

UNIVERSIDAD RICARDO PALMA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD E INOCUIDAD EN
LA INDUSTRIA ALIMENTARIA



TESIS

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA DE SECADO Y MOLIENDA DE
HARINA DE SEMILLA DE ZAPALLO (*Cucurbita maxima*) EN LA
CONSERVACIÓN DE CUCURBITINA Y SU EFECTO VERMÍFUGO

Autor

Br. Luisa Hezzaldith Mendoza Salazar

Para optar el Grado Académico de Maestro en Sistema de Gestión de Calidad
e Inocuidad en la Industria Alimentaria

LIMA – PERÚ

2020

DEDICATORIA

El presente trabajo de Investigación va dedicado a mi madre por todo el apoyo brindado, a Dios, por darme la fortaleza para vencer las adversidades y por permitirme seguir construyendo camino en mi vida profesional; y en especial a mi hija, Doménika, quien es el motor y motivo para seguir adelante, todo es por ti y para ti.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi especial agradecimiento al Dr. Américo Guevara Pérez, mi asesor, quien continuamente me brindó apoyo y orientación a lo largo del desarrollo del presente Trabajo de Investigación. Asimismo, al Dr. Erwin Kraenau Espinal por su apoyo incondicional en brindarme asesoramiento en el desarrollo estadístico y a los docentes de posgrado de la Universidad Ricardo Palma por compartir sus conocimientos y experiencias.

RESUMEN

El presente estudio estuvo orientado a determinar la influencia de la temperatura de secado y molienda de la harina de semilla de zapallo (*Cucurbita maxima*) en la conservación de cucurbitina y su efecto vermífugo. Esta investigación es de tipo experimental, se trabajó un arreglo factorial de 3x3, siendo el primer factor la temperatura y el segundo factor el tipo de molienda. Para tal propósito se utilizaron 60 zapallos de la especie *Cucurbita maxima* para obtener 30 kilos de semillas de zapallos. Las semillas fueron deshidratadas a tres temperaturas (50°C, 60°C y 70°C) hasta obtener una humedad relativa de 9.1%. Mediante la Espectrofotometría UV-VIS se cuantificó la cucurbitina en las semillas de zapallo antes de exponerlas al tratamiento (0.6389 mg/mL). Las que presentaron mayor concentración fueron las semillas a 50°C (0.5431 mg/mL), las cuales recibieron diferentes tratamientos de moliendas en (tornillo, martillo y mortero) luego fue tamizado, siendo la harina de semillas de zapallo con el tratamiento de molienda tipo tornillo la que presentó mayor concentración de cucurbitina (0.4767 mg/mL), la cual se utilizó para llevar a cabo el efecto vermífugo en lombrices de tierra (*Eisenia foetida*), teniendo resultados de muerte a los 54'47". Se realizó un análisis inferencial (concluyente), donde se comparó los resultados con variable dependiente, variación de concentración de cucurbitina con respecto a las semillas extraídas. Sus efectos sobre la variación porcentual de la concentración de cucurbitina son

significativamente diferentes entre sí, (Pvalue=1,000). La comparación de los resultados se realizó mediante la prueba de Análisis de varianza univariante (ANOVA) y para las comparaciones múltiples se utilizó la Prueba de Duncan, al 95% de confianza.

Palabras claves: *Semilla de zapallo (Cucurbita maxima), cucurbitina, moliendas, efecto vermífugo, lombriz de tierra (Eisenia foetida).*

ABSTRACT

The present study was oriented to determine the influence of the drying temperature and grinding of the pumpkin seed meal (*Cucurbita maxima*) in the Conservation of Cucurbitina and vermifuge effect. This research is of experimental type, we worked a factorial arrangement of 3x3, the first factor being the temperature and the second factor the type of grinding. For this purpose 60 squashes of the species *Cucurbita maxima* were used to obtain 30 kilos of pumpkin seeds. The seeds were dehydrated at three temperatures (50 ° C, 60 ° C and 70 ° C) until obtaining a relative humidity of 9.1%. Using UV-VIS spectrophotometry, cucurbitina was quantified in pumpkin seeds before being exposed to the treatment (0.6389 mg/mL). The ones with the highest concentration were the seeds at 50°C (0.5431 mg/mL) which received different treatments of grindings in (screw, hammer and mortar) was later sieved, being the pumpkin seed flour with the screw grind treatment the one that presented major concentration of cucurbitina (0.4767 mg/mL), which was used to carry out the vermifuge effect in earthworms (*Eisenia foetida*) having death results at 54'47". An inferential (conclusive) analysis was performed, comparing the results with a dependent variable, a variation of cucurbitina concentration with respect to the extracted seeds. Its effects on the percentage variation of cucurbitina concentration are significantly different from each other (Pvalue = 1,000). The

comparison of the results was performed using the Univariate Analysis of Variance (ANOVA) test and for the multiple comparisons of Duncan Test was used, at 95% confidence level.

Key words: *Seed of squash (Cucurbita maxima), cucurbitina, grinding, vermifuge effect, earthworms (Eisenia foetida).*

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	iv
ABSTRACT	vi
ÍNDICE	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
I. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO	
1.1. Introducción	12
1.2. Formulación del problema y justificación del estudio	13
1.3. Antecedentes relacionados con el tema	14
1.4. Presentación del objetivo general y específicos	16
1.5. Limitaciones del estudio	17
II. MARCO TEÓRICO	
2.1. Bases teóricas	18
2.2. Definición de términos usados	22
III. HIPOTESIS Y VARIABLES	
3.1 Hipótesis General	24
3.2 Hipótesis Específicos	24
3.3 Variables Independientes	24
3.4 Variables Dependientes	24
IV. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN	
4.1 Diseño de investigación	25
4.2 Población y muestra	25
4.3 Técnicas e instrumentos	27
4.3.1 Análisis Físicoquímicos	27
4.3.2 Cuantificación de cucurbitina	28
A) Descripción del flujo operacional	28
B) Descripción del esquema experimental	30
4.4 Recolección de datos	34
4.4.1 Tratamiento estadístico de los datos	34

V. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1	Resultados	35
5.1.1.	Resultados del contenido de cucurbitina en semillas obtenidas del zapallo	35
5.1.2	Efecto de la temperatura de secado sobre la conservación de cucurbitina en las semillas de zapallo	35
5.1.3	Efecto del tipo de molienda sobre la conservación de cucurbitina en las semillas de zapallo	38
5.1.4	Efecto de la temperatura de secado sobre la conservación de cucurbitina en las semillas de zapallo	41
5.1.5	Aplicación de harina de semillas de zapallo en lombrices de tierra	43
5.2	Análisis de resultados	47

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1	Conclusiones	49
6.2	Recomendaciones	50

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXOS	56
Anexo 1: Galería de fotos	57
Anexo 2: Tablas de resultados de las concentraciones de cucurbitina	62

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Taxonomía del zapallo <i>Cucurbita maxima</i>	22
Tabla 2. Niveles de comportamiento de las contorsiones	27
Tabla 3. Concentración de Cucurbitina en la semilla extraída de zapallo	35
Tabla 4. Efecto de la temperatura de secado sobre la concentración de cucurbitina en la semilla extraída de zapallo	36
Tabla 5. Variación media (%) de la concentración de cucurbitina en la semilla seca a tres niveles de temperatura con respecto a la concentración en la semilla sin tratamiento	37
Tabla 6. Efecto de la molienda en la concentración de cucurbitina en semillas de zapallo deshidratadas a 50°C	39
Tabla 7. Variación media (%) de la concentración de cucurbitina en harina de semilla por efecto de la molienda respecto a la semilla seca	40
Tabla 8. Variación media (%) de la concentración de cucurbitina en harina de semilla seca con respecto a la concentración en la semilla extraída del zapallo	41
Tabla 9a. Análisis de varianza univariante	42
Tabla 9b. Prueba de Post Hoc y la variación de concentración de cucurbitina de la semilla seca con respecto a la semilla extraída	43
Tabla 10. Resultados de la evaluación de lombrices durante 180 minutos en aplicación de harina de semillas de zapallo	44
Tabla 11. Estadísticos descriptivos asociados a los tiempos de muerte de los dos grupos de lombrices	45
Tabla 12. Frecuencia en valores absolutos y porcentajes de los niveles de contorsiones	45
Tabla 13. Prueba t para la igualdad de medias de los tiempos de muerte de	

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Partes de la semilla de zapallo	19
Figura 2. Estructura química de la cucurbitina	20
Figura 3. Flujo de operaciones para obtener harina de semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	29
Figura 4. Esquema Experimental	33
Figura 5. Concentración media de cucurbitina en la semilla extraída del zapallo y en las semillas expuestas a tres temperaturas de secado	36
Figura 6. Variación media (%) de la concentración de cucurbitina en la semilla seca a tres niveles de temperatura con respecto a la semilla sin tratamiento	38
Figura 7. Concentración media de cucurbitina en la semilla deshidratada a 50°C de temperatura y en la harina de semilla de zapallo	39

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

1.1. Introducción

El zapallo es una hortaliza que tiene un alto consumo en nuestro país ya que aporta beneficios y propiedades nutricionales. Sus niveles de producción se dan en Costa y Sierra. Es muy utilizado en el arte culinario, siendo la pulpa la más utilizada, y las semillas como uno de los residuos del procesamiento. Al respecto, Beccageia (2012) manifiesta que las semillas de zapallo, a las que usualmente desechamos sin saber todas las bondades que tienen, presentan contenido proteico, capacidad antioxidante, ricas en calorías, vitamina A, ácido linoleico, hierro y zinc. Estos nutrientes coexisten con la Cucurbitina, un aminoácido pirrolidínico que se encuentra en la almendra de la semilla de zapallo que tiene principio activo de tipo alcaloide con propiedades vermífugas que paraliza los parásitos intestinales como la tenia o solitaria, helmintos, áscaris y una vez inmovilizados, se desprenden de la pared intestinal y es entonces cuando es fácil expulsarlos.

Por lo expuesto, se decidió llevar a cabo la investigación “Influencia de la temperatura de secado y molienda de harina de zapallo (*Cucurbita maxima*) en la conservación de cucurbitina y su efecto vermífugo”, con la finalidad de hacer conocer las propiedades que tienen las semillas de zapallo.

1.2. Formulación del problema y justificación del estudio

❖ Problema general:

¿Qué influencia tienen la temperatura de secado y la molienda de harina de semillas de zapallo (*Cucurbita maxima*) en la conservación de Cucurbitina y su efecto vermífugo?

❖ Problemas específicos:

¿Cuál es la influencia de la temperatura de secado de semilla de zapallo (*Cucurbita maxima*) en la conservación de Cucurbitina y su efecto vermífugo?

