

ESTUDIO FITOQUIMICO DE LAS NUECES (SEMILLAS) DE LECYTHIS ELLIPTICA

Trabajo realizado en el laboratorio de Investigaciones Fitoquímicas, del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional, por los Profesores JAIRO CALLE A., Q. F. y LUZ STELLA OSPINA DE NIGRINIS, Q. F., dirigido por el Dr. EDUARDO CALDERÓN GÓMEZ.

A) INTRODUCCION

Dentro del Programa de Investigaciones Fitoquímicas se emprendió el estudio de las nueces (semillas) de *Lecythis Elliptica* recogidas en la región de la costa norte de Colombia.

Como las semillas contienen aceite, originalmente se pensó orientar este trabajo a la determinación y estudio de dicho aceite; pero al consultar la bibliografía se encontraron afirmaciones contradictorias sobre la toxicidad de las semillas.

Romero Castañeda dice textualmente: "Las semillas contienen aceite y son de agradable sabor. Se comen crudas, tostadas o en confituras pero tienen poco consumo ya que la inmensa mayoría de los habitantes de las regiones donde este vegetal se encuentra, ignoran sus cualidades nutritivas. Pueden ser objeto de apreciable comercio interior y exterior" (1).

Sin embargo, encuestas personales con habitantes de dichas regiones llevan a la conclusión de la firme creencia popular y al parecer bien fundamentada, de la toxicidad de esas semillas.

Por otra parte Francisco Kerdel-Vegas (2) informa que la ingestión de nueces de *Lecythis Elliptica* recogidas en ciertas regiones del norte de Suramérica puede causar caída del cabello y de las uñas lo mismo que náuseas y aun la muerte, atribuibles a la intoxicación por selenio.

John D. Dickson* (3), refiere una experiencia personal, como consecuencia de la ingestión continuada de las nueces. (El informante calcu-

* Botánico Asistente de los Laboratorios Vining C. Dunlap, Tela Railroad Co. (Una subsidiaria de la United Fruit Co.). Lima, Honduras, Centroamérica.

la que consumió una libra en un período de dos semanas). Notó caída del cabello y de las uñas. Igualmente el mismo autor informa que él comenzó a expedir un olor particular, especialmente en el aliento, el cual podía percibirse aun dos semanas después de haber suspendido la ingestión de las nueces.

No se ha podido obtener información sobre si estos fenómenos tóxicos se presentan siempre con las nueces de *Lecythis Elliptica* independientemente de su origen geográfico, o solamente con las de algunas regiones.

El mismo Dickson dice que hasta el momento de su intoxicación nunca había oído de que nadie hubiera sufrido lesiones por el consumo de las nueces.

En estas circunstancias se resolvió prolongar la investigación con estudio de la presencia de selenio en las semillas.

Como es bien sabido existen plantas acumuladoras de selenio (indicadoras y facultativas), el cual forma parte de las proteínas constituyentes de las mismas.

El mecanismo mediante el cual este elemento es asimilado por la planta parece ser competitivo, desalojando un elemento cuyas propiedades sean similares a las del elemento que va a ser substituído.

El compuesto químico resultante puede ser completamente funcional o su efectividad metabólica puede ser disminuída o totalmente anulada. El hecho de que el elemento alternante pueda reemplazar al normalmente funcional, indica una compatibilidad química y estérica, o sea que debe ocurrir un acoplamiento total.

Muchos investigadores han estudiado la incorporación de selenio en compuestos orgánicos por plantas acumuladoras de este elemento; para el efecto han utilizado selenitos marcados con Se^{75} . Shirft, Shirft y Vyrupaksha (4) hicieron un estudio en hojas de *Astragalus Crocotalarie*, y observaron que estas especies asimilan el selenio en forma de seleno metil selenocisteína. Este mismo comportamiento fue observado en la *Oonopsis Condensata*.

Peterson y Butler (5) estudiaron el caso en la *Neptunia Amplexicaulis*, especies acumuladoras de selenio. Identificaron selenoaminoácidos análogos a los aminoácidos azufrados tales como seleno cistina, seleno metil selenocisteína, selenocisteína, selenometionina y selenometionina selenoxido entre otros.

Podría pensarse entonces que en el caso de la *Lecythis Elliptica* el selenio desaloja el azufre de los aminoácidos de las proteínas dando lugar a la formación de selenoaminoácidos, lo cual será objeto de comprobación.

