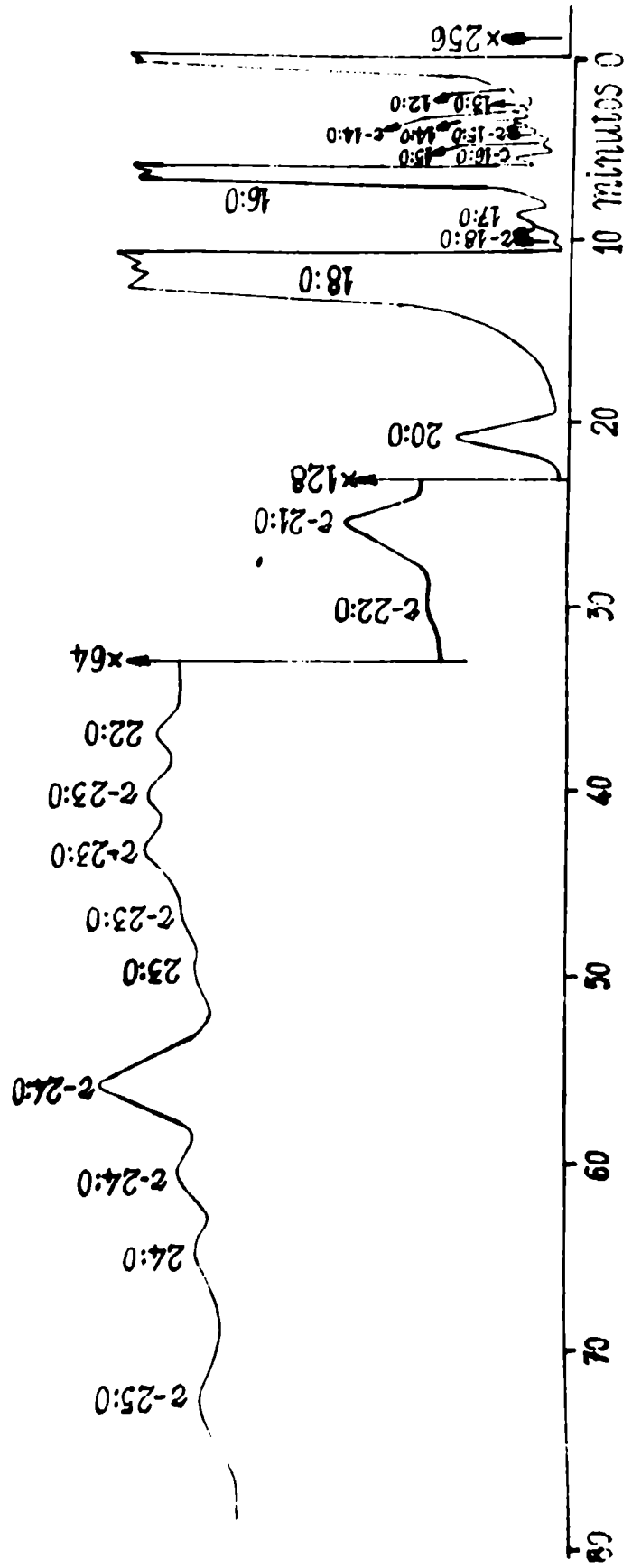


Figura 15: Aceite de semilla de cerezo, variedad Napolitana. Cromatografía gas-liquido amplificada de los ésteres metílicos hidrogenados de los ácidos totales.

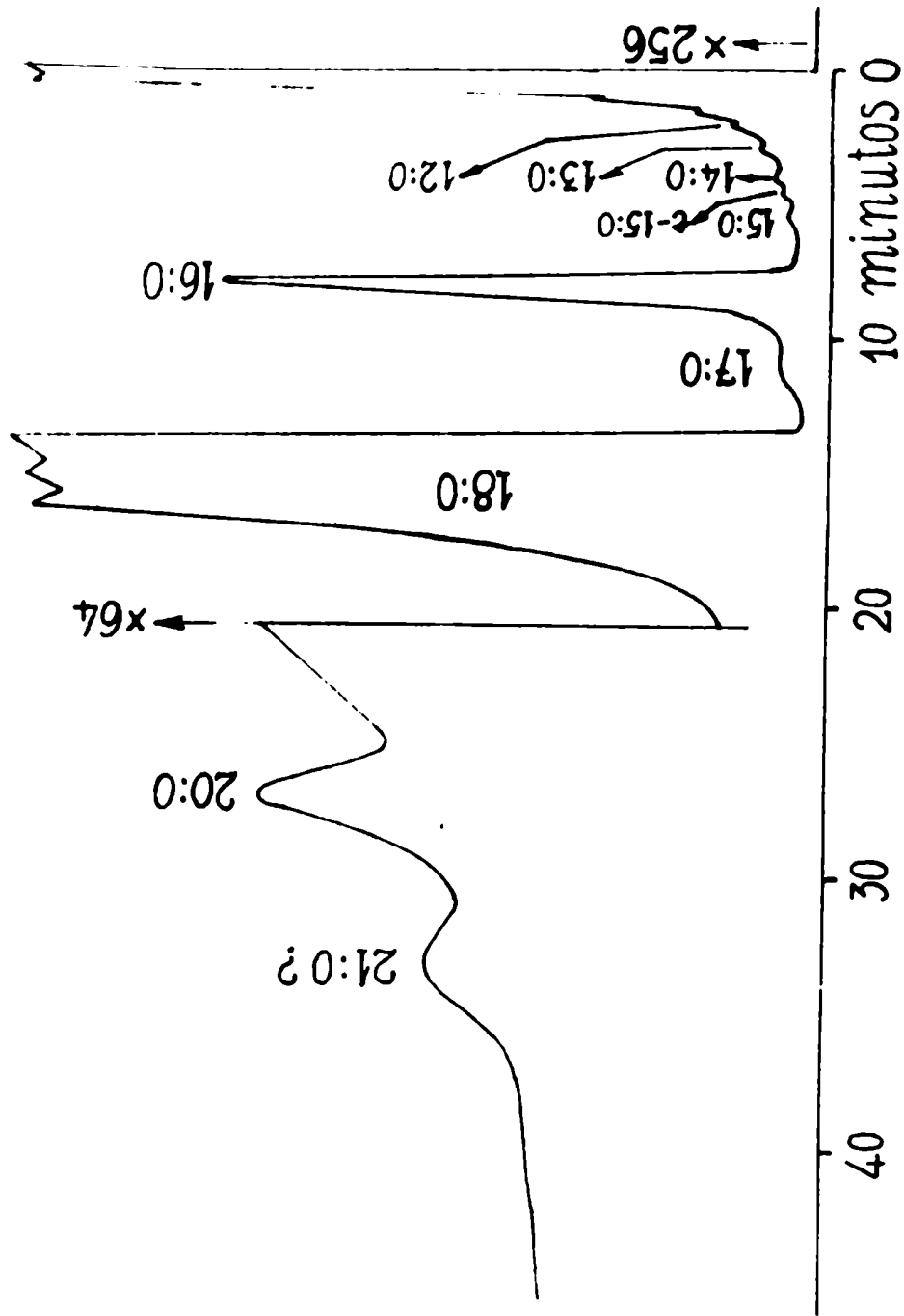


Figura 16: Aceite de semilla de guindo. Cromatografía gas-líquido amplificada de los ésteres metílicos hidrogenados de los ácidos totales.

