

# TRABAJOS DE INVESTIGACION

# Factores tóxicos de leguminosas cultivadas en Chile

## II. Inhibidor de tripsina\*

FELIPE GALLARDO, HÉCTOR ARAYA, NELLY PAK  
y MARÍA ANGÉLICA TAGLE \*\*

Unidad de Nutrición Básica, Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina,  
Universidad de Chile.

### RESUMEN

Se determinó la actividad antitriptica en leguminosas cultivadas en Chile: a) poroto (*Phaseolus vulgaris* var tórtola, coscorrón y zeus); b) haba (*Vicia faba*); c) arveja (*Pisum sativum*); d) lenteja (*Lens esculenta*); e) garbanzo (*Cicer arietinum*); f) chícharo (*Lathyrus sativus*); g) soya (*Glycine max*); h) lupino (*Lupinus albus* var astra y *Lupinus luteus* var aurea); i) tamarugo (*Prosopis tamarugo*). La mayor actividad se observó en la soya: 28.39 UIT/mg de muestra seca desgrasada, el chícharo y el poroto en sus diferentes variedades también presentaron valores altos. Haba, arveja, lenteja, garbanzo y tamarugo, presentaron valores bajos. No se destacó actividad antitriptica en los lupinos.

Se aplicaron diversos tratamientos térmicos a la variedad de poroto que presentó la mayor concentración de inhibidor triptico. Los tratamientos térmicos por vía húmeda eliminaron casi completamente el inhibidor independientemente si se realizaba remojo por 14 horas, o si la muestra estaba entera o molida. Se estudiaron los efectos del calor por vía seca: al calentar los porotos enteros en estufa a 100°C por una hora, sin remojo previo, la destrucción fue bastante escasa (8.8%); al realizar la misma experiencia con el producto molido se obtuvo un descenso mayor (41.1% y en una tercera experiencia con poroto entero y calor seco, con remojo previo, se obtuvo un 36.9% de inactivación del inhibidor.

Los tratamientos por vía húmeda bastan para eliminar casi totalmente el inhibidor triptico. El calor seco solo lo elimina en forma parcial, influyendo el grado de división de la semilla y el remojo previo.

\* Financiado por OEA, a través del proyecto "Introducción racional de leguminosas en la alimentación infantil", 1971-1972.

\*\* Dirección actual: División de Política Alimentaria y Nutrición, FAO, Roma.

Recibido: 11-12-72.

## INTRODUCCION

Las leguminosas constituyen un importante recurso alimentario actual y potencial para la alimentación humana, especialmente en aquellas regiones donde la producción de proteínas de origen animal es escasa (1). Numerosas investigaciones han demostrado la toxicidad de las leguminosas crudas (2-9). Se han descrito diversos compuestos responsables de esta acción: hemaglutininas, saponinas, antivitaminas, glucósidos cianogénéticos, inhibidores de enzimas proteolíticas (6).

En la literatura se puede encontrar abundante información sobre la actividad antitriptica de leguminosas cultivadas en otros países (6). Sin embargo, en Chile no existía ninguna comunicación al respecto.

En esta oportunidad presentamos valores de actividad antitriptica en semillas de leguminosas cultivadas en Chile: además aplicamos diferentes tratamientos utilizados habitualmente en la preparación tanto doméstica como industrial de las leguminosas, y estudiamos los efectos que ellos producen sobre la actividad antitriptica.

