

2000-A/2005-A

397019401

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y  
AGROPECUARIAS  
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



“ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL Y CONTENIDO DE  
ALCALOIDES EN VARIEDADES DE *Lupinus albus L.*  
CULTIVADAS EN ZAPOPAN, JALISCO.”

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A

MARIA ELENA RUANO ORNELAS

Las Agujas, Zapopan, Jal., Septiembre de 2007

TESIS/CUCBA



**Universidad de Guadalajara**  
**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y**  
**Agropecuarias**

*Coordinación de Titulación y Carrera de Licenciatura*  
*en Biología*  
476/ C. C. BIOLOGÍA

**C. MARÍA ELENA RUANO ORNELAS**  
**PRESENTE**

Manifetamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de: **Tesis e Informes** opción **Tesis** con el título :  
“ **Análisis químico proximal y contenido de alcaloides en variedades de *Lupinus albus* L. Cultivadas en Zapopan, Jalisco**” para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director /a de dicho trabajo el/la: **DR. FRANCISCO ZAMORA NATERA** y el Asesor /a es: **DR. RAMÓN RODRÍGUEZ MACIAS.**

Sin más por el momento, le envío un caluroso saludo.

**ATENTAMENTE**  
**“PIENSA Y TRABAJA”**

Las Agujas, Zapopan., 4 de Mayo del 2006.  
“2006. Año del Bicentenario del natalicio del Benemérito de las Américas.  
Don Benito Juárez García”

**DR. CARLOS ÁLVAREZ MOYA**  
**PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

**DRA. LAURA GUADALUPE MEDINA CEJA**  
**SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

**C.c.p. DR. FRANCISCO ZAMORA NATERA - Director del trabajo**

FORMA F

Dr. Fco. Martín Huerta Martínez.  
Presidente del Comité de Titulación.  
Licenciatura en Biología.  
CUCBA.  
Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad tesis e informe, opción tesis con el título: "Análisis químico proximal y contenido de alcaloides en variedades de *Lupinus albus* L. cultivadas en Zapopan, Jalisco" que realizó la pasante María Elena Ruano Ornelas con número de código 397019401 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente

Las Agujas, Zapopan, Jal. 27 de Agosto del 2007

Dr. Francisco Zamora Natera  
Director del trabajo

Dr. Ramón Rodríguez Macías  
Asesor

Vo Bo  
03/09/07

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
Dr. Mario Ruiz López		28/08/07
Dr. Jorge Peregrina Sandoval		29/08/07
M en c. Pedro Macedonio García López		27/08/2007
Supl. M en C. Jesús Ruiz Moreno		27/08/2007

## DEDICATORIAS

A mi familia en especial a mis padres María Asunción Ornelas y Daniel Ruano por brindarme su apoyo a mis hermanos Daniel, Eduardo y Alejandro.

## AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis el Dr. Juan Francisco Zamora Natera y colaboradores por brindarme su apoyo y confianza en la realización y desarrollo de este trabajo de investigación.

A mis profesores que guiaron y me enseñaron todo lo que se, al profesor Sergio fausto que me brindo su conocimientos y su amistad.

A mis amigas por su apoyo y amistad en esta etapa de mi vida.

En especial a Eduardo Ibarra por su amor, apoyo y comprensión.

## CONTENIDO

	Página
INDICE DE CONTENIDO.....	i
INDICE DE APÉNDICE.....	iii
INDICE DE CUADROS.....	iv
INDICE DE FIGURAS.....	v
RESUMEN.....	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Características del género <i>Lupinus</i> .....	3
2.1.1 Origen.....	3
2.1.2 Historia.....	4
2.1.3 Descripción botánica.....	4
2.2 Características de <i>Lupinus albus</i> .....	5
2.2.1 Origen.....	5
2.2.2 Historia.....	5
2.2.3 Clasificación taxonómica de <i>Lupinus albus</i> .....	5
2.2.4 Descripción botánica de <i>Lupinus albus</i> .....	6
2.3 Características morfológicas en el ciclo biológico de <i>Lupinus</i> .....	7
2.3.1 Germinación.....	7
2.3.2 Desarrollo vegetativo.....	7
2.3.3 Floración.....	8
2.3.4 Formación de grano.....	9
2.4 Cultivo y producción de <i>Lupinus</i> .....	9
2.4.1 Condiciones del cultivo.....	9
2.4.2 Preparación de semilla.....	10
2.4.3 Siembra.....	10
2.4.4 Producción.....	11
2.5 Composición nutricional.....	11
2.6 Aplicaciones y usos de <i>Lupinus</i> .....	12
2.7 Factores antinutricionales.....	13
2.7.1 Alcaloides.....	13
2.7.2 Alcaloides del género <i>Lupinus</i> .....	14
2.7.3 Teorías de la fundación de los alcaloides en las plantas.....	15
III. OBJETIVOS E HIPOTESIS.....	17
3.1 Objetivos.....	17
3.2 Hipótesis.....	17

IV. MATERIALES Y METODOS.....	18
4.1 Material vegetal.....	18
4.2 Preparación de la muestra para análisis.....	19
4.3 Análisis químico proximal.....	20
4.4 Análisis de alcaloides por cromatografía de gases.....	21
4.5 Análisis estadístico.....	22
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	23
VI. CONCLUSIONES.....	35
VII. BIBLIOGRAFIA.....	36
VIII. APENDICE.....	42

## INDICE DE APÉNDICE

	Página
Determinación de humedad.....	42
Determinación de cenizas.....	43
Determinación de proteína.....	44
Determinación de extracto étereo.....	46
Determinación de fibra cruda.....	47
Determinación de fibra neutra detergente (FDN).....	48
Determinación de fibra ácido detergente (FDA).....	49



## INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición bromatológica de las especies de <i>Lupinus</i> cultivadas y su comparación con la harina de soya ( <i>Glycine max</i> ) en relación al contenido de proteínas.....	12
2	Variedad, fecha de colecta y características morfológicas de las variedades de <i>Lupinus albus</i> estudiadas.....	20
3	Composición proximal y contenido de fibra ácido y neutra detergente en semillas de <i>Lupinus albus</i> cultivado en Zapopan Jalisco (promedio de 13 variedades).....	23
4	Porcentajes promedio de proteína en semillas de 13 variedades de <i>L. albus</i> cultivadas en Zapopan, Jalisco.....	25
5	Porcentajes promedio de aceite en semillas de 13 variedades de <i>L. albus</i> cultivadas en Zapopan, Jalisco.....	28
6	Contenido de fibra cruda en semillas de 13 variedades de <i>L. albus</i> cultivadas en Zapopan, Jalisco.....	30
7	Contenido de alcaloides en semillas de 13 variedades de <i>L. albus</i> cultivadas en Zapopan, Jalisco.....	32

## INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Inflorescencia de <i>L. albus</i> .....	6
2	Niveles de ramificación y floración en una planta de lupino blanco.....	8
3	Localidad donde se estableció el cultivo de las variedades.....	19
4	Relación del ciclo biológico con el contenido de proteínas en 13 variedades de <i>L. albus</i> .....	27
5	Contenido de aceite en 13 variedades de <i>L. albus</i> y su relación con la duración de ciclo biológico.....	29
6	Contenido de fibra cruda su relación con la duración de ciclo biológico en 13 variedades de <i>L. albus</i> .....	31
7	Contenido de alcaloides totales estimados y su relación con la duración de ciclo biológico en semillas de 13 variedades de <i>L. albus</i> .....	33

## RESUMEN

En diferentes países donde las condiciones ambientales no son favorables para el cultivo de soya las especies del género *Lupinus* (Fabaceae) representan una buena alternativa como fuente principal de proteínas en dietas o alimentos balanceados para alimentación animal. En este sentido el objetivo de la presente investigación consistió en determinar la composición química (proteína, grasa y fibra) y contenido de alcaloides en 13 variedades de *Lupinus albus* cultivadas en Zapopan, Jalisco, México. Asimismo se determinó la posible relación entre el ciclo biológico de la especie en estudio con algunos de sus componentes químicos (proteínas, aceite, fibra y alcaloides). Las 13 variedades en estudio se cultivaron en el campo experimental del Centro Universitario de Ciencia Biológicas y Agropecuarias. Conforme las variedades fueron completando su ciclo biológico se cosecharon las semillas, estas se molieron y las harinas obtenidas fueron sometidas a un análisis químico proximal. De las harinas se realizó también la extracción de alcaloides, los cuales se analizaron y cuantificaron por cromatografía de gases. El contenido de proteínas en las diferentes variedades fluctuó de 28.7 a 38.6%, mientras que el contenido de grasa y fibra varió de 5.9 a 12.8 y 11.7 a 15.1% respectivamente. El contenido total de alcaloides estimados en las diferentes variedades fluctuó de 0.01a 0.80%. El contenido de grasa y alcaloides totales mostraron relación con la duración de ciclo biológico con una tendencia a incrementarse en las variedades con menor duración en su ciclo biológico. Entre las variedades analizadas es importante hacer notar que la variedad L1079 no

solo fue la que presentó el mayor contenido de proteínas sino también el menor contenido de alcaloides, por lo tanto se puede señalar que por sus características anteriormente señaladas esta variedad es la que tiene mayores posibilidades de ser considerada como una fuente alternativa de proteínas para alimentación animal en nuestro país.

## I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado la producción pecuaria en todo el mundo. Para mantener estos sistemas productivos se requieren dietas con un alto valor nutricional, lo que ocasiona un incremento en los costos por concepto de alimentos, debido a la utilización de harinas de origen animal como materia prima en la fabricación de raciones alimenticias para el consumo animal.