B) DESCRIPCION BOTANICA

La *Lecythis Elliptica* H B K (*Lecythis Minor*) DC, se encuentra en abundancia en la región norte de Colombia. Se conoce con los nombres comunes de Coco-mono, en Chimichagua y El Banco (Magdalena); Olla de Mono, en Atlántico, Bolívar, la Guajira, Magdalena; Olleto, en Atlántico; Ollita de Mono, en Atlántico y Magdalena (1).

“Se trata de un árbol de unos veinticinco metros de altura, copa dilatada; corteza de color gris pardusco, con profundas estrías; las ramas jóvenes son vellosas. Pertenece a la familia de las Lecitidáceas.

El fruto es leñoso, pardusco, de tamaño variable y en forma de urna con una tapa u opérculo que cae al suelo en la madurez; las semillas en número de diez a diez y seis tienen forma oblonga con ápice obtuso, presenta una envoltura de color castaño, con líneas más o menos profundas y están colocadas sobre un cuerpo carnososo amarillo, que se denomina funículo. Los cotiledones son la porción comestible”. Figs. 1 - 2 y 3.

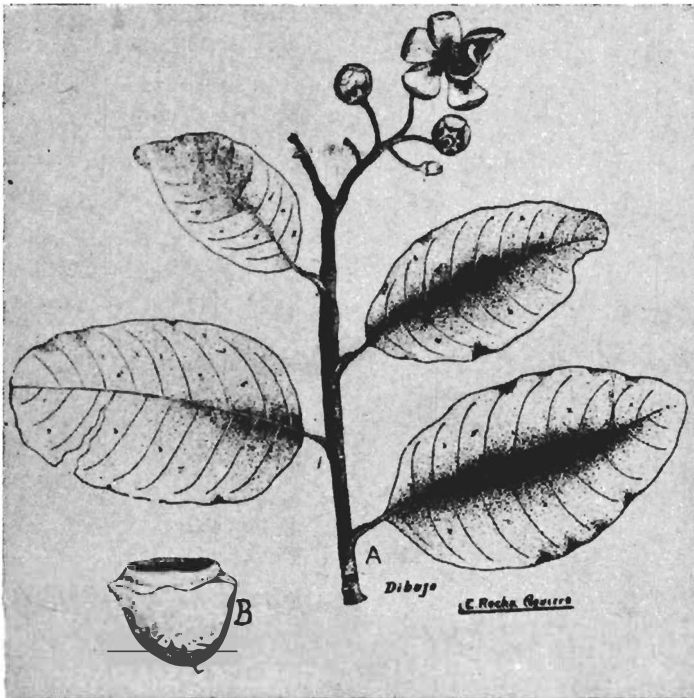


FIGURA 1. — A) Rama con hojas y flores; B) Fruto visto lateralmente.



FIGURA 2. — Fruto.

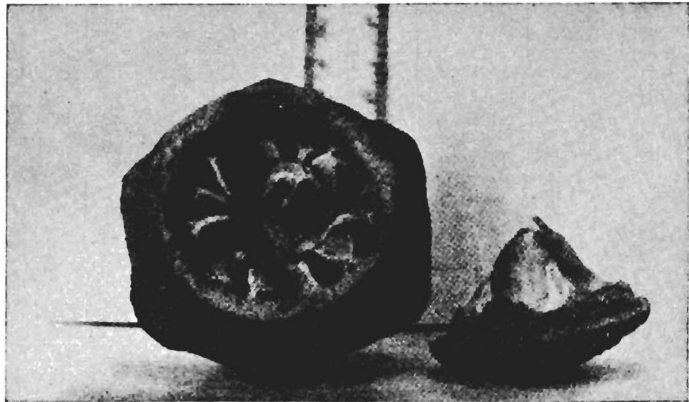


FIGURA 3. — Fruto con las semillas.

C) TRABAJO EXPERIMENTAL

1. *Determinación del endospermo:*

El material que se va a estudiar está formado por las semillas. Una cantidad pesada de estas semillas se despoja de la envoltura por contusión cuidadosa, se recoge el endospermo y se pesa. Este peso representa el 43% del peso total de la nuez.

2. *Extracción del aceite:*

El endospermo es triturado hasta obtener una consistencia pastosa y luego es sometido a un proceso de extracción continua en soxhlet, durante doce horas, o hasta agotamiento total de grasa, empleando como solvente una mezcla a partes iguales de éter etílico y cloroformo. También se puede efectuar la extracción utilizando éter de petróleo (punto de ebullición 40 - 60°C), obteniéndose mejor rendimiento con este solvente.