## MATERIALES Y METODOS

Se determinó la actividad antitriptica en diversas leguminosas cultivadas en Chile:

- 1.—Leguminosas de consumo humano. a) fréjol o poroto (*Phaseolus vulgaris* var *tórtola*, *coscorrón* y *zeus*); b) haba (*Vicia faba*); c) arveja (*Pisum sativum*); d) lenteja (*Lens esculenta*); e) garbanzo (*Cicer arietinum*); f) chícharo (*Lathyrus sativus*), especie de escaso consumo, y g) soya (*Glycine max*), leguminosa de amplio consumo en otros países; en Chile recién se está iniciando la fase de cultivo comercial.
- 2.—Leguminosas de uso potencial en la alimentación humana. Lupino (*Lupinus albus* y *Lupinus luteus*), actualmente se destinan a la alimentación animal; se están realizando los estudios nutricionales y tecnológicos para definir su posible introducción a la dieta humana.
- 3.—Leguminosa de consumo animal. Tamarugo (*Prosopis tamarugo*), esta especie se cultiva como único recurso forrajero en la Pampa del Tamarugal, zona desértica del Norte de Chile. (10).

### Tratamientos

En el poroto tórtola (*Phaseolus vulgaris*) se realizaron los siguientes tratamientos:

- 1.—Molido\*, autoclavado 20' a 121°C y secado\*\*.
- 2.—Cocido 1 hr a ebullición, secado y molido.
- 3.—Remojado por 14 hr, calentado en autoclave 20', secado y molido.
- 4.—Remojado 14 hr, calentado a ebullición 1 hr, secado y molido.
- 5.—Calentado en olla a presión (10 lb) por 20', secado y molido.
- 6.—Remojado por 14 hr, calentado en olla a presión (10 lb) por 20', secado y molido.
- 7.—Entero, calentado en estufa a 100°C por 1 hr.
- 8.—Molido, calentado en estufa a 100°C por 1 hr.
- 9.—Entero, remojado por 14 hr, calentado en estufa a 100°C por 1 hr.

### Determinación de la actividad antitriptica

Las muestras de las leguminosas crudas y sometidas a los diversos tratamientos se molieron y pasaron a través de un tamiz de 100 mesh. La actividad inhibidora de tripsina se determinó según el método de Kakade *et al* (13) utilizando caseína libre de vitaminas (Nutritional Biochemicals Co., Cleveland, Ohio), y tripsina cristalizada libre de sales, (Worthington Biochemical Corp., Freehold, N. J.).

Para expresar los resultados sobre peso seco, simultáneamente se determinó la humedad en otras muestras por desecación a 105°C, hasta peso constante.

Expresión de la actividad. Una unidad de tripsina se define arbitrariamente como el incremento en 0.01 unidades de absorbancia a 280 m $\mu$  en 20' por 10 ml de la mezcla reaccionante. La actividad de inhibidor de tripsina se define como el número de unidades inhibidas de tripsina (UIT).

---

\* La muestra fue molida en un molino eléctrico, después de someterla a tratamiento se pasó a través de un tamiz de 100 mesh.

\*\* Siempre que aparece el término "secado", significa que la muestra se secó a temperatura ambiente, con ayuda de un ventilador.

La composición de la mezcla reaccionante es la siguiente: alícuotas de 0.2 a 1.0 ml del extracto de semilla, llevando a un volumen de 1.0 ml con buffer fosfato; 1 ml de la solución stock de tripsina, 2 ml de solución de caseína y 6 ml de ácido tricloroacético.

## RESULTADOS Y COMENTARIOS

La actividad antitriptica de las diferentes leguminosas crudas estudiadas se muestran en la Tabla 1. Los valores encontrados fluctúan entre 1.51 a 28.39 UIT/mg de alimento. La mayoría de las leguminosas presentan valores bajos: 1.51 a 4.75 y los más altos correspondieron a soya, chícharo y poroto. Esta tendencia está de acuerdo con lo informado por diferentes investigadores (2-5), en el sentido que el poroto y la soya muestran los valores más altos de actividad antitriptica. Es necesario destacar también las fluctuaciones que se observan en las diferentes variedades de porotos, desde 13.17 a 21.71 UIT/mg. En las dos variedades de lupinos analizadas no se encontró actividad antitriptica. Los valores que aparecen en la literatura para leguminosas cultivadas en otros países están informados en unidades distintas a las utilizadas por nosotros, lo que limita las posibilidades de comparación.