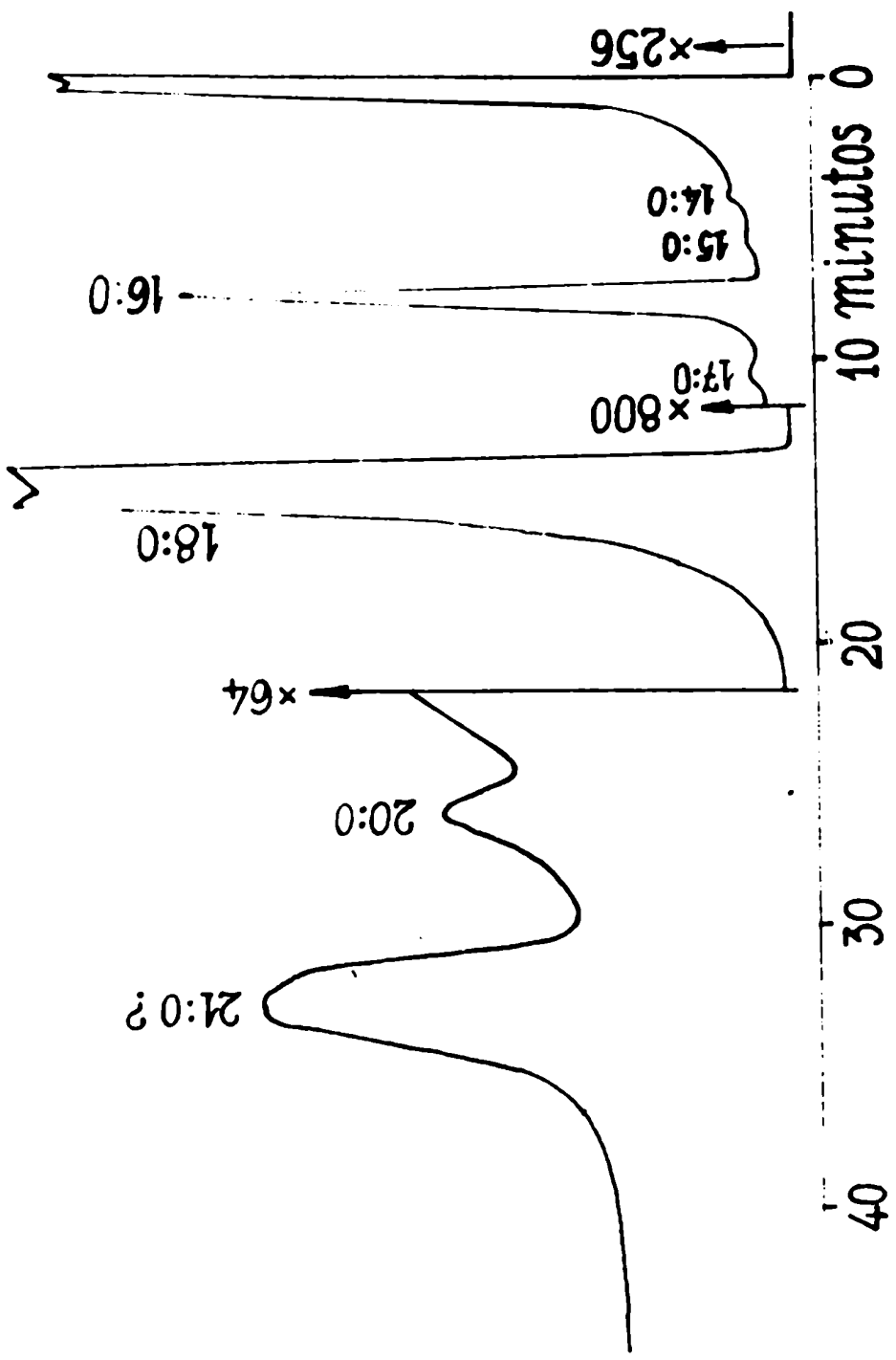


Figura 17: Aceite de semilla de P. mahaleb L. Cromatografía gas-líquido amplificada de los ésteres metílicos hidrogenados de los ácidos totales.

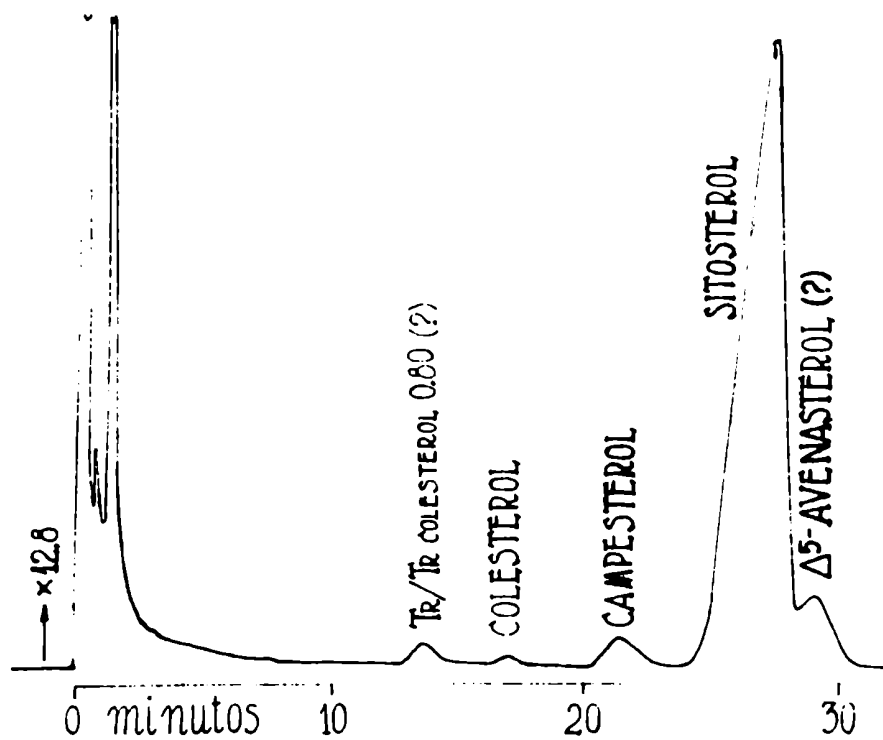


Figura 18: Aceite de semilla de guindo. Cromatografía gas-líquido de la fracción de esteroides.

