

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

Variaciones que experimentan las sustancias de reserva, próticos, glúcidos y lípidos de la soja durante la germinación

Migo, Juan A.

AÑO: 1948

A mis padres

A mi esposa

A mis hijitos

N^o
258



11542
1948

Señores Profesores:

Al término de mi carrera, me dirijo a los señores profesores para someter a vuestra consideración el trabajo de tesis exigido por las reglamentaciones vigentes a los efectos de optar al título de Doctor en Bioquímica y Farmacia.

El tema elegido "Variaciones que experimentan las sustancias de reserva, proteínas, glucidos y lípidos de la soja durante la germinación", no es ninguna novedad ni he pretendido innovar nada al respecto, pero sin duda no deja de ser interesante, ya que la distinta bibliografía consultada nos dice que entre nosotros no se han realizado estudios de esta naturaleza con soja cultivada en nuestro país.

En lo que se refiere al presente trabajo, debo destacar la amplia colaboración del Sr. Cesar M. Gallo M. Albisatti quien me asesoró durante el trabajo y allanó todas las dificultades de orden científico.

Encontré en él más que al Profesor, al amigo, vale en consecuencia al distinguido profesor mi profundo agradecimiento.

Agradesco al Jefe de la Cátedra de Química Agrícola de la Facultad de Agronomía Ing. Roberto S. Paura quien desinteresadamente me facilitó las semillas y puso a mi disposición el material e instrumental necesario de la cátedra para llevar a cabo mi tarea.

Al personal subalterno quienes colaboraron conmigo para la realización del mismo.

Lo hago extensivo también a mis profesores y amigos que me alentaron en el transcurso de mi carrera.

El trabajo que expongo a vuestra consideración lo he desarrollado de acuerdo al siguiente plan:

PRIMERA PARTE:

- a) Introducción
- b) Inoculación
- c) U s o s (Abono, forrages,
) Alimentación humana,
(En la industria

SEGUNDA PARTE:

- a) Estudio físico-botánico de la planta
- b) Composición (Substancias nitrogenadas, sustancias
Química de (hidrocarbonadas, sustancias grasas.
la semilla (Distribución de los componentes en las
) diversas partes del grano, Cenizas,
(Enzimas, Pigmentos, Vitaminas. Acidos
) grasos y gliceridos. Esteroles y fosfa-
(tidos.
- c) Análisis del grano de Soja.

TERCERA PARTE:

- a) Germinación
- b) Estructura de (Tegumentos. Embrión. Radícula
las semillas) Gemula. Cotilodones.
(Albumen.
- c) Agentes exteriores que influ- (Agua
yen en la evolución de las) Oxígeno
semillas (Temperatura

CUARTA PARTE:

- a) Modificaciones que experimenta el contenido de las
semillas durante el proceso germinativo. Breve reseña
bibliográfica.
- b) Movilización de glucidos.
- c) Movilización de lípidos
- d) Movilización de Protidos

QUINTA PARTE:

- a) Determinación de humedad de las semillas
- b) Germinación del poroto en el laboratorio
- c) Preparación de las semillas.

SIXTA PARTE:

- a) Valoración de las sustancias nitrogenadas.
- b) Valoración de las materias grasas.
- c) Valoración de las sustancias hidrocarbonadas.

SEPTIMA PARTE:

- a) Datos obtenidos de Glúcidos
- b) Datos obtenidos de Proteínas
- c) Datos obtenidos de Lípidos

OCTAVA PARTE:

- a) Representación gráfica de los resultados obtenidos.

NOVENA PARTE:

Conclusiones

PRIMERA PARTE

A) Introducción

La Soja, planta leguminosa oriunda de China y Japón, es uno de los mas viejos granos cultivados por el hombre, de gran resistencia a las sequías y de mucha importancia en el mundo agrícola o industrial, como así tambien en la alimentación por las múltiples aplicaciones que se le han encontrado. Fué cultivada en oriente desde la mas remota antigüedad, se cree que era conocida antes de la Era Cristiana.

En China ha sido considerada como una maravilla por sus innumerables usos, ya en el año 2858 A.C. el Imperador Sheng Hung la mencionaba en su obra Materia Médica.

Es cultivada en una considerable parte del mundo, pudiéndose decir que en Asia abarca el 25 % de su área cultivable.

Fuó introducida en Europa en el año 1873 y desde entonces ha tomado un impulso extraordinario, en Austria, Alemania, Balcanes, U.R. S.S., Inglaterra, En Africa, Colonia Inglesa, Sud Africa, Algeria, Egipto y otros.

En la América del Norte fuó introducida en Canadá en el siglo pasado Estados Unidos inició su cultivo en el año 1804 habiéndose ensayado hasta estos últimos años en este país mas de 800 variedades y una producción anual que sobrepasa las 5.325.618 toneladas.

La producción mundial puede calcularse en más de 15.000.000 de toneladas, lo cual revela que su explotación se va imponiendo en la agricultura mundial.

En la América del Sur ha tomado gran incremento el cultivo de ésta leguminosa, especialmente en Brasil y

Perú. En éste último país se cultiva desde hace mas de 20 años y en los estudios que se realizan en La Molina (1) Estación Experimental se han alcanzado rendimientos de hasta 2.500 k. por Ha. y en cultivos forrajeros mas de 15 toneladas por Ha.

Fue introducida en la República Argentina (2) en los años 1882 y en 1889, posteriormente el Ministerio de Agricultura de la Nación distribuyó varias variedades.

Podríamos decir que una vasta zona comprendida desde Misiones hasta Chubut, ofrece suelo y clima propio para su madurez, es decir, en nuestro país madura en la misma zona donde lo hace el maíz, de tal manera que la zona Norte y Céntrica serían las mas beneficiosas, pero la falta de capital y de mercado seguro para su explotación, solamente se practican cultivos aislados en Buenos Aires, Entre Ríos, Córdoba, Salta, etc.

En 1910 A.C. Tommelier demostró en la ciudad de Córdoba, en la Estación Experimental Anexa a la Escuela de Agricultura, la posibilidad de su cultivo, y según datos del Ministerio de Agricultura de la Nación (3) fue ensayada mas tarde en el mismo sitio, con excelentes resultados, habiéndose obtenido un rendimiento de 1870 k. de semillas por Ha y 36.800 k. de forraje.

En 1915 la Soja Negra dió un rendimiento de 2000 k. de semillas y 29.000 k. de forrajes por Ha. y la amarilla 3.500 y 42.000 k. respectivamente.

El Ing. Granel da cuenta de un cultivo practicado en Coronel Brandon con buen resultado como forraje.

En 1908 en la Chacra Experimental de La Rioja se ensayaron las variedades: Black, Eyebrow, Biloxi e Ito San.

En 1922 por iniciativa del F.C.B. A.P. fue ensayada en varias zonas, incluso en el campo experimental de la Compañía con el siguiente rendimiento:

	<u>Pekin</u>	<u>Marmoth</u>	<u>Wilson</u>	<u>Ito San</u>
José C. Paz	2.312	1.166	647	1.014
Junín	1.150		1.000	810
Guatrachú	2.000		1.000	1.400

El suelo de La Plata es rico para su cultivo, en el campo Experimental Anexo a la Facultad de Agronomía de La Plata se ensayó con óptimos resultados.

Podríamos decir que de las plantas cultivadas, La Soja, es la que presenta mayor número de variedades. Gans calcula mas de 450, Piper Morse en su obra The Soybean, dice que fueron ensayadas en los Estados Unidos mas de 800 variedades.

B) INOCULACION

Para que el cultivo de esta leguminosa ofrezca el máximo de rendimiento, se requiere la presencia en el suelo de bacterias específicas que vivan en simbiosis con ella (*Bacillus radicicola*, *Rhizobium japonicum*).

Quando las semillas son silvestres y nacen en el lugar de origen tal problema no existe pues el suelo ya los contiene, en cambio para la soja que es una semilla que ha sido llevada de una región a otra puede el suelo no contenerlas si ndo necesario entonces incorporarlas. Este mecanismo de incorporar las bacterias nitrificantes al suelo que no las contiene se ^{con} conoce/el nombre del inoculación.

Tal simbiosis reporta para dichos cultivos una máxima asimilación del nitrógeno atmosférico y por consiguiente un gran rendimiento en substancias proteicas y al mismo tiempo enriquecimiento del suelo en nitrógeno.

Si el suelo tuviera dichas bacterias no sería un problema para el agricultor, pues resultaría fácil inocular al mismo, cultivos puros de bacterias o bien emplear tierra donde anteriormente se hayan cultivado leguminosas.

Una vasta zona de nuestro país no ofrece dificultades algunas al cultivo de la soja, pues encuentra en él no solamente clima propicio sino también las bacterias nitrificantes aludidas.

En el campo experimental de la Facultad de Agronomía de La Plata, dice Burkart que no ha notado diferencia en el desarrollo de parcelas de soja inoculadas al lado de las no inoculadas.

C) USOS DE LA SOJA

Los usos a que se presta esta planta son numerosos y sirven en aumento a medida que progresa la técnica industrial.

Se puede decir que todas las partes de la planta tienen una aplicación.

Abono: La planta verde y aún la paja es empleada como abono.

Forraje: Todas las partes de la planta pueden emplearse como forrajes. La planta entera; las semillas; las tortas, producto de la extracción del aceite, conteniendo al rededor de 40 a 45 % de proteínas; la harina y la paja.

Alimentación humana: La semilla es la parte de la planta que tiene mayor aplicación en la alimentación humana. Tiene una composición media de Agua 10 %; Proteínas 36 %; Materias grasas 17 %; Substancias no nitrogenadas 27 %; Fibra 5 %; cenizas 5 %; Vitaminas; Enzimas, etc. Las proteínas son de gran importancia por su cantidad y por su variedad, la principal es una globulina que se aproxima a las proteínas

animales, la Glicinina, razón por la cual se la ha llamado a la Soja "carne vegetal".

Tiene aplicación desde el punto de vista médico, en la terapia, en la preparación de regímenes alimenticios preconizados a personas débiles o convalecientes y aún a los alérgicos al trigo.

En China y Norte América (4) se usan las semillas germinadas como alimento muy nutritivo, desde hace varios siglos se viene empleando en la alimentación sobre todo en Oriente. Hoy se ha demostrado perfectamente, que las arvejas germinadas y guisantes en general, suplan la falta de los mismos en estado fresco.

Enfermedades como el escorbuto han sido tratadas con buen resultado con cereales germinados.

Recientes trabajos realizados en nuestra Facultad (5) sobre Vitamina B₁ en trigo germinado han demostrado un aumento considerable de ésta durante la germinación.

Se puede decir que los cereales germinados tienen un valor nutritivo aproximado al vegetal seco con la ventaja que estos pueden conseguirse en un plazo menor de los diez días y otra de las ventajas importantes es que evitan las dificultades del transporte y almacenaje.