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos al aplicar los diversos tratamientos térmicos; a partir de ellos se puede inferir que la actividad antitriptica se elimina casi totalmente en todos aquellos tratamientos en que se empleó calor húmedo (tratamientos 2 al 7), independientemente si éste se aplica en olla común, olla a presión o autoclave. Es necesario recalcar que el remojo previo por 14 hr no influyó en los valores obtenidos. Nuestros resultados concuerdan con lo demostrado por Hintz y cols. (12), Kakade y Evans (11) en el sentido que basta el tratamiento por calor húmedo para destruir el inhibidor triptico.

Los tratamientos 8 a 10 mostraron diversos grados de inactivación del inhibidor, no lográndose en ninguno de ellos la magnitud alcanzada con los calentamientos en medio húmedo. Es necesario destacar que el poroto entero, no sometido a remojo, ni molido, tratado durante 1 hr, mostró escasamente un 8.8% de disminución de la actividad, resultado que es de indudable importancia práctica pues se asemeja a algunos pro-

**TABLA N° 1**  
**INHIBIDOR DE TRIPSINA (UIT/mg) EN SEMILLAS SECAS DESGRASADAS DE LEGUMINOSAS CRUDAS**

Nombre común	Nombre científico	UIT/mg
Poroto	<i>Phaseolus vulgaris</i> var zeus	13,17 ± 0,69
Poroto	<i>Phaseolus vulgaris</i> var coscorrón	14,40 ± 0,81
Poroto	<i>Phaseolus vulgaris</i> var tórtola	21,71 ± 1,43
Tamarugo	<i>Prosopis tamarugo</i>	2,09 ± 0,52
Chícharo	<i>Lathyrus sativus</i>	14,30 ± 1,35
Arveja	<i>Pisum sativus</i>	1,71 ± 0,15
Lenteja	<i>Lens esculenta</i>	1,51 ± 0,23
Garbanzo	<i>Cicer arietinum</i>	4,75 ± 0,57
Lupino	<i>Lupinus albus</i> var astra	— —
Lupino	<i>Lupinus luteus</i> var aurea	— —
Soya	<i>Glycine max</i>	28,39 ± 1,77
Haba	<i>Vicia faba</i>	1,93 ± 0,11

\* Una unidad de tripsina (UT), se define arbitrariamente como el incremento en 0.01 unidades de absorbancia a 280 m $\mu$  en 20' por 10 ml de mezcla reaccionante. (La composición de la mezcla reaccionante aparece en el texto).

La actividad del inhibidor de tripsina se define como el número de unidades inhibidas de tripsina (UIT).

cesos industriales de preparación de sopas y harinas de poroto. Cuando el poroto se muele, se logra 41% de inactivación lo que se explicaría por el rompimiento del exosperma de la semilla y además por un aumento de la superficie de contacto.

#### SUMMARY

##### Toxic Factors in Chilean Legumes. II: Trypsin inhibitor activity

Seeds of legumes grown in Chile: *Phaseolus vulgaris* var tortola, coscorrón, zeus; *Vicia faba*; *Pisum sativum*; *Lens esculenta*; *Cicer arietinum*; *Lathyrus sativus*; *Glycine max*; *Lupinus albus* var astra y *Lupinus luteus* var aurea; *Prosopis tamarugo*, were analyzed for their trypsin inhibitor activity.

The highest activity was found in soybean: 28.39 units per mg of defatted dry sample. *Lathyrus sativus* and all the studied *Phaseolus* showed high activity; *Vicia faba*, *Pisum sativum*, *Lens esculenta*, *Cicer arietinum*, and *Prosopis tamarugo*, showed low values and no activity was found in both *Lupinus*.

Humid heat treatments eliminate the inhibitor activity. When applying dry heat only a partial inactivation was found a more positive results was found when the materials had been previously soaked during 14 hours.

