



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN
***Lupinus uncinatus* Schlecht.**

SERGIO LOREDO DÁVILA

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2012

La presente tesis titulada: **Perfil de ácidos grasos en *Lupinus uncinatus* Schlecht**, realizada por el alumno: **Sergio Loredo Dávila**, bajo la dirección del Consejo Particular Indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS

EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

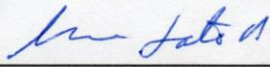
CONSEJERO


DR. VICENTE ESPINOSA HERNÁNDEZ

ASESOR


DRA. MARÍA ANTONIETA GOYTIA JÍMENEZ

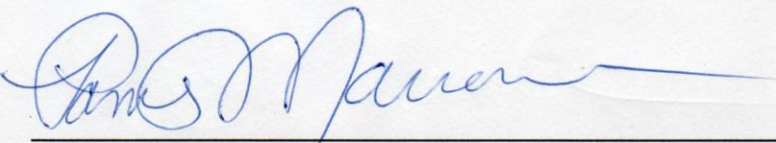
ASESOR


DR. RAMÓN MARCOS SOTO HERNÁNDEZ

ASESOR


DR. LUIS FELIPE DÍAZ BALLOTE

ASESOR


DRA. PAMELA GAIL MARRONE

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio de 2012

AGRADECIMIENTOS

A las cinco instituciones por participar en esta aventura (**COLPOS, Chapingo, CINVESTAV, Marrone Bio Innovations** y por supuesto a **CONACYT**)
A **Dr. Vicente Espinosa Hernández** por abrir las puertas de COLPOS y sus conocimientos de *Lupinus*
A **Dra. Pamela Gail Marrone** por sugerir la idea
A **Dra. María Antonieta Goytia Jiménez** por encabezarla
A **Dr. Luis Felipe Díaz Ballote** por cuidar los pasos
A **Dr. Ramón Marcos Soto Hernández** por acompañarnos
A todos mis amigos y compañeros del laboratorio de **Jovenes Investigadores de la Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo** por darle albergue
A mis anteriores escuelas, instituciones y trabajos por inspirar
A los que creyeron
A **CONACYT** que es y será mi gran aliado en lo que soy
A **Dra. Goytia** otra vez, por todo, para siempre

Por eso quiero cerrar con esta mención:

“G R A C I A S”

DEDICATORIA

Son muchas a las personas especiales que les dedico esta experiencia de vida, algunas me apoyaron de forma directa y positiva; mientras que otras indirectamente con sus palabras negativas me motivaron a no cesar, la experiencia que adquiri es grande logre CONOCERME.

“Si quieres conocerte, observa la conducta de los demás; si quieres conocer a los demás, mira en tu propio corazón” Friedrich Schiller

Cuando inicie este viaje, recuerdo que adopte una frase que lei “da más miedo la vida sin sentido que la muerte, y pensé que debía prepararme para la vida, porque sólo los monjes tibetanos y las ballenas se disponen pacíficamente para la muerte”.

Después de trece años consecutivos de trabajar y estudiar fuera de mi círculo familiar, me costó llegar.Habituarme. Adopte unas ideas, *Lupinus*. La nombraba a diestra y siniestra. Es útil desmitificar las palabras. “*Lupinus* pronto tendremos laboratorio”, “*Lupinus* cuanto aceite tienes”, “*Lupinus* donde estas”, “*Lupinus* déjame en paz”, “*Lupinus* lo logramos”, “*Lupinus* ayúdame, tenemos que avanzar”, pronto nos fucionamos y llegamos a conocernos.

Debo reconocer que este proyecto me hizo pasar por tantas emociones que me gustaría mencionar.

Ilusión, tranquilidad, incertidumbre, miedo, seguridad, confianza, igualdad, fracaso, humildad y éxito.

Didicada con todo mi corazón a quien llegue a leer o reconozca mi nombre.

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN *Lupinus uncinatus* Schlecht

Sergio Loredó Dávila, Dr.