En la industria: Las mayores aplicaciones industriales de la Soja están basadas en el aceite de las semillas y las proteínas de las mismas.

Indudablemente es la leguminosa mas importante del mundo, y los Estados Unidos, es la nación del mundo que marcha a la cabeza en el estudio científico de los múltiples problemas de la Soja.

Damos a continuación un resumen de sus aplicaciones.

T a l l o

(Forraje
)
 (combustible
)furfural
 (Abono verde (pasto seco
)ensilado
)
 (estiercol
)
 (Pasto

S

E

M

I

L

Materias Primas

Substituto celuloide
 Fertilizante

Alimentación (aves
)vacunos
 (perros
)pescados
 (chanchos
)aves de corral
 (conejos

Goma
 Moldes función

Alimentación humana (elaboración de cerveza
)harinas
 (polvos condimentos
)salsa de Soja
 (leche vegetal

Plástica
 Pinturas al agua

L

A

Aceite

Velas
 Celuloide, mercadería impermeable
 Aceite cemento.
 Desinfectante, impermeables
 Aislador eléctrico
 Aporcelanado, barnices
 Combustible, tintas de imprenta
 Glicerina, pinturas.
 Insecticida, hule

Productos alimenticios (Sustituto de manteca
)aceites de cocina
 (aceites de comer
)aceites medicinales
 (chocolates
)ceramehos
 (cocoa
)emulsificadores
 (margarina
)medicinas diversas

Lecitina, lubricante
 Alumbrado, linoleum

Jabones (duros
)líquidos
 (blandos

- S Grano verde {
 - Enlatado
 - Helado
 - Legumbres verdes
 - Ensalada

- B {
 - Cocido al horno
 - Hervido
 - (Ganados
 -)chanchos
 - Para aliment. (aves de corral
 -)ovejas

- H Grano seco {
 - Alimentos desayunos
 - (productos al horno
 -)alimentos desayunos
 - (caramelos
 -)chocolate
 - Harina (alimentos para diabéticos
 -)bebidas higiénicas
 - (cono helados
 -)polvos para helados, alimentos
 - (para niños, productos de fidecería
 -)productos de carne.

- I {
 - Testado (acaramelados
 -)sustituto del café
 - (salado

- L Salsa de soja
- Germinados

- L {
 - Caseína (pinturas
 -)fabricación de papel
 - (confección de vestidos
 -)impermeables

- A Leche vegetal {
 - Condensada
 - Alimentos
 - Polvos
 - Guajada (enlatada
 -)secada
 - (fermentada
 -)fresca
 - (ahumada

SEGUNDA PARTE

A) Estudio físico botánica de la planta

La SOJA, SOYA, SOYBEAN, poroto SOJO, poroto de MANCHURIA, SOJA MAXIMA (L), referida también como SOJA HISPIDA (Moench) es una planta leguminosa de la especie de la GLICINA.

Por sus caracteres botánicos pertenece al DOLICHOS o al PHASEOLUS acercándose según la variedad a uno u otro. Linneo la clasifica como DOLICHOS, llamándola DOLICHOS SOJA pero otros naturalistas a esta referida por Linneo la clasifican como GLICINA SOJA, que se diferencia de la GLICINA HISPIDA porque no tiene gollote en las vainas entre semilla y semilla.

"En cuanto a la ortografía del nombre común, sería preferible SOYA a SOJA, porque la "j" tiene en castellano un sonido que no corresponde a la misma letra latina que se pronuncia "i". En los demás idiomas se pronuncia la palabra de acuerdo a la "i" latina, SOIA. En la Argentina el uso la ha consagrado "SOJA" "

Bottari (6) la describe así: "Es una planta anual, herbacea, que se mantiene erguida sin la presencia de tutores. Alcanza alturas muy variables según la variedad cultivadas, y para una misma variedad depende de las especiales condiciones del clima, fertilidad del suelo y cambio de la estación.

Se da como altura media de 0,80 a 1,20 m. pero algunas veces han adquirido alturas excepcionales como unos experimentos hechos en (Italia) Capo d'Histria/que alcanzaron 1,50 , 2 y 3 metros de altura, pero se ha comprobado que el desarrollo excepcional en altura depende en la generalidad de los casos de una semilla no regular de plantas muy juntas.

Amante del sol y de la luz, en las regiones nórdicas tiene un comportamiento mediocre; desarrolla notablemente, y en forma frondosa, se

rarifica con abundancia de hojas y de cortezas en las regiones meridionales. Las hojas son alternas, compuestas, tripartitas, tienen peciolo largo de 10 a 15 cm. mas o menos segun la variedad. En su comienzo las flores estan reunidas en grupos pequenos de color lila pálido al violeta oscuro, tambien blanco verdoso, segun la variedad. El cáliz es gamosepalo, tiene 5 divisiones agudas; la corola es papilionoidea y tiene 10 estambres diadelfos.

El ovario de forma oval unilocular encierra de 2 a 5 óvulos.

Las flores se transforman en fruto por autofecundación, ya ésta tiene lugar antes de que las flores estén completamente abiertas. No intervienen los insectos para facilitar la fecundación, como sucede con otras plantas.

Los frutos estan constituidos por una vaina pilosa de 4 a 6 cm. de largo y de 1 a 1,5 cm. de ancho, que contienen 2 a 5 semillas separadas entre ellas por un gollito. Los pelos muy cortos que recubren la vaina sirven para proteger del calor excesivo y del frío.

En el interior de la vaina adherida a las paredes hay un líquido gaseoso protector de las semillas.

Las semillas se presentan de colores variados; amarillas, rosa, marrón, negra, verde, con todos los matices de un tinte al otro; de espesor variado con puntos, manchas, cañas, estrías diferentes por su entrelazamiento, forma y color; de forma mas o menos oval o redonda o chata de un diámetro variable de 4 a 7 mm.

Se nota en la raíz la marchada tuberosidad comun a todas las leguminosas papilionoideas, caracterizadas por un notable desarrollo".

B) Composición química de las semillas (7)

No existe leguminosa de composición química tan compleja como la Soja. Con excepción de algunas sustancias aun no bien caracterizadas perfectamente, se conocen

todos sus componentes y las funciones que estos desempeñan durante el desarrollo de la planta.

La característica principal de su composición química, es la riqueza en sustancias nitrogenadas, grasas y minerales y la pobreza de almidón.

Hall, analizando una gran cantidad de semillas, encontró que el contenido de proteínas varía de 32,8 a 45,00 % y los lípidos de 18,5 a 22,1 % calculados en sustancia seca.

Mc Clelland examinando mas de 160 variedades encontró que los lípidos oscilan entre 15 y 25 %.

Bailey, Capon y LeClere después de haber practicado mas de 100 análisis de granos de Soja, nos dan los siguientes resultados:

	<u>Mínima</u>	<u>Máxima</u>	<u>Porcentaje</u>
Humedad	5,02	9,42	8,0
Cenizas	3,30	6,35	4,5
Grasas	13,50	24,20	18,0
Proteínas	2,84	6,27	3,5
Fibra	27,60	50,30	40,0
Pentosanos	3,77	5,45	4,4
Azúcares	5,85	9,46	7,0
Starch-like substances por diastasas	4,65	8,97	5,6

Sustancias Nitrogenadas

Weissl y Becker aplicando el procedimiento de Ritthausen para la separación de las proteínas nos dan el siguiente resultado:

Caseína soluble	30 %
Caseína insoluble	7 %
Albúmina	0,5
Gluten	0
Compuestos amínicos	vestigios

De la proteína soluble en alcali diluido el 86,3 % podría ser "sa-
scina" y el 1,7 % "albúmina".

Osborne y Campbell han propuesto el nom-
bre de Glicinina a la principal proteína de la soja, la cual repre-
senta el 80 a 90 % de la proteína total y una segunda proteína la
Globulina calculada en 1,5 % del total.

Tadokoro y Yoshimura fraccionan las
proteínas de la soja las cuales designan con los nombres de Glicin-
ina, Lecucelina, Glutelina.

Gearty y Jones analizando la principal
proteína de la soja encuentran variaciones en el contenido de amino-
ácidos, obtuvieron como producto de su desintegración los siguientes
ácidos amino:

Glicina	0,97	Tirosina	1,86 a 2,50
Valina	0,68	Arginina	5,22
Leucina	8,45	Histidina	1,59
Prolina	5,73	Licina	2,71
Fenilalanina	3,86	Triptofano	1,74 a 2,84
Acido aspartico	5,29	Cistina	0,74 a 1,45
Acido glutamico	19,06	Metionina	1,84

Sustancias hidrocarbonadas:

Las sustancias hidrocarbonadas de la
soja no están aun bien caracterizadas. El total de estas sustancias
oscila entre 22 y 29 %.

Las sustancias azucaradas por sus caracteres se asemejan a la lacto-
sa o sacarosa, fermentan en presencia de levadura de cerveza, dando
glucosa como resultado final. Tarrat demostró que un tetrasacárido
la Estaquiosa $C_{22}H_{42}O_{21}$ daba por hidrólisis, una molécula de levu-
losa, una de glucosa, y dos de galactosa.

Bailey encuentra los siguientes carbohidratos:

Galactano	4,86	Rafinosa	1,13
Pentosanos	4,94	Almidón	0,50
Asúcar invertido	0,07	Celulosa	3,29
Sucrosa	3,31	Hemicelulosa	0,04
		Dextrinas	3,14

En lo que respecta al almidón hay diversidad de opiniones, numerosos investigadores tales como Blondel, Inoue, Frinsen, no han encontrado almidón en las semillas, Heissl y Bocher, Felict, Hanausch, han encontrado pequeñas cantidades y Stingi y Krawski lo han encontrado en una cantidad que oscila entre el 3 y 5 %.

Esta pobreza del almidón, dice Bottari, parece ser atribuida a la presencia de un fermento diastásico muy activo al cual es debida la abundancia en dextrina y en azúcar (cerca del 12 %).

Para darnos una idea de la pobreza de almidón de la harina de soja, en comparación con la harina de otro poroto cualquiera, basta exponer ambas a la acción de unas gotas de agua de iodo, para ver, que con la harina de soja no se produce coloración alguna, mientras que con la de otro poroto, será de un azul intenso.

Sustancias Grasas:

Las grasas existen normalmente en la soja entre un 15,5 y 24 %, extraíbles por solventes, tales como sulfuro de carbono, éter etílico, etc.

El tipo y cantidad de grasas, depende generalmente de la variedad de semilla, del método de extracción, almacenamiento, etc. El 90 % de las grasas se encuentran almacenadas en los cotiledones y el resto en el germen. Químicamente el aceite está constituido por glicéridos de los ácidos grasos saturados y no saturados, alcoholes,

fosfatidos, gomas, mucilagos, pigmentos, vitaminas, etc. El 90 a 95 % de la grasa bruta está constituida por grasa neutra, 10 a 15 % constituidos por colesteroína, cera, lecitina, resinas; y un pequeño porcentaje de ácidos grasos libres.