3. *Determinación cuantitativa del aceite:*

Siguiendo la técnica de K. Paech y M. V. Tracey (6) se obtuvo un resultado promedio (cuatro determinaciones) del 53% en relación al endospermo.

4. *Estudio del aceite:*

a) Descripción. Es un líquido poco viscoso, de color amarillo claro, sabor agradable, olor agradable. Es un aceite fijo.

b) Constantes físicas (7).

Densidad a 25°C	0.9251
Índice de refracción a 25°C	1.4698
Punto de solidificación (8)	de 1°C a menos 1.2°C.

c) Constantes químicas.

Índice de acidez (9)	10.4
Índice de ésteres (9)	207
Índice de Polenske (9)	1.6
Índice de Reircht Meissl (9)	0.7
Índice de saponificación (10)	218
Índice de yodo (10)	85
Índice de Tiocianógeno (11)	60
Residuo insaponificable (11)	0.4%

d) Composición química del aceite.

Se empleó como método de análisis la cromatografía en fase gaseosa de los ésteres metílicos de los ácidos grasos.

Equipo.

Cromatógrafo de Gases Perkin Elmer modelo N^o 820 el cual se operó en las siguientes condiciones:

Detector de conductividad térmica. Corriente: 150 ma.

Gas de arrastre: Helio, presión: 30 lb/plg².

Velocidad de flujo: 20.1 ml./min.

Columna BDS (Butanediol Succinato al 15% Cromosor W).

Longitud de la columna: 12 pies (3.66 mts.).

Diámetro de la columna: 1/8 de pulgada (0.32 cm.).

Tubo de acero inoxidable.

Temperatura del inyector: 272°C.

Temperatura de la columna: 200°C.

Temperatura del detector: 205°C.

Atenuación del registrador: 1

Muestra inyectada: 0.3 microlitos.

Preparación de los ésteres metílicos (12).

Se siguió la técnica de la transesterificación, la cual consiste en la formación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos por un proceso de catálisis con KOH en metanol, evitando cualquier traza de humedad mientras ocurre la reacción. La técnica seguida emplea solución 0.2 N. de KOH en metanol. Se pesa con exactitud una muestra vecina a 5 gramos de aceite, se adicionan 25 ml. de KOH 0.2 N. y se somete a calentamiento con reflujo en baño de maría durante 4 horas o hasta que la muestra sea homogénea. Se deja enfriar y se adiciona un volumen igual de agua fría quedando una solución opalescente. Los ésteres metílicos formados se extraen con tres porciones de 25 ml. de éter sulfúrico. Los extractos etéreos se reúnen y se lavan hasta fin de alcalinidad con agua destilada (unos ml. del último lavado no presentan coloración rosada con solución indicadora de fenoltaleína).

El extracto etéreo obtenido se filtra sobre sulfato de sodio anhidro para eliminar cualquier traza de humedad. Este extracto se concentra removiendo el éter mediante el uso de una corriente de aire seco y el residuo se deja en la estufa a baja temperatura durante dos horas (50°C) para remover cualquier traza de humedad.

NOTA: G. S. JAMEISON en su libro sobre aceites y grasas habla de un análisis practicado a unas semillas de *Lecythis Elliptica* procedentes de Colombia. Encontró que el endospermo representa el 64% del peso total de la nuez. El contenido de aceite fue de 57.6%. El aceite presentó un índice de yodo de 114.4 y un índice de Tiocianógeno de 72.7.

CROMATOGRAFIA DE LOS LÍPIDOS

DE LAS SEMILLAS DE "LECYTHIS ELLIPTICA"