**TABLA N° 2**  
**EFFECTO DE DIVERSOS TRATAMIENTOS SOBRE EL INHIBIDOR DE**  
**TRIPSINA CONTENIDO EN POROTO (*Phaseolus vulgaris*),**  
**VARIEDAD TORTOLA**

Tratamientos	UIT/mg	% dest.r
1.—Ninguno	21,71 ± 1,43	—
2.—Molido, autoclavado 20' a 121°C y secado	0,38 ± 0,07	98,2
3.—Cocido 1 hr a ebullición, secado y molido	0,44 ± 0,08	98,0
4.—Remojado 14 hr, calentado en autoclave 20', secado y molido	0,23 ± 0,05	98,9
5.—Remojado 14 hr, calentado a ebullición 1 hr, secado y molido	0,28 ± 0,07	98,7
6.—Calentado olla a presión (10 lb) por 20' secado y molido	0,33 ± 0,07	98,5
7.—Remojado 14 hr, calentado olla a presión (10 lb) por 20', secado y molido	0,28 ± 0,08	98,7
8.—Entero, calentado en estufa a 100°C por 1 hr	19,82 ± 0,93	8,8
9.—Molido, calentado en estufa a 100°C por 1 hr	12,78 ± 0,67	41,1
10.—Entero, remojado 14 hr, calentado en estufa a 100°C por 1 hr	13,70 ± 0,62	36,9

## BIBLIOGRAFIA

1. Aykroyd, W. R. y J. Doughty. Las leguminosas en la nutrición humana FAO - 1964.
2. Gertler, A., Y. Birk and A. Bondi. A comparative study of the nutritional and physiological significance of pure soybean trypsin inhibitors and of ethanol-extracted soybean meals in chicks and rats. *J. Nutr.* 91: 358-368, 1967.
3. Birk, Y. and A. Gertler. Effect of mild chemical and enzymatic treatments of soybean meal and soybean trypsin inhibitors on their nutritive and biochemical properties. *J. Nutr.* 75: 379-389, 1961.
4. Liener, I. E. The intraperitoneal toxicity of concentrates of the soybean trypsin inhibitor. *J. Biol. Chem.* 193: 183-191, 1951.
5. Bowman, D. E. Fractions derived from soybeans and navybeans which retard tryptic digestion of casein. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 57: 139-140, 1944.
6. Liener, I. E. Toxic constituents of plant foodstuffs. Academic Press, 1969.
7. Read, J. W. and L. W. Hass. Studies on the baking quality of flour as affected by certain enzyme actions. V. Further studies concerning potassium bromate and enzyme activity. *Cereal Chem.* 15: 59-68, 1938.
8. Seidl, D., M. Jaffé and W. G. Jaffé. Digestibility and proteinase inhibitory action of a kidney bean globulin. *J. Agr. Food Chem.* 17: 1318-1319, 1969.
9. Kakade, M. L., N. R. Simons, I. E. Liener and J. W. Lambert. Biochemical and nutritional assessment of different varieties of soybeans. *J. Agr. Food Chem.* 20: 87-90, 1972.
10. Pak, N., R. Villalón, H. Araya, J. Araya, E. Colombara and M. A. Tagle. A chemical, biological and toxicological study of tamarugo (*Prosopis tamarugo* Phil). Summaria IX Congreso Internacional de Nutrición, México, September 1972.
11. Kakade, M. L. and B. J. Evans. Effect of soaking and germinating on the nutritive value of navy beans. *J. Food Sci.* 31: 781-783, 1966.
12. Hintz, H. F., D. E. Hoghe and L. Krook. Toxicity of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) in the rat. *J. Nutr.* 93: 77-86, 1967.
13. Kakade, M. L., N. Simons and I. E. Liener. A evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. *Cereal Chem.* 46: 518-525, 1969.