Distribución de los componentes en las diversas partes del grano de Soja.

Indicación de la parte	Proporción en el grano	<u>Matéria</u>			Hidrocarbónes	Minerales
		<u>Seca</u>	<u>Nitrog.</u>	<u>Grasa</u>		
Grano entero	100	90,18	38,06	17,80	12,06	4,44
Cotiledones	90	89,43	41,33	20,75	14,60	4,38
Embrión	2	87,99	36,93	10,45	17,52	4,08
Corteza	8	87,47	7	0,60	21,02	3,85

Como vemos en este cuadro la distribución de las sustancias nutritivas se encuentran en mayor proporción en los cotiledones que en cualquier otra parte del grano. En lo que respecta al embrión, es rico en sustancias hidrocarbonadas, pobre en nitrógeno y grasas, mientras que la corteza es muy rica en sustancias hidrocarbonadas y baja en grasas y nitrógeno.

SEMILLAS

Los constituyentes minerales de las semillas son muy ricos en sales de Potasio y Fósforo, luego Azufre, Sodio, Magnesio, etc.

	<u>g</u>		<u>g</u>
Genisas	5,05	Fósforo	0,59
Potasio	1,91	Azufre	0,41
Sodio	0,34	Cloruros	0,024
Calcio	0,21	Manganeso	0,0028
Hierro	0,0074	Zinc	0,0018
Cobre	0,0012	Aluminio	0,0007
Magnesio	0,22		

Enzimas:

Ureasa: descubierta en la Soja por TERUUCHI en el año 1909

Amilasa: descubierta en 1886 por STINGL y HORASAKI confirmada luego por STREET y RILEY.

Lipasa: catalasa, peroxidasa, invertasa, amilasa y reductasa.

Pigmentos:

Carotinoideos, Isoflavonicos, antocianicos y clorofilianos.

Glicosidos:

Saponinas, fitosteroles, isoflavonicos.

Vitaminas: A, B, C, D, E, K.

Acidos grasos y gliceridos:

Esteroles y fosfatidos:

	<u>Insoluble en alcohol</u>		<u>Soluble en alcohol.</u>	
	<u>Peso %</u>	<u>Moléc. %</u>	<u>Peso %</u>	<u>Moléc. %</u>
Palmitico	11,7	13,1	17,5	18,6
Estearico	4,0	4,0	--	--
Aracuidico	2,4	2,3	--	--
Hexadecanoico	8,6	9,6	5,5	6.
Linoleico	63,3	61,5	53.	52.
Oleico	5,5	9,7	19.	18,5
Linolenico	--	--	3,7	3,6
C ₂₀ no saturado	5,5	4,8	1,5	1,3

TERCERA PARTE

A) Germinación

Se puede definir la germinación así:
(Haverma) "el conjunto de los fenómenos en virtud de los cuales el embrión salido de su estado de reposo o de vida latente, se transforma a expensas de las sustancias de reserva almacenada en las semillas, en una planta capaz de vivir luego a expensas del medio en que se halla".

Sabemos que las fanerógamas proceden siempre de una semilla. Esta, envuelve en sus tegumentos las sustancias necesarias para la evolución de la nueva planta. La semilla sola no germina, necesita la ayuda de ciertos agentes externos para sus efectos.

Vereamos en seguida cuales son estos agentes y que condiciones se requieren para que ésta germine, elabore sus tejidos y la haga apta para vivir.

Es necesario conocer primero la estructura y composición de las semillas, para luego poder estudiar los agentes exteriores que influirán en las profundas evoluciones de su material de reserva.

B) Estructura de las semillas (9)

La semilla es el óvulo transformado por la fecundación.

Una semilla consta de tres partes principales: Tegumento, embrión y albumen.

TEGUMENTO: llamado también epispermo o cubierta seminal.

Es la envoltura de la semilla y está formado por dos membranas constituidas ambas por tejido epidérmico, una interior llamada testa y otra exterior llamada tegion o endopleura.

El tegumento puede ser liso o presentar arrugas, a veces cubierto de pelos.

Presenta a menudo colores variados.

EMBRIÓN: El desarrollo de la "célula nuevo" forma el embrión el cual está compuesto de cuatro partes: radícula, tallo, gémula y cotiledones.

Radícula: Pequeña tubercula cónica que será "el origen de la raíz" de la nueva planta.

Tallo: Forma con la radícula el eje del embrión.

Gémula: Yema terminal del tallo.

Cotiledones: (De uno hasta doce) que no son sino hojas del embrión.

ALBUMEN: Son los productos de reserva que servirán para nutrir al embrión. El albumen puede ser rico en materias grasas, sustancias nitrogenadas, hidrocarbonadas, gomas, etc.

Debemos considerar dos casos: semillas con albumen, los cotiledones son delgados y foliáceos. Semillas sin albumen, gruesos y carnosos, pues el albumen se halla almacenado en los cotiledones.

C) AGENTES EXTERIORES QUE INFLUYEN EN LA GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS.

Cuando se requiere estudiar la germinación de una semilla en el laboratorio recurrimos a aparatos especiales llamados germinadores, con los cuales podemos llegar a la madurez de las mismas, reuniendo aproximadamente idénticas condiciones que el suelo y el ambiente.

Es indispensable para una buena germinación la presencia de una cierta cantidad de agua, de oxígeno y una temperatura óptima.

Las semillas en general mantienen una vez desprendidas del fruto, una humedad propia que oscila entre el 5 y 15 %. Son muy higroscópicas, pudiendo variar según el estado higrométrico del aire. Este factor importantísimo lo comprobó Demoussy en 1907, para conocer la duración del poder germinativo, pues las semillas absolutamente secas, sin perder sus propiedades germinativas, se conservaron durante largo tiempo, en cambio las expuestas al aire saturado de humedad, apenas duraron unos meses.

Agua:

Las semillas necesitan para germinar absorber una cierta cantidad de agua que depende de la naturaleza química de las sustancias de reserva.

Como consecuencia de esta absorción, se establece en el interior de la misma, un doble fenómeno físico y químico. Un fenómeno físico que consiste en la hinchazón que presenta la semilla y el aumento de la presión osmótica como lo demostró Maquenne en 1896 y uno químico que consiste en la acción hidrolizante de las enzimas para solubilizar las reservas y hacerlas de este modo solubles.

Oxígeno:

El oxígeno es tan importante para la germinación como el agua. Es necesario que las semillas estén en contacto con él. Si el oxígeno interviene a una presión mayor que la normal, éste actuaría como veneno impidiendo de este modo la germinación.

De los gases desprendidos durante la germinación normal de las semillas Schloessing (h) demostró por métodos gaseométricos que el único gas desprendido era el anhídrido carbónico.

Temperatura:

Existe una temperatura óptima para cada semilla, como así también una máxima y una mínima por encima o por debajo de la cual la germinación es deficiente.

CUARTA PARTE

A) Modificaciones que experimentan el contenido de las semillas durante el proceso germinativo.

Antes de entrar a estudiar el metabolismo que experimentan las sustancias de reserva en el organismo vegetal nos ha parecido útil dar primeramente algunas reseñas bibliográficas sobre los procesos bioquímicos de la transformación de lípidos en glúcidos.

Veremos como estos procesos de demolición de las sustancias complejas, ulteriormente se sintetizan, pues el fenómeno de la germinación no solamente se reduce a consumir las sustancias de reserva sino también a dar origen a otras nuevas sustancias.

Houget (10) dice que la utilización y degradación de los lípidos en los organismos vivientes poseen un cierto número de problemas que en la hora actual están por resolverse.

Si bien es cierto que durante el proceso germinativo una parte de los lípidos son oxidados con eliminación de anhídrido carbónico y otra parte transformados en glúcidos por absorción de oxígeno, aún ignoramos con certeza las etapas de esta transformación.

En efecto, las semillas, durante la germinación experimentan transformaciones notables de su material de reserva, pues una parte de ella es perdida por combustión (fenómeno respiratorio) como lo demuestra la disminución en el peso de la materia seca, y la otra parte es destinada a la formación de la nueva plantita, (fenómeno de asimilación).

Para Doussingault (11) la planta está sometida a dos fuerzas antagonicas, una que tiende a suministrarle materia (asimilación) y

otra que tiende a quitarle (respiración), y según predomine una u otra la planta aumentará o disminuirá de peso.

Ya en 1859 Sack señaló por primera vez este hecho comprobando que durante la germinación la materia grasa de las semillas oleaginosas disminuye gradualmente a medida que se va formando la pequeña plantita.

En 1865 Fleury continuando las experiencias anteriores admite que a las materias grasas disminuyen durante la germinación para ser luego transformadas en azúcares solubles y finalmente por condensación en hidratos de carbono insoluble como la celulosa.

Una de las características de las semillas oleaginosas es la fijación del oxígeno en la materia grasa durante la germinación lo comprueba el hecho de que los hidratos de carbono transformados son más ricos en oxígeno que dichas materias grasas y en cambio mucho más pobres en carbono que éstas.

Boussingault y Pelouze en 1875 observaron que en la putrefacción de las semillas oleaginosas, estas se acidificaban y presunían que durante la germinación ocurriría el mismo fenómeno. Antes examino este trabajo y noté en el curso de la germinación la formación de ácidos grasos libres y la transformación de éstos en glucosa pasando por un estado intermedio de "resina". Ha demostrado una absorción progresiva de oxígeno por los ácidos grasos durante el desarrollo del embrión.

Mazé ha hecho el siguiente ensayo; hace germinar en agua destilada semillas de maíz y en un momento dado separa los cotiledones y los pone encima de perlas de vidrio humedecidas, hace circular aire aséptico y a los 17 días obtiene los siguientes resultados: las materias sacarificables han aumentado un 5,6 % lo mismo el peso de la sustancia seca, en 15,64 %, lo cual revela una oxidación de

la materia grasa, única vía para ser convertidos éstos en hidratos de carbono. Se descarta la posibilidad de oxidación de las sustancias nitrogenadas de reserva porque el mismo hecho debería de repetirse en las semillas amiláceas y esto así no ocurre.

Para Green existiría en los cotiledones de las semillas oleaginosas un fermento saponificante de las sustancias graso. Hacerla semillas de ricino en solución clorurada, después de dializar lo que quedó en el dializador lo mezcló con aceite de ricino obteniendo al final una rápida saponificación.

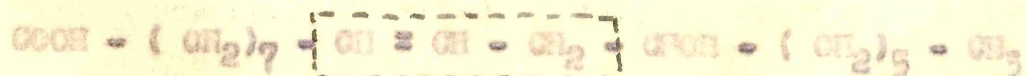
La glicerina como producto de esta saponificación sería convertida en azúcar y una ulterior transformación experimentaría los ácidos grasos para ser solubles en agua.