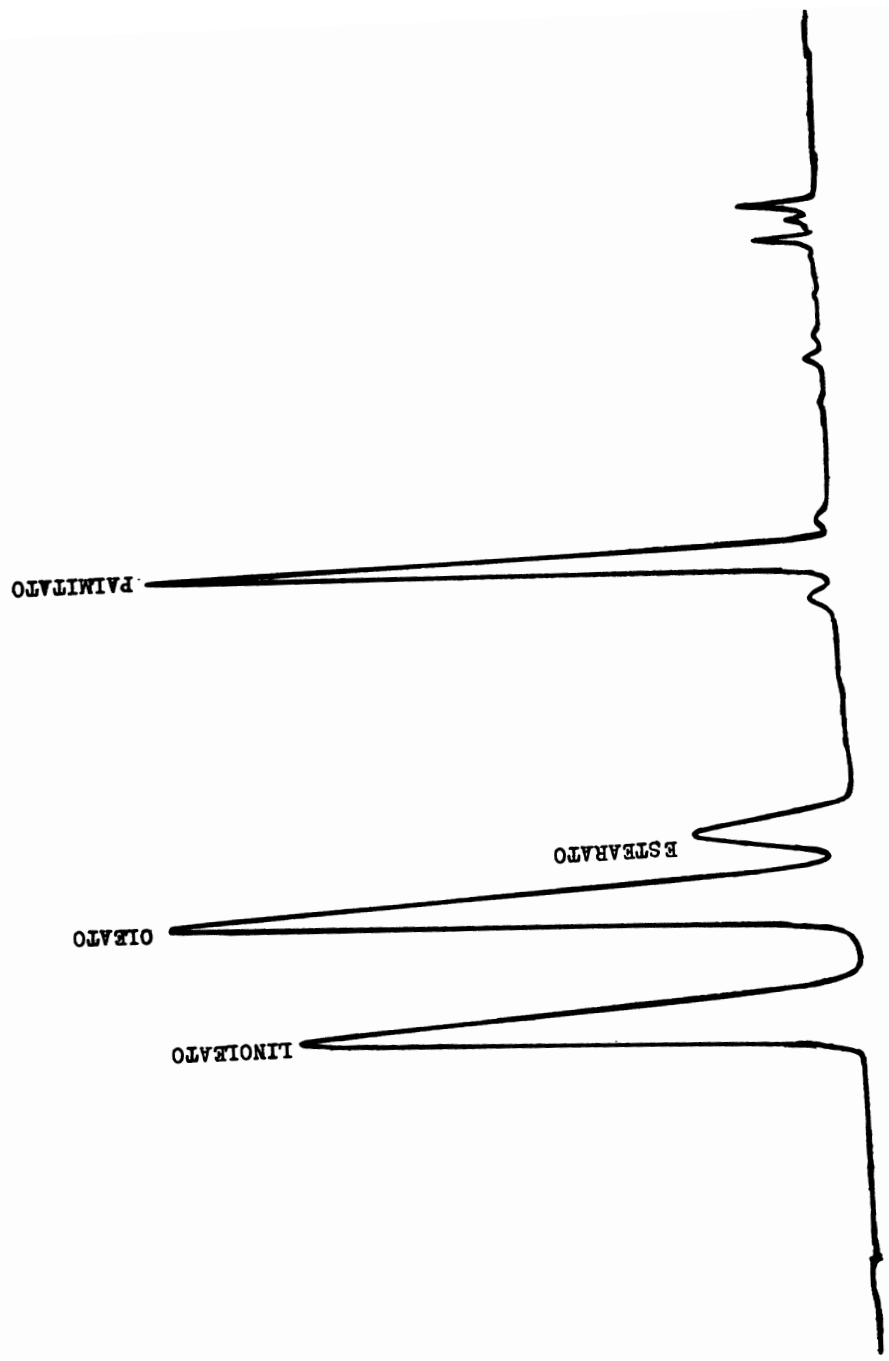


FIGURA 4.

Resultados. Utilizando los cromatogramas obtenidos (Fig. 4), se identificó la presencia en la muestra de los ácidos palmítico, esteárico, oleico y linoleico.

NOTA: Al lado izquierdo y al lado derecho del pico correspondiente al ácido palmítico aparecen dos pequeños picos no identificados en la bibliografía consultada.

e) Determinación cuantitativa de los ácidos grasos presentes (13).

Empleando los cromatogramas obtenidos utilizamos el método de normalización interna para el cálculo del contenido en porcentaje de cada uno de los ácidos grasos presentes. Para ello integramos las áreas de cada uno de los picos por triangulación interna midiendo la altura con relación a la línea base y a la base del triángulo a media altura. El producto de estos valores representa la superficie de cada uno de los picos. La suma de éstas representa el 100% de los ácidos grasos. Luego se calcula el porcentaje de cada uno de los componentes de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ del compuesto} = \frac{\text{Área del compuesto}}{\text{Área total}} \times 100$$

Los resultados fueron los siguientes:

Palmítico	17%
Esteárico	8.10%
Oleico	41.30%
Linoleico	33.60%

Análisis de la torta residual.