En México como en otras partes del mundo, debido a la prohibición de la harina de origen animal se ha incrementado el precio de la harina de origen vegetal, entre estas la de soya. Por lo tanto, es importante recurrir a fuentes alternativas de proteínas principalmente de origen vegetal que puedan remplazar al menos parcialmente las fuentes proteicas convencionales (Gueguen and Cerletti, 1994).

Una opción importante es la incorporación al cultivo de nuevas especies de leguminosas y principalmente las del género *Lupinus* ya que presentan una adecuada calidad nutricional y potencial de adaptación a las condiciones ambientales de nuestra región (Zamora, *et al.*, 1998).

Los lupinos como se conoce comúnmente a las especies del género *Lupinus* se caracterizan por presentar en la semilla altos porcentajes de proteína (30-45%) y con altas cantidades de lisina (López y Fuentes, 1991; Von Baer *et al.*, 1992, Friedman, 1996).

En México particularmente en el estado de Jalisco, se realizaron investigaciones para evaluar la adaptación y rendimiento de grano de *Lupinus albus* (Zamora *et al.*, 1998), los resultados mostraron rendimientos de grano similares a los reportados en los países donde es cultivada esta especie y con bajos costos de producción, en este sentido existe la posibilidad de considerar a esta especie en la alimentación animal, como una alternativa a la harina de soya. Por lo tanto, para recomendar su inclusión en la alimentación animal es necesario caracterizar la composición química y contenido de alcaloides, de las variedades con posibilidades de cultivarse bajo las condiciones agro-climáticas de nuestra región.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. Características del género *Lupinus*

El nombre del género *Lupinus* se deriva del latín *lupus* que significa "lobo" ya que esta planta crecía en lugares donde habitaban lobos (Aguilera y Trier, 1978). Por su parte, Meredith (1988) citado por Lucas, 1998, hace referencia al término latino *lupus* por la habilidad que tienen estas plantas para utilizar nutrientes de suelo que no están disponibles para otras que crecen en el mismo suelo.

#### 2.1.1 Origen

El género *Lupinus* cuenta con más de 300 especies, pertenece a la tribu Genisteae que se encuentra dentro de la subfamilia Papilionoideae de la familia leguminosae (Bisby, 1981).

La mayoría de las especies son originarias del continente americano, mientras que solo 12 de ellas tienen su centro de origen en el área del mediterráneo.

En el Centro mediterráneo se domesticaron tres de las cuatro especies cultivadas actualmente: *Lupinus albus* (altramuz blanco), *L. luteus* (altramuz amarillo) y *L. angustifolius* (altramuz azul), la otra especie cultivada es *L. mutabilis* (tarwi), originaria de la región Andina de Perú y Bolivia, (Primolini, 2000).

### 2.1.2 Historia

Tournefort en 1694 uso el nombre de *Lupinus* por primera vez. Pero el género fue incluido a partir de la publicación de la obra de Linneo en su libro *Species Plantarum* en 1753 donde describió seis especies (Planchuelo, 1982).

El griego Hipócrates (400-356 a.C.) refiere que los lupinos eran consumidos en la alimentación humana al igual que las lentejas, habas y guisantes. Teofrasto (372-288 a. C.) señala las necesidades de la planta de Lupinos (tipo de suelo, condiciones de siembra y cosecha) en la Historia natural de las plantas (Muzquiz, 1988).

Restos de semillas de Tarwi se han encontrado en tumbas de Nazca (500-100 años a.C.). Algunas pinturas de esta planta están representadas en cerámicas (1000-500 años a. C.) de las regiones altas andinas (Torres, 1976).

### 2.1.3 Descripción botánica

Son plantas herbáceas o arbustivas, anuales o perennes, que presentan raíces profundas y fuertes. El tallo puede ser glabro o pubescente toso y grueso con ramificación dicotómica pudiendo llegar a tenerla hasta tres niveles. Las hojas son generalmente palmati-compuesta de 6 a 17 folíolos, con estípulas en la base del peciolo. Inflorescencia agrupada en racimos terminales con flores verticiladas o alternas, flores típicas de papilionoideae que se unen al racimo a través de cortos pedicelos cáliz bilabiado y estambres monadelfos. Fruto dehiscentes con diversos tipos de pubescencia con 4 a 12 óvulos; Las vainas o frutos contienen de 2 a 10 semillas de tamaño y color variable (Sánchez, 1979; Gross, 1982).



## 2.2 Características del *Lupinus albus*

### 2.2.1 Origen

Su origen se sitúa en el Mediterráneo, se distribuye en toda la cuenca mediterránea y por el valle del Nilo es un cultivo tradicional antiguo y el hombre primitivo aprendió a eliminar los principios que causaban el sabor amargo mediante cocción y el lavado con agua (Cubero *et al.*, 2004).

### 2.2.2 Historia

Existen evidencias que la semilla fue empleada por la cultura Romana como unidad de cuenta o moneda (como moneda ficticia o de poco valor) así como en la utilización para alimento de ganado y en el consumo humano (únicamente las clases más pobres). En el ocaso de la civilización romana continuo cultivándose en el Mediterráneo pero no con la misma importancia (Glasdstones, 1974). Se tiene conocimiento de haberse encontrado semillas de esta especie en tumbas Egipcias; Aguilera y Trier (1978) mencionan que el cultivo se estableció en la agricultura griega.

### 2.2.3 Clasificación taxonómica de *Lupinus albus*

Takhtajan (1987) ubica en la siguiente posición taxonómica a *Lupinus albus*.

División	Magnoliophyta (Angiospermae)
Clase	Magnoliopsida (Dicotyledone)
Orden	Fabales
Familia	Leguminosae (Fabaceae)
Subfamilia	Papilionoideae
Tribu	Genistea
Género	<i>Lupinus</i>
Especie	<i>Albus</i>

Esta especie es conocida como lupino blanco, tremço en Portugal y Brasil, altramuz en España y lupin o lupine en países de habla inglesa.

#### 2.2.4 Descripción botánica de *Lupinus albus*

Son plantas anuales de 30-200 cm de altura, con vellosidad corta; hojas de 5 a 9 foliolos, obovado oblongos, casi glabros en el haz y vellosos en el envés, estipulas setáceas; racimos subsésiles con flores alternas casi sentadas; cáliz de 6-10 mm, con el labio superior entero y el inferior ligeramente tridentado; corola 14-16 mm de blanco-azul violeta; legumbre (vaina) de 60 a130 mm de longitud y de 11 a 12 mm de ancho, vellosa, parda, 4-6 semilla más o menos orbiculares-cuadrangulares, plano deprimidas, lisas, cremas y más o menos rosadas de 7-15 mm de longitud y de 5 a12 mm de grosor (figura 1) (Pascual, 1986).

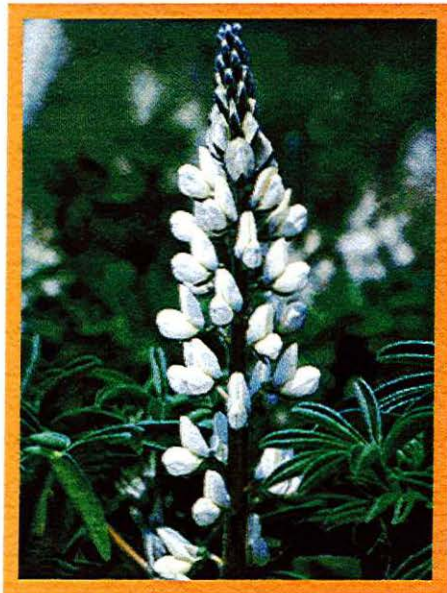


Figura 1. Inflorescencia de *Lupinus albus*

## 2.3 Características morfológicas en el ciclo biológico de lupinos

### 2.3.1 Germinación

Cuando la semilla se encuentra bajo las condiciones optimas de crecimiento se inicia la germinación, observándose la aparición de la radícula y presenta una elongación previa a la aparición del hipocotilo, la radícula va profundizando y creciendo hasta transformarse en una fuerte raíz pivotante formando raíces profundas, considerándose una característica adaptativa importante a suelos arenosos, también establece una relación simbiótica con el género *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* donde la bacteria se aloja en las raíces desarrollando nódulos, esta relación provee de nitrógeno a la planta a cambio de carbono y protección para la bacteria. Desempeñando un papel importante en el ciclo del Nitrógeno y regeneración de suelos. A medida que la raíz se extiende se desarrollan nódulos fijadores de nitrógeno y las raíces laterales (Barrera, 1996; Grant y Long, 1989; Dalton *et al.*, 1998).

El tiempo de germinación esta en función de la temperatura y de la especie que se trate. Dicho periodo se reduce cuando las temperaturas son altas (Keeve *et al.*, 1999).

### 2.3.2 Desarrollo vegetativo

A partir de las yemas axilares de las hojas del tallo o eje principal se desarrollan las ramas principales terminando con una inflorescencia, a esto se le conoce como rama de 1<sup>er</sup> orden, la rama de 2<sup>do</sup> orden nace de las axilas de hoja de la rama del 1<sup>er</sup> orden por debajo de la inflorescencia y así sucesivamente (Figura 2). En *L. albus* presenta un periodo de crecimiento más corto que *L. luteus* y este a su vez más corto que *L. angustifolius* (Fuentes, 1985).

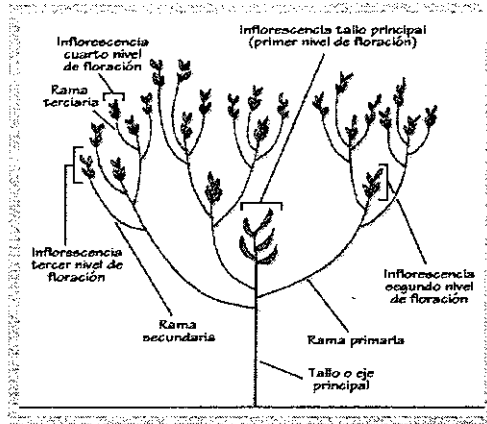


Figura 2. Niveles de ramificación y floración en una planta de lupino blanco

### 2.3.3 Floración

La planta florece gradualmente a medida que se desarrollan los distintos niveles de ramificación. Las flores son grandes y se agrupan en inflorescencias de racimos de color blanco (Planchuelo, 1994).