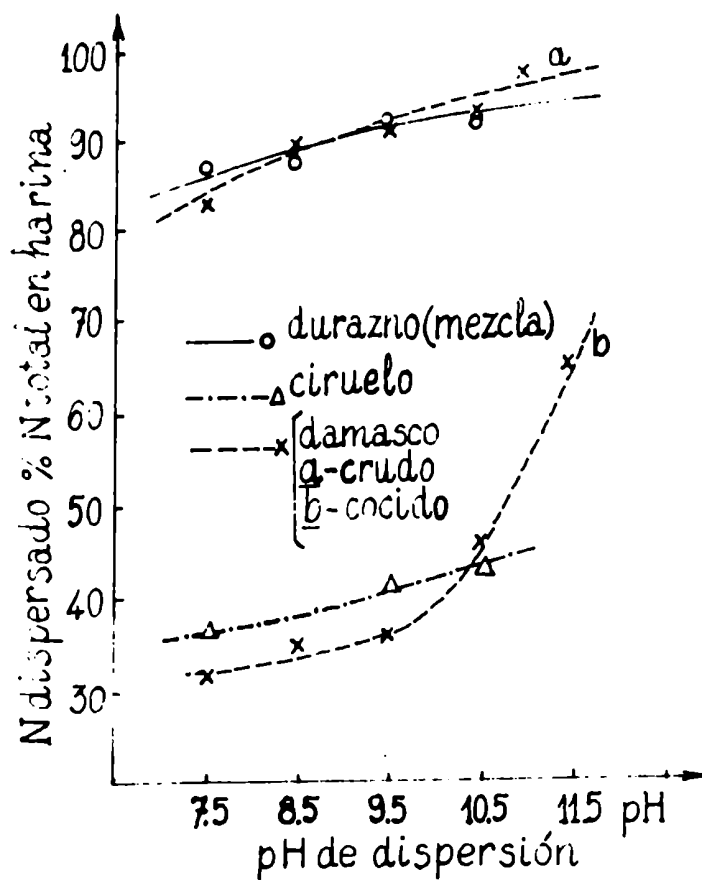


Figura 19: Harinas de extracción de semilla de especies de Prunus. Nitrógeno dispersable (% de N total en harina) en función de los valores de pH.

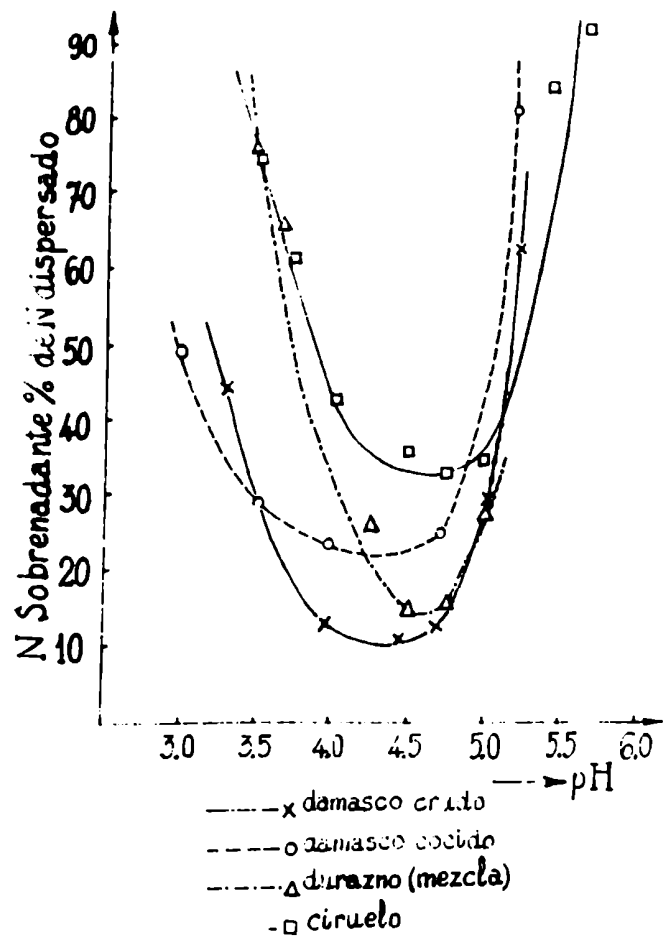


Figura 20: Aislados proteicos de harinas de extracción de semilla de especies de Prunus. Valores de pH de máxima precipitación.

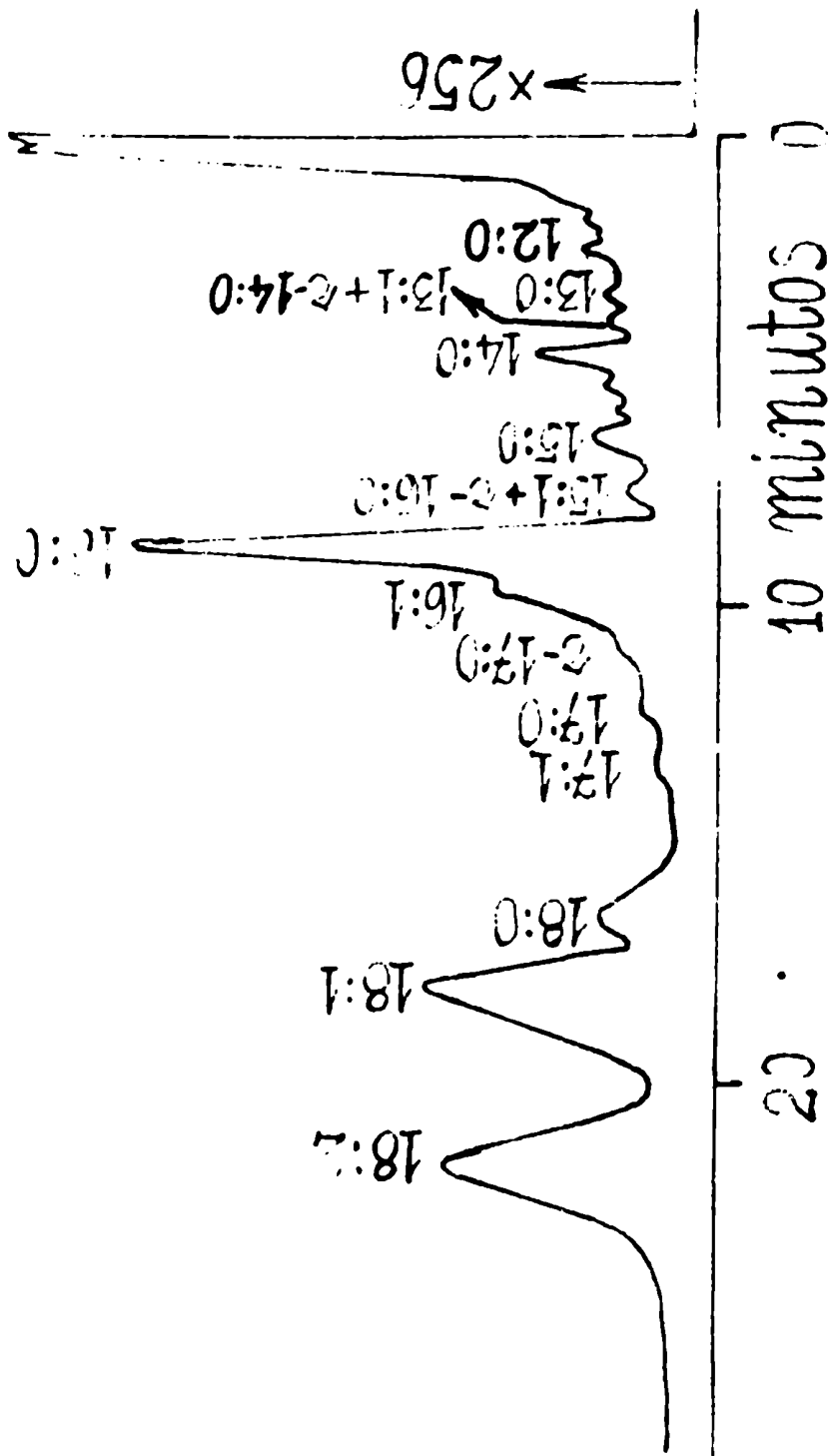


Figura 21: Aislado proteico de harina de extracción de semilla de ciruelo (Mendoza).
 Cromatografía gas-liquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales
 de los lípidos asociados.