¿El tipo de molienda en semilla de zapallo (*Cucurbita maxima*) influye en la conservación de cucurbitina y su efecto vermífugo?

Es necesario indicar que las infecciones por parasitosis intestinales por helmintos aún constituyen un importante problema de salud por sus altas tasas de prevalencia y amplia distribución mundial. La cucurbitina es un gran aporte ya que su acción como antihelmíntico o vermífugo puede ser una alternativa como tratamiento natural en la desparasitación de pacientes sobre todo en niños que son los que presentan la mayor prevalencia (Horrillo, 2007).

1.3. Antecedentes relacionados con el tema

León (2002) hace referencia que se han utilizado las semillas de zapallo para diferentes procesos por las propiedades que tiene. Una de las propiedades más estudiadas es su acción vermífugo y tenífugo, lo cual permite eliminar los parásitos intestinales (lombrices, tenias, oxiuros), por acción de la proteína cucurbitina. Los estudios realizados por (Díaz y Lloja, 2004) detallan que la concentración mínima inhibitoria (CMI) de *Cucurbita maxima* como antiparasitario usada en pruebas con ratas albinas, donde la CMI de semilla de zapallo de 23 g x 100 mL de agua destilada es capaz de producir el efecto antihelmíntico. Macroscópicamente, administrando 23 gramos a más se hallan alteraciones en la motilidad del helminto. Según los estudios por Jorge (2006) en la Universidad de la Habana, las semillas de *Cucurbita moschata* posee un principio activo que presenta acción antihelmíntica (cucurbitina), la cual permitió obtener una nueva formulación de una nueva forma farmacéutica con requisitos tecnológicos y ensayos de control de calidad que lo hicieron más fiable. Por la importancia que tienen las semillas de zapallo, Alaya (2007) manifiesta que se han desarrollado estudios preclínicos de su efecto antiparasitario y se han obtenido buenos resultados, asegurando que la cucurbitina juega un rol importante, lo cual se debe conservar en la elaboración de harina de semillas de zapallo y aceites como tratamiento natural, sobretodo en niños que se encuentran en la etapa escolar que tienden a presentar

varios episodios de parasitosis. Según Curbelo (2009), hay estudios de extracción del aceite de la semilla de *Cucurbita maxima* “zapallo” con fines antiparasitarias. Este estudio permitió la obtención, extracción, purificación y determinación de algunas propiedades fisicoquímicas del aceite cuyo principio activo (Cucurbitina) es utilizada para la administración y biodisponibilidad en niños, de edades que fluctúan entre los 7 a 12 años aproximadamente y que están infectados con estos parásitos (tenias). En Colombia utilizan el aceite de semillas de zapallo como remedio para la eliminación de tenias o solitarias. Una persona con tenia recibe dosis de aproximadamente diez onzas de semillas de zapallo mezclados con leche y miel (Ortiz *et al.*, 2009).

Diferentes países han desarrollado investigaciones con las semillas de zapallo, siendo uno de ellos, Cuba, donde se han desarrollado estudios en otra especie de *Cucurbita*, evaluando los estudios analíticos y de preformulación al ingrediente activo con acción antihelmíntico, garantizando la calidad, seguridad y eficacia para la elaboración de formas farmacéuticas (Andre y Thiery, 2010). Gonzales (2010) realizó investigaciones elaborando una pasta untable en base a semillas de zapallo para aprovechar las semillas que es considerado como descarte. El producto fue diseñado por su efecto antihelmíntico, el cual al poseer esta propiedad contribuye un aporte tanto para la industria alimentaria como farmacéutica. La almendra de la semilla es la que brinda el efecto antiparasitario como propiedades antioxidantes. Urriola (2011) hace referencia que en China han demostrado que las semillas de zapallo son beneficiosas para las personas con

equistosomiasis (una rara enfermedad parasitaria contraída por los caracoles).

Las semillas de zapallo, también llamadas pepitas, son semillas planas cubiertas por una cáscara externa amarilla blanquecina; las cuales poseen bondades que son beneficiosas para la salud, tales como, antioxidantes, prevención del envejecimiento de la piel, control en la pérdida del cabello, promueve el sueño, elimina los parásitos intestinales, alivia el dolor artrítico y mejora la función urinaria (Velásquez, 2015).

1.4. Objetivo general y específicos

a. Objetivo General

Determinar la influencia que tienen la temperatura de secado y molienda de semillas de zapallo (*Cucurbita maxima*) en harina para la conservación de Cucurbitina y de su efecto vermífugo.

b. Objetivos Específicos

1. Determinar la influencia de temperatura de secado de semillas de zapallo (*Cucurbita maxima*) para la conservación de Cucurbitina y su efecto vermífugo.
2. Determinar la influencia del tipo de molienda de semillas de zapallo (*Cucurbita maxima*) para la conservación de Cucurbitina y su efecto vermífugo.

1.5. Limitaciones del estudio

En la investigación realizada se presentaron las siguientes limitaciones:

Para la cuantificación de la cucurbitina se tuvo problemas con el Patrón, el cual tuvo que ser importado de los Estados Unidos siendo de un costo elevado, generando demoras y/o retrasos en la investigación.

Por otro lado, el costo de los análisis es elevado y las muestras se tuvieron que analizar en un laboratorio acreditado a fin de validar los resultados obtenidos.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Bases Teóricas

Desde sus inicios, las semillas de zapallo se han empleado como antihelmínticos, principalmente contra la tenia, pero también frente a otros parásitos intestinales (Collazos y White, 2001). Al respecto, Escobar y Márquez (2008) manifiesta que debido a la ausencia de toxicidad, las semillas pueden emplearse tanto en adultos como en niños, administrándose 50 g de harina de semilla de zapallo en ayunas por vía oral en tres tomas concentradas.

El principio activo al que se atribuye la actividad antihelmíntica es la Cucurbitina. Esta actividad se produce por un efecto paralizante sobre la musculatura lisa de la tenia (Armijo, 2012). Así mismo, Keuroglan (2000) indica que las semillas de zapallo poseen varias propiedades que traen beneficios para la salud del ser humano como por ejemplo para el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna, irritación de la vejiga, pielonefritis, etc. Según Betancourt y Sánchez (2010), las pepitas o semillas de zapallo, son alimentos usados desde la antigüedad, tanto por sus propiedades alimenticias como nutricionales. Otro aporte importante

nos manifiesta Corrales (2007), ya que inicialmente se cultivaba los zapallos por sus pepitas, por su piel y no por su carne, pero esta costumbre fue desapareciendo a medida que se obtuvieron variedades con sabores más afrutados y con mayor cantidad de pulpa.

Las semillas de zapallo son conocidas desde hace siglos como sustancias naturales con propiedades curativas (Coronel y Mendoza, 2009). Diaz (2008) refiere que las semillas de zapallo son beneficiosas para el organismo, contienen hasta un 24,5% de proteínas, ácidos grasos, minerales, aminoácidos esenciales, cucurbitina y ácido cucúrbico. De la misma manera, Lara (2003) manifiesta que las semillas de zapallo poseen propiedades antiinflamatorias, antipiréticas, antiprostático, vermífugas y tenífugas. Presenta aproximadamente un 25 a 30 % de proteínas (Cucurbitina 0.5 – 2%), sales minerales, lípidos (35%), etc. En la Figura 1 se muestra las partes de las semillas de zapallo según Dunnill (2013).

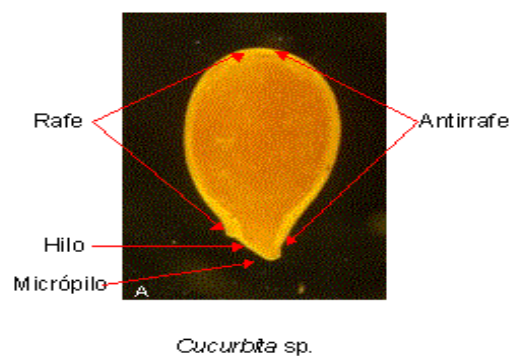


Figura 1. Partes de la semilla de zapallo

Fuente: Dunnill (2013)

Los primeros en usar las semillas de zapallos fueron las tribus de América y el nombre que le dieron fue Cucúrbita (Ruis, 2011).

Según George (2003), tradicionalmente las semillas de zapallo han tenido uso medicinal para combatir las lombrices intestinales y para eliminar la retención de líquidos gracias a la proteína que poseen, Cucurbitina. Petryck (2009) refiere que la medicina China las ha usado para deshacerse del exceso de mucosidad del aparato respiratorio, demostrando que las semillas de zapallo presentan diferentes propiedades que son de importancia para la salud, tal y como lo manifiesta Ortiz y Pasos (2009), siendo las semillas de zapallo un gran aporte a la ciencia, que se viene investigando optimizando los procesos para conservar sus propiedades y no perder su efectividad.

Fueron los investigadores chinos quienes propusieron la síntesis química de la cucurbitina, tal como se muestra en la Figura 2. Estructuralmente este compuesto es tanto un α -aminoácido, como un β -iminoácido cíclico. Este aminoácido que parece estar limitado al género *Cucurbita sp.* es el responsable de la actividad antihelmíntica (Díaz *et al.*, 2010).

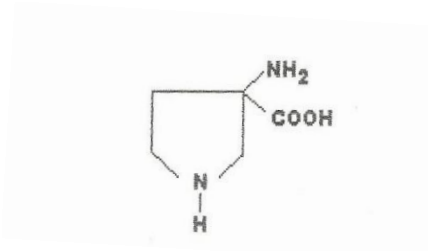


Figura 2. Estructura química de la Cucurbitina

Fuente: Bravo (2011)

Bucano (2002) indica que el zapallo macre (*Cucurbita maxima*) es una planta anual, herbácea, vivaz y rozagante de tallos flexibles y trepadores. Tiene hojas cordiformes, pentalobuladas, de gran tamaño y nervaduras bien marcadas; presenta abundante pilosidad en hojas y tallo. Las flores son amarillas o anaranjadas, de pétalos carnosos, monoicas. Flores (1996) refiere que el fruto es un tipo de baya llamada pepónide; presenta gran variación (polimorfismo); puede ser elongado o esférico, de color verde. De la misma manera, Mejía y Ortiz (2009) detalla que la pulpa es de color amarillo-anaranjado, densa, de textura firme. Su aroma es característico a su fruto, particularmente llamativo por lo cual se lo utiliza culinariamente en gran medida. Contiene en su interior numerosas semillas ovales, convexas, lisas, de 2 a 3 cm de largo, las cuales a su vez contienen una pulpa blanca comestible, con las cuales se elaboran las tradicionales pepitas o pipas (Tillan *et al.*, 2003).