Durante esta etapa se realiza la polinización que es llevada a cabo por insectos (abejas y abejorros) estos se apoyan en la flor (ala-quilla) haciendo saltar el tubo estaminal de forma que el estigma toca su abdomen impregnándolo de polen ocasionando una polinización cruzada o una auto polinización, lo que es predominante (Cubero *et al.*, 2004).

Después de la polinización, el ovario de cada flor desarrolla un fruto en forma de legumbre (vaina) en ocasiones no llegan a formar frutos, a esto se le conoce como aborto floral que puede aumentar con el estrés hídrico, las temperaturas bajas ( $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) o altas ( $>26\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) en el momento de la floración, la principal causa es la fuerte competencia por nutrientes y azúcares entre flores y frutos en desarrollo y ramas vegetativas en crecimiento (Kay, 1979).

Esta especie presenta una vaina plana y agudizada formando una curva en el extremo, sus dimensiones son de 7 a 15 cm de largo y entre 1.3 a 2.0 cm de ancho, además son pubescentes y no presentan una dehiscencia marcada (Kay, 1979).

#### 2.3.4 Formación del grano

Al final de la floración todos los nutrientes de la planta son destinados a la formación de semillas y llenado de grano, se lleva a cabo con la elongación de las vainas donde los granos permanecen verdes, comenzando a cambiar de color de forma gradual hasta alcanzar la madurez, produciendo entonces la caída de los folíolos, el tamaño de semillas varía según la especie (Cubero *et al*, 2004).

La semilla tiene una cubierta seminal que protege al embrión formado de dos cotiledones reservantes y un eje embrionario que va a desarrollar la futura planta.

### 2.4 Cultivo y producción

#### 2.4.1 Condiciones del cultivo

El desarrollo de la planta está condicionado a la acción de la temperatura, la humedad del suelo y la duración del día, el tiempo de maduración varía de 105 a 108 días (Kay, 1979).

Para un resultados óptimos en el crecimiento se necesitan temperaturas medias de 15 a 25 °C observándose mejores resultados, además se requiere de un periodo lluvioso de 400 a 1000 mm/año (Gladstones, 1970).

El cultivo se ve favorecido en suelos arenosos de textura tosca, bien drenados y con un pH de ácido a neutro (Kay, 1979).

La variedad dulce *Mutulupa (L. albus)* muestra mayor resistencia al frío (hasta -6°C) por lo que puede recomendarse su siembra en otoño, la sensibilidad al frío depende del estadio en el que se encuentre la planta así como de su origen geográfico (Gross, 1982).

#### 2.4.2 Preparación de semilla

Se aconseja realizar un tratamiento previo a la semilla de lupinos con ácido sulfúrico para mejorar el grado de germinación (Kay, 1979). El cultivo requiere de poca cantidad de humedad y presentan una germinación epigea (Farrington y Greenwood, 1975).

Es recomendable trabajar con semillas inoculadas con *Rhizobium* para lograr una buena formación de nódulos radiculares fijadores de nitrógeno, para mayor eficiencia se realiza la inoculación 24 horas antes de la siembra y debe de guardarse en lugares frescos y oscuros para evitar el deterioro. Algunos autores mencionan que no es necesario realizar fertilizaciones con nitrógeno debido a la simbiosis (Cubero y Moreno, 1983; López y Fuentes, 1991; Ayisi, *et al.*, 1992).

#### 2.4.3 Siembra

El cultivo se siembra en líneas con una separación de 30 a 50cm, las semillas se colocan a una distancia de 15cm aproximadamente, la profundidad es de 2 y 4cm, para evitar que el desecamiento de las capas superiores del suelo afecten el proceso de germinación, ni tampoco a profundidades mayores por que se incrementa la posibilidad de ataques de hongos y larvas (López y Fuentes, 1986).

#### 2.4.4 Producción

En el año 2001 se cultivaron en el mundo aproximadamente 1.4 millones de hectáreas obteniendo una producción estimada de 1.7 millones de toneladas, siendo Australia el principal productor con 1'250,000 ha de cultivo alcanzando una producción aprox. 1'500,000 toneladas. En España en ese mismo año se sembró 9,700 ha de superficie con una producción de 6,300 toneladas (Cubero *et al.*, 2004).

En el Reino Unido durante 2003 y 2004 se establecieron 6,500 ha de lupinos bajo condiciones de riego (*L. albus*, *L. luteus* y *L. angustifolius*) con rendimientos que fluctuaron de 2.0 a 4.0 tn ha<sup>-1</sup> (Jones *et al.*, 2005).

Recientemente en diferentes localidades de virginia USA Harbans *et al.*, (2005) reportaron rendimientos de grano en 20 variedades de *L. albus* que fluctuaron de 1,928 a 2,488 kg ha<sup>-1</sup>

En Chile el área destinada al cultivo de *L. albus* se incremento de 3000 a 7000 ha en 2006 y se han reportado rendimiento de grano de 1.3 a 3.9 tn ha<sup>-1</sup> (Von Baer, 2006)

#### 2.5 Composición Nutricional

Como parte esencial de la composición química de *Lupinus* destaca su alto contenido proteico, como uno de los más altos entre las leguminosas conocidas; Originado por la alta eficiencia de la planta en la translocación del nitrógeno desde las hojas hasta las semillas, poco antes de su senescencia y por la capacidad de fijación durante el llenado del grano (López y Fuentes, 1991).

El contenido de proteínas en los lupinos fluctúa entre el 30 y 50 %, según la especie esto es similar a los que se han reportado en soya (Cuadro1).

Cuadro1. Composición bromatológica de las especies de *Lupinus* cultivadas y su comparación con la harina de soya (*Glycine max*) en relación al contenido de proteínas.

Composición %	<i>L. albus</i>	<i>L. angustifolius</i>	<i>L. luteus</i>	<i>L. mutabilis</i>	<i>Glycine max</i>
Humedad	8.6	8.9	10.0	8.5	8
Proteína	34,3-44,9	28.0-37.9	36.0-47.6	31.7-45.9	44.0
Cenizas	2.9 – 4.7	2.4-3.9	4.0-5.2	3.0-4.5	6.2
Grasa	9.9-14.5	5.3-6.6	4.0-7.1	13.1-23.1	1.7
Fibra cruda	3.3-10.0	13.0-16.8	14.6-17.6	7.4-11.3	5.6

Fuente: (Hill, 1977; Petterson *et al.*, 1997).

Las semillas son empleadas como fuente de proteína en la alimentación humana y animal en varios países del mundo; no solo por su alto contenido nutricional (proteínas, lípido y fibra) sino también por su fácil adaptación a suelos marginales y climas diferentes (Muzquiz *et al.*, 1994).

## 2.6 Aplicaciones y usos de *Lupinos*

Las semillas de varias especies de *Lupinus* han sido utilizadas como alimento por más de 3000 años en el Mediterráneo y por más de 6000 años en la población rural de los Andes (Gladstone, 1974).

Debido al alto contenido de proteína y su rápida adaptación en suelos pocos fértiles esta leguminosa son de gran interés como planta cultivada tanto para consumo de semillas en la alimentación humana y animal como para abono verde (López y Fuentes, 1986)



La semilla, el forraje verde y el rastrojo, se emplean en la alimentación del ganado vacuno, ovejas, cerdos y aves de corral (Kay, 1979).

En Australia se emplea la semilla (harina) para la fabricación de galletas secas como alimento de perro; se han realizado estudios que indican su uso como ingrediente proteico en el alimento de animales domésticos (Kay, 1979)

## 2.7 Factores antinutricionales

Las semillas de las leguminosas contienen compuestos antinutricionales, debido a que reducen la calidad, palatabilidad y digestibilidad de la planta, y pueden llegar a ser tóxicos en caso de ingerirlos. En el caso de *Lupinus*, las semillas contienen en forma natural alcaloides que son amargos y tóxicos, por lo que el hombre desde tiempos remotos aprendió ha eliminarlos cociendo y lavando las semillas (Cubero et al 2004).

### 2.7.1 Alcaloides

En 1805 Friedrich Wilhelm Sertürner aisló el primer alcaloide y le dio el nombre de morfina obtenido de *Papaver somniferum* en honor al mítico Morfeo, dios del sueño (Sopena, 1973).

Aunque no hay una definición clara de lo que es un alcaloide, de acuerdo con Carretero, (2001) La palabra alcaloide fue utilizada por primera vez por W. Meissner en 1819 para designar algunos compuestos activos que se encontraban en los vegetales y que posee carácter básico. Por su parte, Pelletier (1983) define un alcaloide como un compuesto cíclico que contiene nitrógeno, cuya distribución es limitada en los organismos vivos.

### 2.7.2 Alcaloides en el género *Lupinus*

En el caso del lupino, uno de los mayores obstáculos para una amplia aceptación tanto en alimentación animal como humana, es sin duda, la presencia de alcaloides tóxicos (Muzquiz *et al*, 1988).

Los alcaloides de las especies del género *Lupinus* son derivados de la quinolizidina de variable complejidad, aunque la mayoría son bicíclicos o tetracíclicos, son sintetizado a partir del aminoácido lisina y se encuentran como bases terciarias y como N-óxidos en concentraciones que varían desde niveles indetectables en variedades dulces hasta un 3.8 % en algunas especies amargas de *L. albus* y *L. mutabilis* (Muzquiz, *et al.*, 1993).

