

METODOS DE ELIMINACION DE ALCALOIDES EN LA SEMILLA DE *Lupinus mutabilis*, Sweet

*Felix Torres Tello, Alejandrina Nagata y
Walter Dreifuss Spiegel*

Asociación Peruana de Nutrición, Apartado 4297, Lima, Perú

RESUMEN

La meta básica de este trabajo fue encontrar un método de manejo simple y económico que permita el control y eliminación de los alcaloides más allá del límite de la perceptibilidad organoléptica y toxicidad. La investigación se llevó a cabo experimentando con cuatro métodos en forma comparativa, aprovechando las propiedades físicas y químicas de la semilla del *Lupinus mutabilis* (tarhuí): a) desamargado por vía húmeda; b) vía química; c) extracción con dos solventes, y d) tratamiento térmico-hídrico modificado.

Se encontró que el método más adecuado es el del tratamiento térmico-hídrico modificado, que presenta un rendimiento de 85% y una eficiencia de desamargado del orden de 98.6%, cifras superiores a las obtenidas utilizando los demás métodos.

El producto final obtenido es de sabor suave, sin rastros de sabor amargo y con una concentración proteínica de 72% en la línea Kayra. El amino-grama de esta proteína muestra un contenido de lisina excepcionalmente alto.

INTRODUCCION

La demanda siempre creciente de proteína, económicamente asequible para las grandes masas, mueve al mundo investigador a

buscar sin desalentarse, nuevas fuentes proteínicas que cumplan con la premisa de bajo costo. Así, no es de extrañar que cada vez se preste mayor interés a ciertos tipos de cultivos de la sierra andina, que han sido la base alimenticia de los pueblos autóctonos. Entre los cultivos de la sierra andina tenemos el tarhuí, conocido ya por los antiguos pobladores del Perú.

Actualmente éste se cultiva en Perú, Bolivia, Ecuador y en menor escala en Colombia y el noreste de Argentina y Venezuela. No se puede hablar de hectáreas cultivadas ni de rendimiento a nivel estadístico, ya que gran proporción de su cultivo no se lleva a cabo en campos uniformes y exclusivos sino en líneas marginales o borduras, junto al maíz, papas y otras especies. Sin embargo, en los últimos años ha aumentado la cantidad de terrenos que se dedican totalmente a su cultivo. Sin contar con el valor estadístico de las observaciones o de los informes, se calcula que la superficie cultivada con tarhuí en el Perú alcanza unas 1,000 ha, y en cuanto a su rendimiento, llega a obtenerse hasta 2,000 kg por ha (1). En la actualidad, y con ayuda del Ministerio de Agricultura, las Universidades de Cajamarca, de Cuzco y de Huancayo, así como de la Iglesia Luterana y del Convenio Peruano-Alemania, se ha venido acentuando la promoción de su cultivo a nivel nacional.

El frijol de nuestro interés contiene principios amargos provenientes de una compleja gama de alcaloides, cuyo control y procesos de eliminación fueron propuestos como metas de la presente investigación. Por sus excelentes dotes como alimento, creemos que el tarhuí supera a la soya en muchos aspectos, tales como su riqueza proteínica y lipídica, así como por su alto contenido de lisina, aminoácido esencial que es uno de los factores del crecimiento en la dieta infantil.

A. *Parte Experimental*

En la presente investigación se utilizaron semillas de *Lupinus mutabilis*, Sweet, variedad Kayra, procedentes del Cuzco.

En vista de que el factor limitante para su consumo directo es su alto contenido en alcaloides, se buscó un método que permitiese eliminarlos más allá de los límites de perceptibilidad organoléptica y toxicidad, a la vez que sencillo y económico. Para esos efectos, experimentamos comparativamente los cuatro métodos que se detallan a continuación.

1. *Desamargado por vía de humedad*

El desamargado por vía de humedad ha venido practicándose desde la época preincaica, y todavía es utilizado por la población campesina de la sierra del Perú. Este método permite obtener un frijol para consumo directo que no presenta sabor amargo. El procedimiento fue el siguiente:

Se colocaron en un recipiente 5 kg de semilla partida y descascarada, cubriéndose con agua hasta un tercio más de su volumen. Luego se le sometió a la acción del calor a 90°C durante 30 min y seguidamente se colocó en un recipiente perforado, bajo un chorro continuo de agua fría por 72 horas. Al cabo de ese tiempo se secó y desengrasó la semilla, observándose un rendimiento de 73.1% y una pérdida de sólidos totales de 26.9%.