Las semillas de *Cucurbita maxima* son clasificadas como dicotiledóneas, se componen de una almendra aceitosa, rodeada de una

testa protectora. El tamaño es de aproximadamente de 10 mm, tiene forma de óvalo y color beige, una cubierta seminal de color amarillo pálido. Según Guenkov (2008), la almendra posee un embrión, recubierto por endospermo y perispermo. La cucurbitina se encuentra, mayoritariamente, en la almendra de las semillas, aunque también se puede encontrar en el fruto pero en muy bajas concentraciones.

La semilla de zapallo tiene varios principios activos, tales como: Cucurbitina (0.5-2%), ácido cucúrbico, leucina, tirosina, vitaminas, ácidos grasos insaturados, oleico, linoleico (Roig, 2010). En la Tabla 1 se muestra la taxonomía del zapallo según Jorge (2006).

Tabla 1. Taxonomía del zapallo (Cucurbita maxima)

Orden:	Cucurbitales
Familia:	Cucurbitaceae
Género:	Cucurbita
Especie:	<i>C. maxima</i>

Fuente: Jorge (2006)

2.2. Definición de términos usados

2.2.1. Alcaloide

Compuesto orgánico nitrogenado, como la morfina o la cocaína, producido casi exclusivamente por vegetales (Real academia Española, 2014).

2.2.2. Antioxidante

Que evita la oxidación, aplicado a una sustancia o a un producto (Real Academia Española, 2014).

2.2.3. Antiparasitario

Que combate los parásitos o evita su aparición. Aplicado a un medicamento o a una sustancia (Real Academia Española, 2014).

2.2.4. Cucurbitina

Es un amino-3-pirrolidina, responsable de la actividad antihelmíntica (Jorge, 2006).

2.2.5. Molienda

Acción de moler, especialmente el grano (Real Academia Española, 2014).

2.2.6. Vermífugo

Que tiene la propiedad para matar lombrices intestinales (Real Academia Española, 2014).

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1 General

H_G: La temperatura de secado y la molienda de harina de semillas de zapallo *Cucurbita maxima* influyen significativamente en la conservación de Cucurbitina y su efecto vermífugo.

3.2 Específicas

H₁: La temperatura de secado de semilla de zapallo (*Cucurbita maxima*) influyen significativamente en la conservación de Cucurbitina y en su efecto vermífugo.

H₂: El tipo de molienda en semillas de zapallo influyen significativamente en la conservación de Cucurbitina obtenida a partir de las semillas de zapallo (*Cucurbita maxima*) y en su efecto vermífugo.

3.3 Variables Independientes:

- Temperaturas a utilizar en el secado de las semillas de zapallo.
- Tipos de Molienda a utilizar en la pulverización de la harina de semillas de zapallo (*Cucurbita maxima*).

3.4 Variables Dependientes:

- Conservación de la Cucurbitina
- Efecto vermífugo

CAPITULO IV

METODOLOGIA DE INVESTIGACIÓN

4.1 Diseño de investigación

La investigación se realizó en el Laboratorio del Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Es de tipo Experimental, se trabajó un arreglo factorial de 3x3, el primer factor, Temperatura con tres niveles: 50°C, 60°C y 70°C y el segundo factor, tipo de molienda con tres niveles (molino tornillo, martillo y mortero). A partir de los datos recopilados, se procedió a construir una base de datos que fue procesada con el soporte del paquete estadístico SPSS 22.0 y Minitab 16.

4.2 Población y muestra

La población estuvo conformada por zapallos de la especie *Cucurbita maxima*, procedente de Oxapampa – San Juan; la muestra estuvo conformada por 60 zapallos de las que se extrajeron las semillas para continuar con la investigación.

❖ **Materia prima:**

- ✓ Semillas de zapallo de la especie *Cucurbita maxima*

❖ **Modelo biológico:**

- ✓ Lombrices de tierra (*Eisenia foetida*)

❖ **Insumos:**

- ✓ Hipoclorito de sodio 100 ppm C.C.R
- ✓ Suero fisiológico estéril
- ✓ Patrón (Cucurbitina)

❖ **Materiales y equipos:**

- ✓ Tubos de ensayo

- ✓ Placas Petri
- ✓ Bolsas de polietileno
- ✓ Cronómetros
- ✓ Molino tipo tornillo marca Corona
- ✓ Molino tipo martillo
- ✓ Mortero de mármol
- ✓ Balanza electrónica, Boeco, Alemana
- ✓ Estufa, modelo MLWHST-1512, Alemana
- ✓ Espectrofotómetro UV-VIS, Termo electrón, Genesys 10UV, Estados Unidos.

4.3 Técnicas e instrumentos

4.3.1 Análisis físico-químicos:

- ✓ **Análisis de Humedad:** Se realizó siguiendo el método 930.04 AOAC (2012).
- ✓ **Efecto vermífugo:** Para realizar esta prueba se contó con 40 lombrices de tierra de la especie (*Eisenia foetida*), las cuales fueron alimentadas con harina de semillas de zapallo procedente de la mayor concentración. La actividad vermífuga se evaluó mediante la observación directa de las lombrices para detectar los cambios en la motilidad, en las contorsiones y la muerte en función del tiempo. Las

contorsiones fueron clasificadas en 4 niveles según Carbajal (2011), tal como se muestra en la Tabla 2. Se midió el tiempo de muerte de las lombrices durante 180 minutos, se empleó muestras control de lombrices en suero fisiológico estéril.

Tabla 2. Niveles de Comportamiento de las contorsiones

Nulo	-
Leve	+
Moderado	++
Intenso	+++

Fuente: Carbajal (2011)

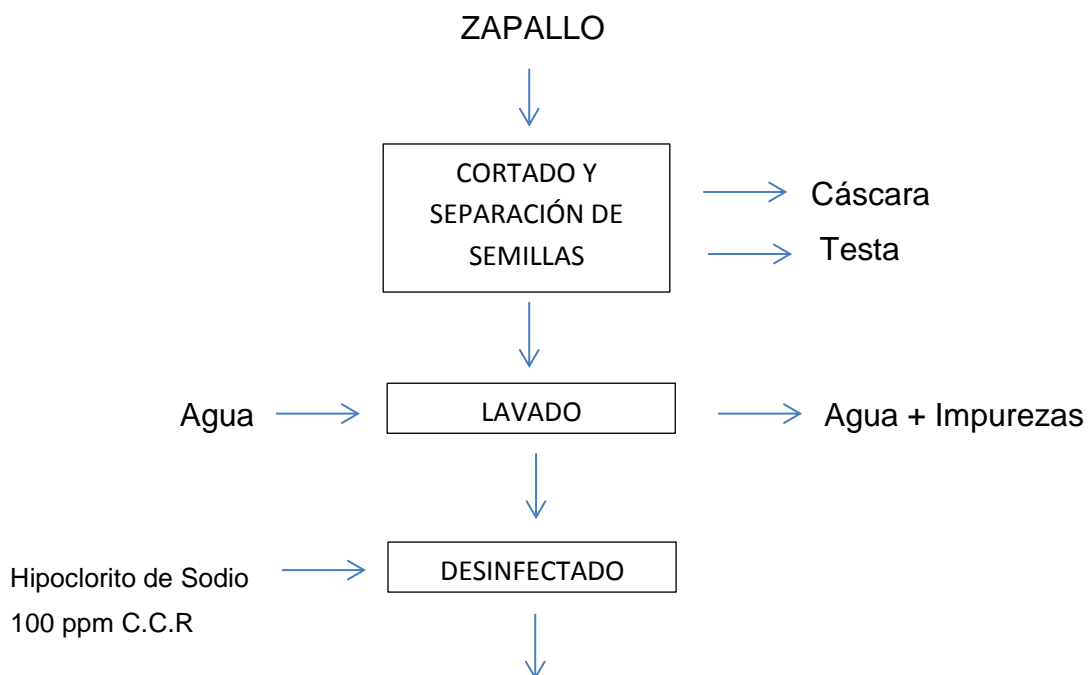
4.3.2 Cuantificación de Cucurbitina:

Se llevó a cabo mediante la Espectrofotometría UV-VIS, esta prueba se efectuó siguiendo la metodología de las Normas ICH según Blanco, 2014. Se trabajó a una longitud de onda (λ) de 320nm. Se realizaron las lecturas de las concentraciones de cucurbitina por cada temperatura y tipos de molienda ejecutadas en las semillas y en la obtención de harina de semilla de zapallo.

A. Descripción del flujo operacional

En la Figura 3 se muestra el Flujo de operaciones para obtener harina a partir de semillas de zapallo (*Cucurbita maxima*).

- Se recolectaron 60 zapallos de la especie *Cucurbita maxima* de Oxapampa – San Juan, cantidad necesaria para realizar los diferentes análisis a las semillas de zapallo. Se observó que la hortaliza se encontrara maduro y en buen estado.
- **Cortado y separación de semillas:** Se procedió a cortar los zapallos y retirar las semillas observando que todas estén en buen estado y de tamaño uniforme.
- **Lavado:** Se realizó el lavado de las semillas con agua potable para retirar el resto de la pulpa de zapallo que se encontraba adherida a las semillas.



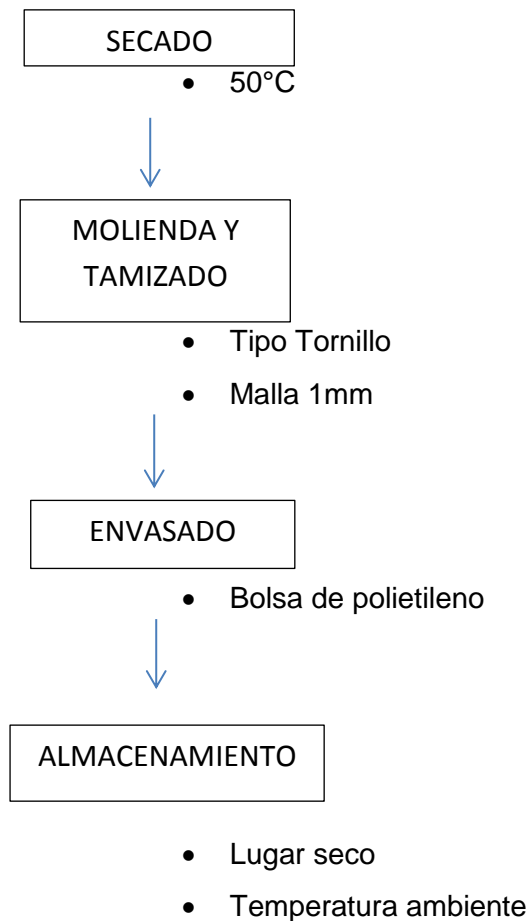


Figura 3. Flujo de operaciones para obtener harina de semillas de zapallo (*Cucurbita maxima*)

- **Desinfectado:** Se desinfectó con Hipoclorito de Sodio a 100 ppm C.C.R durante 10 minutos.
- **Secado:** Se expusieron las semillas en una estufa para reducir la humedad y lograr su estabilidad.
- **Molienda y Tamizado:** El objetivo fue convertir en harina para favorecer la aplicación. El tamizado se realizó con una malla de 1mm para obtener un polvo más fino.