Estos alcaloides han sido poco estudiados en comparación con otros, como los derivados del indol, tropano, piridina, etc. ya que el único representante medicinal es la esparteína (Muzquiz, *et al* 1982). Las proporciones relativas de alcaloides en semillas varían con el cultivar, la localidad y las condiciones climatológicas (Muzquiz, *et al.*, 1993). De acuerdo con López y Fuentes (1991) en las líneas o variedades dulces recomendadas para la alimentación la proporción de alcaloides debe ser menor del 0.05 %.

El alemán von Sengbush inicio el mejoramiento genético de *Lupinus* con la búsqueda de plantas libres de alcaloides. En 1928 y 1929 encontró las primeras plantas dulces en *L. Luteus* y *L. angustifolius* más tarde *L. albus* (Von Sengbush, 1942), el carácter dulce esta regulado por genes recesivos aunque no se elimina completamente la presencia de alcaloides en la semilla si se reduce a niveles más bajos. von Sengbush (1942) y Hackbarth (1961) encontraron líneas de *L mutabilis* con bajo contenido de alcaloides pero no llegaron a desarrollarse por ser de maduración tardía.

Los alcaloides lupanina, 13-hidroxlupanina, esparteina, lupinina y N-metilcitisina son algunos de los alcaloides presentes en los lupinos, los dos primeros son los mas abundantes en *L. albus* (Wink, 1983).

Los alcaloides muestran propiedades toxicológicas y farmacológicas importantes como neurotóxicos, antipiréticos, antiinflamatorios, depresores del sistema nervioso central y antiarrítmico cardiaco entre otros (Schmeller *et al.*, 1994).

Se sabe que los efectos tóxicos de los lupinos no son acumulativos ya que son rápidamente excretados del cuerpo por el riñón. Sin embargo, altas concentraciones de alcaloides en las semillas pueden causar daños en el sistema nervioso central, depresión respiratoria y fallo cardiaco (Culvenor y Petterson, 1986). Por lo tanto es importante conocer la cantidad de alcaloides presentes y los niveles tóxicos de los alcaloides individuales.

### 2.7.3 Teorías de la función de los alcaloides en las plantas

Existen varias teorías que se han escrito acerca de las funciones que desempeñan los alcaloides en las plantas pero aun hay dudas acerca de esto (Valencia, 1995).

1. Son los productos finales del metabolismo vegetal y no tienen función alguna en la vida de la planta. Esta teoría se basa en que los alcaloides son más abundantes en la corteza de los tallos o las raíces, las semillas y otras partes en las que se han depositado después de producirse, y por lo tanto se le considera que tales órganos no son más que los receptáculos para los productos de desecho.

2. Los alcaloides son reguladores del crecimiento de las plantas.
3. Los alcaloides sirven como repelente o atrayentes de los insectos.
4. Es la forma en que la planta almacena nitrógeno y sustancias de reserva capaces de suministrar u otros elementos necesarios para la planta.
5. Los alcaloides son agentes venenosos que sirven de protección contra animales herbívoros, ya que debido a su sabor amargo, los animales no se atreven a comer la planta.

### III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

#### 3.1 Objetivos

Determinar la composición química y contenido de alcaloides de 13 variedades de *Lupinus albus* L. cultivadas en Zapopan, Jalisco y relacionarlas con su ciclo biológico.

#### 3.2 Hipótesis

La composición química y contenido de alcaloides de las variedades de *Lupinus albus* son afectados por la duración del ciclo biológico.

#### IV. MATERIALES Y METODOS

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología del Departamento de Botánica y Zoología, así como en el Laboratorio de Bromatología de del Departamento de Producción animal del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA).

##### 4.1 Material vegetal.

De las 13 diferentes variedades utilizadas en el cultivo, 12 fueron proporcionadas por el Department of Agronomy and Soils de la Universidad de Auburn de Estados Unidos de Norteamérica (Au Homer, Au alfa. L 1019, L 1067, L 1055, L 1040, L 1078, L1071, L1057, L 1076, L 1079 y L 1080) y la variedad Multulupa fue proporcionada por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria de Madrid España.

Las semillas se sembraron en forma manual el 15 de noviembre del 2004 en el campo agrícola experimental del CUCBA, el cual se localiza el municipio de Zapopan, Jalisco (figura 3). Durante el ciclo de cultivo las plantas se mantuvieron bajo condiciones de riego y conforme fueron completando su ciclo biológico se cosecharon las semillas en forma manual para su análisis proximal.



Figura 3. Localidad donde se estableció el cultivo de las variedades.

#### 4.2 Preparación de muestras para análisis

En el cuadro 2 se muestran las fechas de colecta de las semillas de cada variedad, así como sus características morfológicas. Se pesaron 100 semillas de las diferentes variedades en una balanza digital. El tamaño de las semillas (ancho, largo y grosor) se determinó con un Vernier Truper.

Cuadro2. Variedad, fecha de colecta y características morfológicas de las variedades de *Lupinus albus* estudiadas

Variedad	Fecha de colecta	Duración del ciclo biológico (días)	Características morfológicas (semillas)			
			Peso (g)	Ancho (mm)	Largo (mm)	Grosor (mm)
Multulupa	May-05-2005	180	35.8	9.2	9.06	5
L 1067	May-15-2005	190	27.2	8.06	9.4	4.53
L 1057	May-15-2005	190	27.3	7.4	9	4.6
L 1040	May-15-2005	190	28.3	7.66	9.26	4.66
Au Homer	May-23-2005	198	26.3	8.26	9.03	4.1
Au alfa	May-23-2005	198	25.9	8.13	8.6	4.3
L 1019	Jun-20-2005	225	28.1	8.2	9.4	4.53
L1055	Jun-20-2005	225	25.3	7.9	9.46	4.6
L 1076	Jun-20-2005	225	25.2	7.6	8.26	4.13
L1078	Jun-20-2005	225	28.8	7.53	9.2	4.73
L1071	Jun-25-2005	235	27.3	7.93	9.6	4.86
L1079	Jun-25-2005	235	29.1	7.86	9.26	4.2
L1080	Jun-25-2005	235	27.0	7.8	9	4.4

#### 4.3 Análisis químico proximal.

Se obtuvo una harina finamente molida de las semillas a través de un molino eléctrico (Analysenmühle). Después de obtener la harina se realizó un análisis proximal por triplicado para determinar el contenido de humedad, cenizas, proteína cruda, fibra cruda extracto libre de nitrógeno y extracto etéreo de acuerdo a las técnicas descritas por la A.O.A.C. (1997); asimismo se determinó el contenido de fibra neutra detergente y fibra ácido detergente (Goering and Van Soest.1970).



#### 4.4 Análisis de alcaloides por cromatografía de gases

Se tomó una porción de semillas (3g) y se molieron uniformemente, la harina obtenida se sometió a extracción con hexano por reflujo constante durante 5 horas. Después de desgrasar la harina, se realizó la extracción de alcaloides de acuerdo a la técnica descrita por Harris y Wilson (1988). Se pesaron 500 mg de harina y se colocaron en un tubo de ensayo en donde se adicionaron 5mL de ácido tricloro acético al 5% (TCA), esta mezcla se homogeneizó durante un periodo de 15 minutos en un sonicador Branson - 2510. EL extracto se centrifugó a 3500 rpm durante 10 minutos, se retiró el sobrenadante y se colocó en una pera de decantación. Este procedimiento se efectuó por triplicado hasta obtener un volumen aproximado de 15mL.

A la solución contenida en la pera de decantación se le agregó 1mL de Hidróxido de sodio 10 N, más 15mL de diclorometano, la mezcla formada se agitó y se dejó en reposo para separar la fase acuosa de la orgánica esta última se toma en un matraz de bola, repitiendo dos lavados mas con diclorometano.

La fase orgánica obtenida se llevó a sequedad con ayuda de un rotavapor, el precipitado obtenido se disuelve en 1mL de Metanol y se colocó en tubos eppendorf.

De esta solución se tomaron 5  $\mu$ l y se inyectó en forma manual a un cromatógrafo de gases VARIAN CHROMPACK CP 3800, que cuenta con un detector de Ionización de flama (FID), la separación de los alcaloides se efectuó empleando una columna capilar CP-sil 5cB (15m x 0.25 d.i.).

Los parámetros que se manejaron durante la corrida del equipo son los siguientes:

- En la zona de inyección se trabajo con temperatura de 250°C, para el detector y el horno se manejaron con temperaturas de 300°C y 120°C respectivamente.
- Como fase móvil se utilizó helio a un flujo de 1.1mL min<sup>-1</sup>.
- Se trabajo con un tiempo de corrida de 11 minutos
- Se obtuvieron curvas de calibración de los estándares externos lupanina y 13 hidroxilupanina (0-1.250 mg/mL) con una respuesta lineal y coeficientes de correlación cercanos al 0.99.

El cálculo de alcaloides totales estimados se determinó mediante una regla de tres considerando que el contenido de Lupanina y 13 hidroxilupanina representan el 85 % de alcaloides totales (Muzquiz *et al*, 1994).

#### 4.5 Análisis Estadístico

A las variables de proteínas, grasa y fibra cruda les practico un análisis de varianza y una comparación de promedios (Tukey  $P \leq 0.05$ ), mediante el paquete estadístico desarrollado por el Dr. Emilio Olivares de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro 3 se presenta el análisis químico proximal promedio de las 13 variedades de *L. albus*. Aunque el contenido de proteínas suele ser más alto en otras especies del mismo género como *L. mutabilis* y *L. luteus* el contenido promedio de proteínas en *L. albus* registrado en este estudio se encuentra dentro de los rangos que reportó Hill, (1977) en Nueva Zelanda cuyos valores fluctuaron de 34.3 a 44.9%, pero fueron ligeramente superiores a los que reportaron Gross y Von Baer (1977) en diferentes regiones de Perú y Chile (de 30.1 a 34.5%).