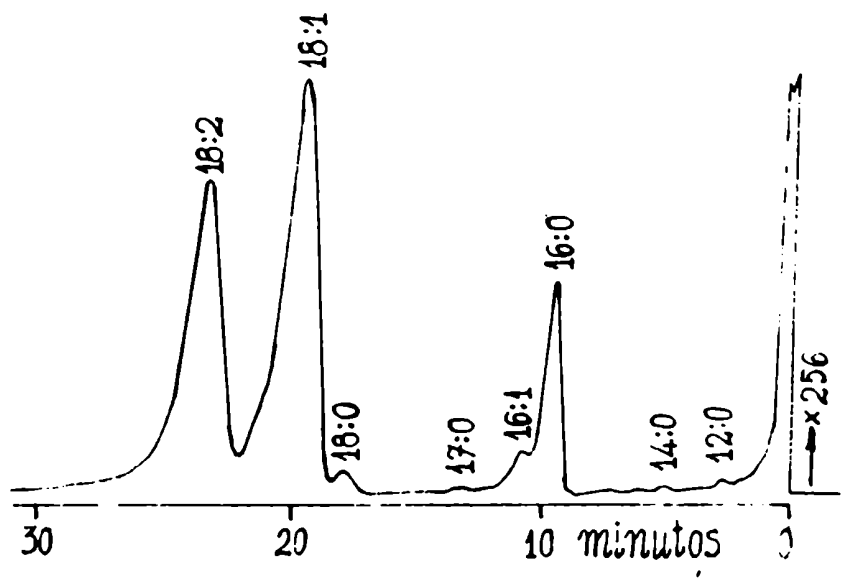


Figura 22: Aislado proteico de harina de extracción de semilla de ciruelo (Mendoza). Cromatografía gas-líquido de los ésteres metílicos de los ácidos totales de los lípidos extraídos por etanol.

PARTE IV

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

El objeto de este trabajo ha sido el estudio de algunas características de carozo de especies de Prunus que se cultivan en el país; la mayoría residuales de la industrialización de frutos (durazno, damasco, ciruela, cereza y guinda) y de otras que no tienen aprovechamiento actual: P. laurocerasus L (laurel cerezo) y P. mahaleb L (cerezo de Santa Lucía).

A modo de Introducción se presenta un listado de las especies del género Prunus más corrientes, que comprende a las que se cultivan en el país, antecedentes bibliográficos sobre contenido en carozo % de fruto, contenido de semilla % de carozo y de aceite % de semilla para las especies damasco, guindo, duraznero, ciruelo y almendro, así como los de características físico-químicas y composiciones acídicas de los aceites seminales de estas especies y los de composición general de las harinas de extracción respectivas.

Esta Introducción incluye también un capítulo actualizado sobre la presencia de compuestos cianogénicos en el reino vegetal, considerando los tres grandes grupos: glicósidos cianogénicos, lípidos cianogénicos y glicósidos **pseudocianogénicos**, que incluye la consideración de estructuras, toxicidad, distribución, degradación enzimática y biosíntesis para el caso de glicósidos; distribución y estructuras para lípidos cianogénicos y glicósidos pseudocianogénicos y

aspectos sobre aislamiento, purificación, caracterización y determinación cuantitativa.

La experimentación llevada a cabo se refirió al estudio de la semilla (la mayoría resultante de la industrialización de frutos) de 18 partidas de carozos que comprenden a 7 variedades de duraznero (Fortuna, Tuscán, Sullivan Cling, Montevideo, Real Jorge y Cuaresmillo), 4 partidas de carozo de damasco (procedentes de elaboraciones industriales, con y sin cocción), de dos variedades de cerezo (Bing y Napolitana), una de carozo de guindo, dos de ciruelo, una de P. laurocerasus L y una de P. mahaleb L.

Las conclusiones logradas son las siguientes:

- 1). Desde que la semilla es la parte del carozo rica en componentes aprovechables, se determinaron en todos los casos los valores de las relaciones leño/semilla, observando la mayor concentración de semilla en carozo para P. mahaleb L (50) y en orden decreciente P. laurocerasus L (32), damasco (26,7-32,7), cereza y guinda (22 - 27), ciruela (10 - 20) y finalmente durazno con 4- 8% (con excepción de la variedad Cuaresmillo que contenía 17% de semilla).

- 2). Las cifras más elevadas para peso medio de carozo correspondieron a durazno (3-6) siguiendo en orden decreciente ^{damasco} (1,7 - 2,7), durazno Cuaresmillo (1,6), ciruela (0,6 - 0,9), P. laurocerasus L (0,3), cereza y guinda (0,2 - 0,3) y finalmente

P.mahaleb L (0,04g), observando el mayor contenido acuoso para semilla en esta última especie (11,4), valores de 8 a 9 para ciruela y guindo, 9 para P.laurocerasus L, 7 para ciruela, 5 a 6 para damasco y 5 a 10% para durazno, cifras todas de orden corriente para semillas que observan buena preservación.

La semilla procedente de la rotura mecánica de los carozos de estas partidas se sometió a molienda y agotamiento en Soxhlet (hexano) obteniendo así los aceites "crudos" y las harinas de extracción respectivas, que fueron estudiados individualmente.

De los estudios sobre aceites crudos se concluye:

1). Los valores de rendimiento en aceite "crudo" % de semilla seca fueron superiores a 35%, con un máximo de 55,6 para durazno variedad Cuaresmillo. La mayor concentración de valores ocurrió entre 40 y 50%. Se concluye que se trata de semillas oleaginosas y que actualmente poseen poca significación como tales, en razón de los bajos contenidos de semilla en carozo y de los bajos porcentajes de frutos cosechados que se industrializan.

2). Los valores de Índice de Yodo de los aceites de semilla de durazno, ciruela, damasco y P.laurocerasus L así como los de sus respectivas composiciones acídicas, permiten cali

ficar a estos aceites como típicamente "no secantes". Los de cereza, guinda y P. mahaleb L por sus valores de Índice de Yodo podrían clasificarse como "no secantes" y "semisecantes", con excepción de P. mahaleb L que presenta un valor de Índice de Yodo elevado (148,2), cifra que excede a la de los considerados como "semisecantes". Sin embargo, por sus composiciones ácidas deben considerarse como aceites "secantes", en razón de sus contenidos en ácido eleostéarico (7 - 43% sobre ácidos totales), reflejadas en los más elevados valores de Índice de Refracción para estos mismos aceites.

3). Todos los aceites "crudos" exhibieron valores de Índice de Saponificación (187 - 192), típicos para composiciones ácidas en ácidos en C_{16} - C_{18} , así como de Número de Acidez sumamente bajos (0,6 - 1,6 mg HOK/g) y cifras de contenido en Insaponificable máximas para aceite de semilla de cereza (3,5 - 4,3%) y valores entre 1,1 y 3,0 para los restantes. Las cifras de Índice de Yodo de estos insaponificables (71 - 126) fueron indicativas de bajos valores para Número de escualeno.

4). Todos los aceites fueron de bajos contenidos en Tocoferoles totales (5,1 - 41,4 mg % g, como α -tocoferol) con mayor concentración entre 8 y 20 mg % g. Estos guarismos sugieren baja resistencia de los aceites frente a procesos de autooxidación y la conveniencia de su protección mediante el uso de antioxidantes primarios y de sinergistas.