- **Envasado:** Se realizó el envasado de la harina de semilla de zapallo (*Cucurbita maxima*) en bolsa de polietileno de alta densidad y fue sellado de manera hermética con una selladora especial.
- **Almacenamiento:** Una vez obtenido el producto terminado, las bolsas que contenían a la harina de semilla de zapallo fueron almacenados a temperatura ambiente.

B. Descripción del esquema experimental

En la Figura 4 se presenta el esquema experimental y se detalla a continuación:

- a) Cuantificación de Cucurbitina en la semilla de zapallo (*Cucurbita maxima*):** Antes de exponer a las semillas en los diferentes tratamientos, se consideró una muestra de 6k de semillas de zapallo y se evaluó la concentración de cucurbitina mediante la prueba de Espectrofotometría UV-VIS de acuerdo a lo indicado en el ítem 3.3.2.
- b) Secado:** Las semillas obtenidas fueron divididas en 3 grupos, las cuales tuvieron el mismo peso por grupo (8k). Las semillas fueron expuestas a tres temperaturas de secado 50°C, 60°C y 70°C, por tiempos hasta que reporten una humedad de 9 ± 0.1 %. Posterior a ello, se realizaron los análisis de cuantificación de cucurbitina (ítem 3.3.2) para conocer el efecto de la temperatura sobre la proteína. Los

resultados fueron evaluados estadísticamente de acuerdo a lo indicado en el ítem 3.1.

c) Molienda y tamizado: Se realizaron los procesos de molienda y tamizado a las semillas procedentes de la temperatura seleccionada con mayor concentración de cucurbitina. Se utilizaron 3 tipos de molienda (tornillo, martillo y mortero). Para el tamizado se utilizó un tamiz con abertura de malla de 1 mm. Posteriormente, se evaluó el contenido de cucurbitina (ítem 3.3.2) para determinar el efecto de la molienda sobre este componente. Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente de acuerdo a lo indicado en el ítem 3.1.

d) Aplicación: La muestra de harina de semillas de zapallo que presentó mayor concentración de cucurbitina fue sometida a la evaluación del efecto vermífugo, para tal efecto se recurrió a lombrices de tierra (*Eisenia foetida*) como modelo biológico de la variedad roja californiana en estadio adulto, con tamaño de 5 cm – 7 cm, formando 2 grupos de lombrices: siendo el primer grupo lombrices de 0.5 a 1 g de peso y el segundo grupo, lombrices de 1 a 1.5g de peso, teniendo en cuenta las recomendaciones de Castro (2014) quien indica que el peso del ser humano y/o animal está relacionado con la administración del medicamento o sustancia y el efecto del mismo. Las lombrices se mantuvieron en un medio rico de

materia orgánica a una temperatura de 25°C a 27°C, humedad relativa 80% y pH 7.

Se contó con 40 lombrices, asignando 20 lombrices para cada grupo, a la vez cada grupo fue dividido en 2 subgrupos de 10 lombrices cada uno, donde a un subgrupo se aplicó la harina de zapallo procedente del mejor tratamiento (4g de harina con 10mL de suero fisiológico estéril), y el otro subgrupo fue expuesto solamente en suero fisiológico estéril (15 mL) como control.

El estudio se ejecutó durante 3 horas (180 minutos) y los resultados evaluados estadísticamente de acuerdo a lo indicado en el ítem 3.1.

OPERACIÓN		SECADO	MOLIENDA Y TAMIZADO	APLICACIÓN EN LOMBRICES DE TIERRA
MUESTRA	Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	<ul style="list-style-type: none"> • 50° C • 60° C • 70° C 	<ul style="list-style-type: none"> • Tipo Martillo • Tipo Tornillo • Tipo Mortero 	40 Lombrices <ul style="list-style-type: none"> G1 <ul style="list-style-type: none"> G1.A 10 lombrices G1.B 10 lombrices G2 <ul style="list-style-type: none"> G2.A 10 lombrices G2.B 10 lombrices
ANÁLISIS	- Cuantificación de Cucurbitina	- Cuantificación de Cucurbitina	- Cuantificación de Cucurbitina	- Efecto Vermífugo

Leyenda:

G1: 20 lombrices de tierra con pesos entre 0.5g – 1g

G1.A: 10 lombrices se aplicaron a harina de semilla de zapallo

G1.B: 10 lombrices se aplicaron en suero fisiológico estéril (control)

G2: 20 lombrices de tierra con pesos entre 1g – 1.5g

G2.A: 10 lombrices se aplicaron a harina de semilla de zapallo

G2.B: 10 lombrices se aplicaron en suero fisiológico estéril (control)

Figura 4. Esquema Experimental

4.4 Recolección de datos

4.4.1 Tratamiento Estadístico de los datos

Para analizar los datos se procedió a construir una base de datos que fue procesada con el soporte del paquete estadístico SPSS 22.0 y Minitab 16. Se inició con un análisis descriptivo calculando e interpretando análisis estadísticos como medias y desviación estándar que muestran la variación de la concentración de cucurbitina desde las semillas extraídas del zapallo (*Cucurbita maxima*) hasta pasar por los diferentes procesos. La conservación de cucurbitina en las semillas desde su extracción hasta su pulverización se determinó en términos de reducción: a menor porcentaje de reducción mayor es su conservación, y a mayor porcentaje de reducción menor es su conservación.

Se realizó un análisis inferencial (concluyente), donde se comparó los resultados con variable dependiente, variación de concentración de cucurbitina con respecto a las semillas extraídas, considerando: 1) Temperatura de secado (50°C, 60°C y 70°C). 2) Tipo de molienda (Tornillo, Martillo y Mortero). La mejor muestra en cada etapa, en función a la concentración de cucurbitina, fue tomada en cuenta para continuar con la investigación. La comparación de los resultados se realizó mediante la prueba de Análisis de varianza univariante (ANOVA) y para las comparaciones múltiples se utilizó la Prueba de Duncan. Las dos pruebas fueron sometidas a un nivel de

significancia del 5%, es decir, las conclusiones son dadas al 95% de confianza.

CAPITULO V

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1 Resultados

❖ Análisis estadístico descriptivo

5.1.1 Resultados del contenido de cucurbitina en semilla obtenida del zapallo:

La concentración media de las semillas extraída del zapallo alcanzó una concentración media de 0.6389 mg/mL con una desviación estándar de 0.0014 mg/mL (Tabla 3).

Tabla 3. Concentración de Cucurbitina en la semilla extraída de zapallo

Sin Tratamiento	N° de muestra	Concentración (mg/mL) Media ± DE
Semilla extraída del zapallo	10	0.6389 ± 0.0014

5.1.2 Efecto de la temperatura de secado sobre la conservación de cucurbitina en las semillas de zapallos:

Las semillas que fueron expuestas a temperatura de secado de 50°C presentaron una concentración media de cucurbitina de 0.5431 mg/mL con una desviación estándar de 0.0071; las expuestas a temperatura de secado de 60°C obtuvieron una concentración media ligeramente menor igual a 0.5234 mg/mL con una desviación estándar de 0.0044; mientras las que fueron expuestas a temperatura de secado de 70°C obtuvieron una

concentración media de 0.2570 mg/mL con una desviación estándar de 0.0011 (Tabla 4 y Figura 5).

Tabla 4. Efecto de la temperatura de secado sobre la concentración de Cucurbitina en la semilla extraída de zapallo

Tratamiento de secado	N° de muestra	Concentración (mg/mL) Media ± DE
Secado a 50°C (33 horas)	10	0.5431 ± 0.0071
Secado a 60°C (26 horas)	10	0.5234 ± 0.0044
Secado a 70°C (22 horas)	10	0.2570 ± 0.0011

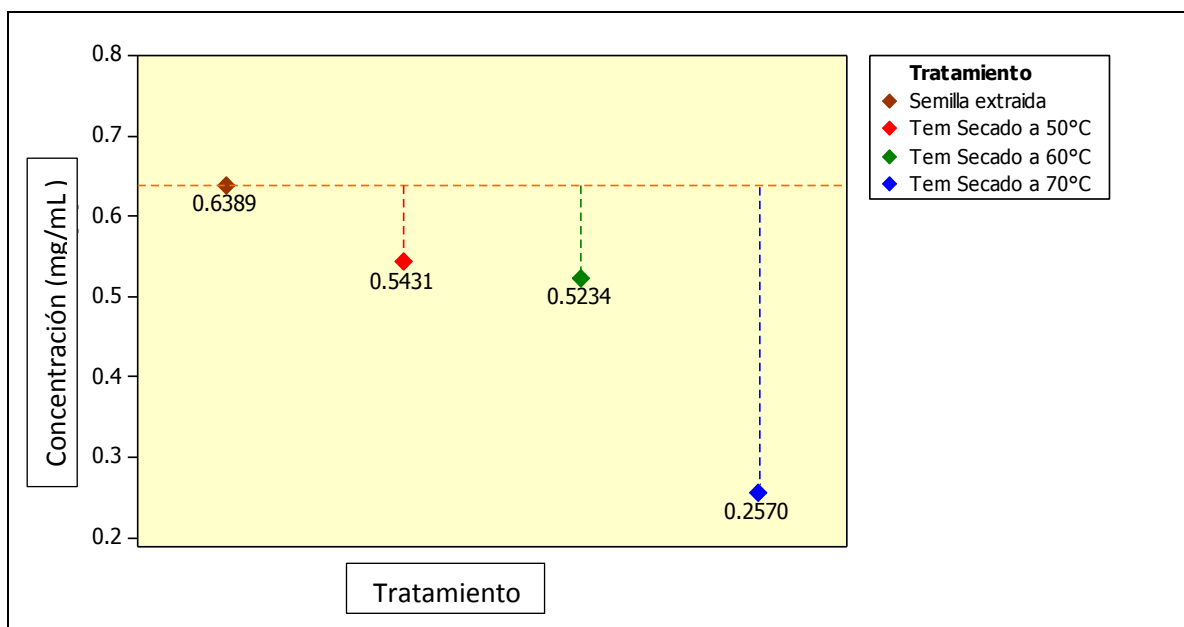


Figura 5. Concentración media de Cucurbitina en la semilla extraída del zapallo y en las semillas expuestas a tres temperaturas de secado

En la Tabla 5 y Figura 6 se visualiza la variación media de la concentración de cucurbitina en la semilla de zapallo por efecto de la temperatura de secado respecto a la concentración media de la semilla de zapallo sin tratamiento.