Colégio de Postgraduados, 2012

RESUMEN

Lupinus L. (Fabaceae) es un género amplio y diverso que comprende aproximadamente 500 especies anuales y perennes, así como algunas herbáceas, arbustos y árboles pequeños que se producen en una amplia gama de condiciones ecogeográficas, tanto en el Nuevo y el Viejo Mundo. *Lupinus* es más diversos en el Nuevo Mundo, con más del 90% de las especies del género. Se distribuyen principalmente en las regiones alpina, templada, subtropical y los biomas de la cordillera occidental del Nuevo Mundo, desde Alaska al sur de Argentina y Chile. Sólo 12-13 especies son nativas de la región del Mediterráneo y África. Pero de todas las especies sólo cinco son cultivadas y de estas, sólo tres son explotadas comercialmente; *L. albus*, *L. angustifolius* y *L. luteus*. Y se basa en su alto contenido de proteínas y bajo contenido de alcaloides. Sin embargo, poca atención se ha prestado al contenido y la calidad de su aceite. El objetivo de esta tesis fue determinar el contenido de aceite y el perfil de ácidos grasos presentes en semillas de *L. uncinatus* Schlecht y evaluar los cambios de éstos respecto al tiempo para determinar sus posibles usos en proceso dentro de la industria. Las semillas para este experimento fueron colectadas en tres tiempos diferentes. Los objetivos de la investigación fueron 1) Determinar la relación de las semillas por tamaños (longitud y ancho) en tres periodos de tiempo (con tres años, un año y recién colectadas) de *L. uncinatus* Schlecht y determinar si estas tienen diferencias en composición de aceite. 2) Porcentaje de aceite y dinámica del perfil de ácidos grasos en semillas de *L. uncinatus* Schlecht, respecto al tiempo. 3) Caracterizar la viscosidad del aceite de las semillas de *L. uncinatus* Schlecht a diferentes temperatura en tres diferentes colectas con (con tres años, un año y recién colectadas). 4) Caracterizar las proteínas de la torta después de la extracción de aceite en de diferentes colectas de semillas. Los parámetros evaluados fueron tamaño de semillas (longitud, ancho y peso), porcentaje de humedad y aceite; así como cromatografía de gases para determinar el perfil de ácidos grasos presentes y viscosidad del aceite y finalmente se determino las proteínas presentes en la torta después de la extracción del aceite. La colecta con más tiempo fue la que presento mayor contenido de aceite, humedad baja y el perfil de ácidos grasos con un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, viscosidad alta en comparación de las otras dos colectas. El experimento se llevo a cabo en el laboratorio de Jovenes Investigadores de la preparatoria agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo. Los resultados mostraron que el contenido de aceite esta en un rango de 7.8 a 9.6 % pero estos son diferentes en cuanto a su perfil. Asimismo, las proteínas son más abundantes cuando esta fresca las semillas pero aún así después de tres años presenta proteínas de calidad para su posible uso como un alimento, pero esto dependerá de si no existen alguna sustancia toxica para animales o el hombre. Esta especie puede considerarse como una buena alternativa para la industria alimentos, farmacéutica, jabones, pinturas, resinas, revestimiento, cosméticos, lubricantes, químicos, cubiertas plásticas, etanol y biocombustibles.

PALABRAS CLAVES: *Proteínas, oleaginosas, aceite vegetal y grasas*

FATTY ACID PROFILE FROM *Lupinus uncinatus* Schlecht

Sergio Loredó Dávila, Dr.