2. *Desamargado por vía química*

En este método los alcaloides del tarhuí (*Lupinus*), originalmente hidrosolubles, se transforman en liposolubles por la acción de un gas, el óxido de etileno. La prueba es una patente alemana de Hentrich-Hoermann del año 1935 (2). Para desamargar la semilla por este procedimiento se colocaron en un reactor 100 g de semilla partida y descascarada a la que se le añadió 15 g de óxido de etileno, calentándose en baño maría a 60°C. El reactor fue construido expresamente, con material resistente a la presión, contándose además con un manómetro y una válvula de seguridad.

Una vez finalizada la reacción, se retiró la muestra del reactor y se desengrasó con hexano. Después de diferentes pruebas orientadas a encontrar el solvente más adecuado para la extracción de los alcaloides de la torta (harina desengrasada), se ensayó una mezcla azeotrópica constituida por etanol-hexano-agua en las proporciones de 75:15:10, agitando la muestra durante 20 hr en medio alcalino. Al cabo de este tiempo finalizó el proceso, desecándose la muestra. En este caso, se obtuvo un rendimiento de 88 g% y una pérdida de 12% de sólidos totales.

3. *Desamargado por extracción con dos solventes*

Esta técnica se adaptó de otra que se utiliza para controlar el sabor de la proteína de soya (3) y en ella se trabaja con dos solventes y en medio alcalino.

Se pesaron 200 g de muestra, los cuales fueron sometidos a doble extracción en un Soxhlet, utilizando hexano durante 5 hr en la primera extracción. Seguidamente se alcalinizó con solución amoniacal 2N como paso previo a la segunda extracción. Esta última se efectuó con etanol absoluto, durante 24 hr, alcanzándose un rendimiento de 87 g/o y una pérdida de 13 g/o de sólidos totales.

4. *Desamargado por tratamiento térmico-hídrico modificado*

La semilla, una vez partida y descascarada, se sometió a la acción del calor en una olla con chaqueta de vapor, a una temperatura de 100°C durante 5 minutos. Este procedimiento se repitió tres veces, pero cubriendo los granos con agua y alcalinizando moderadamente el medio. En otra fase de la extracción se sumergió la misma semilla en agua a 70°C durante 5 hr para luego colocarla bajo un chorro continuo de agua fría por un lapso de 8 a 12 horas. El tratamiento se concluyó desengrasando la semilla con hexano, previo secado y molienda, obteniéndose un rendimiento de 85 g/o y una pérdida de sólidos totales de 15 g/o.

5. *Análisis químico-bromatológicos*

En el producto final, desengrasado y desamargado, se llevaron a cabo los siguientes análisis:

- a. Humedad: en estufa semiautomática Brabender. AOAC, 1975 (4).
- b. Cenizas totales: mediante calcinación e incineración directa. AOAC, 1975 (4).
- c. Lípidos: extracción en aparato Soxhlet, utilizando éter de petróleo. AOAC, 1975 (4).
- d. Fibra cruda: método gravimétrico con hidrólisis ácido-alcalina. AOAC, 1975 (4).
- e. Proteínas: Kjeldahl. AOAC, 1975 (4).
- f. Aminoácidos: hidrólisis ácida, con separación cromatográfica en columna en el Amino Acid Analyzer La - 39 Hitachi Perkin Elmer, del IIA.
- g. Tiamina: método del tiocromo. AOAC, 1975 (4).
- h. Riboflavina: método fluorométrico. AOAC, 1970 (5).
- i. Niacina: método microbiológico (6).
- j. Triptofano: método microbiológico (6).
- k. Alcaloides totales: método gravimétrico (7).

Conforme a este método, se tomaron 5g de muestra pulverizada, humedeciéndola con NH_3 2N y se colocaron en un cartucho de papel de filtro en el Soxhlet, extrayéndose con cloroformo por 48 horas. Entonces se evaporó la solución clorofórmica, hasta aproximadamente 50 ml de su volumen original, transfiriéndose luego a un embudo de decantación. Seguidamente se hicieron cuatro extracciones con HCl al 10%, y se neutralizó con NaOH al 40%, con un exceso de 5 ml de soda. Después se extrajo cinco veces con 30 ml de éter etílico y se le agregó Na_2SO_4 anhidro; se filtró y se evaporó en baño maría con balones previamente tarados. Luego se desecaron a 60°C, se enfriaron y volvieron a pesar. Finalmente los alcaloides crudos se obtuvieron por diferencia de peso.

- l. Calcio: permanganometría. Norma ITINTEC 209-219, 1967 (8).
- m. Magnesio: complexometría. Becker, 1961 (9).
- n. Fosforo: método de la AOAC, 1970, modificado (5).
- o. Hierro: método de ortofenantroleína (9).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se dan a conocer en las tres Tablas siguientes.