La torta residual es el producto obtenido después de la extracción de la grasa de la semilla, en este caso mediante el uso de un solvente orgánico. Siguiendo las técnicas del "AOAC" se efectuaron los siguientes ensayos a la torta residual:

Humedad	8%
Cenizas	3%
Nitrógeno proteico	40%
Grasa	0.6%
Celulosa	1.8%
Minerales:	
Hierro	0.4%
Calcio	0.21%
Magnesio	4.1%
Zinc	0.03%
Sodio	0.003%
Potasio	0.1125%
Selenio	0.48%

Para la determinación de minerales se empleó el método de absorción atómica (14). Se utilizó un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo N^o 303 para absorción atómica construyendo previamente una curva de calibración para cada elemento.

El selenio fue valorado por métodos colorimétricos los cuales serán expuestos más adelante.

Investigación del selenio: Ensayos cualitativos.

Unos gramos de la torta residual son tratados con H₂SO₄ (D=1.84) y óxido de mercurio (rojo) como catalizador, hasta destrucción completa de la materia orgánica, utilizando llama suave para evitar en cuanto sea posible la sublimación del selenio. Con el producto resultante de la digestión se realizaron las siguientes pruebas:

1. Se adicionan cinco o seis gotas de solución problema a una solución de codeína en ácido sulfúrico; en presencia de selenio aparece inmediatamente una coloración verde esmeralda la cual con el tiempo pasa a violeta; la reacción fue positiva (15).
2. A una parte de la muestra problema se adiciona solución saturada de tiourea; por calentamiento se produce un precipitado abundante de color anaranjado rojizo el cual corresponde al selenio metálico; la reacción fue positiva (16).
3. A una parte del problema se adiciona solución de clorhidrato de hidroxilamina al 40%; se produce un precipitado rojo el cual pasa a gris; esto indica la presencia de selenio y el cambio de color lo diferencia del telurio; la reacción fue positiva (17).
4. Se trata una parte del problema con una mezcla de ácido sulfúrico (D = 1.84), ácido perclórico del 70%, molibdato de sodio y agua, (150 : 200 : 10 : 150); se calienta hasta completa destrucción de la materia orgánica, se diluye con 20 ml. de agua destilada, se adiciona 40 ml. de HCl y dos gramos de ácido ascórbico; inicialmente aparece una coloración azul verdosa y luego el selenio es reducido apareciendo un precipitado anaranjado rojizo; la reacción fue positiva (18). Todos estos ensayos fueron realizados con la torta residual.

Determinación cuantitativa:

Para la determinación cuantitativa se encontraron en la revisión de la bibliografía dos métodos los cuales se ensayaron para comparar su eficacia, aplicabilidad y exactitud.

Método 1 (19).

Utilizado para la determinación de selenio en material biológico.

Consiste esencialmente en digerir la muestra con una mezcla oxidante hasta completa mineralización. Posteriormente se reduce el selenio

a su forma elemental, con ácido ascórbico. El precipitado es disuelto en solución de ácido bromhídrico-bromo; la solución resultante, en condiciones determinadas de pH, es tratada con reactivo de 3.3' diamino bencidina, formándose un complejo amarillo insoluble en agua, soluble en tolueno, cuya absorbancia es determinada a 420 milimicras.

Método 2 (20).

Es similar al anterior, pero no se emplea el ácido ascórbico como reductor. La formación del complejo amarillo se lleva a cabo en presencia de EDTA, con el fin de eliminar las posibles interferencias debidas a la presencia de otros iones.

Al utilizar cualquiera de los dos métodos es indispensable elaborar una curva de calibración para selenio utilizando soluciones de una sal patrón entre concentraciones de 10 a 50 microgramos por ml. El contenido de selenio en la muestra se calcula utilizando la curva patrón.

DISCUSION DE LOS DOS METODOS:

Método N° 1

1. La cantidad de muestra empleada para la valoración de selenio depende de la riqueza del material.
2. Al efectuar la reducción del selenio con ácido ascórbico se produce una coloración azul intensa inicialmente, debido a la presencia de anhídrido molíbdico. Luego desaparece este color manifestándose la presencia de selenio elemental (precipitado color rojo naranja).
3. Al destruir el exceso de bromo con fenol al 5% se produce un precipitado blanco (en el caso de la muestra problema), posiblemente debido a la formación de un derivado bromado, por exceso de bromo presente. Este precipitado no interfiere en el curso de la determinación.
4. Para ajustar los valores de pH en cada uno de los pasos de la reacción debe emplearse el método potenciométrico, debido a que el uso de un método visual con un indicador ácido base, no nos proporciona valores exactos y se sabe que la formación de complejos está influenciada notablemente por la concentración de hidrogeniones del medio.
5. Como el complejo es de naturaleza fotolábil se recomienda usar a partir del momento en que se va a desarrollar el color, material antiactínico.
6. La extracción del complejo coloreado debe ser perfectamente cuantitativa.