5). Los contenidos en Esteroles Totales (digitonina) oscilaron entre 300 y 570 mg % g (mayor concentración de valores entre 390 y 500), cifras acordes con las registradas en la mayoría de los aceites vegetales.

6). La fracción de esteroles totales (previamente separada de los insaponificables respectivos) se examinó por CGL observando los siguientes componentes en orden creciente de concentración (% de esteroles totales): colesterol (vest - 0,6); (?) con valor $Tr/Tr_{\text{colesterol}}$ 0,80 (1,2 - 3,4); Δ^5 -avenasterol (?) (2,1-6,5); campesterol (2,5 - 4,9) y sitosterol (87,5 - 94,1)

7). Los aceites de semilla de durazno presentaron como componentes mayores a los ácidos oleico (53,2 - 74,1) y linoleico (18,4 - 36,7) y como componentes menores muy bajas concentraciones en ácido palmítico (4,8 - 8,6), en esteárico (0,8 - 1,3) y en hexadecenoico (0,3 - 0,9% de ácidos totales). Composiciones muy similares exhibieron los aceites de semilla cruda y cocida de damasco: oleico (60,7 - 76,8), linoleico (27,1 - 32,2), palmítico (4,8 - 5,7), esteárico (0,6 - 0,8) y hexadecenoico (0,4 - 0,7 % de ácidos totales).

Características análogas presentaron las composiciones ácidas de los aceites de semilla de ciruela: oleico (64,1 - 67,8), linoleico (24,2 - 27,3), palmítico (6,3 - 6,6), esteárico (0,8 - 1,8) y hexadecenoico (0,5 - 0,6 % de ácidos totales) destacando la presencia de rastros de ácido eleostéarico (0,01-0,05%).

8). Por espectrofotometría directa en UV exhibieron conjugación preexistente (ácido eleostéarico) los aceites de semilla de cereza, guinda y P. mahaleb L que, expresada en ácido α -eleostéarico % de ácidos totales fueron: aceites de cereza (7,4 - 9,7), de guinda (13,7) y de P. mahaleb L (42,7). Estos aceites presentaron a los ácidos oleico y linoleico como componentes mayores y a los ácidos palmítico (2,9 - 9,1), estéarico (0,7 - 1,5), hexadecenoico (0,4 - 0,6), araquídico (0,4-1,4) y eicosenoico (0,2 - 0,6), estos dos últimos solamente en los aceites de las dos variedades de cereza.

En las determinaciones de estas composiciones acídicas se operó por CGL de ésteres metílicos de ácidos totales libres de insaponificable para los aceites carentes de ácido eleostéarico y por esta misma técnica sobre ésteres metílicos de ácidos totales antes y luego de hidrogenación y evaluación de ácido eleostéarico por espectrofotometría en UV en los aceites de guinda, cereza y P. mahaleb L.

9). Los aceites carentes de ácido eleostéarico se examinaron exhaustivamente en sus composiciones acídicas (durazno, damasco y ciruela) por combinación de la destilación fraccionada de los ésteres metílicos de los ácidos totales con el examen CGL de las fracciones y residuos de destilación, evidenciándose así componentes menores (en el orden de rastros) y en más de C_{20} , entre ellos 12:0; 14:0; 15:0, 21:0; 15:1; 17:1 y 20:1 para estos tres aceites y además 22:0; 23:0 y 24:0, también como

rastros para los de ciruela y damasco. Asimismo se constató la presencia de rastros de 13:0 y 17:0 en aceites de durazno y de ciruela; rastros de 14:1 en aceite de ciruela y r-14:0, r-15:0, r16:0, r21:0, r-23:0 y r-24:0, principalmente en los de damasco. En los aceites que contenían ácido eleostéarico y por CGL amplificada de los ésteres metílicos hidrogenados de los ácidos totales se pudieron evidenciar numerosos picos de ésteres de ácidos en número impar de átomos de Carbono y de ácidos ramificados correspondientes a distintas series. Así en las dos variedades de cerezo se comprobó a 12:0, 13:0, r-14:0, 14:0, r-15:0, 15:0, r-16:0, r-17:0, 17:0, r-18:0 (dos series), 20:0, r-21:0, 22:0, r-23:0 (tres series), 23:0, r-24:0 (dos series), 24:0 y r-25:0. En aceite de semilla de guindo sólo se observaron picos de componentes adicionales en 12:0, 13:0, 14:0, 15:0, 17:0, 20:0 y 21:0 y prácticamente ausencia de componentes en más de C₂₁, comportamiento que difiere del observado para aceite de semilla de cereza. Los ésteres hidrogenados de aceite de semilla de P. mahaleb L evidenciaron a 14:0, 15:0, 17:0, 20:0 y 21:0, como componentes menores o en el orden de trazas adicionales a los ya mencionados para el mismo.

Las harinas de extracción desgrasadas y desolvetizadas se estudiaron en sus valores de composición general, pudiendo establecer:

- 1). Que presentaron tenores de contenido acuoso en el ámbito de 2,6 - 13,3% con una concentración mayor de valores entre 7,0 y 9,0. Los contenidos en materias minerales (expresados como cenizas, sobre base seca) oscilaron entre 2,8 - 9,4 con mayor concentración de cifras entre 5,0 y 7,0%.

- 2). Los componentes de mayor significación de estas harinas, las proteínas (N% x 6,25, base seca), oscilaron entre 32,5 y 55,0%, con mayor concentración de valores entre 45,0 y 50,0%. El menor valor (32,5) se registró en harinas de P. mahaleb L siendo ello debido a que esta harina procedía de carozo entero. La cifra más elevada se observó en harina de duraznero var. Cuaresmillo (55,0%).

- 3). Las concentraciones en fibra cruda oscilaron entre un mínimo de 5,22 (P. laurocerasus L) y un máximo de 48,23% para harina de P. mahaleb L. La mayor concentración de valores osciló en un margen muy estrecho (7 - 12).

- 4). Con excepción de las harinas de cereza y guinda, se determinó la concentración en glicósidos cianogénicos de la mayoría de las harinas de las demás especies, por evaluación a través de un proceso mixto de liberación de ácido cianhídrico (hidrólisis por enzimas propias de la harina, seguida por hidrólisis con ácido sulfúrico 30% (v/v). Los valores (expresados en mg HCN % g de harina) oscilaron entre 8 y 323, si bien

la mayor concentración de valores ocurrió entre 180 y 260 para harinas de semilla de duraznero y ciruelo, y 304 a 323 para las de damasco. Las cifras más bajas se observaron en la harina de P. mahaleb L 7,9 y P. laurocerasus L 79,5 mg/100g.

Habiendo dispuesto de frutos maduros de P. laurocerasus L se pudo comprobar que la pulpa de los mismos no contenía glicósidos cianogénicos, atribuyendo la toxicidad de este fruto a la ingesta de semilla como consecuencia de la fragilidad y delgadez de pared del leño de su carozo.

5). Como dato funcional de interés se determinaron los valores de Índice de Solubilidad de Nitrógeno (ISN) de las harinas de durazno, damasco (crudo y cocido) y ciruela (cruda y cocida). Se observaron cifras elevadas (77,7 - 87,7) para las harinas de semilla cruda de ciruela, damasco y durazno. En cambio los valores para las harinas de damasco y ciruela cocida fueron sensiblemente menores (27,2 y 36,2 respectivamente), cifras indicativas de evidentes procesos de desnaturalización térmica o, más probablemente, por interacciones (polimerización cruzada) entre moléculas de proteínas y compuestos carbonílicos (probablemente benzaldehído o azúcares procedentes de la descomposición de glicósidos cianogénicos.