Cuadro 3. Composición proximal y contenido de fibra ácido y neutra detergente en semillas de *Lupinus albus* cultivado en Zapopan, Jalisco (promedio de 13 variedades).

	(%) En base seca
Materia seca	91.48
Humedad	8.52
Ceniza cruda	3.796
Proteína cruda	35.24
Extracto etéreo (aceite)	8.94
Extracto libre de nitrógeno	29.89
Fibra Cruda	13.62
FDN	30.14
FDA	28.47

En fechas recientes Kurlovich *et al.*, (2003) al analizar diferentes variedades de *L. albus* reportaron un porcentaje promedio de proteínas de 47.1%, el cual es superior al que se ha reportado en otros estudios para la misma especie.

En este estudio las semillas de *L. albus* presentaron un valor promedio de aceite de 8.9%, el cual es similar al que reportó recientemente von Baer (2006) en Chile. En relación al contenido de aceite las semillas de *L. mutabilis* son las que han recibido mayor atención debido a que es la especie que acumula el mayor contenido de aceite (20%), el segundo lugar lo ocupa *L. albus*, ya que en algunas variedades se han registrado valores de hasta del 13.1%, mientras que *L. angustifolius* y *L. luteus* con 5.9 y 6.5% respectivamente son las especie con menor contenido de aceite (Gross y von Baer 1977).

Estudios en diferentes regiones ecogeográficas han destacado la elevada influencia que tienen los factores del ambiente (precipitación, temperatura, características del suelo) en el contenido de proteínas, aceites y otras sustancias que se acumulan en la plantas de todas las especies cultivadas del género *Lupinus*.

El contenido de fibra promedio en la especie en estudio fue de 13.6%, el cual es superior a los valores que reportó Hill, (1977) cuyos valores fluctuaron de 3.3 a 10% y a los que reportaron Gross y von Baer (1977) con un porcentaje de 12.4%.

Las diferencias en el contenido de fibra cruda han sido relacionadas con la proporción de cáscara o testa que cubren las semillas, por lo tanto los altos porcentajes de fibra cruda obtenido en este estudio se deben probablemente a que las semillas de estas variedades en este estudio en promedio tienen una proporción de cáscara mayor que en las semillas reportadas anteriormente.

En relación a la composición proximal la prueba de Tukey mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en el contenido de proteínas entre las semillas de las diferentes variedades. En el cuadro 4 se observa que el porcentaje promedio de proteína varió de 28.7% en la variedad multulupa hasta 38.6% en la variedad L 1079.

Cuadro 4. Contenido de proteína en semillas de 13 variedades de *L. albus* cultivadas en Zapopan, Jalisco (valores promedios, n=3).

Variedad	Contenido de proteína cruda (%)
L1079	38.6 a
L1019	38.5 ab
L1057	38.0 abc
L1078	37.9 abc
L1067	37.1 abc
L1040	36.8 bc
L1055	36.7 c
L1080	36.6 c
Au alfa	33.3 d
L1076	33.0 d
L1071	31.7 de
Au homer	30.8e
Mutulupa	28.7 f

\*Literales iguales indican que no existe diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ).

El porcentaje de proteína en la mayoría de las variedades (con excepción de la variedad multulupa) se encuentra dentro de los rangos reportados (Hill, 1977).

Las variedades con mayor posibilidad de ser seleccionadas por su mayor contenido de proteínas son L1079, L1019 y L1057, L1078, L1067, L1040, L1055 y L1080 con porcentajes de proteínas de 36.6 a 38.6%, sin embargo, estos valores son inferiores a los que se encontraron en 30 variedades de diferentes procedencias, cultivadas en Kiev Ucrania, cuyos valores fluctuaron de 45.3% a 50.3%, (Kurlovich, 2003). Este mayor contenido de proteína se debe probablemente a que las variedades evaluadas fueron mejoradas genéticamente para estos propósitos, además es probable que las condiciones ambientales que incidieron sobre el cultivo favorecieran el contenido de proteína. En este sentido se ha reportado que ciertas variedades tienden a incrementar los niveles de proteínas en climas más húmedos (Kurlovich *et al.*, 2003).

También se ha observado en algunos casos que la inoculación de semillas de *L. albus* con bacterias *Rhizobium* y *Bradyrhizobium* puede ocasionar incrementos en el contenido de proteínas que cuando estos microorganismos están ausentes o escasos en el suelo (Ayisi, *et al.*, 1992).

La variedad multulupa con origen de España, presentó el menor contenido de proteínas (28.76%), sin embargo esta variedad cultivada en Perú, Chile y Estados Unidos alcanzó valores de proteínas de 30 a 32%, los cuales son ligeramente superiores a los encontrados en este estudio (Gross y von Baer, 1977, Watkins y Mirosh, 1987).

Estas similitudes en el contenido proteínas podrían deberse a que esta variedad tiene una alta estabilidad genética respecto al contenido de proteínas o a que las condiciones ambientales y manejo agronómico utilizado para la variedad multulupa en las localidades de los diferentes países donde se ha cultivado incluyendo Zapopan Jalisco no fueron muy contrastantes.

En la figura 4 se muestra el contenido de proteínas en relación a la duración del ciclo biológico. En este se puede observar que el contenido de proteínas parece no tener ninguna relación con el ciclo biológico, resultados similares fueron reportados por Concha (1992) en 23 genotipos de *L. mutabilis* cultivadas en Montecillo estado de México.

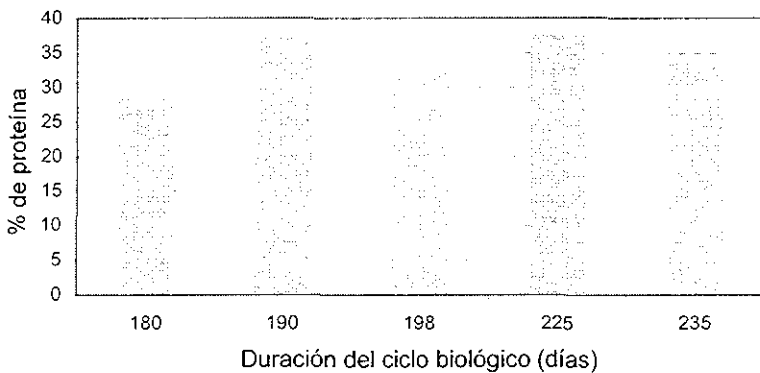


Figura 4. Relación del ciclo biológico con el contenido de proteínas en 13 variedades de *L. albus*.

Con respecto al contenido de aceite, la prueba de Tukey también reveló diferencias significativas entre las semillas de las diferentes variedades.

El porcentaje promedio de aceite en las semillas fue variable (Cuadro 5) los valores fluctuaron entre 5.92% en la variedad L1080 y 12.80% en la variedad multulupa, comparable a los resultados por Kurlovich *et al.*, (2003) para diferentes accesiones cultivadas en Kiev, Ucrania con un contenido de aceite que varió de 6.2 a 12.0%. Y otras variedades cultivadas en Perú y Chile con valores que fluctuaron de 10.5 a 12.1%.

En este estudio sobresale la variedad multulupa, la cual acumuló el mayor contenido de aceite (12.80%). Aunque el valor es superior al que se ha registrado en otras variedades de *L. albus*, la especie de mayor importancia por el contenido de aceite (14-22%) es *L. mutabilis* (Pettersen, et al., 1997).

Cuadro 5. Contenido de aceite en semillas de 13 variedades de *L. albus* cultivadas en Zapopan, Jalisco (valores promedios, n=3).

Variedad	Contenido de aceite (%)
Multulupa	12.8 a
L1040	10.5 b
L1076	9.9 bc
L1067	9.8 c
Au homer	9.4 cd
L1078	8.9 de
Au alfa	8.8 de
L1057	8.4 ef
L1079	8.3 efg
L1071	7.8 fg
L1019	7.6 g
L1055	7.6 g
L1080	5.9 h

\*Literales iguales indican que no existe diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ).

En la variedad multulupa se observó una relación inversa entre proteínas y aceite fenómeno similar fue observado por Concha (1992), ya que los ecotipos de *L. mutabilis* con mayor contenido de proteínas son las que presentaron el menor contenido de aceite.



Aunque no se ha reportado relación directa entre contenido de aceite y duración del ciclo biológico, en este estudio se observó una cierta relación inversa entre el contenido de aceite y la duración del ciclo biológico, con una tendencia a disminuir ligeramente el contenido de aceite en las variedades que tardan mayor número de días en completar su ciclo biológico (Variedades tardías) (Figura 5). Sin embargo, para tener mayores evidencias de lo observado será necesario repetir el experimento durante varios ciclos de cultivo y utilizar mayor número de variedades.