Método N° 2

Como en este caso no se efectúa la reducción del selenio con ácido ascórbico, ni usamos mezcla de ácido bromhídrico y bromo para disolver el selenio precipitado, no se observa lo anotado en 2 y 3.

Es importante que el tiempo de calentamiento durante el cual tiene lugar la formación del complejo sea exactamente el mismo en todos los casos, porque de lo contrario la intensidad del color no es proporcional a la concentración. La máxima intensidad se obtiene a los 20 minutos. Después de este tiempo decrece el valor de la absorbancia.

Los demás puntos deben tenerse en cuenta como en el Método N^o 1.

Según los resultados obtenidos, después de repetir 10 veces la determinación en cada uno de los métodos, se pueden formular las siguientes conclusiones: el Método N^o 2 es el que da mejores resultados, es más fácil de realizar, es más corto, presenta menos interferencias y los resultados son más exactos.

IDENTIFICACION DE LOS AMINOACIDOS EN LA PARTE PROTEICA

Para el reconocimiento de los aminoácidos se obtuvieron dos hidrolizados a partir de la torta residual, uno ácido y otro alcalino.

Hidrólisis ácida:

Se efectúa con dos gramos de la muestra; se agregan 100 ml. de HCl 6N y se someten a reflujo en baño de aceite a una temperatura de 110°C hasta hidrólisis total de proteínas (aproximadamente 24 horas). El hidrolizado ácido es concentrado destilando el solvente a presión reducida. El extracto concentrado se neutraliza con NaOH 6N, observándose un precipitado, el cual se elimina por filtración. Con el residuo se prosigue el tratamiento de hidrólisis después de lo cual se comprueba la ausencia de aminoácidos, al verificar la reacción con ninhidrina.

El filtrado se lleva a volumen, se satura con nitrógeno y se refrigera hasta su uso.

Hidrólisis alcalina:

Se efectúa con 2 gramos de muestra; se agregan 100 ml. de NaOH 6N y se someten a reflujo en baño de aceite a 110°C hasta hidrólisis total de las proteínas (aproximadamente durante 24 horas). El hidrolizado alcalino es concentrado destilando el solvente a presión reducida. El extracto concentrado se neutraliza con HCl 6N observándose un precipitado el cual se elimina por filtración. El filtrado se lleva a volumen, se satura con nitrógeno y se guarda a baja temperatura.

Cromatografía en capa delgada (21).

Después de ensayar diferentes modalidades de cromatografía, clases de papel, adsorbentes, solventes, etc., se escogió la cromatografía en capa

delgada como método de separación. Las condiciones de trabajo fueron las siguientes:

Placas de vidrio de 20 x 20 cms.

Adsorbente: Sílica gel G.

Espesor de la placa: 250 micrones.

Tiempo de activación: 1 hora a 110°C.

Cámara de vidrio.

Técnica de separación: Bidimensional.

Tiempo de saturación: Dos horas.

Longitud de recorrido: 15 cms.

Solventes:

1. Metanol-Cloroformo-Amoníaco al 17%: (40:40:20).

2. Fenol-Agua (75:25).

Tiempo de recorrido: Primer solvente: una hora treinta minutos.

Segundo solvente: dos horas treinta minutos.

Muestra aplicada: 3 microlitos.

Para la completa identificación se emplearon soluciones de patrones de aminoácidos de la casa BDH al 1% en HCl diluído.

Los aminoácidos identificados fueron los siguientes:

Hidrolizado alcalino:

Histidina, asparagina, serina, glicina, ácido glutámico, alanina, metionina, valina, ácido cisteico, lisina, fenilalanina.

Hidrolizado ácido:

Lisina, arginina, asparagina, serina, glicina, ácido glutámico, alanina, histidina, valina, cistina, cisteína, metionina y fenilalanina.

COMPROBACION DE SELENIO EN LA PARTE PROTEICA

Debido a que las plantas acumuladoras de selenio lo fijan en las proteínas, se procedió a comprobar la presencia de este elemento en los hidrolizados (ácido y alcalino), empleados para la identificación de aminoácidos.