6). En relación con la calidad nutritiva, solo se hicieron estimaciones de Lisina disponible encontrando cifras que expresadas en g de lisina/ 16 g de N oscilaron entre 1,55

(harina de semilla de durazno var. Cuaresmillo) y 3,87 (harina de semilla de cereza var. Bing). La mayor concentración de cifras osciló entre 2,0 y 3,0 g/16 gN. Las cifras más elevadas correspondieron a la harina de cereza y guinda (3,87; 3,50 y 3,77) que, sin embargo, deben considerarse bajas frente al valor de 5,50 del patrón de referencia FAO 1973. Los valores hallados para las harinas de durazno oscilaron entre 1,55 y 2,30, para damasco 2,89, para ciruela 3,00 y para P. lauro-cerasus 2,37 g lisina/16gN.

En los casos de harinas de semilla de damasco, ciruela y durazno los valores de lisina disponible fueron mayores en aquellas que procedían de semillas crudas (damasco crudo 3,10; cocido 2,75 - ciruela cruda 3,03; cocida 2,96 - durazno crudo 2,20-2,51; cocido var. Cuaresmillo 1,55). Se interpreta que esta disminución por acción térmica de los valores de lisina disponible deben correlacionarse con las disminuciones que por ese mismo efecto se observaron en los valores de ISN.

7). Los hidratos de carbono de estas harinas se evaluaron como porcentajes de azúcares reductores (0,9 - 2,5 % expresados en glucosa); en azúcares invertibles (5,7 - 7,1 % expresados en sacarosa) e hidratos de carbono sacarificables (10,3 - 14,4 % expresados en almidón).

La investigación de los azúcares componentes reveló para las harinas de damasco, ciruela y durazno la presencia de glucosa, fructosa y sacarosa, y como componentes integrantes

de los hidratos de carbono sacarificables arabinosa, xilosa, glucosa y fructosa en todas ellas.

Desde que en la literatura no se mencionan antecedentes sobre aislados proteicos de harinas de semillas de especies de Prunus se realizaron experiencias tendientes al aislamiento de proteínas a partir de harinas de extracción de semillas de especies industrializadas. Se obtuvieron cuatro aislados proteicos provenientes de las harinas de semilla de damasco (crudo y cocido, cosecha año 1976), ciruelo (procedente de la provincia de Mendoza) y de duraznero. En el caso de harina de durazno la extracción se realizó a partir de una mezcla de harinas formada por partes iguales en peso de las provenientes de semilla de duraznero de las variedades Sullivan Cling, Palora Cling, Montevideo y Real Jorge.

Como primer paso hacia la obtención de los aislados proteicos, se procedió a determinar el valor de pH de dispersión óptima; para ello se determinó para distintos valores de pH (7,50 - 11,50) el N dispersado % N total para cada una de las harinas en cuestión, obteniendo las curvas de dispersión correspondientes. El valor de pH de dispersión óptima resultó para las cuatro harinas de 10,5. Para las harinas provenientes de semillas que sufrieron un tratamiento de cocción los valores de N dispersado % N total fueron relativamente bajos (a pH 10,5: damasco cocido 45,5 y ciruela 42,0%) lo cual indicaría una desnaturalización proteica como consecuencia de ese tratamiento. En cambio aquellas semillas que no tuvieron co-

cción alguna, los valores de N dispersado fueron más altos (a pH 10,5: damasco crudo 92,9 y durazno 92,4 N dispersado % N total).

Posteriormente se determinó el valor de pH de máxima precipitación para cada uno de los casos, obteniendo el valor de pH = 4,50 para las harinas de semilla de damasco (crudas y cocidas) y durazno y pH 4,75 para la de ciruela. Los valores de N sobrenadante % de N dispersado de las harinas de semilla con cocción fueron más altos que los de aquellas que no sufrieron tratamiento alguno. Así para damasco cocido y ciruela los valores fueron 23,90 y 35,80 respectivamente, mientras que para damasco crudo y durazno 11,90 y 15,70 N sobrenadante % N dispersado, todos determinados al valor del pH isoelectrico respectivo.

Elegidos los valores de pH de dispersión óptima y de máxima precipitación, se procedió a obtener cantidades suficientes de aislados proteicos con el fin de realizar sus correspondientes análisis, resultando las siguientes conclusiones:

1). Se observó una notoria diferencia en los valores de rendimiento de los aislados proteicos provenientes de semillas sometidas a cocción (damasco cocido 11,86; ciruela 10,63) y los correspondientes a aquellas que no sufrieron ese tratamiento (damasco crudo 28,57; durazno mezcla crudo 27,26 %). Esto demuestra que la cocción afectaría las proteínas, desnaturalizándolas, obteniendo menores rendimiento en su extracción.

2) Se determinó la presencia de ácido cianhídrico en los aislados proteicos de harina de semilla de damasco crudo y durazno (en los otros dos aislados no se pudo realizar la determinación por no disponer suficiente cantidad de los mismos) estando presente en la concentración de 6,0 y 4,6 mg HCN % g respectivamente. El ácido cianhídrico subsistió a pesar que mediaron en la extracción procedimientos acuosos (alcalino y ácido), etanólicos y secado a vacío (45°, 0,5 Torr.), por lo que posiblemente el mismo se encuentre en forma de iones cianuro, salificando a la proteína (a través de aminoácidos de naturaleza básica) al valor de pH isoelectrico. Evidentemente, la presencia de este tóxico en esas concentraciones, exigirá someter a los aislados proteicos a un procedimiento de detoxificación adecuado.

3). Los valores de Pérdida de peso a 100° (vacío) y Cenizas fueron semejantes en los cuatro aislados proteicos. Así la pérdida de peso a 100° varió entre 5,39 (damasco crudo) y 8,92 % (ciruela); mientras que las cenizas (en base seca) variaron entre 0,21 (damasco crudo) y 0,40% (ciruela).

4). Los valores de Nitrógeno (en base seca) fueron parecidos en los cuatro aislados proteicos variando entre 16,60 (damasco crudo) y 17,54 % (durazno mezcla). Estos valores indicarían que estas proteínas están prácticamente libres de otras sustancias no nitrogenadas (como polisacáridos), tal como ocurre en los aislados provenientes de semilla de lino⁷⁷ y de cítricos⁸⁴.

5). Los valores de lisina disponible variaron entre 1,54 (durazno) y 2,38 g lisina/16 g N (damasco crudo). Comparando estas cifras con las correspondientes a las de las harinas (durazno mezcla 2,20 y damasco crudo 3,10) se observa una disminución en los mismos, tal como se ha registrado para otros aislados proteicos. Estos valores de lisina disponible indican que estos aislados proteicos son de una mediocre calidad nutricional.

6). En los valores de Indice de Solubilidad de Nitrógeno se observó que, salvo en el caso del aislado proteico de semilla de damasco crudo (39%), los mismos variaron entre 60,4 (durazno) y 70,5 % (ciruela). Estas últimas cifras son aceptables y evidenciarían que las proteínas que integran los aislados proteicos obtenidos tienen un grado de desnaturalización de poca significación.

7). Los valores obtenidos para los contenidos en hidratos de carbono en estos aislados proteicos variaron entre 1,1 (durazno) y 3,9% (ciruela). Estos valores muestran que estos aislados proteicos están prácticamente libres de polisacáridos tal como ha sucedido para los provenientes de semilla de lino⁷⁷ y de cítricos⁸⁴.