Colégio de Postgraduados, 2012

ABSTRACT

Lupinus L. (Fabaceae) is a large and diverse genus comprising approximately 500 annual and perennial herbaceous species, as well as a few soft-woody shrubs and small trees which occur in a wide range of ecogeographical conditions in both the New and the Old World. Lupines are more diverse in the New World with over 90% of the species in the genus. They are mainly distributed in alpine, temperate, and subtropical biomes of the western cordillera of the New World, from Alaska to South Argentina and Chile. Only 12–13 species are native to the Mediterranean region and Africa. But of all the species only five are cultivated and of these, only three are commercially exploited: *L. albus*, *L. angustifolius* and *L. luteus*. And it is based on its highest protein and low concentration of alkaloids. However, little attention has been paid to content and quality of oil. The aim of this thesis was to determine the oil content and fatty acid profile present in seeds of *L. uncinatus* Schlecht and evaluate changes thereof over time to determine its possible uses in process of the industry. The seeds for this experiment were collected at three different times. The research objectives were to 1) determine the relationship of seed size (length and width) in three time periods (three years, one year and freshly collected) of *L. uncinatus* Schlecht and whether these have differences in oil composition. 2) Percentage of oil and profile of fatty acids in seeds of *L. uncinatus* Schlecht, versus time. 3) Characterize the viscosity of the oil from the seeds of *L. uncinatus* Schlecht at different temperatures in three different collections. 4) To characterize the proteins of the cake after the extraction of oil from different collections of seeds. The parameters evaluated were seed size (length, width and weight), moisture and oil and gas chromatography to determine the profile of fatty acids and oil viscosity and finally determine the proteins present in the cake after oil extraction. The seeds with more time, they have most oil content, lower humidity and the fatty acid profile with a high percentage of polyunsaturated fatty acids, higher viscosity than the others seeds collected. The experiment was held in the laboratory for Young Researchers of the Agricultural Highschool in Universidad Autónoma Chapingo. The results showed that the oil content is in a range of 7.8 to 9.6 % but these differ in their profile. Also, proteins are more abundant when this fresh seeds yet after three years has quality protein for potential use as a food, but this depends on whether there are any substances toxic to animals or humans. This species can be considered a good alternative for food industry, pharmaceuticals, soaps, paints, resins, coatings, cosmetics, lubricants, chemicals, plastic covers, ethanol and biofuels.

KEY WORDS: *protein, oilseed, vegetable oil and fats*

ÍNDICE

1. Introducción General.....	1
2. Revisión de Literatura	7
2.1 <i>Lupinus</i>	7
2.2 Distribución geográfica.....	12
2.3 Toxicidad de <i>Lupinus</i>	18
2.4 Germinación de semillas de <i>Lupinus</i>	19
2.5 Hongos que interactúan con el género de <i>Lupinus</i>	20
2.6 Porcentajes de proteínas y aceite en el género <i>Lupinus</i>	21
3. Objetivo General	23
3.1. Objetivos Específicos	23
4. Planteamiento General del Trabajo	24
5. Literatura Citada	26
CAPÍTULO I	34
Resumen	34
1. Introducción	34
1.1 Materiales y métodos	37
1.2 Ubicación geográfica	37
1.3 Germoplasma	37
1.4 Variables evaluadas.....	37
1.5 Resultados y discusión.....	39
1.6 Conclusiones	43
CAPÍTULO II.....	45
Resumen	45
2.1 Materiales y métodos	48
2.1.1 Preparación de muestra en el sistema Soxtec 2050 de Foss	48
2.2 Análisis estadístico.....	49
2.3 Resultados y discusión.....	49
2.4 Conclusiones.....	51
2.5 Literatura citada	52
CAPÍTULO III	54
Resumen	54
3. Introducción.....	54
3.1 Materiales y método.....	61
3.2 Resultados y discusión.....	61
3.3 Conclusiones	81
3.4 Literatura citada	82
CAPÍTULO IV	89
Resumen	89
4. Introducción	89
4.1 Materiales y método.....	92
4.1.1 Purificación y separación de proteínas totales (Fourouber <i>et al.</i> , 2007)	92
4.1.1.1 Amortiguador de extracción.....	92