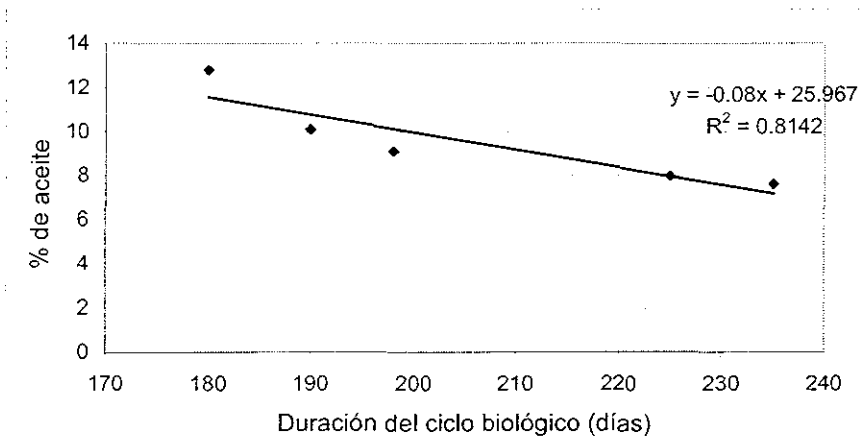


Figura 5. Contenido de aceite y su relación con la duración de ciclo biológico. en 13 variedades de *L. albus*

Algunos investigadores como Kurlovich *et al.*, (2003) indicaron que algunas accesiones de *L. albus* incrementaron ligeramente el contenido de aceite al ser cultivadas en ambientes más secos. Esto mismo se observó en las variedades precoces, ya que estas tuvieron el mayor contenido de aceite y se debió probablemente a que durante las etapas iniciales del ciclo biológico de estas se presentaron las condiciones más secas en el ambiente, altas temperaturas y escasa o nula precipitación, sin embargo, en las variedades más tardías las últimas etapas de ciclo biológico coincidieron con el inicio del temporal de lluvias en la región de cultivo (mayores condiciones de humedad en el suelo).

El contenido de fibra también mostró diferencias significativas entre las diferentes variedades en estudio. El menor contenido de fibra se encontró en la variedad multulupa con 11.7% mientras que el valor más alto se registró en la variedad L1076 con 15.1% (Cuadro 6).

Cuadro 6. Contenido de fibra cruda en semillas de 13 variedades de *L. albus* cultivadas en Zapopan, Jalisco (valores promedios, n=3).

Variedad	Contenido de Fibra cruda (%)
L1076	15.1 a
Au homer	14.8 ab
L1040	14.7 abc
L1019	14.7 abc
L1080	14.1 abcd
L1057	13.7 abcd
L1055	13.4 abcd
L1071	13.1 bcde
L1078	12.9 cde
L1079	12.9 cde
Au alfa	12.9 cde
L1067	12.6 de
Mutulupa	11.7 e

\*Literales iguales indican que no existe diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ).

La mayoría de las variedades en estudio mostraron un mayor contenido de fibra que las variedades "Amiga" y "Astra" cultivadas en Perú con 12.4 y 10.5% respectivamente. Por otro lado, los valores de este estudio son también muy superiores a los reportados en variedades de *Lupinus mutabilis* (< 6.5%).

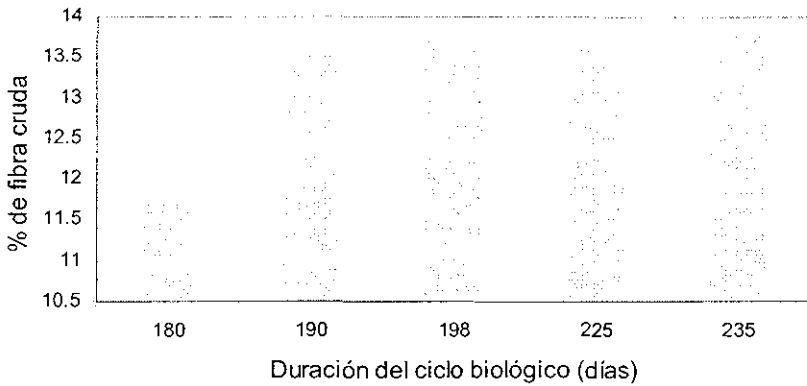


Figura 6. Contenido de fibra cruda su relación con la duración de ciclo biológico en 13 variedades de *L. albus*.

La fibra cruda no mostró relación alguna con la duración de ciclo biológico de las variedades evaluadas. Las diferencias en el contenido de fibra entre las diferentes especies y variedades de *Lupinus* esta relacionado con la cantidad o proporción de cáscara o testa que cubre los cotiledones de las semilla (Gross y Von Baer, 1977), por lo tanto las diferencias observadas en el contenido de fibra entre cada una de las diferentes variedades se debieron probablemente a diferencias en la proporción testa-cotiledón.

Con respecto al contenido de alcaloides, la lupanina varió desde valores indetectables en la variedad L1040 hasta  $0.0246 \text{ mg g}^{-1}$  en la variedad L1080, mientras que la 13-hidroxilupanina fluctuó desde valores indetectables en las variedades L1079 y L1076 hasta  $0.0538 \text{ mg g}^{-1}$  en la variedad Au Homer (Cuadro 7).

Cuadro 7. Contenido de alcaloides en semillas de 13 variedades de *L. albus* cultivadas en Zapopan, Jalisco.

Variedad	D. B. (días)	Lupanina (mg g <sup>-1</sup> )	l3-hidroxi-lupanina (mg g <sup>-1</sup> )	Lupanina + l3-hidroxi-lup	Alcaloides totales estimados (%)
L1079	235	0.0022	N. D.	0.0022	0.025
L1080	235	0.0246	0.0109	0.0355	0.417
L1076	235	0.0012	N.D.	0.0012	0.014
L1071	235	0.0024	0.0015	0.0039	0.045
L1019	225	0.0038	0.0027	0.0065	0.076
L1078	225	0.0024	0.0021	0.0045	0.052
L1055	225	0.0028	0.0048	0.0076	0.089
Au alfa	198	0.0118	0.0023	0.0141	0.016
Au homer	198	0.0108	0.0538	0.0646	0.76
L1067	190	0.0042	0.0068	0.0111	0.013
L1040	190	N. D.	0.0091	0.0091	0.010
L1057	190	0.0019	0.0058	0.0077	0.090
Multulupa	180	0.0010	0.0042	0.0052	0.061

D. B= Duración del ciclo biológico      N. D. =No detectada

Los contenidos de alcaloides estimados en estas variedades con excepción de la variedad Au homer y L1080 (0.76 y 0.417%) fueron similares a los que se reportaron en algunas variedades y líneas de *Lupinus albus* (0.01- 0.11%) consideradas como variedades dulces en diferentes países de Europa (Muzquiz, 1994).

Aunque no se observó una relación directa entre el contenido de los alcaloides individuales analizados en este estudio y la duración del ciclo biológico de las variedades, se puede observar menor contenido de alcaloides totales en la mayoría del los grupos de las variedades que tardaron más tiempo en completar su ciclo biológico (variedades tardías).

(Figura 7). Así por ejemplo, las variedades que tardaron entre 225 y 235 días presentaron un contenido promedio de alcaloide totales estimados de 0.04%, porcentaje que se encuentra entre los valores máximos de alcaloides permitidos en semillas para ser consideradas en la alimentación humana y/o animal sin causar problemas de toxicidad de acuerdo a lo que se señala en la literatura (López y Fuentes, 1991; von Baer, 2006).

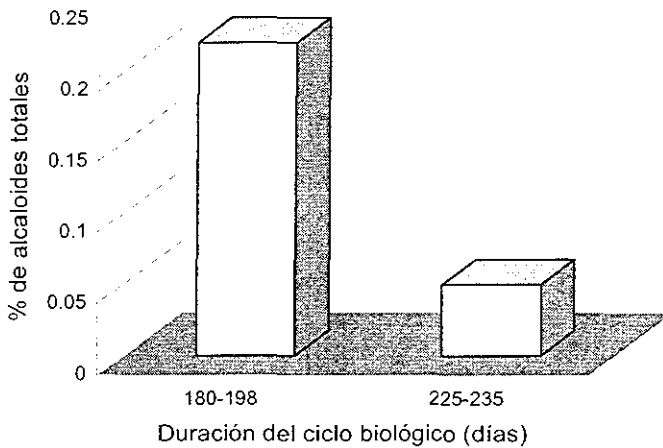


Figura 7. Contenido de alcaloides totales estimados y su relación con la duración de ciclo biológico en semillas de 13 variedades de *L. albus*.

Las variedades más precoces (entre 180-198 días) presentaron en promedio un contenido de alcaloides totales promedio de 0.22%, el cual rebasa los niveles máximos permitidos para ser considerados en la alimentación. Al igual que en el caso de aceite el ligero incremento en el contenido de alcaloides en las variedades precoces pudiera estar relacionado también a condiciones ambientales más secas durante la formación del grano.

Cabe señalar que entre el grupo de variedades con el contenido de alcaloides Au homer fue la de mayor concentración de estos compuestos con 0.76%, mientras que las variedades multulupa y L 1057 fueron las de menor contenido con 0.06 y 0.09% respectivamente. A pesar de que estas dos últimas variedades rebasan ligeramente los niveles máximos permitidos pueden tener posibilidades de utilizarse siempre y cuando se considere la especie que se desea alimentar y los diferentes niveles de inclusión al momento de formular las raciones.

## VI. CONCLUSIONES

1.-Las variedades que registraron el mayor contenido de proteínas fueron L1079, L1019, L1057, L1078, L1067, L1040, L1055 y L1080,

2.- Las variedades L1079, L1076, L1071 y L1078 contienen valores de alcaloides totales inferiores o similares a los recomendados para su empleo en la alimentación animal y humana.

3.- La variedad L1079 fue la que presento el mayor contenido de proteínas y menor contenido de alcaloides

4.- Aunque las variedades L1071 y 1076 registraron el menor contenido de proteínas, por sus bajos contenido de alcaloides (<0.05%) pueden ser también utilizadas para el mismo propósito.

5.-Aunque no se encontró una relación directa entre la composición química y la duración del ciclo biológico el contenido de aceite y de alcaloides totales mostró una tendencia a incrementarse en las variedades más precoces.