Se utilizó la misma mezcla oxidante empleada en el caso de la torta residual. Con el producto resultante de la mineralización de los dos hidrolizados se realizaron ensayos de identificación para selenio.

Los reactivos empleados fueron:

Solución de codeína en ácido sulfúrico, solución saturada de tiourea, solución de clorhidrato de hidroxilamina al 40%; reacción con el ácido p-sulfónico de la fenilhidracina.

Los ensayos se realizaron en condiciones iguales a las empleadas en el caso de la identificación de selenio en la torta residual.

Las reacciones fueron totalmente positivas tanto para el hidrolizado ácido como para el alcalino, quedando en esta forma comprobada la presencia de selenio en la parte proteica.

IDENTIFICACION DE SELENIO EN AMINOACIDOS

Comprobada la presencia de los posibles selenoaminoácidos selenocistina, selenocisteína y selenometionina (debido a que responden a los mismos ensayos como los azufrados, usando reactivos específicos tales como ácido yodoplatínico, permanganato alcalino, nitroprusiato, 1-naftil amina diazotada, cloruro de trifeniltetrazolio), se procedió a buscar la forma más económica para separar cada uno de ellos y obtener una cantidad suficiente para el reconocimiento de selenio.

El método de separación más preciso a nuestro juicio sería la cromatografía en capa delgada, pero como se trata de obtener una cantidad que permita realizar los ensayos del caso, se escogió la cromatografía descendente sobre papel, utilizando tiras de papel Whatman N^o 1, de 50 cms. de longitud.

El solvente preferentemente utilizado fue fenol-agua (80:20) debido a que con él se logra una buena separación de los aminoácidos presentes, pero en el caso de usar como revelador característico ácido yodoplatínico para reconocimiento de los aminoácidos azufrados, las tiras de papel después de corrida la cromatografía deben lavarse con suficiente tolueno para eliminar cualquier traza de fenol (22).

En estas condiciones los aminoácidos azufrados en presencia de ácido yodoplatínico presentan manchas de color amarillo sobre un fondo rosado, las cuales son francamente perceptibles si las tiras después de reveladas se exponen a los vapores del HCl.

Para lograr separar cantidades adecuadas de los aminoácidos objeto de la investigación se corrieron 200 cromatogramas. Se demarcaron los sitios correspondientes, se cortaron los trozos de papel y se procedió a hacer la elución.

Como eluyente se empleó HCl diluído; los trozos de papel se desmenuzaron y se dejaron en maceración durante 24 horas a una temperatura de 40°C.

El macerado se filtró después de lo cual se concentró al mínimo volumen a presión reducida.

Con el extracto concentrado se realizaron los ensayos para identificación de selenio, previo tratamiento del extracto con mezcla oxidante a fin de mineralizar la muestra.

Los ensayos realizados fueron los siguientes:

1. *Colorimétricos.*
 - a) Se realizaron pruebas en las mismas condiciones que en el caso de la torta residual dando positivos los resultados para selenio, con tiourea, clorhidrato de hidroxilamina y codeína en los tres eluatos.
2. Los tres eluatos dieron respuesta por el método de absorción atómica a la lámpara de selenio; por lo tanto, los aminoácidos identificados en principio como azufrados, corresponden verdaderamente a selenoaminoácidos, análogos a los azufrados: Selenocistina, selenocisteína y selenometionina.

CONCLUSIONES

1. Las semillas contienen aceite en cantidad que lo hacen comercialmente rentable.
2. El aceite no contiene selenio.
3. La composición del aceite en ácidos grasos es:
Palmítico 17%, Esteárico 8.10%, Oleico 41.30%, Linoleico 33.6%.
4. El endospermo de la semilla es tóxico debido a la presencia de selenio.
5. En la torta se comprobó la presencia de los siguientes aminoácidos: histidina, asparagina, serina, glicina, ácido glutámico, alanina, metionina, valina, ácido cisteico, lisina y fenilalanina, en el hidrolizado alcalino; en el hidrolizado ácido se identificaron lisina, arginina, asparagina, serina, glicina, ácido glutámico, alanina, histidina, valina, cistina, cisteína, metionina y fenilalanina.
6. Se comprobó la presencia de selenio en los hidrolizados de proteínas.
7. Se identificaron los siguientes selenoaminoácidos: selenocistina, selenocisteína y metionina.