4.2 Protocolo de extracción:	93
4.2.1 Separación de proteínas utilizando 2100 bioanalyzer de Agilent (Agilent, 2001-2006).	94
4.2.1.1 Protocolo proteínas 230	94
4.2.1.2 Preparación de <i>Gel-Dye Mix</i> (mezcla de gel colorante).....	94
4.3 Chip para proteína	95
4.4 Resultados y discusión	96
4.5 Conclusiones	100
4.6 Literatura citada	101
CAPÍTULO V	104
Resumen	104
5. Introducción	104
5.1 Materiales y métodos	111
5.2 Resultados y discusión.....	111
5.3 Conclusión	115
5.4 Literatura citada	116
6. Discusión general	117
6.1 Literatura citada.....	125
7. Conclusión general.....	130
8. Recomendaciones	131
ANEXOS	132
Anexo 1.....	133
Anexo 1.1. Perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht con tres años	133
Anexo 1.2. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht con tres años Replica 1	134
Anexo 1.3. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht con tres años Replica 2	134
Anexo 1.4. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht con tres años Replica 3	135
Anexo 1.5. Perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht con un año	136
Anexo 1.6. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht con un año Replica 1	137
Anexo 1.7. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht con un año Replica 2	137
Anexo 1.8. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht con un año Replica 3	138
Anexo 1.9. Perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht recién colectadas.....	139
Anexo 1.10. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht recién colectadas Replica 1.....	140
Anexo 1.11. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i>	140
Anexo 1.12. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht recién colectadas Replica 3.....	141
Anexo 1.13. Perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht recién colectadas con tres meses de almacenamiento	142
Anexo 1.14. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht recién colectadas Replica 1 con 3 meses de almacenamiento.....	143
Anexo 1.15. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht recién colectadas Replica 2 con 3 meses de almacenamiento.....	143
Anexo 1.16. Perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht recién colectadas con seis meses de almacenamiento	144
Anexo 1.17. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht recién colectadas Replica 1 con 6 meses de almacenamiento.....	145
Anexo 1.18. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas <i>L. uncinatus</i> Schlecht recién colectadas Replica 1 con 6 meses de almacenamiento.....	145

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características de la provincia morfotectónica y distribución de especies de <i>Lupinus</i> en México (Bermúdez <i>et al.</i> , 1999)	16
Cuadro 1.1. Descripción de <i>L. uncinatus</i> Schlecht (Alderete-Chávez <i>et al.</i> , 2008)	36
Cuadro 1.2. Características fisicoquímicas del suelo en el área de estudio (Alderete-Chávez <i>et al.</i> , 2008).	37
Cuadro 1.3. Valores promedio de longitud y ancho en milímetros de las semillas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht con tres años, un año y recién colectadas.	39
Cuadro 1.4. Valores de prueba ANOVA para semillas con tres años, un año y recién colectadas para longitud en mm.	39
Cuadro 1.5. Valores promedio de la longitud en semillas con tres años, un año y recién colectadas	39
Cuadro 1.6. Valores promedio del ancho en semillas con tres años, un año y recién colectadas	40
Cuadro 1.8. Peso en gramos de grupos de <i>L. uncinatus</i> Schlecht con tres años, un año y recién colectadas.....	41
Cuadro 1.9. Valores promedio del peso de semillas de <i>Lupinus</i> con tres años, un año y recién colectadas.....	41
Cuadro 1.10. Valores para semillas con tres años de <i>L. uncinatus</i> Schlecht.....	42
Cuadro 1.11. Valores para semillas con un año de <i>L. uncinatus</i> Schlecht	42
Cuadro 1.12. Valores para semillas recién colectadas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht	42
Cuadro 2.1. Programa generado en equipo Soxtec 2050 para <i>L. uncinatus</i> Schlecht	49
Cuadro 2.2. Valores promedio del porcentaje de aceite y humedad en semillas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht con tres años, un año y recién colectadas.	49
Cuadro 3.1. Valores medios de perfil de ácidos grasos para semillas de <i>Lupinus uncinatus</i> Schlecht con tres años, un año y recién colectadas	65
Cuadro 3.2. Valores medios de perfil de ácidos grasos para semillas de <i>L. uncinatus</i> recién colectadas y su evaluación trimestral y semestral.	67
Cuadro 4.1. Distribución porcentual de fracciones proteicas en leguminosas	90
Cuadro 4.2. Semillas de <i>Lupinus</i> clasificación de proteínas (Sironi <i>et al.</i> , 2005).	91
Cuadro 4.3. kDa de semillas con tres años, un año y recién colectadas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht.....	99
Cuadro 4.4. <i>L. uncinatus</i> Schlecht kDa entre 20-22 y 34-36 para semillas con tres años, un año y recién colectadas.....	99
Cuadro 5.1. Composición de ácido graso de cultivos domesticados y especies no domesticados	110
Cuadro 5.2. Viscosidad a 100 rpm de semillas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht con tres años, un año y recién colectadas	112