## VII. BIBLIOGRAFIA

- Aguilera J. F and A. Trier. 1978. The revival of the lupin. *Food Technol.* 32:70-6.
- AOAC. 1997. Official Methods of Analysis of the Association of official Analytical Chemistry, 14 th ed. Washington, U. S. A.
- Ayisi, K. K., D. H. Putnam C. P. Vance and P. H. Graham. 1992. *Bradyrhizobium* Inoculation and nitrogen fertilizer effects on seed yield and protein of white lupin. 84:857-61
- Barrera, N. L. 1996. Diversidad genética de las cepas mexicanas de *Bradyrhizobium* simbioses de *Lupinus sp.* Tesis Doctoral, Instituto Politécnico Nacional. México.
- Bisby, F. A. 1981. Genisteeae. In:Advances in legume systematics. R. M. Polhill y P.H. Raven (eds). Volume 2 of the Proceedings of the International Legume Conference.
- Carretero A. M., 2001. Plantas Medicinales, Alcaloides: Aspectos generales (1) panorama Actual del medicamento. 25 (241): 222-227.
- Concha. T. L., 1992, Introducción y seleccion de tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) en el valle de México Tesis de Maestrias en Ciencias. Colegio de posgraduados. 90 p.
- Cubero, J. I y M. T. Moreno.1983. Leguminosas de grano. Ed. Mundi –Prensa. España.
- Cubero J. I, M. T. Morero.and M. S. Nadal. 2004. Las leguminosas de grano en la agricultura moderna; Editorial Mundi-Presa, pp. 125-37.
- Culvenor, C. C .J. and Petterson D. S., 1986. Lupin toxins: alkaloids and phomopsins. Proceedings of the Fourth internacional Lupin Conference, Geraldton, W. Australia; ILA: South Perth, W. Australia pp. 188-98.



- Dalton D. A; Joyner S. L; Becana M; Iturbide –Ormaetxe I; Chatfield J. M.,1998, Antioxidant defenses in the peripheral cell laers of legume root nodules. *Plant Physiology*.116: 37- 43
- Estrada C. A. y M. A. Martínez. 2000, Los géneros de leguminosas del norte de México, Universidad Autónoma de Nuevo León, México. 134 p.
- Farrington, P. and A. N. Greenwood. 1975. Description and specification of the branching structure of lupins. *Australian Journal of Agriculture Research*. 26: 507-10.
- Friedman, M. 1996, Nutritional value of proteins from different food sources. A Review. *J. Agric Food Chem* 44: 6-29.
- Fuentes, M. 1985. Caracterización agronómica de especies de altramuz cultivado (*L. albus*, *L. luteus* y *L. mutabilis* Sweet) Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, España.
- Gladstones, J. S., 1970. Lupins as crop plants. *Field Crop abstr.* 23: 123 – 48.
- Gladstones, J. S., 1974. "The Mediterranean white lupin". Department of Agriculture, Western Austrilia. *Tech. Bull.* 26: 70-74.
- Grant W. D and P. E. Long. 1989. *Microbiología Ambiental*. Ed. Acribia S.A. España p. 145-49.
- Gross, 1982. Cultivo y la utilización del tarwi. *Lupinus mutabilis* Sweet. *Estudios FAO: Producción y protección vegetal*. Roma. 236p.
- Gross, R. y E. Von Baer. 1977. Posibilidades del *Lupinus mutabilis* y *Lupinus albus* en los países andinos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 451-72.
- Goering H. K.; P. J. Van Soest., 1970. *Forage Fiber Analysis*. Agricultural Research Service. USDA Agricultural Handbook No 21.

- Gueguen, J. and P. Cerletti. 1994, Proteins of some legume seeds: soy bean, pea, fababan and lupin. In Hudson B.J.F. (Ed) *New and Developing Sources of Food Proteins*. Chapman and Hall. Londres, RU. 145-83.
- Hackbarth, J. 1961. Untersuchungen über die Vererbung der Alkaloidarmut bei der Weiss-Lupine (*Lupinus albus*). *Z. Pflanzenzüchtg.* 45:334-344
- Harbans L. Bhardwaj, David E. Starner, Steven L. Noffsinger, and Edzard Van Santen. 2005 Prospects of developing white Lupin as an alternative crop in the Mid-Atlantic region of the USA, Virginia State University 102 -6.
- Harris D. J., Wilson P. E., 1988. A rapid manual method of lupin alkaloid analysis. *Proc. Fifth Int. Lupin Conference*. Poznan, Polonia. pp. 598 – 601.
- Hill, G. D. 1977. The composition and nutritive value of Lupin seed. *Nutr. Abstr. Rev.* 47:511-29.
- Jones R., S. A. Landrock-White, M. T. Abberton, and K.A. Mizen, 2005 Optimizing competitiveness, reliability, nutrient cycling and utilization of spring Lupins in the UK, Institute of Grassland and Environmental Research. 86-8.
- Kay, D. E. 1979. *Legumbres alimenticias*, Editorial Acirbia, S.A. Zaragoza España. 437 p.
- Keeve, R., Kruger, G.H.J.; Loubser, H.L. and Van Der Mey, J.A.M., 1999. Effect of temperature and photoperiod on the development of *Lupinus albus L.* in a controlled environment. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 183 (4): 217 – 23.
- Kurlovich B. S., Heinanen J., Kartuzova L. T., Benken I. I., Chmeleva Z. V. and Bernatskaya M. L., 2003 Diversity of Lupin (*Lupinus L.*) based on biochemical composition, *Plant Genetic Resources Newsletter*. 134: 42-57.
- López B., L. y M. Fuentes. 1986. Lupin crop as an alternative source of protein. *Advances in agronomy*. 40: 239- 95.

- López B., L. y M. Fuentes. 1991. El altramuz. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Cordoba, España. 110 p.
- Lucas G. J., 1998. Estudio de la Interacción planta-suelo-microorganismos y su aplicación de *Lupinus sp* Tesis de Doctorado. Universidad de San Pablo CEU. Madrid, España.
- Muzquiz M., 1988, Factores Antinutritivos y tóxicos que afectan a la utilización de las semillas del *Lupinus hispanicus boiss et reut* para su uso alimentario, Instituto Nacional de Investigación Agraria 3- 315p.
- Muzquiz M., I. Ródenas, M. C. Ballesteros y C. Burbano. 1982, Estudio de alcaloides de *Lupinus hispanicus*, Instituto Nacional de Investigación Agraria serie: agrícola No. 17.
- Muzquiz, M.; Burbano, C.; Cuadrado, C.; de la Cuadra, C. 1993, Determination of thermoresistant antinutritional factors in legumes. I. Alkaloids. Invest. Agrar. Prod. Prot. Veg. 8, 351-61.
- Muzquiz M., C. Cuadrado, G. Ayet, C. De la Cuadra, C. Burbano and A. Osagie. 1994, Variation of alkaloid components of lupin seeds in 49 genotypes of *Lupinus albus L* from different countries and locations, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42 (7): 1447-50.
- Nelson, P, J. Hamblin and A. Williamns. 1983. lupins in the Geraldton region . Bull.no 4079. West. Aust. Dep. Agric. Austria.
- Pascual T .H., 1986, Descripción del género *Lupinus*: Ministerio de agricultura, pesca y alimentación, Madrid, No. 67 17-9 p.
- Pelletier, S. W., 1983. The nature and definition of an alkaloid. In: *Alkaloids: Chemical and biological perspectives*, Vol. I. Pelletier, S. W. (ed.). Wiley, New York, pp. 1-31.
- Petterson, D. S., S. Sipsas and J.B. Mackintosh. 1997. The Chemical Composition and Nutritive Value of Australian Grain Legumes 2 nd Edition Grains Research and Development Corporation, Canberra, Austria. 65 p.

- Planchuelo, A. M., 1982, Literature review of the genus *Lupinus*. Lupine Newsletter. International Lupine Association 4:37-9.
- Planchuelo A. M., 1994. Wild lupins distribution and its implication as germoplasm resources. In: Advances in Lupin Research. Proc. VII th Inter. Lupin Conf. Evora, Portugal.
- Primolini C., 2000, El lupino: una alternativa productiva, Revista agromensajes de la Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Rosario. Argentina.
- Sanchez S. O., 1979. *Lupinus L.* In:Flora del Valle de Mexico. Editorial La Prensa. Mexico, D.F. 208-9.
- Schmeller T., Sauerwein, M., Spore, R. F., Muller, W. E. y Wink, M. 1994. Binding of quinolizidine alkaloids to nicotinic and muscarinic receptor. Journal Natural Products. 57: 1316-9.
- Schutte H., 1969. En K. Mothes y H. Schutte (editores). Biosynthese der Alkaloides. VER. Berlin: 324-42.
- Sopena, R., 1973, Papaveraceas. Gran Sopena. Diccionario enciclopédico. Tom o XIII. Editorial Ramón Sopena. Pag 6383.
- Takhtajan A., 1987. Systemas magnoliophytorum. Oficina editora Nauka. Sectio leninopolitana. Lenninopoli, Russia.
- Torres, F., 1976. *Lupinus mutabilis* Sweet. A potential food source from the Andean region. Am.J. Clin. Nutricion 825.-33.
- Valencia O. C., 1995, Fundamentos de Fitoquímica, Ed trilla, México 147-70.
- Van Soest, P.J. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II a rapid method for the determination ... J. Assoc. Official Agr. chem. 46 (5): 829.
- Van Soest, P. J., And R. H. Wine. 1968. Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permangante. J. Assoc. Official Agr. Chem. 51:780.