A una temperatura de secado de 50°C se redujo en 14.991% la concentración de cucurbitina; a 60°C disminuyó (ligeramente) en un porcentaje igual a 18.081%, mientras que a 70°C la concentración de cucurbitina se redujo notablemente en 59.769%. El signo negativo indica que los porcentajes de variación son de reducción (o disminución) de la concentración de cucurbitina.

Tabla 5. Variación media (%) de la concentración de Cucurbitina en la semilla seca a tres niveles de temperatura con respecto a la concentración en la semilla sin tratamiento

Temperatura de secado	Variación media (%) de la concentración en la semilla seca con respecto a la semilla extraída
50°C (durante 33 h)	-14.991
60°C (durante 26 h)	-18.081
70°C (durante 22 h)	-59.769

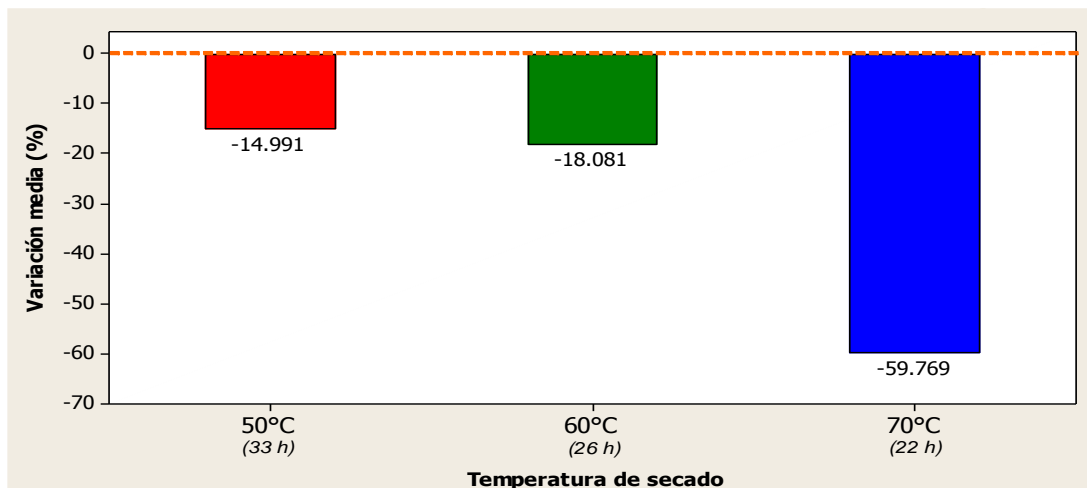


Figura 6. Variación media (%) de la concentración de Cucurbitina en la semilla seca a tres niveles de temperatura con respecto a la semilla sin tratamiento

5.1.3 Efecto del tipo de molienda sobre la conservación de cucurbitina en las semillas de zapallos:

En la Tabla 6 se muestran los resultados del efecto de la molienda en molinos (tornillo, martillo y mortero) sobre el contenido de cucurbitina en las semillas de zapallo previamente deshidratadas a 50°C. La harina de semillas de zapallo con tratamiento de molienda tipo tornillo obtuvo una concentración media de 0.4767 mg/mL, con desviación estándar de 0.0006; con tipo de molienda martillo obtuvo una concentración media de 0.4123 mg/mL, con desviación estándar de 0.0029; y con tipo de molienda mortero obtuvo concentración media de 0.3539 mg/mL con desviación estándar de 0.0006.

Tabla 6. Efecto de la molienda en la concentración de Cucurbitina en semillas de zapallo deshidratadas a 50°C

Tratamiento de molienda	N° de muestra	Concentración (mg/mL) Media ± DE
Tornillo	10	0.4767 ± 0.0006
Martillo	10	0.4123 ± 0.0029
Mortero	10	0.3539 ± 0.0006

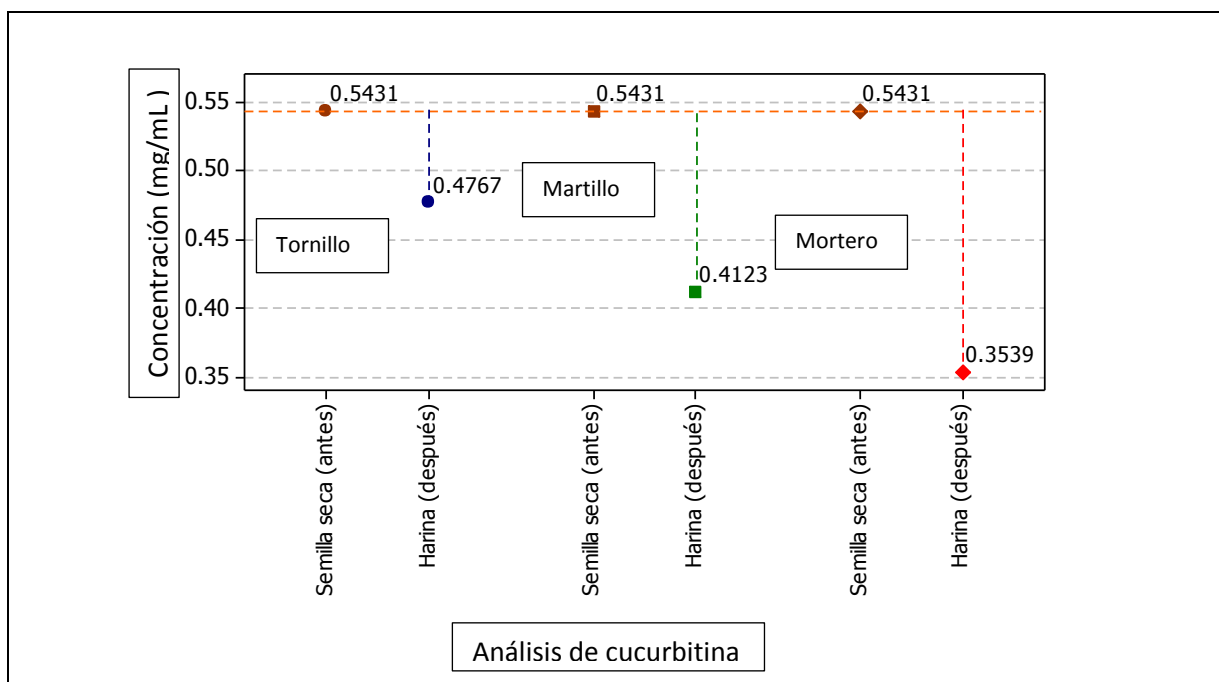


Figura 7. Concentración media de Cucurbitina en la semilla deshidratada a 50°C de temperatura y en la harina de semilla de zapallo

Las semillas expuestas a molienda tipo tornillo se redujo en 12.234%, cuando la molienda fue de tipo martillo se redujo en un 24.085% y se obtuvo una disminución de 34.829% cuando la molienda fue utilizando mortero. El signo negativo indica que los porcentajes de variación son de reducción (o disminución) de la concentración de cucurbitina. (Ver Tabla 7).

Tabla 7. Variación media (%) de la concentración de Cucurbitina en harina de semilla por efecto de la molienda respecto a la semilla seca

Tratamiento de molienda	Variación media (%) de la concentración en la harina con respecto a la semilla seca
Tornillo	-12.234
Tipo de molienda: Martillo	-24.085
Mortero	-34.829

En la Tabla 8 se observa la variación media, en términos porcentuales, de la concentración de cucurbitina en la harina de semilla seca a 50°C, después de aplicar tres tipos de molienda, con respecto a la concentración determinada en la semilla extraída. El signo negativo indica que los porcentajes de variación son de reducción (o disminución) de la concentración de cucurbitina.

En todos los tratamientos presentan reducción (disminución); las que fueron expuestas a tipo de molienda tornillo se redujeron en un 25.391%, cuando la molienda fue tipo martillo presentó reducción de 35.465% y cuando la molienda fue usando un mortero, la reducción fue de 44.598%.

Tabla 8. Variación media (%) de la concentración de Cucurbitina en harina de semilla seca con respecto a la concentración en la semilla extraída del zapallo.

Tratamiento de molienda	Variación media (%) de la concentración en la harina con respecto a la semilla extraída
Tornillo	-25.391
Tipo de molienda: Martillo	-35.465
Mortero	-44.598

❖ Análisis estadístico inferencial

5.1.4 Efecto de la temperatura de secado sobre la conservación de cucurbitina en las semillas de zapallos:

Al 95% de confianza:

En la Tabla 9a se muestran los resultados del análisis de varianza para determinar la variación del contenido de cucurbitina por efecto de la temperatura de secado. Según el Análisis de varianza univariante (variable respuesta: variación porcentual de la concentración con respecto a la semilla extraída), al menos uno de los grupos (niveles) del factor Temperatura de secado tiene una media de variación porcentual de concentración que es diferente significativamente al de los demás (Pvalue=0,000).

Tabla 9a. Análisis de varianza univariante

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	Gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	12508,516 ^a	2	6,254,258	10,678,149	,000
Interceptación	28,730,947	1	28,730,947	49,053,515	,000
Temperatura	12,508,516	2	6,254,258	10,678,149	,000
Error	15,814	27	,586		
Total	41,255,278	30			
Total corregido	12,524,330	29			

a.R al cuadrado = ,999 (R al cuadrado ajustada = ,999)

Significancia:

- Si $p > 0,05$; No hay.
- Si $p < 0,05$; Si hay.
- Si $p < 0,01$; Existe muy significativa
- Si $p < 0,001$; Existe altamente significativa

En la Tabla 9b se presenta la prueba post hoc de Duncan según el factor temperatura de secado, las medias de los tres grupos (niveles) de temperatura de secado difieren significativamente entre sí (Pvalue=1,000 para cada grupo), es decir que sus efectos sobre la variación porcentual de la concentración de cucurbitina son significativamente diferentes entre sí, de modo que la temperatura de secado a 50°C es la que muestra una menor reducción de cucurbitina, seguido de la temperatura de secado a 60°C y la que mostró un mayor reducción fueron las muestras deshidratadas a 70°C.

Tabla 9b. Prueba de Post Hoc de Duncan y la variación de concentración de cucurbitina de la semilla seca con respecto a la semilla extraída

Factor: Temperatura de secado

Subconjuntos homogéneos

Variación con respecto a la semilla extraída (%)

Duncan^{a,b}

Temperatura de secado	N° de muestra	Subconjunto		
		1	2	3
70°C	10	-59.76890		
60°C	10		-18.08040	
50°C	10			-14.99080
Sig.		1.000	1.000	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,586.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

b. Alfa = 0.05.