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Domesticación y cultivo de <i>Lupinus</i> blanco frente a otros cultivos (Noffsinger y van Santen, 2005).....	10
Figura 2. Distribución de <i>Lupinus</i> en América (Hughes y Eastwood, 2006).....	15
Figura 3. Mapa sobre la distribución de especies de <i>Lupinus</i> en México (Bermúdez <i>et al.</i> , 1999).	17
Figura 1.1. Flores, hojas y semillas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht (Alderete-Chávez <i>et al.</i> , 2008).	36
Figura 1.2. Semillas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht	38
Figura 3.1. Estructura de una molécula típica de un triglicérido Srivastava y Prasad, 2000.....	55
Figura 3.2. Esquema simplificado del metabolismo de ácidos grasos de plástidos. Malonil-ACP es también el co-sustrato de los dos carbonos donadores para cada reacción de condensación enzimática. Las enzimas representadas por números son: 1, acetil-CoA carboxilasa; 2, malonil-CoA:ACP transacilasa; 3, 3-cetoacil-ACP sintasa III; 4, 3-cetoacil-ACP sintasa I; 5, 3-cetoacil-ACP sintasa II; 6, estearoil-ACP desaturasa; 7, oleoil-ACP tioesterasa; 8, de cadena media acil-ACP tioesterasa. Además de 3-cetoacil-ACP sintasa, cada adición de dos carbonos requiere además la adición de 3-cetoacil-ACP reductasa, 3-hidroxiacil-ACP dehidrasa, y anoil-ACP reductasa (Ohlrogge, 1994).	59
Figura 3.3 Gráfica de perfil de ácidos grasos de semillas con tres años	63
Figura 3.4 Gráfica de perfil de ácidos grasos de semillas con un año	63
Figura 3.5 Gráfica de perfil de ácidos grasos de semillas recién colectadas	64
Figura 3.6. Cromatograma semillas con tres años <i>L. uncinatus</i> Schlecht	66
Figura 3.7. Cromatograma semillas con un año de <i>L. uncinatus</i> Schlecht.....	66
Figura 3.8. Cromatograma semilla recién colectadas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht	66
Figura 4.1. Perfil electroforético SDS-PAGE de semillas con tres años de <i>L. uncinatus</i> Schlecht. Lader es el carril marcador molecular (15-230 kDa), carril replica 1 y 2 de <i>L. uncinatus</i> Schlecht. Y cromatograma de las replicas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht.	97
Figura 4.2. Perfil electroforético SDS-PAGE de semillas con un año de <i>L. uncinatus</i> Schlecht. Lader es el carril marcador molecular (15-230 kDa), carril replica 1 y 2 de <i>L. uncinatus</i> Schlecht. Y cromatograma de las replicas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht.	98
Figura 4.3. Perfil electroforético SDS-PAGE de semillas recién colectadas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht. Lader es el carril marcador molecular (15-230 kDa), carril replica 1 y 2 de <i>L. uncinatus</i> Schlecht y cromatograma de las replicas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht.	98
Figura 5.1. Producción de biodiesel a partir de triglicéridos por esterificación con metanol. El triglicérido a) es convertido a glicerol y metil ester de ácido graso; b) al reaccionar con metanol en presencia de un catalizador ácido o álcali; c) dodecano una representación encontrada en hidrocarburo convencional de diesel, ilustra la similitud de estructura entre los compuestos.....	106
Figura 5.2. Comparación de viscosidad contra temperatura para los aceites de las semillas de <i>L. uncinatus</i> Schlecht de tres años, un año y recién colectadas.....	113
Figura 5.3 Viscosidad de semillas de <i>L. uncinatus</i> con tres años y regresión lineal.	114
Figura 5.4 Viscosidad de semillas de <i>L. uncinatus</i> con un año y regresión lineal	114
Figura 5.5 Viscosidad de semillas de <i>L. uncinatus</i> con recién colectadas y regresión lineal.....	114
Figura 6.1 Comparación de concentración de C18:1 entre varias especies del género <i>Lupinus</i> (datos extraídos de diferentes fuentes).....	124