La glicerina libre no existe en la plantita joven, pero esto no quiere decir que no se forme, sino que desaparece rápidamente, tal vez por combustión respiratoria o bien en la formación de los hidratos de carbono.

En esta clase de semillas existen los tipos de ácidos grasos encontrados; saturados y no saturados, antes al estado de glicérido. Maquenne en 1898 estudió la germinación en la obscuridad de dos semillas oleaginosas, maní y ricino, ricos en ácido aráquico saturado y ricino-oléico no saturado, y observó que de 100 partes de aceite de maní, 18 partes se habían transformado en hidrato de carbono, mientras que 100 partes de aceite de ricino habían dado 50 esas partes de hidratos de carbono.

Evidentemente los ácidos grasos no saturados intervienen de una manera mucho más eficaz a la producción de los hidratos de carbono.

Maquenne piensa que el ácido ricino-oléico por la combustión de los dos extremos de la cadena, libera el grupo alílico:



el cual se transformaría primero en glicerina y luego en azúcar.

En 1933 Murlin y otros publicaron un trabajo sobre la germinación del ricino y estudiaron las variaciones que experimentan las grasas, sacarosa, glucosa, celulosa y proteínas durante el proceso germinativo. De los análisis practicados, deducen que el carbono de las grasas desaparecidas se encuentra como glúcido hallándose representado finalmente por el ácido carbónico, y en lo que respecta al ácido ricinoleico una parte se transformaría en sacarosa, otra en celulosa y finalmente otra parte sería oxidada.

Trabajos realizados en éstos últimos años coinciden exactamente con las experiencias practicadas por infinidad de investigadores.

Jacques Houget (O.A. 4417⁶) (12) en 1944 dice que los fosfolípidos aumentan en forma notable los tres primeros días y juegan un rol importante en la transformación de lípidos en glúcidos por la presencia de ácidos grasos.

Lo mismo en (O.A. 3693⁵, 1944) Jacques Houget (13) habiendo estudiado la germinación en semillas de ricino, comprueba que durante el proceso germinativo la grasa de las semillas almacenada en el albúmen es convertida en sacarosa y ésta a su vez en glucosa y levulosa, la cual es absorbida y utilizada por la planta en el almacenamiento como almidón.

John R. Murlin (O.A. 2392⁸ 1934) (14) también en semillas de ricino comprobó que el coeficiente respiratorio de estas varía durante la germinación, de 0,30 a 0,58 lo que indica una transformación de grasas en hidrato de carbono.

Igualmente hay una disminución de las sustancias grasas y un aumento del azúcar.

Nosotros hemos valorado las transformaciones finales que experimentaron los principios inmediatos de la soja (proteínas, glúcidos, lípidos) durante la germinación, y los resultados obtenidos confirman los trabajos realizados hasta hoy por numerosos investigadores.

Hemos elegido el grano de Soja por ser una semilla ^{rica} en materia grasas y sustancias proteicas, pobre en almidon y de facil germinación. Nos hemos limitado solamente a valorar durante los distintos días de la germinación las materias grasas totales, los hidratos de carbono formados y el nitrogeno total, sin entrar a estudiar cuales son los productos intermedios que van apareciendo sucesivamente durante la germinación, como vimos tras la breve reseña bibliográfica.

B) Movilización de los glucidos

El estudio de los procesos de desintegración de las sustancias de reservas de las semillas como así tambien la síntesis de las nuevas sustancias, es un problema mucho mas complicado del que nos imaginamos, porque resulta imposible reproducir en el laboratorio, las condiciones tal como existen en el curso de la síntesis.

En lo que respecta a la movilización de los glucidos y a su síntesis, diremos que dentro del metabolismo de las reservas en lo que mejor se conoce. De las materias azucaradas que forman las sustancias de reserva de las semillas constituidos especialmente por derivados de la exosa, el almidón, la celulosa de reserva constituida por galactano y manosa, la sacarosa y azúcares mas simples como la glucosa, son sustancias hidrocarbonadas de constitución química compleja, las cuales experimentan notables metamorfosis durante la germinación, llevándolas a sustancias mas simples y solubles de tal manera de hacerlas asimilables y poder así ser utilizadas por la nueva plantita.

La glucosa, glúcido final de la degradación de las sustancias hidrocarbonadas mas complejas, es el azúcar mas importante, utilizada en el proceso germinativo de la semilla.

Los azúcares iniciales de las semillas son los primeros en ser destruidos por combustión respiratoria.

El almidón por acción de la diastasa, la amilasa, presente en las semillas y aumentada durante la germinación, transforma a éste en maltosa, la cual por acción de la maltasa desdobra a la maltosa en glucosa.

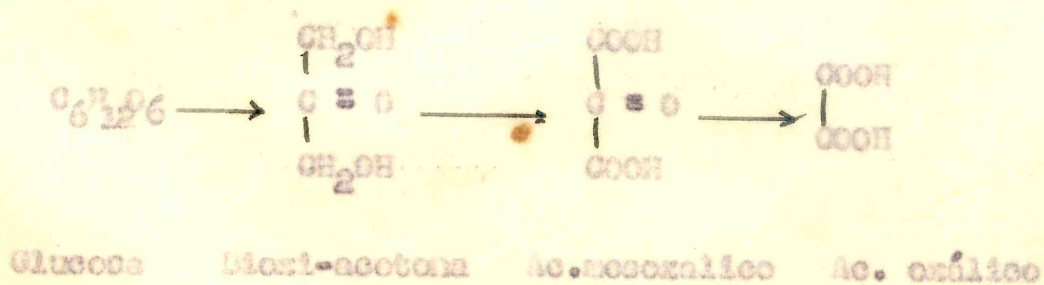
Otros azúcares como la sacarosa son transformados en glucosa en presencia de invertasa.

Los azúcares provenientes del almidón experimentan una serie de sucesivas transformaciones (15) (16). Una parte de ellos son destruidos por combustión respiratoria. Una segunda parte por oxidación incompleta y en ausencia de la luz dan origen a los ácidos, y finalmente una tercera parte por condensación nos dará la celulosa (insoluble) de las nuevas paredes celulares.

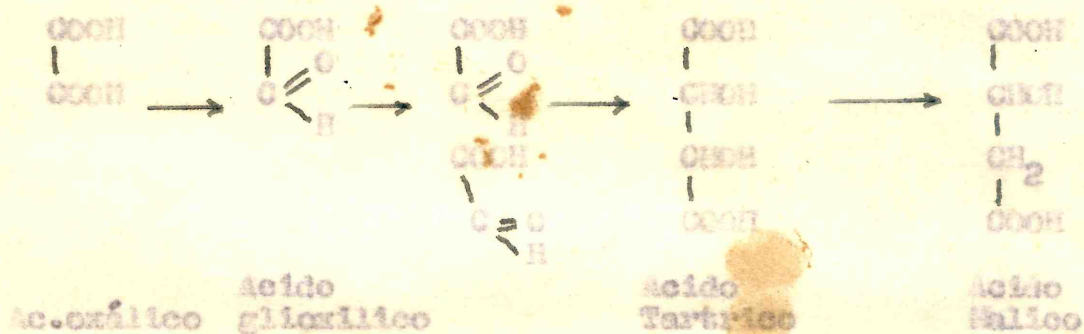
En las semillas esencialmente amiláceas el cociente respiratorio es igual a la unidad lo cual nos indica que los azúcares son completamente oxidados.



Respecto a la formación de los ácidos a partir de la glucosa prima la hipótesis que los considera como derivados de la bioacetona, así podemos concebir la formación del ácido oxálico de la bioacetona al cual se llega por sucesivas oxidaciones:

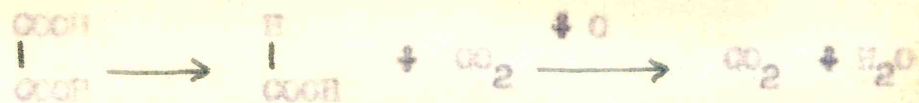


Por sucesivas reducciones del ácido oxálico llegaríamos al málico:



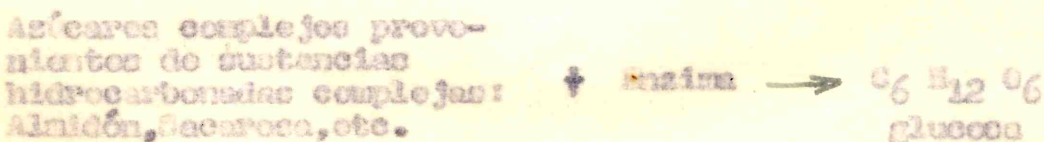
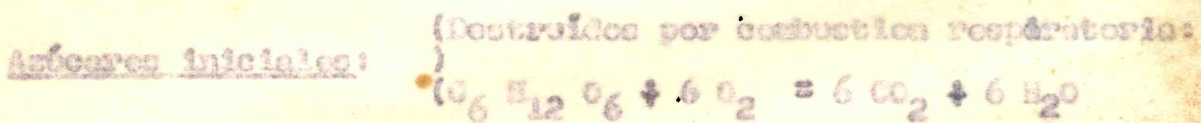
Diremos que la formación de los ácidos tiene lugar en la oscuridad (respiración nocturna) los cuales se decarbilan durante el día.

El quimismo de los ácidos puede interpretarse así: Sea por ejemplo el ácido oxálico,



No todos los ácidos son oxidados completamente, sino que una parte es empleada para la síntesis de las sustancias azucaradas.

Resumen:



- $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ {
- 1) Una parte destruida por combustión respiratoria:
 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 = 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$
 - 2) Formación de ácidos:

$$\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \\ \text{CHOH} \\ | \\ \text{CHOH} \\ | \\ \text{CHOH} \end{array} \xrightarrow{\text{enzima}} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ | \\ \text{C}=\text{O} \\ | \\ \text{COOH} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{COOH} \\ | \\ \text{CHOH} \\ | \\ \text{COOH} \end{array}$$
 - 3) Formación de la celulosa por condensación.
 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 - \text{H}_2\text{O} \longrightarrow (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)$
(celulosa)

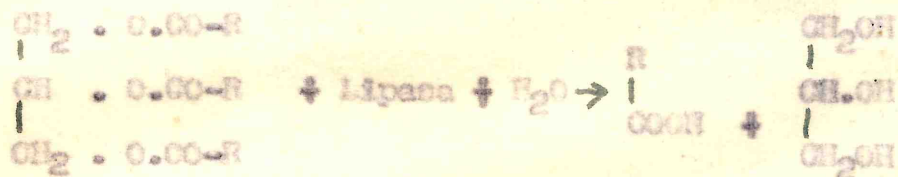
5) Movilización de los lípidos

Simultáneamente con la transformación de los glúcidos, durante la germinación, las grasas experimentan un metabolismo mas complicado.