TABLA I
CONTENIDO DE ALCALOIDES RESIDUALES CRUDOS*
Y PORCENTAJE DE EFICIENCIA DE DESAMARGADO
EN CADA TRATAMIENTO

Tratamiento	% Alcaloides	% Eficiencia de desamargado
Semilla descasc., sin tratamiento	1.940	—
Semilla tratada vía humedad	0.090	95.4
Semilla tratada vía química	0.038	97.9
Semilla tratada doble extracción	0.060	96.9
Semilla tratada térmico-hídrico	0.030	98.6

* Alcaloides residuales crudos, es decir, sin purificar.

TABLA 2

VALORACION QUIMICO-BROMATOLOGICA DEL PRODUCTO
FINAL DESAMARGADO POR TRATAMIENTO TERMICO-HIDRICO
MODIFICADO*

Componentes	Muestra procesada (producto final) g o/o
Proteínas	72.00
Lípidos	1.00
Cenizas	5.00
Fibra cruda	6.90
Alcaloides residuales	0.03
Extracto libre de nitrógeno	15.07
<i>Cenizas: **</i>	
Calcio	412.50 mg ^o /o
Hierro	19.90 mg ^o /o
Magnesio	69.10 mg ^o /o
Potasio	28.60 mg ^o /o
Sodio	52.40 mg ^o /o
Fósforo	1,450.00 mg ^o /o
<i>Vitaminas del Complejo B: **</i>	
Tiamina	0.58 mg ^o /o
Riboflavina	0.51 mg ^o /o
Niacina	3.10 mg ^o /o

* En base seca.

** En 100 g de muestra.

NOTA: Solo se hizo la valoración químico-bromatológica del producto final del tratamiento térmico-hídrico, ya que éste rindió mejores resultados de desamargado.

DISCUSION

De los cuatro métodos de desamargado sometidos a prueba se concluyó que el más adecuado es el tratamiento térmico-hídrico modificado. Este no sólo es el más económico, sino también rápi-

TABLA 3

**CONTENIDO DE AMINOACIDOS DE LA PROTEINA DEL TARHUI
DESAMARGADO POR TRATAMIENTO TERMICO-HIDRICO
MODIFICADO**

(Expresados en g/100g de proteína)

Aminoácidos	Muestra		Patrón FAO*
	Cruda	Procesada	
Tirosina	3.59	3.36	
Fenilalanina	3.60	3.81	5.80
Lisina	6.65	7.80	4.32
Histidina	4.19	2.89	
Triptofano	0.46	0.60	1.44
Arginina	11.08	11.59	
Acido aspártico	8.65	9.58	
Acido glutámico	26.25	23.55	
Treonina	2.98	4.10	2.88
Serina	4.22	5.48	
Prolina	4.03	4.21	
Alanina	3.15	4.11	
Glicina	3.68	3.83	
Valina	4.92	3.35	
Cistina	Trazas no cuantificadas		4.40
Metionina	Trazas no cuantificadas		
Isoleucina	4.38	4.03	4.45
Leucina	7.84	6.69	4.88

* Amino Acid Content of Foods (FAO, Roma, 1963).

do y de mayor rendimiento, con una eficiencia de desamargado del orden de 98.60/o y una pérdida de sólidos totales de 150/o.

Queremos hacer notar que el método químico empleado posee también una buena eficiencia. No obstante, presenta la desventaja de operar con un reactivo de difícil manipulación (con riesgo de explosión). Además requiere trabajar con solventes con extracciones sucesivas, lo que aumenta considerablemente el tiempo de desamargado y eleva el costo del producto.

La torta (harina desengrasada), obtenida con este procesa-

miento no sufre deterioro en lo que a su contenido proteínico se refiere, pero sí hay pérdida de vitaminas B₁ y B₂.

Se ha evaluado la presencia de alcaloides en el producto final, y a pesar de que no presenta sabor amargo detectable por vía organoléptica, su presencia se manifiesta mediante el uso de reactivos para alcaloides. Debemos hacer notar que los métodos analíticos utilizados para la valoración de alcaloides de *Lupinus* señalaban la presencia de éstos aun en productos en los que no era factible lograr su detección por la vía sensorial. Por esta razón, nuestros resultados se presentan como alcaloides totales "crudos", ya que las cifras dadas, como tales, no reflejan el contenido real de estas sustancias, porque existen otros compuestos nitrogenados que reaccionan en forma positiva frente a los reactivos para alcaloides (alcaloides crudos son los que no han sido sometidos a purificación).

Podemos, pues, concluir que el producto final estaba libre de alcaloides residuales representativos después del proceso mediante el cual fue tratado. Tampoco representa un peligro para la salud, porque el tarhuí se ha venido utilizando como una fuente de alimentación desde la era preincaica y no se sabe de informes de intoxicación por su consumo.

Nuestro equipo de investigadores, por lo tanto, sigue trabajando en los aspectos aplicativos del *Lupinus* y en la comprobación de inocuidad del producto.