1. Introducción General

Las leguminosas son el segundo grupo de plantas en importancia agrícola después de *Gramineae* (Singh *et al.*, 2007) y también ocupan el segundo lugar en diversidad de plantas en México, estando ampliamente distribuidas a través del País (Estrada *et al.*, 2006). Los granos de éstas, tan sólo contribuyen con el 33 % de la dieta proteica para las necesidades humanas, un moderado consumo puede ayudar a prevenir enfermedades cardiovasculares, apoplejía, Parkinson, Alzheimer, Huntington -mal de San Vito- y enfermedades del hígado. También son de importancia económica en el comercio mundial porque son usadas como alimento de animales y otras aplicaciones como productos farmacéuticos, jabones, pinturas, resinas, revestimiento, linóleum, cosméticos, lubricantes, químicos, cubiertas plásticas, etanol (Singh *et al.*, 2007) y actualmente hasta en la elaboración de biocombustibles-.

La creciente demanda de alimentos para humanos y consumo animal, así como el costo de la energía, necesariamente se traduce en un aumento en la producción agrícola de las leguminosas en un futuro próximo. Algunas poseen una doble ventaja nutricional al proporcionar una alta cantidad de proteína con calidad relativamente buena y también aceite comestible compuesto en su mayoría de ácidos grasos insaturados de cadena larga, además de tener la capacidad de fijar nitrógeno en el suelo, así ofrecen una forma sencilla de mejorar la fertilidad de los suelos (Shoeneberger *et al.*, 1982).

En específico, las semillas de leguminosas tienen un alto contenido de proteínas (200 – 400 g·kg⁻¹), mayor al que presentan otras plantas, como los cereales (70 – 140 g·kg⁻¹). Aunque hay cientos de especies de leguminosas, algunas no son frecuentemente consumidas, debido principalmente a su contenido de componentes antinutricionales, dejando cerca de 10 especies para consumo masivo (Chel-Guerrero *et al.*, 2006).

Dentro de este grupo de plantas está *Lupinus* (*Lupinus mutabilis*) que ha sido cultivada en el altiplano andino durante miles de años. Sin embargo, se han sustituido en gran medida por otros alimentos y ahora son cultivados sólo por un pequeño número de agricultores. No obstante, a través de métodos modernos de fitomejoramiento y tecnología de los alimentos apropiados, esta leguminosa puede convertirse en otro ejemplo como ha sido el caso de las papas, cacahuets y otras plantas en todo el mundo (Shoeneberger *et al.*, 1982).

Cabe destacar que la cantidad de proteína de las harinas de leguminosas incluyendo a *Lupinus*, varía si es elaborada con el grano entero o descascarado, o bien si han sido extraídos o no los lípidos. En estos se han encontrado altos niveles de proteínas, comparables con la harina de soya desengrasada. La harina de *Lupinus* se produce normalmente por el descascarado de la semilla y la posterior molienda. El perfil de aminoácidos de este varía según especies y variedades. En términos generales es deficiente en lisina y metionina; cuando se usa en piensos para peces en concentraciones altas, estos aminoácidos deben ser compensados de forma adecuada para lograr la calidad necesaria. El remplazo de la harina de pescado por harina de *Lupinus* en dietas para las distintas especies de salmónidos ha sido reportado con resultados satisfactorios, en cuanto a crecimiento y digestibilidad. La proteína y lípidos que lo componen en términos generales,

constituye la mayor parte de la energía digerible de este ingrediente en el alimento, la proteína presenta a menudo una digestibilidad superior al de otras fuentes de proteínas vegetales y animales (DFWA, 2001). Esto presenta una ventaja económica, sobre la utilización de otras harinas vegetales como la soya, lo cual la convierte en una fuente alternativa de remplazo bastante atractiva (Hughes, 1988).

Asimismo, *Lupinus* es una planta que está presente en gran parte del mundo con numerosas propiedades útiles. Existen más de quinientas especies, de las cuales sólo cinco son cultivadas (Glencross, 2001 y 2004) y de estas, sólo tres son explotadas comercialmente; *L. albus*, *L. angustifolius* y *L. luteus*. *L. angustifolius* ha dominado la producción mundial y es cultivado mayoritariamente en climas mediterráneos. En el sur de Australia Occidental, se han utilizado como forraje y fertilizante de suelo. Las utilizadas como forrajeras son aquellas con bajo contenido de alcaloides tales como *Lupinus* amarillo forrajero (*L. luteus* L.), *Lupinus* forrajero de hoja estrecha o *Lupinus* dulce (*L. angustifolius* L.) (Maknickiené y Asakaviciuté, 2008) y *Lupinus* blanco, (*L. albus* L.) (Planchuelo, 1982).