RESUMEN

El estudio fitoquímico de las nueces (semillas) de la *Lecythis Elliptica*, comprende el análisis químico del aceite (obtención, determinación cuantitativa, constantes fisicoquímicas y composición química por cromatografía en fase gaseosa) y el estudio de la torta residual (composición química e identificación de aminoácidos en la parte proteica por cromatografía en capa delgada). Se comprobó que la toxicidad de las nueces se debe a la presencia de selenio, el cual se encuentra incorporado en la planta en forma de selenoaminoácidos análogos de los azufrados.

SUMMARY

This study of the nuts (seeds) of *Lecythis elliptica* is centered on the chemical analysis of the oil and the remaining shrunken or solid material. The analysis of the oil includes extraction, quantitative determination, physicochemical constants, chemical composition by GLC techniques.

The analysis of the solid part includes the chemical composition and the identification of the amino acids by TLC techniques. It was concluded that the selenium containing amino acids are the responsible for the toxicity attributed to this plant material.

RÉSUMÉ

L'étude phytochimique des noix (semences) du *Lecythis elliptica*, comprends l'analyse chimique de l'huile (obtention, sa détermination quantitative, ses constantes physico-chimiques, sa composition chimique au moyen de la chromatographie en phase gazeuse) et l'étude du résidu d'expression (composition chimique et identification des acides aminés dans la portion protéique par chromatographie en couche mince). Il fut prouvé que la toxicité des noix est due à la présence du sélénium, lequel se trouve incorporé dans la plante en forme de sélénium-acides aminés analogues aux acides aminés contenant du soufre.

BIBLIOGRAFIA

1. ROMERO RAFAEL: *Frutas Silvestres de Colombia*. Vol. I. 21. 1961.
2. KERDEL VEGAS FRANCISCO: The depilatory and cytotoxic action of "Coco de mono" (*Lecythis ollaria*) and its relationship to chronic seleniosis. *Economic Botany* 20, 187, 1966.
3. JOHN D. DICKSON: Notes on hair and nail loss after ingesting Sapucaia nuts (*Lecythis Elliptica*). *Economic Botany* 23, 2, 133, 1969.
4. JAMES BONNER; J. E. VARNER: *Plant Biochemistry*. Academic Press. London, 447. 1965.
5. PETERSON y BUTLER: *Biochim Biophys. Acta* 71, 483. 1963.
6. K. PASCH, M. V. TRACEY: "Moderne Methods of plant analysis". Vol. 2. Springer Verlag. Berlin 323, 1955.
7. Official methods of analysis of the association of official agricultural chemist "AOAC". Editorial Board. Washington, 1960, IX edición.
8. ENRIQUE OTERO AENLLE: "Análisis de grasas, ceras y sus mezclas comerciales". Editorial Dossat. S. A. Madrid 31, 1946.
9. CALDERÓN y GAVIRIA: "Prácticas de Análisis Químico Aplicado". Depto. de Farmacia. Bogotá, 123, 1958.
10. AOAC Editorial Board Washington, IX Edición.
11. V. C. Menhembacher. Official and tentative methods of the american oil chemists society. 2ª Edición 1957, Cd., 2-38.

12. GEORGE R. JAMIESON, E. H. Reild. *J. of Chromatography*. 17, 230. 1965.
13. MACNAIR, H. M. and BONELLI, E. J.: "Basic gas chromatography". Berkeley. California. 4ª Edición. 114.
14. *Analytical Methods for atomic absorption spectrophotometry*. Perkin Elmer.
15. W. T.: "Química Analítica" Tomo I. Editorial Hispanoamericana. México. 9ª Edición, 564, 1948.
16. FRITZ FEIGE: "Análisis cualitativo mediante reacciones a la gota". Meléndez Valdés, Madrid. 3ª Edición. 316, 1949.
17. W. T. HALL: "Química Analítica" Tomo I, Editorial Hispanoamericana. México. 9ª Edición, 563, 1948.
18. LAURENCE M. CUMNIS; J. L. MARTIN; G. W. MAAG y DALE D. MAAG: "Analytical Chemistry". 36, 2, 1964, 382.
19. *Ibid.*
20. LAURENCE M. CUMNIS; J. L. MARTIN; DALE D. MAAG: "Analytical Chemistry", 37, 3, 430. 1965.
21. E. STAHL: "Thin Layer Chromatography". Springer. Verlag. Berlín, 391, 1965.
22. I. M. HAIS and K. MACEK: *Paper Chromatography*, Academic Press. New York, 448. 1963.