8). Se determinaron también los valores de Fósforo total, Fósforo de ácido fítico y la relación porcentual Fósforo de ácido

fítico/Fósforo total, debido a la importancia nutricional que tiene el ácido fítico como antinutriente. Los valores obtenidos para Fósforo de ácido fítico variaron entre 0,14 (ciruela) y 0,61% (damasco cocido), rango de valores común para otros aislados proteicos. En el caso de Fosforo total, las cifras obtenidas se encontraron entre 0,32 (ciruela) y 0,77% (damasco crudo). Los valores de la relación Fósforo de ácido fítico % Fósforo total son de importancia pues los mismos dan idea de la existencia de otras fuentes de fósforo distintas a la del ácido fítico; en el caso de estos aislados, dichos valores variaron entre 44,0 (ciruela) y 90,9% (durazno).

9). Tanto los lípidos extraíbles por etanol en el proceso de purificación de los coágulos proteicos como los asociados a los aislados secos, se analizaron en sus composiciones acídicas por CGL de los ésteres metílicos de sus ácidos totales, complementando el estudio de los primeros con otras determinaciones analíticas (Índice de Yodo, Índice de Saponificación, Índice de Acidez, Insaponificable, y Ácidos totales).

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. E.W. ECKEY; "Vegetable Fats and Oils" American Chemical Society Monograph Series, Reinhold Publ, Corp., N. York, 1954, pág 454-460.
2. M. DIMITRI y E.R. PARODI, "Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardineria" 2a. ed., Edit. Acme SACI, 1972, pág. 464-467.
3. T.P. HILDITCH, P.N. WILLIAMS, "The Chemical Constitution of Natural Fats", Chapman and Hall, 4a. Ed. London, 1964, pág. 243, 254.
4. A.L. WINTON , K.B. WINTON, "The Structure and Composition of Foods", vol II, Vegetables, Legumes, Fruits; J. Willey & Sons, Inc., N. York, 1935, pág 474-496.
5. E.B. KESTER, J. Am. Oil Chem. Soc., 26, 65 (1949).
6. G.S. JAMIESON, "Vegetable Fats and Oils", Reinhold Publ, Copr. 2a Ed., N. York, 1943, pág. 171-175,
7. J. LEWKOWITSH, Analyst, 29, 105 (1909).
8. T. GUTFINGER, A. LETAR, J. Agr. Food Chem, 21, 1120 (1973).
9. K. TAEUFEL, R. SERZISKO, Nahrung, 7, 606 (1963). C.A., 56, 744f
10. H.T. SLOVER, J. LEHMANN, R.J. VALIS, J. Am. Oil Chem. Soc, 46, 417 (1969).
11. G. LOTTI, G. PISANO, S. BARAGLI, Riv. Ital.Sostanza Grasse, 47, 867 (1970).
12. G. ANELLI, R. IZZO, G. LOTTI, Agri. Ital. (Pisa), 71, 1 (1971) C.A., 75, 62316.
13. G. LOTTI, G. ANELLI, Riv. Ital. Sostanze Grasse, 46, 110 (1969).

14. K.G. WECKEL, H.D. LEE, Food Technol, 14, 151 (1960).
15. A. POPOFF, Compte Rend. Acad. Bulgare Sci., 15, 41 (1962).
16. R.A. SAFFET, Rev. Faculté Sci. Univ. Istanbul, 14 A, 111 (1949), C.A., 43, 2791e.
17. A. GONZALEZ MOLES, Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment., 12, 436 (1972).
18. M. JACOBS, "The Chemistry and Technology of Food and Food Products", vol II, pág 1561. (1951). Interscience Publishers. Inc. London. N.Y.
19. K. MORGAN, J. Biol. Chem., 85, 385 (1930).
20. A. GONZALEZ MOLES, Rev. Agroquim. Tecnol. Alim., 12, 619 (1972).
21. A.O.C.S. "Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists Society" Vol II with additions and revisions 1947-1963, Tables I-1-46.
22. M.L. MEARA, Chem and. Ind., 61, 667 (1952).
23. M. MEHRAN, M. FILOSOFF, J. Amer. Oil Chem. Soc., 51, 433 (1974).
24. V.V.R. SUBRAHMANYAM, K.T. ACHAYA, J. Sci. Food Agr., 8, 657 (1957).
25. R. NORMAKHAMTOV, T. KHUDAISHUKUROV, Maslo-Zhir Prom, 12, 13 (1973). C.A., 80, 106952.
26. A.M. GAD, H.M. EL-KHALAFY, M.M. HASSA, Grasas y Aceites, 19, 139 (1968). C.A., 70, 10497b.
27. R.L. DANG, P. NARAYANAN, P. RAO, Indian Oilseed J., 8, 110, (1964). C.A., 61, 16317
28. D.L. DHAR, R.N.S. CHAUHAN, Agr. Univ. J. Res, 12 Pt 1, 1 y 9 (1963). C.A., 60, 4348 y 4349.

29. I. CIULEI, A. CHIHAIA, N. VETIU, Farmacia, 21, 353 (1973)
C.A., 80, 12458.
30. M.J. HAGGEG, M.S. HIFNAWAY, Bull. Fac. Pharm., Cairo Univ,
13, 175 (1974). C.A., 86, 40213
31. A. PREVOT, F. CAREZA, Rev. Franc. Corps Gras, 9, 149 (1962).
32. K. ZUERCHER, H. HADORN, Mitt. Geb. Lebensmitt. Hyg., 67, 170
(1976).
33. D.R. GUPTA, S.A. GARG, Fette-Seifen-Austrich, 70, 488 (1968).
34. G. MARTINEZ, R. TORLASCHI, Rev. Arg. Sust. Grasas y Aceites,
11, 9 (1969).
35. T. KYOZABURO, T. YOSHIYUKI, Nagoya Sangyo Kagaku Kenkyusho
Kenkyu Hokoku, 12, 34 (1960). C.A., 56, 1542c.
36. G. LOEW, Ind y Quimica, 10, 5 (1948).
37. G.M. DZHIGASHVILI, V.D. GIOSHVILI, Tr. Gruz. Politekh Inst,
5, 39. C.A., 27, 50523.
38. T. BODALSKI, W. WOROSZCUZYK, Dissertations Pharm., 14, 339
(1962). C.A., 59, 1958f.
39. F. FARROHI, M. MEHRAN, J. Am. Oil Chem. Soc., 52, 520 (1975).
40. A. SALEM SAYED, M.A. SALEM FERAL, Dtsch. Lebensum Rundsch,
70; 359 (1974). C.A., 73, 119393c.
41. G. PISANO, G. LOTTI, G. ANELLI, S. BARAGLI, Sci Aliment., 1,
248 (1970) C.A., 73, 119393c.
42. D. CARPENTER, J. LEHMANN, B. MASON, J. Am. Oil Chem. Soc.,
53, 713 (1976).
43. P. VIOLONTE, Ann. Fac. Sci. Agrar. Univ. Studi Napoli Porti-
ci, 30, 417 (1964-1965). C.A., 61, 20193.