Sin embargo la especie no es reconocida como una oleaginosa, no obstante la harina de *Lupinus* blanco tiene una importante cantidad de lípidos de entre 13 y 14 % en base seca en relación a *L. luteus* y *L. angustifolius* que tienen bajos niveles, mismos que no superan el 8 % en base seca. **El análisis de los lípidos crudos ha revelado que los triglicéridos constituyen el 71 % de éstos y el remanente está compuesto por fosfolípidos (14,9 %), esteroides libres (5,2 %), glicolípidos (3,5 %), esteroides y ésteres (0,5 %), ácidos grasos libres (0,4 %) y 0,4 % de hidrocarburos (contienen sólo carbono y átomos de hidrógeno) y material ceroso no identificado** (Glencross, 2004). En términos generales

los ácidos grasos sobre todo insaturados en este género son el ácido oleico y el ácido linoleico, que comprenden el 8 % del aceite. También tienen bajo contenido en sodio y calcio en comparación con otras legumbres, y un alto contenido en carotenoides y zeaxantina, que le dan a su cotiledón un color amarillo brillante, es bajo en almidón (2,3%), mientras que otras leguminosas comunes lo contienen hasta un 50 % (Mohamed y Rayas-Durate, 1995).

Actualmente países como Australia, Polonia, Alemania, Chile y Ecuador han logrado domesticar *L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus* y *L. mutabilis* (FAO Statics Division, 2010), de las que se aprovechan principalmente sus semillas para la alimentación humana y animal. Se ha estimado que aproximadamente 500 000 ton de alimentos consumidos, contienen una fracción de *Lupinus* (Sipsa, 2008).

En México, se ha estudiado la proteínas de *L. mutabilis* (Jiménez-Martínez y Dávila-Ortiz, 2006; Güemes-Vera *et al.*, 2008), y *L. campestris*, especie endémica de este país (Rodríguez-Ambríz *et al.*, 2005).

Al igual que otras leguminosas, contiene compuestos fenólicos y carbohidratos que afectan la salud de los humanos. Los compuesto fenólicos son metabolitos secundarios comúnmente encontrados en frutas, verduras y legumbres, que están relacionados con las defensas de plantas contra la invasión de patógenos, insectos y bacterias (El-Sayed y El-Mousallamy, 2008).

La especie se considera con menores factores antinutricionales comparado con la soya, por ejemplo, las semillas de *Lupinus* o alimentos de este no tendrían que ser sometidas a tratamiento térmico ya que prácticamente están ausente la presencia de inhibidores de tripsina y hemaglutininas (Mohamed y Rayas-Durate, 1995), recordando que los factores antinutricionales pueden clasificarse como termo estables y termo lábiles; los factores termo estables incluyen: factores antigénicos, oligosacáridos y aminoácidos no proteicos tóxicos, saponinas, estrógenos, cianógenos, fitatos; siendo los más importantes: los factores antigénicos, los oligosacáridos, las saponinas y los fitatos. Así mismo, entre los factores termo lábiles se encuentran, los inhibidores de proteasas (tripsina y quimotripsina), lectinas, goitrogenos y antivitaminas; siendo los más importantes los inhibidores de proteasas y las lectinas (Elizalde *et al.*, 2009).

Además de lípidos, estas semillas también contienen alcaloides cuya concentración varía entre cultivares, el tipo de suelo en el que crece, y la época del año en la que se desarrollan. En otro sentido es importante mencionar que el uso de *Lupinus* está limitado pues las semillas son especialmente ricas en alcaloides quinolizidinicos, conteniendo arriba del 5 % (peso seco) el cual representa cerca del 8 – 10 % del total de nitrógeno almacenado en las semillas (De Cortes *et al.*, 2005). También se han hecho estudios dirigidos a evaluar la acumulación y distribución de estos compuestos en las estructuras de la planta durante el crecimiento y desarrollo de las especies de este género. En este sentido, la ingesta de *Lupinus* como forraje ha provocado la pérdida de ovejas de pastoreo, por paro respiratorio, convulsiones y coma, que los lleva a la muerte. Los constituyentes considerados como los responsables normalmente son los alcaloides quinolizidinicos. Sin embargo, se ha confirmado que no todos los *Lupinus* son tóxicos, y que muchos de ellos son aceptados

como plantas de forraje bajo un rango de condiciones (Kinghorn *et al.*, 1980). Dentro de las investigaciones sobre la función de alcaloides quinolizidinicos en este género se ha encontrado que su papel es como defensa química, y en menor medida en el transporte de nitrógeno en el floema y almacenamiento de nitrógeno en la semilla.