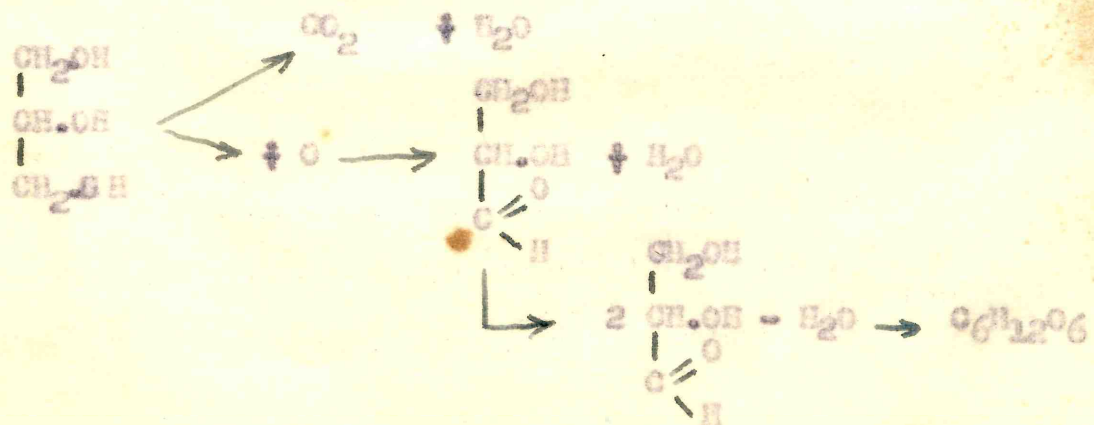
La glicerina y los ácidos grasos como resultado de su hidrólisis se inmediatamente transformados por procesos de síntesis a azúcares solubles, de ahí que la glicerina no se encuentre en cantidades apreciables en las semillas germinadas.

Las materias grasas de reserva de la aleoaginosas, disminuyen rápidamente a medida que la germinación avanza notándose en cambio un aumento de las sustancias azucaradas.

Respecto al mecanismo químico de esta transformación diremos, que una vez iniciada la germinación, las grasas sufren un proceso de saponificación por acción enzimática (lipasa) poniendo en libertad la glicerina y los ácidos grasos.



Como hemos dicho anteriormente la glicerina no se encuentra libre, sino en infimas proporciones, siendo una parte destruída por oxidación respiratoria y otra parte condensada para dar glucosa.



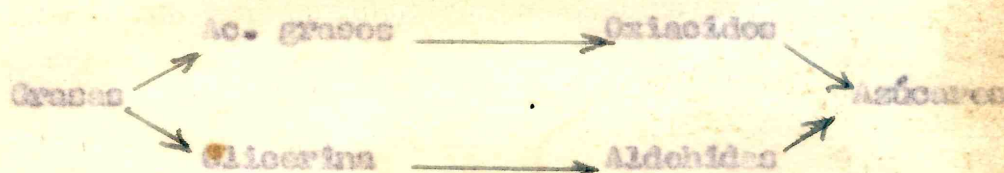
También una pequeña parte de la grasa de reserva es consumida por el proceso respiratorio:



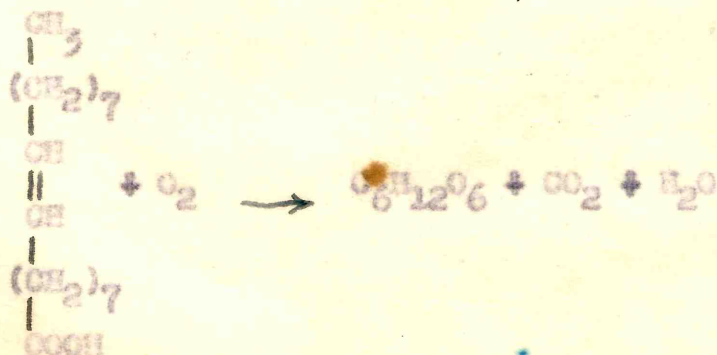
$$\frac{57 CO_2}{80 O_2} = \text{menor que 1.}$$

Esta transformación de grasa en azúcar llega hasta un cierto límite pues una vez transformada la grasa en H. de Carbono, la germinación de las semillas oleosas queda equiparada al caso de las semillas alifáceas. Pasado un cierto tiempo estos azúcares formados desaparecen por oxidación. Respecto al destino de los ácidos grasos provenientes de la hidrólisis de las grasas y su transformación en glucosa nada puede asegurarse (x), pero que la transformación de grasa en azúcar es un proceso oxidativo con absorción de oxígeno lo podemos afirmar.

Según Ivanov este mecanismo puede representarse esquemáticamente de la siguiente manera: (17)



(x) pudiéndose admitir que sean oxidados dando glucosa:



D) Mobilización de las sustancias nitrogenadas.

Visto como la materia grasa de las semillas era transformada en el curso de la germinación, la cual por fijación de oxígeno se convertía en sustancia soluble, azúcares, y a su vez estos azúcares experimentaban condensaciones que los llevaban al estado de celulosa, sustancias insolubles.

Todas las semillas contienen sustancias nitrogenadas.

En lo que respecta al mecanismo del Nitrógeno de las semillas durante la germinación podemos decir que se comporta de otra manera, pues este no se elimina bajo ninguna de las formas, ni libre ni combinada. Andre dice que durante la germinación el nitrógeno permanece constante y si notamos un aumento durante la germinación es debido a que hemos expresado nuestros datos en sustancia seca: pues lo que ha ocurrido es que al desaparecer las sustancias hidrosolubles por combustión el Nitrógeno se concentra.

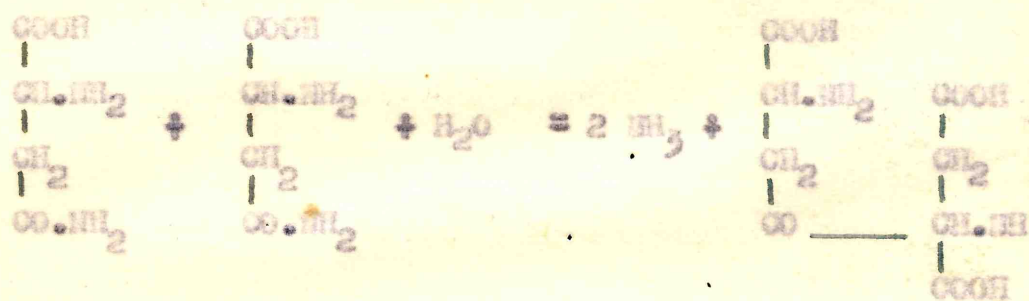
En realidad en un experimento de germinación, Andre opina que el N. debe referirse a 100 semillas germinadas y no de otra manera. Nosotros lo hemos referido a 100 partes de sustancia seca. Las sustancias proteicas de las semillas experimentan también por acción diastásica una serie de transformaciones de tal manera que estas pasan de un estado de colide a otro cristalino obteniéndose como resultado final compuestos de la serie amida.

Cuando se hacen germinar semillas en la oscuridad al cabo de unos días se puede observar que casi la mitad de las sustancias nitrogenadas han pasado a ser solubles en agua. La Asparagina es el aminoácido que más abunda. Estas amidas pueden transformarse en sustancias albuminoides efectuando un proceso reversible, especialmente en las hojas, o acumularse como la Asparagina para ser luego transformada lentamente en albuminoides.

La degradación de las sustancias proteicas comprende dos periodos, uno de hidrólisis de las sustancias proteicas por acción de las enzimas y otro de recondensación.

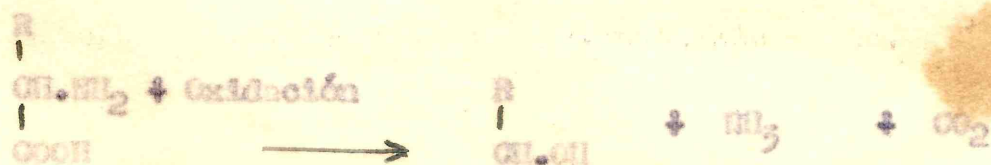
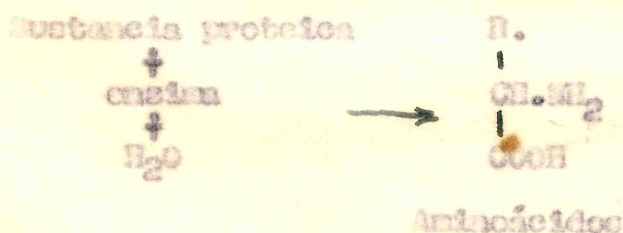
Si la germinación de las semillas se realiza al abrigo de la luz, esta condensación demora en formarse, dando lugar al origen de una serie de productos intermedios permitiendo de esta manera poderlos estudiar, en cambio no ocurre lo mismo a la luz porque los dos periodos son simultáneos. Hemos dicho que las proteínas dan por hidrólisis amino ácidos los cuales por acción de la enzima desaminasa originan el amoníaco y cuerpos no nitrogenados.

Este NH_3 se fijará sobre una sustancia terciaria para dar la Asparagina. El proceso reversible no se conoce bien y puede ser de dos maneras, o bien la Asparagina es transformada en varios amino ácidos y un cierto número de estos se condensan para dar proteína o de lo contrario se produce la condensación de varias moléculas de asparagina para dar otras moléculas cada vez mas complejas hasta llegar así a proteína.

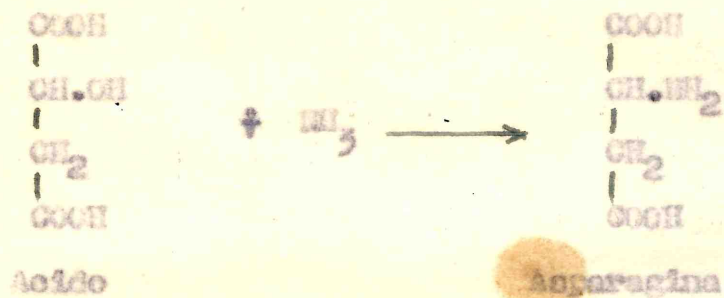


Asparagina

Dipeptide del ácido aspártico

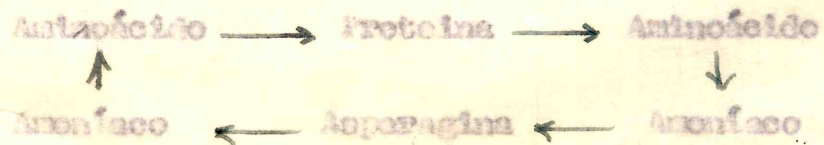


El alcohol es oxidado directamente, en cambio el NH₃ se fija sobre una sustancia no nitrogenada para dar la Asparagina.



Se probó de las experiencias de Prianishnikov que la asparagina no es el producto inicial de la hidrólisis de las sustancias proteicas sino el resultado de la unión de sustancias nitrogenadas con una cadena de carbonos.