5.1.5 Aplicación de harina de semillas de zapallo (*Cucurbita maxima*) en lombrices de tierra (*Eisenia foetida*)

❖ Análisis estadístico descriptivo

En la Tabla 10 se muestran los resultados de los tiempos de muerte de los dos grupos de lombrices evaluados a 180 minutos.

Tabla 10. Resultados de la evaluación de lombrices (*Eisenia foetida*) durante 180 minutos en aplicación de harina de semillas de zapallo

Lombrices	Tiempo de muerte (min)	Nivel de Contorsiones
G1.A	54´ 47"	Moderado
G2.A	53´ 54"	Intenso
G1.A	54´ 44"	Intenso
G2.A	54´ 13"	Intenso
G1.A	54´ 29"	Moderado
G2.A	53´ 26"	Moderado
G1.A	53´ 01"	Moderado
G2.A	54´ 13"	Intenso
G1.A	53´ 18"	Intenso
G2.A	53´ 97"	Moderado
G1.A	54´ 39"	Intenso
G2.A	54´ 17"	Intenso
G1.A	53´ 09"	Moderado
G2.A	54´ 02"	Intenso
G1.A	53´ 45"	Moderado
G2.A	54´ 05"	Intenso
G1.A	54´ 19"	Intenso
G2.A	54´ 53"	Moderado
G1.A	53´ 57"	Intenso
G2.A	54´ 21"	Intenso

G1.A: lombrices (peso entre 0.5g-1g) en harina de semilla de zapallo

G2.A: lombrices (peso entre 1g-1.5g) en harina de semilla de zapallo

En la Tabla 11 se observan los resultados estadísticos de los tiempos de muerte de los dos grupos de lombrices. La menor media correspondió a la

harina de semilla con tipo de molienda tornillo (tiempo de muerte, grupo 1: media de 54.013 min con desviación estándar de 0.678 min, grupo 2: media de 54.201 min con desviación estándar de 0.394 min).

Tabla 11. Estadísticos descriptivos asociados a los tiempos de muerte de los dos grupos de lombrices (*Eisenia foetida*)

Tratamiento	Concentración de cucurbitina (M)	Peso de lombriz	N° de muestra	Media	Desviación estándar
50°C - Tornillo	0.4775	0.5 a 1 g	10	54.013	0.678
	0.4775	1 a 1.5 g	10	54.201	0.394
Control	0.0000	0.5 a 1 g	10	>180.0	0.000
	0.0000	1 a 1.5 g	10	>180.0	0.000

En la Tabla 12 se observa que el 60% de las lombrices de tierra presentaron nivel de contorsión intenso, mientras que el 40% restante alcanzó un nivel de contorsión moderado. En el grupo control (con suero fisiológico estéril), no se evidenció contorsiones.

Tabla 12. Frecuencia en valores absolutos y porcentajes de los niveles de contorsiones

Tratamiento	Nivel de contorsión	Frecuencia	Porcentaje (%)
50°C – Tornillo	Moderado	8	40.0
	Intenso	12	60.0
	Total	20	100.0
Control	Nulo	20	100.0

❖ Análisis estadístico inferencial

Al 95% de confianza:

En la Tabla 13 se aprecia que según la prueba t de igualdad de medias para la variable tiempo de muerte, en minutos y los dos grupos de lombrices según peso, no existe diferencias significativas entre las medias de los dos grupos de lombrices (Pvalue>0,05).

Tabla 13. Prueba t para la igualdad de medias de los tiempos de muerte de los dos grupos de lombrices (*Eisenia foetida*)

Tratamiento	t	gl	p-value	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
50°C – Tornillo	-0.759	14.453	.460	-0.18800	-0.71797	.34197

5.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados del contenido de cucurbitina por efecto de la temperatura de secado fueron significativas, según la prueba de Post Hoc de Duncan; resultado que concuerda con lo investigado por Lloja (2013), quien al exponer las semillas de secado a temperaturas superiores a 60°C las concentraciones de asparagina (aminoácido similar en la estructura química de la cucurbitina) fueron menores (0.385 mg/mL), y esto se debe a que las proteínas (cadenas de aminoácidos) se desnaturalizan al someterlas a mayor temperatura; la desnaturalización depende del tipo de proteínas siendo algunas reversibles y otras irreversibles. De la misma manera, Esteban (2012) encontró en su investigación que el aminoácido prolina, que también se encuentra en las semillas de zapallo (*Cucurbita maxima*), presenta variaciones al exponerlas a temperaturas mayores de 55°C cuyas concentraciones disminuyen por efecto de la temperatura y guardan similitud con la estructura química de la cucurbitina.

En lo que respecta al tipo de molienda, se encontró diferencias significativas, es decir que sus efectos sobre la variación porcentual de la concentración de cucurbitina son significativamente diferentes entre sí, de modo que la molienda de tipo tornillo es la que reduce en menor medida, siendo la molienda de tipo mortero la que reduce en mayor medida. Según

Gonzales (2014) la reducción de concentración de la proteína, se debe a que las moliendas al tener contacto con las semillas generan calor, lo cual aumenta la temperatura produciendo cambios estructurales en los aminoácidos que contienen las semillas. Al producirse este cambio estructural conlleva a la pérdida de la estructura nativa de la molécula, pudiendo llegar a la pérdida total o parcial de la función biológica de los aminoácidos.

Así mismo, Aulton (2011) menciona que los molinos originan tamaños de partículas variables, y la selección de los mismos está relacionada con el tipo de material a pulverizar; los materiales fibrosos, como las semillas vegetales, se debe utilizar el molino que triture y pulverice en menor tiempo, con la finalidad de no tener mayor contacto y genere efectos térmicos que influyan en algunas propiedades de las semillas.

Se determinó que la temperatura de secado y el tipo de molienda afecta significativamente la concentración de cucurbitina y a su vez esta concentración está directamente relacionado al efecto vermífugo. A mayor concentración de cucurbitina, serán mayores las contorsiones y muerte de las lombrices. Según Duez (2012), indica que la cucurbitina es un antihelmíntico natural de tipo alcaloide presente en las semillas de zapallo o pipas de calabaza que es comercializado estimulando la secreción gástrica paralizando la musculatura de parásitos y oxiuros favoreciendo su desprendimiento de la pared intestinal y su expulsión por vía fecal. A mayor concentración de aminoácido antihelmíntico (cucurbitina), su función biológica se ejecutará en menor tiempo y a una baja dosificación.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

- ❖ Las semillas de zapallo sin recibir tratamiento (recién extraídas) presentan 0.6389 mg/mL de concentración de cucurbitina.

- ❖ Se determinó que la temperatura de secado influye en la concentración de cucurbitina, a 50°C se obtuvo una concentración media de 0.5431 mg/mL, a 60°C la concentración media fue de 0.5234 mg/mL y a 70°C se obtuvo una concentración media de 0.2570 mg/mL, la evaluación estadística encontró diferencias significativas.

- ❖ Se determinó que los tipos de molienda influyen en la concentración de cucurbitina, con el tipo de molienda de tornillo se obtuvo una concentración media de 0.4767 mg/mL, con molino de martillo se obtuvo una concentración media de 0.4123 mg/mL y con el tipo de molienda mortero se obtuvo una concentración media de 0.3239 mg/mL. La evaluación estadística encontró diferencias significativas.

- ❖ Se determinó que la harina de semilla de zapallo procesada a 50°C hasta llevarlo a 9.1% de humedad, triturado en un molino tipo tornillo, tiene efecto vermífugo, siendo su efecto en lombrices, las cuales murieron alrededor de los 54 minutos de su exposición.

6.2 Recomendaciones

- ❖ Realizar investigaciones de dosificaciones apropiadas de harina de semilla de zapallo, en personas a diferentes edades.
- ❖ Realizar extractos etéreos para la obtención de aceites y tener otro tipo de presentación para el consumo.
- ❖ Realizar investigaciones con las semillas de zapallo deshidratadas a 60°C ejecutando los procesos de molienda, tamizado y de efecto vermífugo, ya que estas semillas llegan a la humedad requerida en menor tiempo de exposición que las semillas expuestas a 50°C y se podría comparar los tiempos de muerte de las lombrices con la harina de semilla de zapallo de 50°C siendo otra opción para la industria, optimizando los tiempos de deshidratado.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Alaya, C. (2007). *Desarrollo del proceso y caracterización de harina de zapallo y formulación de sus productos*. Escuela Superior politécnica del litoral ESPOL.

Andre, P. y Thiery, V. (2010). *Method for Synthesizing cucurbitine*. United States. Patent 5, pp. 273-696.

Armijo, C. (2012). *Elaboración de harina de zapallo Cucurbita maxima fortificada con harina de soya para uso alimenticio en el cantón de las Naves*. Universidad estatal de Bolivia – Guaranda. 87pp.

Aulton, M. (2011). *La ciencia del diseño de las formas farmacéuticas*. Segunda edición. España.

Becageia, F. (2012). *El uso de las semillas de calabaza*. About.com Rev.2.

Betancourt, B. y Sánchez, M. (2010). *Evaluación de 3 niveles de Harina de semilla de zapallo como fuente proteica para conejos en crecimiento*. Tesis para optar el Título de Zootecnista. Universidad de Colombia. Facultad de Ciencias agropecuarias sede Palmira.

- Blanco, G. (2014). *Determination of amino acids seeds by High Performance Liquid Chromatography*. Riberao Preto – Brasil. pp155.
- Bravo, R. (2011). *Contribución al estudio fitoquímico de las semillas de Cucurbita máxima*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú. pp 45.
- Carbajal, V. (2011). *Estudios preclínicos de Cucurbita maxima, semillas de zapallo, antiparasitario intestinal tradicional en zonas urbanas – rurales*. Lima – Perú. pp 41 – 43.
- Castro, L. (2014). *Estudio preliminar de la bioactividad de extractos de semilla de Annona cherimolia de la familia Annonaceae*. Universidad Tecnológica de Pereira. ISSN. Colombia.
- Collazos, C. y White, H. (2001). *La composición de los alimentos peruanos*. Instituto de Nutrición. Ministerio de Salud. Lima. 35 pp.
- Coronel, L. y Mendoza, C. (2009). *Obtención de harina a base de zapallo (Cucurbita maxima)*. Universidad Nacional Agraria La Molina. pp.35-42.
- Corrales, M. (2007). *Extracción de aceite de la semilla de Cucurbita maxima con fines antiparasitarios*. Universidad Católica de Santa María. Revista universitaria #10 N°1.
- Curbelo, C. (2009). *Utilización de las semillas de la calabaza como medicina natural*. Revista Salud. La Habana Cuba. Novena Edición. pp. 25-38.
- Díaz, D.; Lloja, L. y Carbajal, V. (2010). *Estudios preclínicos de Cucurbita máxima (semilla de zapallo) un antiparásito intestinal tradicional en zonas rurales*. Rev. Gastroenterol. Lima, Perú.