44. D.S. SEIGLER, Phytochemistry, 14, 9 (1975).
45. E.E. CONN, "Toxicants Occurring Natural in Foods". 2nd. Ed. Committee on Food Protection. Washington 1974. Pág 299 - 308.
46. R.C. CLAPP, M.G. ETTLENGER, L. LONG, J. Am. Chem. Soc., 92, 6378 (1970).
47. A.O. STOPPANI, Anales Asoc. Quim. Arg., 37, 97 (1949)
48. E.E. CONN, J. Agr. Food Chem., 17, 519 (1969).
49. E.E. CONN, "Perspectives in Phytochemistry" Academic Press London, 1969. Pág 47-74.
50. A. AHMAD, I.D. SPENSER, Can. J. Chem., 39, 1340 (1961).
51. K.L. MIKOLAJCZAK, C.R. SMITH, L.W. TJARKS, Lipids, 5, 672 (1970).
52. K.L. MIKOLAJCZAK, C.R. SMITH, L.W. TJARKS, Lipids, 5, 812 (1970).
53. D. SEIGLER, Phytochemistry, 13, 841 (1974).
54. H. MATSUMOTO, F.M. STRONG, Archiv. Biochem. and Biophys., 101, 299 (1963).
55. B. LYTHOE, N.V. RIGGS, J. Chem. Soc., 2716 (1949).
56. B. ALTENKIRK, J. Nat. Products (Lloydia), 37, 636 (1974).
57. W.D. BENNETT, B.A. TAPPER, J. Chrom., 34, 428 (1968).
58. W.O. WINKLER, J. Ass. Off. Agr. Chem., 34, 541 (1951).
59. M.H. BERTONI, P. CATTANEO, Anales Asoc. Quim. Argentina, 47, 52 (1952).
60. V.C. MEHLENBACHER, "The analysis of fats and oils" Garrard Press. Publ. Champaign., III, 1952. Pág. 592.
61. M.W. DICKS, "Vitamin E content of foods and feeds for human and animal consumption" Bulletin 435. Agric. Experiment Station. University of Wyoming, Laramie (1965).

62. N. NADIROV, R. KHAFIZOV, K. GAREEVA, Prikl Bioklim Mikro-biol., 11, 805 (1975). C.A., 84, 40729.
63. S.S. TIONG, H.M. WATERMAN, Chem. Ind., 81, 204 (1959).
64. E. FEDELI, A. LANZANI, P. CAPELLA, G. JACINI, J. Am. Oil Chem. Soc., 43, 254 (1966).
65. S. MANINO, G. AMELOTTI, Riv. Ital. Sost. Grasse, 52, 79 (1975)
66. E. TISCORNIA, F. CAMURATI, P. PAGANO, Riv. Ital. Sost. Grasse, 53, 119 (1976).
67. M.S. VIGO, I. DASSO, P. CATTANEO, Anales Acad. Ciencias Exactas, Fisicas y Naturales (Buenos Aires), en prensa
68. S. BABACKHODZNAEVA, T. ABULLALV, Tr. Tashk. Politekh. Inst., 90, 68 (1972). C.A., 83, 176879w.
69. T. JEONG, T. ITOH, T. TAMARA, T. MAYSUMO, Lipids, 9, 921 (1974).
70. R. BRESSANI, L.G. ELIAS, A.T. VALIENTE, Brit. J. Nut., 17, 69 (1963).
71. M. MOLINA, G. de la FUENTE, R. BRESSANI, J. Food Science, 40, 587 (1975).
72. M. MOLINA, M. BATEN, R. GOMEZ-BRENES, K.W. KING, R. BRESSANI, J. Food Sci., 41, 661 (1976).
73. G. STOWSAND, J. ANDERSON, R. LAMB, J. Food Science, 40, 1107 (1975).
74. A. NACHEL, C. DORSETT, Econ. Bot., 24, 51
75. M. SOUTY, F. PASCAL, R. PLATON, Fruits, 25, 539 (1970)
C.A., 74, 52258.
76. A. SAYAD SALEM, F. ABUR SALEM, Deut. Leisum. Rundsch., 69, 322 (1973). C.A., 79, 145033d.

77. M.H. BERTONI, P. CATTANEO, Anales Asoc. Quím. Argentina, 60, 363 (1972).
78. A.O. RUCCI, M.H. BERTONI, Anales Asoc. Quím. Argentina, 61, 165 (1973).
79. M.S. VIGO, M.H. BERTONI, P. CATTANEO, Anales Asoc. Quím. Argentina, 61, 241 (1973).
80. L. VILLEGAS VARELA, M.H. BERTONI, Anales Asoc. Quím. Argentina, 62, 309 (1974).
81. L.A. ZAPUTOVICH, M.H. BERTONI, P. CATTANEO, Anales Asoc. Quím. Argentina, 60, 43 (1972).
82. BERTONI M.H., P. CATTANEO, Comunicación Privada.
83. M.S. VIGO, M.H. BERTONI, P. CATTANEO, Comunicación Privada.
84. A.E. TORTOSA, Tesis, Fac. de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A. 1976.
85. N.I. GOLDSTONE, Anal. Chem., 21, 781 (1949).
86. M.H. BERTONI, P. CATTANEO, Anales Asoc. Quím. Argentina, 61, 129 (1973).
87. M.S. VIGO, Tesis, Fac. de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A. 1972.
88. G.O. ZARAGOZA, Comunicación Privada.
89. J.S. HOFFMAN, R. O'CONNOR, D. HEINZELMAN, W BICKFORD, J. Am. Oil Chem. Soc., 34, 338 (1957).
90. T.P. HILDITCH, P.N WILLIAMS, "The Chemical Constitution of Natural Fats" Chapman and Hall. 4a. ed. London 1964. Pág.688
91. H.E. LONGENECKER, J. Soc.Chem. Ind., 56, 199T (1939).

92. FAO/OMS. "Comité del Codex sobre Grasas y Aceites" CX/FO, 74-11, enero 1974. Documento sobre determinación de esteroles en aceite de oliva.
93. T. ITOH, R. TAMURA, T. MATSUMOTO, Lipids, 9, 173 (1974).
94. E. CONKERTON, V. FRAMPTON, Archives of Biochem. and Biophys., 81, 130 (1959).
95. F. LUDZACK, W. MORE, C. RUCHOFT, Anal. Chem., 26, 1784, (1954).
96. M.L. RODENSTEIN, Tesis, Fac. de Ciencias Exactas y Naturales, U.B.A. 1974.
97. E. STAHL, "Thin Layer Chromatography" Ed. Springer-Verlag, Berlin 1969. Pág 827.
98. L. HOUGH, T.L. JONES, W.W. WADMAN, J. Chem. Soc. 1702 (1950)
99. R.W. BAILEY, E.J. BORUNE, J. Chromatog., 4, 206 (1960).
100. J.L. BUCHAN, R.J. SAVAGE, Analyst, 77, 401 (1952).
101. S. SCHWINMER, A. BEVENNE, Science, 123, 543 (1956).
102. P. PARTRIGE, Biochem. J., 42, 238 (1948).
103. G. BARTLET, J. Biol. Chem., 234, 466 (1969).
104. A.O. RUCCI, M.H. BERTONI, Anales Asoc. Quim. Argentina, 62, 365 (1974).
105. M. DUBOIS, K.A. GILES, J.K. HAMILTON, P. SMITH, Anal. Chem., 28, 350 (1956)
106. R.L. WHISTLER, M.L. WOLFROM, "Methods in Carbohydrate Chemistry" Vol I, Academic. Press. N.Y. 388 . 1962.