El mismo Prianishnikov ilustró las relaciones entre la proteina, la asparagina y el amoniaco con el siguiente esquema:



Quando nos referimos a la transformación de los glucidos vivos que el almidón y otros polisacáridos complejos se transformaban por hidrólisis durante la germinación en azúcares simples y que la síntesis de estos nos llevaba a la celulosa, la cual daba origen a las nuevas células. En realidad podemos decir que el mismo mecanismo de síntesis sufren las proteínas. Estas dan por hidrólisis aminoácidos los cuales originan a su vez al NH₃.

Por síntesis el NH₃ se transforma en asparagina que junto con las sustancias no nitrogenadas da nacimiento a compuestos proteicos que constituyen el protoplasma de las nuevas células.

QUINTA PARTE

A) Determinación de la humedad de las semillas.

En un cristizador previamente tarado se pesan 5 gramos de harina y se llevan a la estufa a una temperatura de 100° - 105°C.

Se retira de la estufa y se coloca en un desecador con cloruro de calcio. Una vez frío a la temperatura ambiente se pesa hasta que dos pesadas consecutivas no acusen diferencia de pesos.

Prácticamente dos horas de estufa son suficientes. Tomamos la precaución de hacer la pesada rápidamente, porque la harina desecada es sumamente higroscópica.

	<u>H</u>
Mancini	10,89
Ostanten	10,58
Virginica	9,55
Heberland	9,84
Illini	10,44
Warden	10,88
Dunfiel	10,51

B) Germinación del poroto de soja en el laboratorio

La germinación del poroto de soja en el laboratorio ha sido para nuestro trabajo tal vez el pasaje más delicado e interesante. Delicado por precauciones que hay que tomar pero el caso es interesante porque vamos siguiendo día a día la evolución de la semilla. Las cualidades germinativas de las semillas no son siempre las mismas, pues una misma semilla en idénticas condiciones no nos ha dado igual resultado.

Para realizar nuestro trabajo en el laboratorio, recurrimos al empleo de aparatos especiales llamados germinadores, que como ya hemos mencionado anteriormente son capaces de dar a las semillas en forma automática las tres condiciones indispensables para que germinen, Humedad, Calor, Aire. Para dar a las semillas lecho de germinación o sea la humedad necesaria cualquiera de estos medios son convenientes: arena, turba, aserrín, franco, papel de filtro, arcilla porosa, etc. De preferencia usamos papel de filtro por su fácil renovación. Se puede hacer germinar las semillas colocándolas en papel de filtro en forma de paquetes o bien distribuir las en hileras sobre el papel que es la que nosotros hemos adoptado.

Por medio de orificios efectuados en lugares adecuados del mueble se pudo dar a las semillas el aire necesario, de tal manera que este no incidía directamente sobre las mismas.

El calor fué suministrado mediante lamparillas eléctricas con filamentos de carbón colocadas en la parte inferior del mueble.

Las semillas fueron germinadas en la obscuridad, en un ambiente aireado y húmedo a una temperatura constante de 28°C.

El germinador utilizado es el sistema "Ecoing" como muy práctico y sencillo (18).

Esta compuesto de una caja de zinc de las siguientes dimensiones: 40 cm. de largo, 30 cm. de ancho por 7 cm. de alto. Dimensiones susceptibles de variar a voluntad.

El interior de la caja lleva unos soportes en los bordes del mismo material que sirve de apoyo a lá láminas de vidrio separadas una de otra por un intervalo de 1 cm. Sobre estas láminas son colocados los papeles de filtro de tal modo que los bordes alcancen al agua que está en el interior de la caja. El papel de filtro a emplearse debe ser fuerte y de buena calidad. De esta manera se suministra a las

semillas un grado continuo de humedad que se puede aumentar o disminuir dejando el papel entero para que todo el borde este en contacto con el agua o bien recortandolo de modo que solamente algunas tiras alcancen el liquido.

La caja lleva en cada una de las cuatro esquinas unos soportes que servirán para hacer descansar la tapa, dejando una separación entre las láminas de vidrio y estas a los efectos de permitir la eliminación del anhídrido carbónico y dar lugar suficiente a la plantita. El agua que se evapora condensa en el interior de la tapa manteniendo de esta manera una humedad constante.

El germinador fué colocado en el interior de un mueble de madera el cual tiene en los dos extremos superior e inferior unos orificios que hacen que se establezca una corriente de aire circulante de abajo hacia arriba. Un termómetro colocado en el interior nos dara la temperatura del ensayo.

C) Preparación de las semillas

Una buena germinación puede ser obtenida de una buena semilla, y para que esta así se realice es necesario eliminar los granos rotes y apollados que constituirían un foco de infección, para ello las heces sumergido en agua y separado las semillas que sobrenadaban.

Como la proliferación bacteriana es muy común en estos trabajos, la hemos evitado destruyendo las bacterias y esporos de los hongos con una solución de bicloruro de mercurio al 1/1000 (19), que no altera en esta proporción las cualidades germinativas de las semillas. Fueron sumergidas por espacio de cinco minutos y luego lavadas con abundante agua destilada, debiendo quedar el tegumento exterior, intacto, despues de lo cual se colocaron en forma de hilera sobre el papel de filtro.

Las semillas fueron retiradas del germinador cada tres días por medio de una pisa metálica. Con todas estas precauciones las semillas germinaron perfectamente hasta los 14 días al fin de los cuales ya fué imposible continuar la misma. Después de cada germinación los germinadores fueron lavados perfectamente con cepillo y agua jabonosa y luego con solución de bicloruro de mercurio al 1/1000. Con la ayuda de un algodón embebido en la solución desinfectante fué repasado el interior del mueble para asegurarnos de esta manera una nueva germinación.

SIXTA PARTE

A) Valoración de las sustancias nitrogenadas

Para la determinación del Nitrogeno total de las sustancias nitrogenadas hemos empleado el clásico método de Kjeldhal, basado en el siguiente principio: el nitrogeno de las sustancias a analizar es convertido por ebullición prolongada con ácido sulfúrico concentrado en sulfato de amonio, y en una segunda operación, por destilación, se descompone este sulfato de amonio por la acción de un alcali fijo, poniendo amoníaco en libertad que se recoge sobre un ácido titulado el cual será neutralizado en proporción a la cantidad de amoníaco presente. Conocido el amoníaco fijado al ácido valorado se calcula la cantidad de nitrogeno y multiplicando dichos valores por el factor 6,25 convertimos el nitrogeno en sustancia proteica.

Preparación de la muestra:

Hemos determinado el nitrogeno en el polvo de Soja antes y después de la germinación. Para el primer caso, fué molido directamente en un molinillo de café, hasta reducirlo a

una harina mas o menos fina, y en el segundo caso despues de germinada, la semilla fué colocada en una cristalizador, secada a la estufa a una temperatura de 100° a 105° C y finalmente pulverizada como en el caso anterior.

Hago notar que los datos posteriormente obtenidos, son dados en consecuencia directamente en sustancia seca, para las semillas germinadas, no así para las no germinadas en las cuales fué necesario deducir de los resultados finales la humedad de la misma.

Tambien dejo constancia que en las semillas germinadas fué empleada la plantita completa, cotiledones, tallos y raicillas.

B) Valoración de las sustancias grasas

La valoración de las grasas totales se hizo por pesada usando para la extracción el procedimiento de Soxhlet.

Dos gramos de la muestra previamente pulverizada y seca fueron colocadas en un dedal de papel de filtro, agotando el contenido del mismo con éter sulfúrico por espacio de 48 horas.

Despues del tiempo transcurrido la materia grasa fué filtrada a un cristalizador de paredes altas, utilizando un filtro pequeño. Evaporado el éter en B.M. lo llevamos a la estufa a 100° - 105° C. por espacio de una hora. Se coloca en un secador con cloruro de calcio y una vez frío a la temperatura ordinaria se pesa.

C) Valoración de las sustancias hidrocarbonadas.

Las semillas fueron preparadas de la misma manera como se hizo para la valoración del Nitrógeno. Tres métodos fueron ensayados para este fin: Benedict, Felin y van y Pehlig Bensons.

Practicando los análisis repetidas veces sobre una misma semilla por

Los tres métodos, se comprobó que no había diferencias apreciables optando por tal motivo, por el más cómodo y sencillo como lo es el método de Benedict.

En los datos obtenidos estas calculadas todas las sustancias capaces de transformarse en azúcares reductores por una previa hidrólisis de una hora en baño de arena con refrigerante a reflujo usando HCl de $D = 1,125$.

La cantidad de glucosa obtenida se multiplica por el factor 0,9 para referirlo a almidón.

Trabajamos sobre 2 gramos de semilla seca y decolorada, usando el contenido del codal utilizado para la extracción de la materia grasa.

Neutralizamos con NaOH concentrado, hasta reacción alcalina, y llevamos a volumen de 100 cm^3 .

2,5 cm^3 de Reactivo de Benedict corresponden a 0,005 g. de glucosa.

GLUCOSA (expresados en almidón)

		<u>Días de germinación</u>				
<u>Soja OTANTAN:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	18,89	14,45	15,14	15,43	16,61	18,61
	18,99	14,76	15,23	14,09	16,06	19,10
<u>Promedio:</u>	18,94	14,60	15,18	15,76	16,33	18,85

		<u>Días de germinación</u>				
<u>Soja HANDELAND:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	17,28	11,45	12,55	13,25	16,02	17,28
	17,38	11,98	12,20	14,16	17,00	19,53
<u>Promedio:</u>	17,33	11,71	12,36	13,70	16,51	18,29

		<u>Días de germinación</u>				
<u>Soja VIRGINIA:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	21,00	14,92	14,04	14,85	17,28	22,50
	21,96	15,66	15,51	16,41	17,28	22,00
<u>Promedio:</u>	21,48	15,29	14,77	15,63	17,28	22,25

		<u>Días de germinación</u>				
<u>Soja LILIA:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	18,72	15,66	13,23	13,43	16,20	19,53
	18,72	14,99	14,00	14,09	17,28	22,75
<u>Promedio:</u>	18,72	15,32	13,61	13,76	16,74	21,24

		<u>Días de germinación</u>				
<u>Seda MANGITU:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	17,44	15,66	14,96	14,99	16,40	18,57
	18,01	14,76	14,16	15,08	16,56	19,56
<u>Expedio:</u>	17,72	15,21	14,56	15,03	16,48	19,06

		<u>Días de germinación</u>				
<u>Seda MUSEQUE:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	18,10	14,98	13,23	16,06	16,61	18,80
	19,09	14,76	14,04	15,63	17,88	19,55
<u>Expedio:</u>	18,59	14,87	13,63	15,84	17,24	19,57

		<u>Días de germinación</u>				
<u>Seda DUMPLA:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	20,58	17,41	16,60	17,28	19,53	21,75
	19,52	14,76	13,23	13,43	17,86	20,43
<u>Expedio:</u>	20,05	16,08	14,91	15,35	18,69	22,79