- Díaz, E. (2008). *Semillas de calabaza, antiparasitario efectivo*. Revista Diario femenino. Quinta Edición. Colombia.
- Duez, P. (2012). *Estudios Preclínicos de Cucurbita maxima (semilla de zapallo) antiparasitario intestinal tradicional en zonas urbano rurales*.
Lima – Perú.
- Dunnill, M. (2013). *The amino acid of seeds in cucurbitaceae*. Phytochemistry. Universidad Mayor de San Andrés. Buenos Aires – Argentina. pp 53 -58.
- Escobar, D. y Márquez, R. (2008). *Caracterización de harina proveniente de semillas de zapallo y pasta*. Gerencia de proyectos alimentarios. Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU). Empresa Uni- Kurbis.
- Esteban, H. (2012). *Pharmacographic study of th sedes of Cucurbita maxima and varieties*. Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Farmacia.
- Flores, J. (1996). *Eficacia antioxiurática de Cucurbita máxima (zapallo), Corica (papaya), Portulaca o Ierócea (verdolaga) en escolares de nivel primario*. Tesis para optar el Grado de Bachiller en Medicina UNAS. Juliaca, Puno.
- George, R. (2003). *Producción de semillas de plantas hortícolas*. Ed. MundiPrensa. Madrid, España. pp.185-191.
- Gonzáles, E. (2014). *Contribución al estudio farmacológico (antihelmíntico) de las semillas Cucurbita máxima Duch y de su principio activo, la Cucurbitina*. Real Academia de Farmacia. pp 40(3).
- Gonzales, P. (2010). *Desarrollo y evaluación de una pasta untable para el aprovechamiento de semillas de zapallo*. Universidad de Chile.

Guenkov, E. (2008). *Fundamentos de la Horticultura Cubana*. Primera edición. La Habana, Cuba. Ed. Ciencia y Técnica. pp. 217-233.

Horrillo, F. (2007). *Utilización de semillas de zapallo Cucurbita moschata Duch para la obtención de aceites y proteínas*. Universidad de Colombia, Facultad de Ingeniería – Sede Palmira.

Jorge, E. (2006). *Caracterización de la semilla de la calabaza (Cucurbita maxima) con fines farmacéuticos*. Revista Cubana de Farmacia. La Habana – Cuba.

Jorge, M. (2006). *Un ingrediente activo con acción antihelmíntica, a partir de las semillas de Cucurbita moscata Duch: Estudios analíticos y de preformulación*. Instituto de Farmacia y Alimentos. Departamento de Tecnología y Control de los Medicamentos. Universidad de la Habana.

Keuroglan, R. (2000). *Procesamiento de zapallo (Cucurbita maxima Duch. var. Macre) en almíbar confitado*. Tesis para optar el título de ingeniero Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria "La Molina". Lima, Perú. 145 pp.

Lara, N. (2003). *Investigación y desarrollo de nuevas alternativas alimenticias para consumo humano, basadas en maíz, zapallo, plátano y quinua*. Informe Final Proyecto Alianza Estratégica Internacional. Convenio INIAPPROMSA, No. AQ-CV-012. Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina, INIAP. Quito, Ecuador.

León, J. (2002). *Botánica de los cultivos tropicales*. San José, Costa Rica. pp. 386

- Lloja, L. (2013). *Preclinical studies of Cucurbita maxima a traditional intestinal antiparasitic in rural urban áreas*. Rev. Gastroenterol. Perú. pp 24(4)
- Mejía, M. y Ortiz, S. (2009). *Zapallo para la industria de alimentos balanceados*. Departamento de Ciencia. Universidad Nacional de Colombia.
- Ortiz, S. y Pasos, S. (2009). *Extracción y caracterización de aceite de semillas de zapallo*. Universidad de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Ortiz, J; Pasos, S. y Constanza, X. (2009). *Extracción y caracterización de aceite de semillas de zapallo*. Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Colombia. Palmira-Colombia.
- Petryck, N. (2009). *La Importancia del aminoácido Cucurbitina*. Revista Alimentación Sana. Cuarta Edición.
Real Academia Española, 23ava Edición. 2014
- Roig, J. (2010). *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. Primera edición. La Habana: Gente nueva.
- Ruis, M. (2011). *Efecto del tipo de harina de zapallo macre sobre el volumen específico, firmeza sensorial y aceptabilidad general en el pan de molde durante su almacenamiento*. Tesis para optar el título de Ingeniero de Industrias Alimentarias. Universidad Privada Antenor Orrego. Facultad de Ciencias Agrarias. Trujillo, Perú.
- Tillan, J.; Bellma, A. y Menéndez, R. (2003). *Actividad antagonista del aceite de semillas de Cucurbita pepo microencapsulado*. Centro de Investigación y desarrollo (CIDEM). Ciudad de La Habana, Cuba.
- Urriola, J. (2011). *Factibilidad Técnica y Económica de industrializados de zapallo*.

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Laboratorio de procesos de alimentos. Universidad de Chile.

Velásquez, R. (2015). *Prevalencia de enteroparásitos en pacientes de laboratorio de análisis clínicos de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*. Boletín Peruano de Parasitología. Vol.12

ANEXOS

ANEXO 1.- GALERIA DE FOTOS



Foto 1: Colocando las semillas extraídas de zapallo para recibir el tratamiento de secado



Foto 2: Realizando la Molienda tipo tornillo



Foto 3: Realizando la molienda tipo martillo



Foto 4: Realizando la molienda tipo mortero

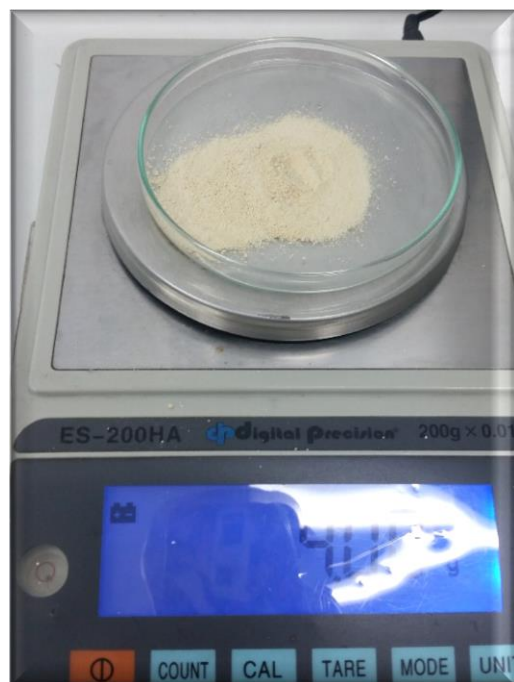


Foto 5: Peso de harina de semillas de zapallo (Deshidratada a 50°C, con tipo de molienda tornillo)

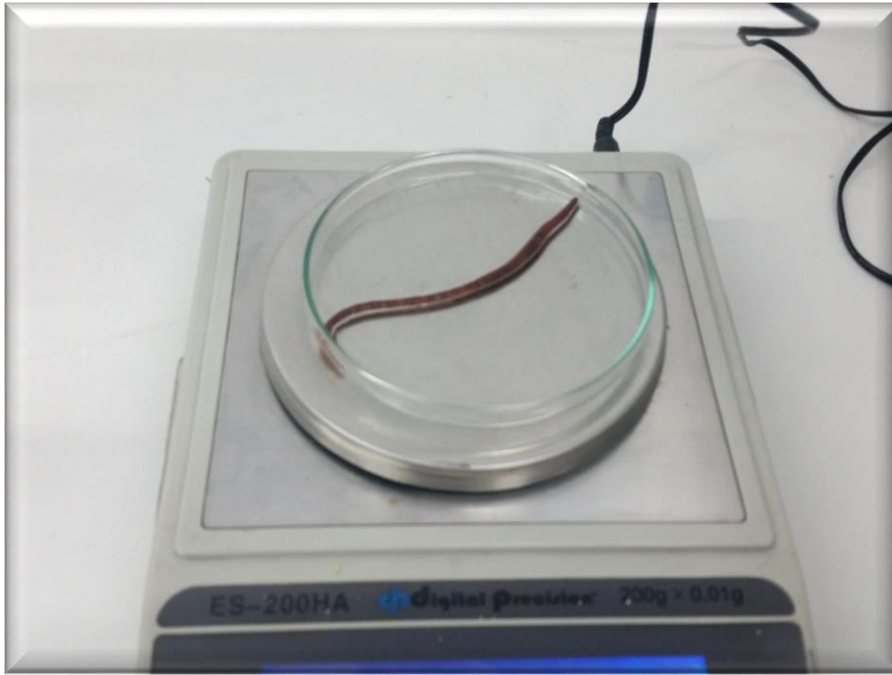


Foto 6: Peso de las lombrices de tierra

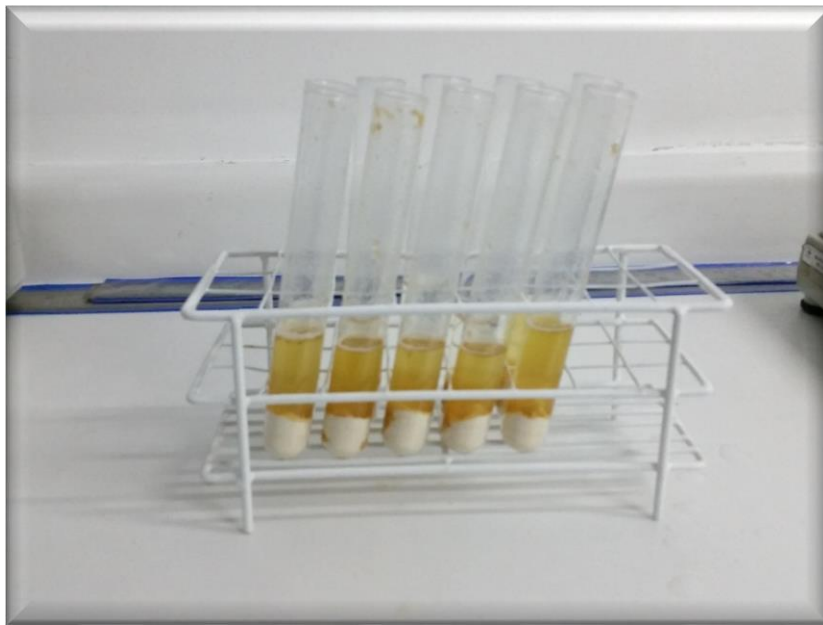


Foto 7: Preparación de 4g de harina de semillas de zapallo con suero fisiológico estéril