- 
- Von Baer, D., E. Von Baer, U. Hashagen, R. Ibañez, L. Lamperti, M. Morales, E. Ross, P. Puentes, I. Pérez. 1992. "Normas de calidad de lupino": resultados de cosechas 1989, 1990, 1991 y conclusiones finales. En: I Conferencia Nacional del Lupino, Temuco, Chile.
- Von Baer E., 2006. Relevant points for the production and use of sweet lupin in Chile. In *Proceedings of the 11th Internacional Lupin Conference*, van Santen and G. D. Hill (eds.) Guadalajara Jalisco, México. Pp116-119
- Von Sengbush R., 1942. Süblupinen und Ollupinen. *Landw. Jahresber.* 91:719-880.
- Watkins, B. A and W. Mirosh. 1987. White Lupin as a protein source for layers. *Poultry Science* 66:1798-1806.
- Wink, M. 1983. Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids. Aspects of allelopathy. *Planta* 158: 365-68.
- Zamora N. J., R. M. Martinez, m. Ruiz, J. Ruiz, 1998, Comportamiento de líneas avanzadas de *Lupinus albus*. provenientes de E.U.A. Al sembrarse en Zapopan, Jalisco. *Ciencia agropecuaria* 8(2): 7-12.

## VIII. APENDICE

### Determinación de humedad

La humedad es la cantidad de agua libre o ligada que contienen los alimentos, el método utilizado para cuantificar el porcentaje de agua en las muestras fue por diferencia de peso (Método Gravimétrico).

### Procedimiento

Se pesaron 2g de muestra en una charola a peso constante, estos se colocaron en estufa (NOVATECH ATTO CPM 30) a una temperatura de 105°C, durante un periodo de 3 horas.

Después la muestra se paso aun desecador para enfriarla y registrando así el peso final.

El porcentaje de humedad (H) se reporto en base a la siguiente formula:

$$\%H = \frac{(P1) - (P2)}{(P3)} \times 100$$

En donde:

P1= muestra húmeda (g)

P2= muestra seca (g)

P3= Peso de la muestra (g)

### Determinación de cenizas

Este método es aplicable para alimentos en general, a excepción de aquellos con un contenido mayor del 50% de grasa.

Se fundamenta en que los alimentos contienen una pequeña cantidad de materiales inorgánicos que varían en composición y concentración, estos se determinan en conjunto como el residuo posterior de calcinar la muestra a temperaturas de 550°C.

Se pesan 2g de muestra en un crisol llevado previamente a peso constante la muestra se calcina en el mechero Bunsen hasta observar el desprendimiento total de humo negro.

El contenido de cenizas totales se determino mediante la incineración de la muestra calcinada, en una mufla Thermolyne type 1500 furnace, utilizando una temperatura de 550° C por un periodo de 3 horas

Por último se pasa el crisol a un desecador, se deja enfriar y se registra su peso, la cantidad de cenizas Totales (CT) se determina siguiendo la siguiente formula:

$$\%CT = \frac{(P1) - (P2)}{(P3)} \times 100$$

En donde:

P1= Peso del crisol+ Muestra (g)

P2= Peso del crisol + Muestra calcinada (g)

P3= Peso de la muestra (g)

## Determinación de proteínas

Para la determinación de Nitrógeno se utilizo el método Kjeldahl el cual costa de tres etapas (digestión, destilación y titulación)

### a) Digestión:

Se basa en que las proteínas y la materia orgánica por ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), fijando el Nitrógeno orgánico como sulfato de amonio  $(NH_4)_2SO_4$ , el uso de Sulfato de cobre y Sulfato de sodio como catalizadores, ayuda a incrementar la temperatura acelerando la digestión.

### b) Destilación:

El sulfato de amonio se hace reaccionar con una base fuerte como hidróxido de sodio (NaOH), liberando amoniaco ( $NH_3$ ), el cual se destila y se recibe en una solución de ácido bórico ( $H_3BO_3$ ).

### c) titulación

En esta etapa se satura el amoniaco con ácido clorhídrico (HCl), el punto exacto de la saturación se observa un cambio de color de la solución.

#### Procedimiento

Para determinar el contenido de proteínas se peso 1g de muestra colocándolo en un matraz Kjeldahl, adicionando ácido sulfúrico concentrado y Sulfato de cobre y sodio como catalizador, la mezcla se colocó para la digestión en un equipo LABCONCO a temperatura moderada hasta que la muestra clarifique (verde pistache).



Se deja enfriar la solución y posteriormente se agregó agua, granallas de Zinc y solución de Hidróxido de sodio al 33%. La mezcla se colocó en el equipo para destilar el amoniaco en una solución de ácido bórico al 4% con rojo de metilo más verde de bromocresol como indicadores.

Se recuperan 250mL del destilado y se valoran con ácido clorhídrico 0.1N hasta observar el vire de rosa claro a incoloro, tomando en cuenta los mililitros gastados de ácido clorhídrico y el factor de Nitrógeno (6.25) para cuantificar el porcentaje de proteína en la muestra. El contenido de proteína se calculó en base a la siguiente formula:

$$\%N = \frac{(mL\acute{a}cido \times N1)}{(G)} \times (1.40)$$

$$\%P = (\%N) \times 6.25$$

En donde

%N= porcentaje de Nitrógeno

N1= Normalidad del acido

G= peso de la muestra en gramos

%P= Porcentaje de Proteína

### Determinación de extracto etéreo

El contenido de lípidos totales de las muestra se determinó mediante el método Soxhlet.

El cual esta basado en la extracción de las grasas mediante solventes orgánicos tales como Hexano. Que permiten obtener el extracto desengrasado y la fracción de grasa del alimento.

Para determinar el contenido de grasa se pesaron 3g de muestra en un papel filtro, el cual se transfiere a un dedal y se coloca dentro del equipo Soxhlet.

En la parte inferior se coloca un matraz de bola previamente llevado a peso constante, enseguida se adiciona hexano y se inicia la extracción durante un periodo de 5 horas a temperatura controlada.

Transcurrido el tiempo se recupera el solvente, y el matraz que contiene la grasa se enfría en un desecador y se registra su peso. El porcentaje de grasa (G) se calcula mediante la siguiente formula:

$$\% G = \frac{(P 2) - (P 1)}{(P 3)} \times 100$$

En donde:

P1 = Peso del matraz (g)

P2 = Peso del matraz + Muestra desengrasada (g)

P3 = Peso de muestra (g)

Determinación de fibra cruda

Se conoce con el nombre de Fibra al extracto no nitrogenado resistente a la digestión de ácido y álcali que se encuentra presente solo en los vegetales (pared celular).

Se toma 1g de la muestra desgrasada, adicionando una solución de ácido sulfúrico 0.255N, esta se coloca por 45 minutos en agitación y ebullición constante en un equipo ANKOM -200 Fiber Analyzer.

Siguiendo el procedimiento anterior se efectúa la digestión básica con NaOH 0.313N.

El residuo obtenido se seca en una estufa hasta peso constante, se pesa y se calcina a 550°C durante una hora, el contenido de fibra cruda (F) se determina mediante la siguiente formula:

$$\%F = \frac{(D - E - C)}{(B)} \times 100$$

En donde:

D = Crisol + Bolsa y residuo seco.

C = (factor de corrección para las bolsas 0.992) X (A)

B = Peso de la muestra

A = Peso de la bolsa vacía

E = Crisol + residuo de la calcinación

TESIS/CUCBA

Determinación de Fibra Neutro Detergente (FDN)

En la determinación de los componentes que constituyen la pared celular se emplea el procedimiento de Fibra neutro detergente (FDN) que es aplicable en alimentos que contienen un alto contenido de fibra, este método consiste en separar la materia seca de los constituyentes nutricionales solubles, de aquellos que no son totalmente aprovechables o que dependen de la fermentación microbiana para su aprovechamiento.

Este método no se puede aplicar para alimentos que contienen un alto contenido de proteínas y un contenido bajo de fibra (Soest, 1963).

Se toman 500mg de la muestra desgrasada, colocándose en digestión en el equipo ANKOM - 200 Fiber Analyzer, enseguida se agregan 2000mL de solución neutro detergente y se mantienen en agitación y calor durante 70 minutos.

Posteriormente se desecha la solución neutro detergente y se lava la muestra con agua destilada de 90 a 100°C, más 4mL de solución amilasa termoestable efectuando este procedimiento por triplicado y aplicando un último enjuague con agua destilada fría.

El residuo obtenido se coloca en desecación en estufa a 110°C, hasta peso constante, el contenido de Fibra Neutro Detergente se calcula en base a la siguiente formula:

$$\%FDN = \frac{(D - C)}{(B)} \times 100$$

En donde:

D = Bolsa + residuo seco.

C = (factor de corrección para las bolsas 0.992) X (A)

B = Peso de la muestra

A = Peso de la bolsa vacía

Determinación de Fibra Acido Detergente (FDA)

El método esta basado en la determinación de lignocelulosa en los alimentos.

La diferencia del valor de la pared celular y la fibra ácido detergente da una estimación del valor de hemicelulosa, incluyendo también una fracción de proteína adherida a las paredes celulares. El procedimiento de fibra ácido detergente también es utilizado como paso preliminar en la determinación de lignina (Soest, 1968).

Se toman 500 mg de la muestra desgrasada, colocándose en digestión en el equipo ANKOM -200 Fiber Analyzer, enseguida se agregan 2000mL de solución ácido detergente y se mantienen en agitación y calor durante 70 minutos.

Posteriormente se desecha la solución ácido detergente y se lava la muestra con agua destilada de 90 a 100°C, efectuando este procedimiento por triplicado.

El residuo obtenido se seca en estufa a 110°C hasta peso constante. Se calcula el contenido de fibra ácido detergente con la formula siguiente:

$$\%FDA = \frac{(D - C)}{(B)} \times 100$$

En donde:

D = Bolsa + residuo seco.

C = (factor de corrección para las bolsas 0.992) X (A)

B = Peso de la muestra

A = Peso de la bolsa vacía