Q U E R Q

Base de cotizaci6n

<u>Q U E R Q</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
QUINTAN	18,94	14,60	13,18	13,76	16,53	18,85
QUEBLAND	17,53	14,72	12,36	13,70	16,51	18,29
VIRGIBIA	21,48	15,29	14,77	15,63	17,28	22,25
ILLINI	18,12	15,32	13,61	13,76	16,74	21,24
HANGHU	17,72	15,21	14,56	15,03	16,48	19,06
MURDEN	18,59	14,67	13,63	15,04	17,24	19,97
DUNFIEL	20,05	16,08	14,91	15,35	18,69	22,79
<u>Expediente</u>	18,97	15,72	13,85	14,72	17,03	20,20

VALORACION DE LIPIDOS

		<u>D i a s de germinación</u>				
<u>Soja OTANTAN:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	20,20	21,60	17,30	14,23	11,61	9,61
	20,00	21,09	17,99	14,10	11,30	9,68
<u>Promedio:</u>	20,10	21,34	17,14	14,16	11,45	9,64

		<u>D i a s de germinación</u>				
<u>Soja HERBILAND:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	21,16	22,36	17,51	16,52	13,60	10,50
	20,96	22,16	17,51	16,66	13,97	11,11
<u>Promedio:</u>	20,56	22,21	17,51	16,59	13,78	10,55

		<u>D i a s de germinación</u>				
<u>Soja ILLINI:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	19,93	21,82	16,97	15,33	11,98	9,96
	20,02	22,16	19,14	14,22	10,23	8,14
<u>Promedio:</u>	19,97	21,99	18,05	14,77	11,10	9,05

Días de germinación

<u>Soja MARIKI:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	19,93	21,48	19,47	14,62	12,18	11,11
	19,86	20,64	17,11	13,97	10,95	9,97
<u>Promedio:</u>	19,89	21,06	18,29	14,34	11,56	10,54

Días de germinación

<u>Soja MARIKI:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	20,10	21,12	19,54	15,95	13,54	11,35
	20,14	21,05	19,64	15,54	13,10	11,26
<u>Promedio:</u>	20,12	21,08	19,60	15,73	13,32	11,30

Días de germinación

<u>Soja MARIKI:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	18,64	22,74	19,17	16,99	14,67	12,00
	19,00	21,48	19,15	15,92	13,54	11,66
<u>Promedio:</u>	18,82	22,11	19,16	16,45	14,10	11,83

Días de germinación

<u>Soja VIRGINIA:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	19,23	20,75	16,79	14,59	11,96	8,16
	19,96	20,56	17,14	14,17	10,22	7,90
<u>Promedio:</u>	19,59	20,65	16,92	14,38	11,00	8,03

E I R I M O S

Días de germinación

<u>S O J A</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
OTAWAU	20,10	21,34	17,14	14,16	11,45	9,64
HEBRLAND	20,56	22,21	17,51	16,59	13,78	10,55
ILLINI	19,97	21,99	18,05	14,77	11,10	9,05
HURDEN	19,89	21,06	18,29	14,34	11,56	10,54
DUNFIEL	20,12	21,08	19,60	15,73	13,32	11,30
MANOHU	18,82	22,11	19,16	16,45	14,10	11,83
VIRGINIA	19,59	20,65	16,92	14,38	11,09	8,03
<u>Exposición:</u>	19,86	21,49	18,09	15,20	12,34	10,13

VALORACION DE PROTEINOS (Nitrógeno por 6,25)

		<u>Días de germinación</u>				
<u>Soja OTANTAN:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	42,74	42,07	42,66	43,07	45,60	48,24
	42,72	42,31	43,02	44,56	47,98	52,16
<u>Promedio:</u>	42,73	42,19	42,84	43,81	46,79	50,06

		<u>Días de germinación</u>				
<u>Soja VIRGINIA:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	42,68	42,36	42,83	44,68	48,57	52,76
	42,96	41,79	41,97	47,98	47,78	55,72
<u>Promedio:</u>	42,82	42,07	42,40	46,33	48,17	54,24

		<u>Días de germinación</u>				
<u>Soja MANOHU:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	44,61	45,35	45,63	47,94	53,57	55,74
	43,28	44,60	45,31	46,34	53,54	56,82
<u>Promedio:</u>	43,94	44,97	44,47	47,14	53,55	56,28

		<u>Días de germinación</u>				
<u>Soja HERBRLAND:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	42,72	42,90	43,66	44,55	48,58	52,16
	43,26	42,07	43,02	46,34	49,82	53,57
<u>Promedio:</u>	42,99	42,48	43,38	45,44	49,15	52,86

D i a s d e c o r r i n a c i ó n

<u>Soja DANFIELD:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	43,26	42,51	43,02	43,21	47,73	50,82
	43,26	42,07	43,02	46,34	49,82	53,57
<u>Promedio:</u>	42,99	42,48	43,38	45,44	49,15	52,86

D i a s d e c o r r i n a c i ó n

<u>Soja ELLEN:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	40,50	40,44	41,55	47,98	48,58	53,96
	40,96	40,05	43,17	46,34	48,78	52,76
<u>Promedio:</u>	40,73	40,24	43,86	42,16	47,16	53,16

D i a s d e c o r r i n a c i ó n

<u>Soja MUNDEN:</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
	43,28	42,90	48,69	48,77	53,57	57,11
	44,63	44,56	45,35	46,34	57,23	57,11
<u>Promedio:</u>	43,95	43,73	47,02	47,55	55,55	57,11

PROTIDOS

Días de germinación

<u>S O J A</u>	<u>Inicial</u>	<u>3</u>	<u>6</u>	<u>9</u>	<u>12</u>	<u>15</u>
ORANMAN	42,73	42,19	43,24	43,81	46,79	50,06
VIRGINIA	42,82	42,07	42,40	46,33	48,27	54,24
HANGHU	43,94	44,97	44,47	47,14	53,55	56,28
HEDDRLAND	42,99	42,48	43,38	45,44	49,19	52,86
DUNFIELD	43,00	42,05	43,34	43,51	48,77	51,49
MURDIN	43,95	43,73	47,02	47,55	55,35	57,11
ILLINI	40,73	40,24	43,86	42,16	47,16	53,16
<u>Procedios:</u>	42,88	42,97	43,90	45,13	49,24	53,60

RESULTADO

Hemos comprobado que hasta el tercer día de germinación las variaciones experimentadas en la composición química de las semillas no son de tanta importancia no así la constitución física de las mismas pues en este corto plazo han aumentado notablemente de volumen. Esta hinchazón es el punto de partida de la evolución de la nueva planta. Ya vimos anteriormente que el significado de ésta hinchazón responde a dos fenómenos, uno físico, presión osmótica y otro químico, acción hidrolizante de las enzimas.

Con excepción de las materias grasas que aumentan ligeramente hasta el tercer día como lo han demostrado Neuman y Mac Lachlan en Soja germinada, los demás resultados no presentan variaciones apreciables.

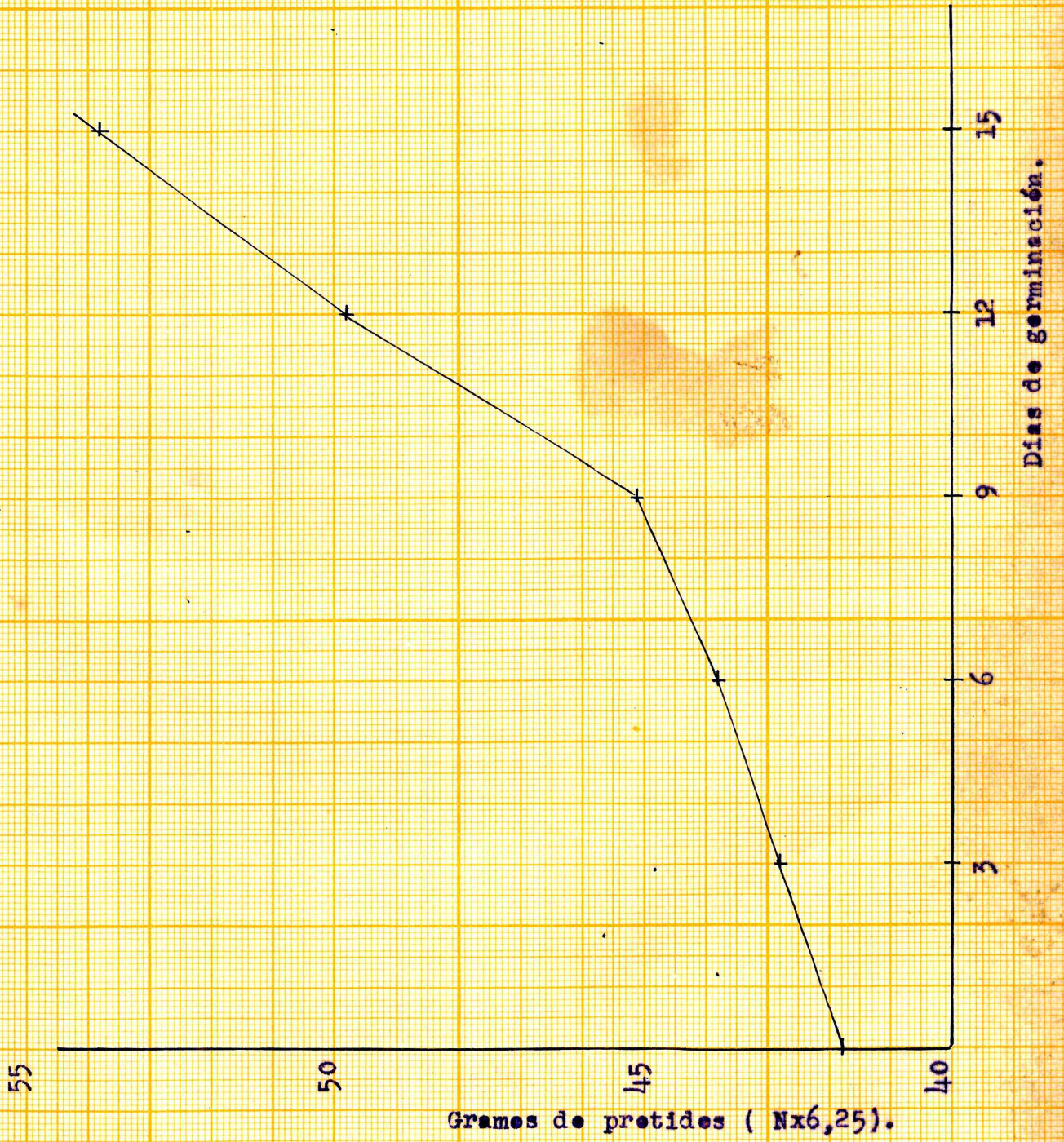
Recién a partir de los 3 días de germinación el fenómeno de la movilización de las reservas es mas visible, notándose un brusco descenso de los lípidos, los cuales al final de la germinación 18 a 20 días ya se encuentran exhaustos.