SUMMARY

THE ELIMINATION OF ALKALOIDS FROM SEEDS OF *Lupinus mutabilis*, Sweet

The basic purpose of this work was to find a simple and economic method to control and eliminate the presence of alkaloids, as detected by organoleptic or toxicity tests, in *Lupinus mutabilis*, S. (tarhui) seeds. Taking advantage of the physical and chemical properties of the seeds, they were subjected to four methods of extraction for the elimination of the bitter taste: a) water extraction; b) chemical treatment; c) extraction with two solvents, and d) treatment with a modified water-heat process.

The results indicated that the most adequate method was the water-heat modified treatment, which showed a yield of 85% and a debittering efficiency of 98.6%, figures which were above those obtained with any of the other treatments studied.

The final product had a bland taste without traces of bitterness and a 32% concentration of protein in the kayra line. Amino acid content showed this product to have an unusual high lysine content.

BIBLIOGRAFIA

1. Blanco, O. Convención de Semillas Oleaginosas. Estación Experimental Agrícola de la Molina, Perú, 1974.
2. Hentrich, W. & F. Hoermann. Ein neues Verfahren zur Lupinenentbitterung. *Chemiker Zeitung*, 59 (61): 621-623, 1935.
3. Noyes, R. *Protein Food Supplements*. New Jersey, Noyes Data Corp., 1969.
4. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 12th ed. Washington, D. C., The Association, 1975.
5. Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis of the AOAC*. 11th ed. Washington, D. C., The Association, 1970.
6. Strocker, R. H. & M. Henning. *Análisis de Vitaminas*. Madrid, Editorial Paz Montalvo, 1967.
7. Goldberg, S. I. & R. F. Moates. Alkaloids of *Lupinus difusus*, Nutt. *Phytochem.*, 6(1): 137-140, 1967.
8. ITINTEC. *Métodos de Ensayos para Alimentos Balanceados de Animales*. Lima, Perú, septiembre, 1967, p. 209-219.
9. Becker, M. *Análisis y Valoración de Piensos y Forrajes*. Zaragoza, España, Editorial Acribia, 1961, p. 108-112.

BIBLIOGRAFIA ADICIONAL CONSULTADA

- Antunez de Mayolo. *La Desnutrición en el Perú*. Tesis Doctoral, U.N.M.S.M. Lima, Perú, 1974, p. 158.
- Von Baer, E. *El Lupinus dulce*. Antecedentes generales de su cultivo y utilización en el sur de Chile. Presentado en: **XXII Jornadas Agronómicas, Chile, 1971**.
- Burkart, A. *Las Leguminosas Argentinas Silvestres y Cultivadas*. Buenos Aires, Argentina, Acme Agency.
- Clarke, E. *Isolation and Identification of Drugs*. London, Clowes & Sons, Ltd., 1969, p. 542.
- Collazos, *et al.* *Composición de Alimentos Peruanos*. 3a. ed. Instituto de Nutrición, Lima, 1962, p. 24-25.

- Gladstones, J. **Lupin Cultivation and Breeding**. Reprinted from H. of the Australian Inst. of Agricultural Sci., Australia, 1960.
- Gimenez, S. Estudio Químico Bromatológico del *Lupinus mutabilis*. Soc. Química del Perú, 1973.
- Lozano, Z. **Contribución al Estudio Químico Bromatológico del Lupinus mutabilis**. Tesis de graduación. 1965.
- MacBride, F. Flora del Perú, Curatos, Chicago, **Peruvian Botany**, 1950.
- Martinod, P. Investigación de los alcaloides del chocho, *Lupinus tricolor*. Ecuador, Inst. Nac. Nutrición, 1964.
- Saxton, J. **The Alkaloids. A review of the literature published between January, 1969 and June 1970**. Vol. 1. The Chemical Society. London, Burlington House, 1971.
- Stahl, E. **Thin-Layer Chromatography. A Laboratory Handbook**. Berlin-Heidelberg-New York, Springer-Verlag; New York and London, Academic Press, Inc., 1965, p. 435-437.
- Torres, T. F. Valor nutritivo del Tarhuí. **Boletín de la Sociedad Química del Perú**, V1. XL, 1974.
- Torres, T. F. **Determinación del Valor Nutritivo del Lupinus mutabilis**. Lima, Perú, U.N.M.S.M., 1975.
- Torres, T. F. *Lupinus mutabilis*, Sweet – a potent food source from the Andean region. **Am. J. Clin. Nutr.**, 29: 933, 1976. (Letters to the Editor).
- Weberbauer, A. **El Mundo Vegetal de los Andes Peruanos**. Lima, Perú, Editorial Lumen, S. A., 1945.
- Willar, H. **Métodos Instrumentales de Análisis**. México, Editorial Continental, 1971.
- Wolf, W. & J. Cowan. **Soybeans as a Food Source**. CRC Press, 1975.