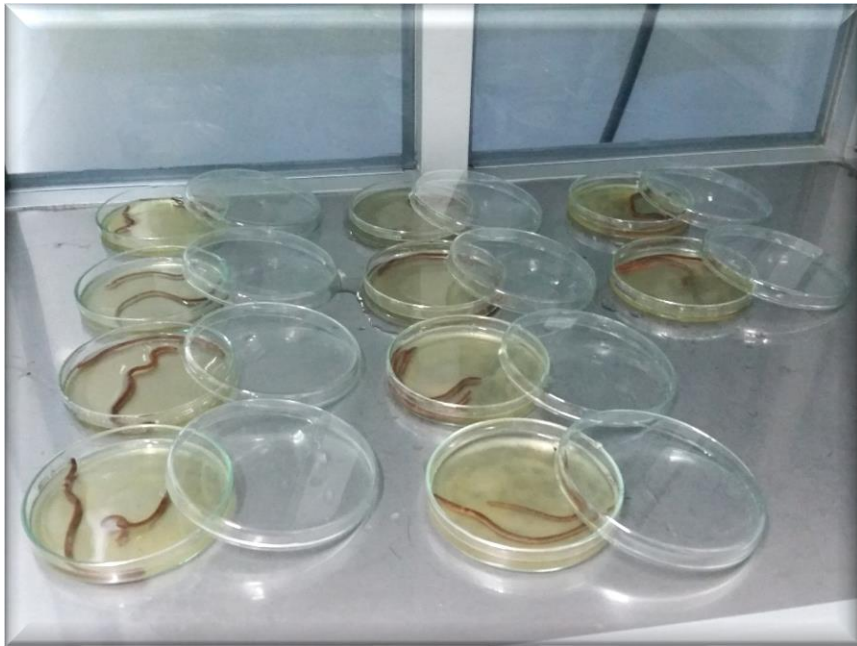


Foto 8: Lombrices de tierra expuestas en Harina de semillas de zapallo y suero fisiológico



Foto 9: Lombrices de tierra expuestas en suero fisiológico (controles)

**ANEXO 2.- TABLAS DE RESULTADOS DE LAS CONCENTRACIONES DE
CUCURBITINA**

Tabla A. Concentración de las semillas extraídas del zapallo

Muestra	Absorbancia	Concentración
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	3.451	0.6390 mg/mL
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	3.439	0.6368 mg/mL
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	3.444	0.6377 mg/mL
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	3.462	0.6411 mg/mL
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	3.459	0.6405 mg/mL
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	3.441	0.6372 mg/mL
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	3.453	0.6394 mg/mL
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	3.452	0.6392 mg/mL
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	3.449	0.6387 mg/mL
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>)	3.451	0.6390 mg/mL

Tabla B. Tiempos de exposición de las semillas de zapallo a diferentes temperaturas para obtener una humedad relativa de 9.1%

Muestra	Temperatura	Tiempo	Humedad
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>) por cada temperatura expuesta	50°C	33 horas	9.10%
	60°C	26 horas	9.10%
	70°C	22 horas	9.10%

Tabla C. Resultados de las Concentraciones de cucurbitina en las semillas de zapallo expuestas a diferentes temperaturas

Muestra	Temperatura	Absorbancia	Concentración
200 g de Semillas de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>) por cada temperatura y por repetición	50°C	2.971	0.5501 mg/mL
	50°C	2.898	0.5366 mg/mL
	50°C	2.943	0.5450 mg/mL
	50°C	2.876	0.5325 mg/mL
	50°C	2.934	0.5433 mg/mL
	50°C	2.897	0.5364 mg/mL
	50°C	2.968	0.5496 mg/mL
	50°C	2.958	0.5477 mg/mL
	50°C	2.898	0.5366 mg/mL
	50°C	2.987	0.5531 mg/mL
	60°C	2.851	0.5279 mg/mL
	60°C	2.815	0.5212 mg/mL
	60°C	2.823	0.5227 mg/mL
	60°C	2.798	0.5181 mg/mL
	60°C	2.849	0.5275 mg/mL
	60°C	2.795	0.5175 mg/mL
	60°C	2.849	0.5275 mg/mL
	60°C	2.843	0.5264 mg/mL
	60°C	2.796	0.5177 mg/mL
	60°C	2.846	0.5270 mg/mL
	70°C	1.398	0.2588 mg/mL
	70°C	1.384	0.2562 mg/mL
	70°C	1.394	0.2581 mg/mL
	70°C	1.381	0.2557 mg/mL
70°C	1.390	0.2574 mg/mL	
70°C	1.389	0.2572 mg/mL	
70°C	1.379	0.2553 mg/mL	
70°C	1.385	0.2564 mg/mL	
70°C	1.393	0.2579 mg/mL	
70°C	1.389	0.2572 mg/mL	

Tabla D. Resultados de las Concentraciones de cucurbitina en las harinas semillas de zapallo de cada muestra de molienda

Muestra	Temperatura	Molienda	Absorbancia	Concentración
200 g de Harina de zapallo (<i>Cucurbita maxima</i>) por cada tipo de molienda por repetición	50°C	Tornillo	2.579	0.4775 mg/mL
		Tornillo	2.574	0.4766 mg/mL
		Tornillo	2.571	0.4761 mg/mL
		Tornillo	2.578	0.4774 mg/mL
		Tornillo	2.573	0.4764 mg/mL
		Tornillo	2.579	0.4775 mg/mL
		Tornillo	2.574	0.4766 mg/mL
		Tornillo	2.570	0.4759 mg/mL
		Tornillo	2.573	0.4764 mg/mL
		Tornillo	2.571	0.4761 mg/mL
		Martillo	2.229	0.4127 mg/mL
		Martillo	2.221	0.4115 mg/mL
		Martillo	2.218	0.4107 mg/mL
		Martillo	2.225	0.4120 mg/mL
		Martillo	2.227	0.4124 mg/mL
		Martillo	2.220	0.4111 mg/mL
		Martillo	2.270	0.4203 mg/mL
		Martillo	2.218	0.4107 mg/mL
		Martillo	2.222	0.4114 mg/mL
		Martillo	2.215	0.4101 mg/mL
		Mortero	1.918	0.3551 mg/mL
		Mortero	1.915	0.3546 mg/mL
		Mortero	1.913	0.3542 mg/mL
		Mortero	1.910	0.3537 mg/mL
		Mortero	1.908	0.3533 mg/mL
		Mortero	1.913	0.3542 mg/mL
		Mortero	1.908	0.3533 mg/mL
		Mortero	1.910	0.3537 mg/mL
Mortero	1.911	0.3538 mg/mL		
Mortero	1.909	0.3535 mg/mL		

Tabla E. Resultados de las Contorsiones de las Lombrices de tierra

Muestra	Temperatura / Concentración	Lombriz	Nivel de Contorsiones
Placa 1	50°C / 0.4775 M	G1.A	++
		G2.A	+++
Placa 2	50°C / 0.4775 M	G1.A	+++
		G2.A	+++
Placa 3	50°C / 0.4775 M	G1.A	++
		G2.A	++
Placa 4	50°C / 0.4775 M	G1.A	++
		G2.A	+++
Placa 5	50°C / 0.4775 M	G1.A	+++
		G2.A	++
Placa 6	50°C / 0.4775 M	G1.A	+++
		G2.A	+++
Placa 7	50°C / 0.4775 M	G1.A	++
		G2.A	+++
Placa 8	50°C / 0.4775 M	G1.A	++
		G2.A	+++
Placa 9	50°C / 0.4775 M	G1.A	+++
		G2.A	++
Placa 10	50°C / 0.4775 M	G1.A	+++
		G2.A	+++

G1.A: lombriz de peso de 0.5g - 1g
G2.A: lombriz de peso de 1g-1.5g

Nivel de Contorsiones:
Nulo -
Leve +
Moderado ++
Intenso +++

MUESTRA	NIVEL DE CONTORSIONES
Control (suero fisiológico + lombrices)	-
Control (suero fisiológico + lombrices)	-
Control (suero fisiológico + lombrices)	-
Control (suero fisiológico + lombrices)	-
Control (suero fisiológico + lombrices)	-
Control (suero fisiológico + lombrices)	-
Control (suero fisiológico + lombrices)	-
Control (suero fisiológico + lombrices)	-
Control (suero fisiológico + lombrices)	-
Control (suero fisiológico + lombrices)	-

Tabla F. Resultados del tiempo de muerte de las lombrices de tierra

Muestra	Temperatura / Concentración	Lombriz	Tiempo de muerte (min)
Placa 1	50°C / 0.4775 M	G1.A	54´ 47"
	50°C / 0.4775 M	G2.A	53´ 54"
Placa 2	50°C / 0.4775 M	G1.A	54´ 44"
	50°C / 0.4775 M	G2.A	54´ 13"
Placa 3	50°C / 0.4775 M	G1.A	54´ 29"
	50°C / 0.4775 M	G2.A	53´ 26"
Placa 4	50°C / 0.4775 M	G1.A	53´ 01"
	50°C / 0.4775 M	G2.A	54´ 13"
Placa 5	50°C / 0.4775 M	G1.A	53´ 18"
	50°C / 0.4775 M	G2.A	53´ 97"
Placa 6	50°C / 0.4775 M	G1.A	54´ 39"
	50°C / 0.4775 M	G2.A	54´ 17"
Placa 7	50°C / 0.4775 M	G1.A	53´ 09"
	50°C / 0.4775 M	G2.A	54´ 02"
Placa 8	50°C / 0.4775 M	G1.A	53´ 45"
	50°C / 0.4775 M	G2.A	54´ 05"
Placa 9	50°C / 0.4775 M	G1.A	54´ 19"
	50°C / 0.4775 M	G2.A	54´ 53"
Placa 10	50°C / 0.4775 M	G1.A	53´ 57"
	50°C / 0.4775 M	G2.A	54´ 21"

G1.A: lombriz de peso de 0.5g - 1g

G2.A: lombriz de peso de 1g-1.5g

Muestra	Lombriz	Tiempo de muerte (min)
Control 1	G1.A	>180´
	G2.A	>180´
Control 2	G1.A	>180´
	G2.A	>180´
Control 3	G1.A	>180´
	G2.A	>180´
Control 4	G1.A	>180´
	G2.A	>180´
Control 5	G1.A	>180´
	G2.A	>180´
Control 6	G1.A	>180´
	G2.A	>180´
Control 7	G1.A	>180´
	G2.A	>180´
Control 8	G1.A	>180´
	G2.A	>180´
Control 9	G1.A	>180´
	G2.A	>180´
Control 10	G1.A	>180´
	G2.A	>180´