Contrariamente a los lípidos sucede con los glúcidos los que disminuyen hasta el sexto día para ir luego en aumento hasta el final de la germinación, la cual nos está indicando el fenómeno de la conversión de lípidos en glúcidos.

En lo que respecta a los proteínas diremos que han sido calculados en base a sustancias seca y no a un número determinado de semillas como aconseja Maximov y André, razón por la cual hemos notado que estos aumentan a medida que la germinación progresa.

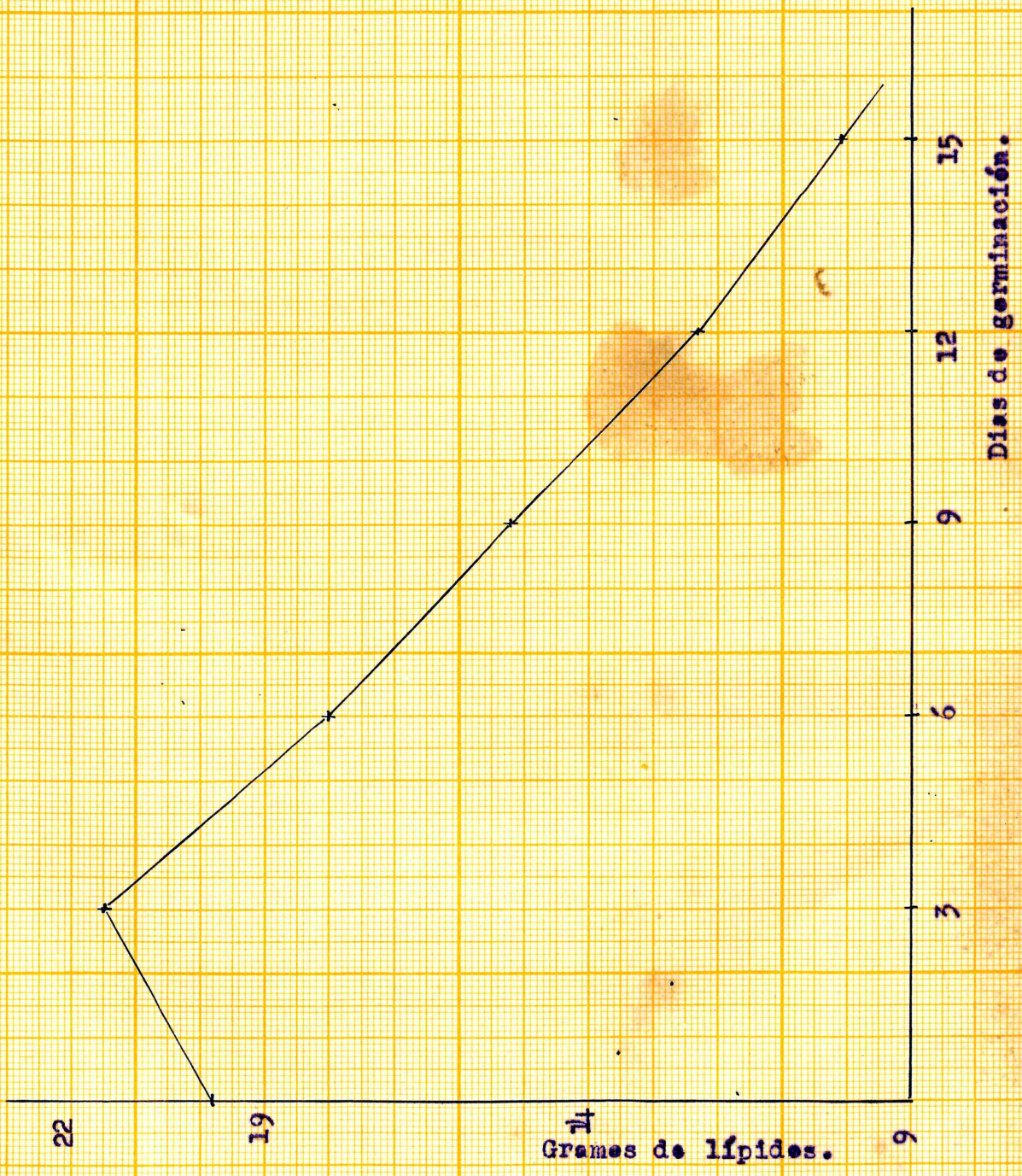
PROTIDOS

PROMEDIO DE 7 VARIEDADES DE SEMILLAS GERMINADAS.



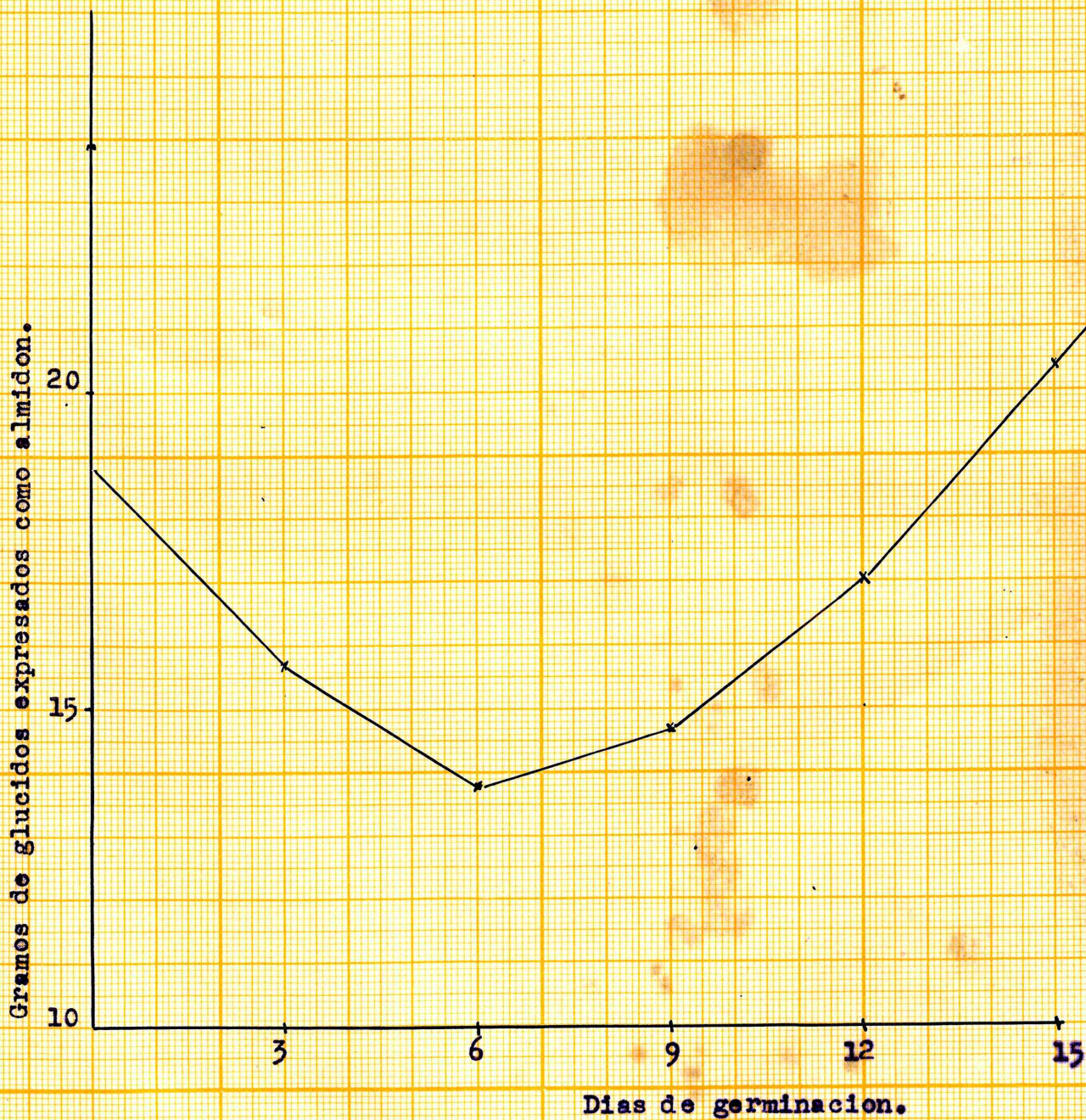
LIPIDOS

PROMEDIO DE 7 VARIEDADES DE SEMILLAS GERMINADAS.



GLUCIDOS.

PROMEDIO DE 7 VARIEDADES DE SEMILLAS GERMINADAS.



CONCLUSIONES

De las curvas confeccionadas con los datos obtenidos, surgen para mí las siguientes conclusiones en concordancia con otros trabajos realizados en el extranjero.

1ª) que los glúcidos iniciales son los primeros en ser destruidos por combustión respiratoria, razón por la cual éstos descienden en los primeros días de la germinación.

2ª) que el aumento de los glúcidos a partir del sexto día de germinación nos está indicando una transformación de los lípidos de reserva.

3ª) que los prótidos aumentan a medida que las semillas germinan.

Juan A. Ruiz

BIBLIOGRAFIA

- 1) Ministerio de Agricultura. Dirección de experimentación agrícola
Divulgación Agrícola n° 6. Octubre 1946. Ing. G.A. Gilardi
Estación Experimental a la Molina. Perú.
- 2) Las leguminosas Argentinas. Arturo Durkatz 1943.
- 3) La Soja. M.A.H. Sección propaganda e informes circular n° 224
29.II.1924.
- 4) Legumbres y cereales germinados como un sustituto en las dietas
de los vegetales frescos.
W.A. Andreas, H.A. Chalmers, H.M. Mc. Parlano.
Folleto especial del Mc. Donac College Journal Serie n° 198
1945. Vol. 25 p. 504 (traducción).
- 5) Tesis Dr. Ricaldoni
- 6) La Soja. Fulvio Bottari (texto)
- 7) Soybean chemistry and Technology.
Klare S. Kirkley y Warren H. Goss. 1944 (texto).
- 8) Chimica Vegetale Giro Ravenna.
- 9) Botánica aplicada a la Farmacia. Olg. Schürhoff.
- 10) Jacques Houget. Bull. Soc. Chim. Biolog. 24- 346 (1942).
- 11) Química Agrícola. Química Vegetal. Gustavo André.
- 12) Jacques Houget. Chemical Abstracts 4647⁶ 1944
- 13) Jacques Houget. Ch. Abs. 3693⁵ 1944
- 14) John B. Harlin. C.A. 2392⁸ 1934
- 15) G. Ravenna p. 305
- 16) G. André p. 326.
- 17) Fisiología Vegetal. Nicolai Maximov 1946.
- 18) Folleto del M.A.H. Divulgación de Análisis de semillas. Algunas
observaciones acerca del ensayo germinativo de las semillas B.A.
- 19) Metabolismo de las grasas en plantas con especial referencia a
costerolea F.L. Mac Lachlan. J. Biol. Chem. 113, 197 (1936).