Conforme a lo señalado anteriormente y considerando que en México se ha generado un gran interés por ser un sitio con un vasto número de especies del género *Lupinus*, se realizó el estudio cuyo objetivo general consistió en ampliar el conocimiento sobre los aceites presentes en las semillas de *L. uncinatus* Schlecht del valle de México y ver su potencial como planta oleaginosa para consumo o biocombustible.

2. Revisión de Literatura

2.1 *Lupinus*

Lupinus es un género de autopolinización, en su mayoría presenta como inflorescencias a los racimos, con especies distribuidas en diversas áreas geográficas, ha sido cultivada para obtención de grano por más de 3000 años en diversas partes del mundo (May *et al.*, 1993). El poeta Virgilio (70-19 aC) registró la utilización de *Lupinus* en la rotación con Trigo, "... o el cambio de la estación, se siembre allí el trigo amarillo, donde antes ha tomado la alegre leguminosa.... quebradiza y frágil bosquecillo del lupin", (también por escritores Griegos y Persas 1500 dC). Esta semilla fue utilizada como dinero de juego durante la época de los romanos (Blade *et al.*, 2004; Putnam, 1993). A su vez, como herbicidas, jugó un papel importante en las antiguas civilizaciones griega y romana, donde existen algunas referencias de las prácticas que se pueden tomar como ejemplos del control químico de malezas en ese tiempo. Según la "Historia Natural" (XVIII: 8), escrito por Plinio el Viejo (23-79 dC) y Demócrito (V siglo aC) reportan que las flores de *Lupinus* empapadas en zumo de cicuta, puede ser usados para limpiar los bosques (Cederlund, 2006).

Entonces el cultivo de *Lupinus* blanco fue introducido por griegos y romanos, destinándolo principalmente a la producción de abono verde y sus semillas al consumo humano. En la Península Ibérica hay evidencia de su cultivo en suelos ligeros, arenosos, no calcáreos. Parece que el principal centro de diversidad genética fue la región junto al Mar Egeo y Adriático, estando estas variedades bien adaptadas al sudeste de España y Portugal. Los restos recogidos en estas áreas son un buen ejemplo de las semillas llevadas a Iberia por

mercaderes y militares emigrantes. También en estas zonas hay vestigios de material de otros orígenes, tal vez balcánico (*L. albus* sp *graecus*) y del Norte y este de África, cómo Egipto o incluso Turquía (*L. termis* Forskal). A continuación se enlistan algunos nombres con los que era conocido a lo largo del Mediterráneo: lubuña, lupino, lupina, lubinu, rupin, todos ellos derivados del nombre latino *Lupinus*, tarmus, termis, turmus, turmusa, fumesa y estramoco o tremoco derivado posiblemente del griego *termos* –calor- (De Felipe, 2006).

Por otra parte Garcilaso de la Vega (1600 dC) apodado el Inca, historiador y testigo de la conquista de América, escribe: “Los incas también tienen lupinos al igual que nosotros en España, pero algo más grandes que son conocidos con el nombre de tarhui o tarwi”. Sin embargo el interés del este fue disminuyendo y solamente sobrevivió en altitudes extremas de esta región a pesar de conocerse su alto valor nutritivo, información que ha pasado de generación en generación. Los incas fueron los pioneros en el lavado de los alcaloides de las semillas en los torrentes de los ríos y caídas de agua importante.

Se dice que *Lupinus* blanco fue domesticado en Alemania durante la Primera Guerra Mundial (1914-1918), en respuesta a las necesidades de plantas leguminosas con alto contenido de proteínas, adaptadas a diferentes temperaturas (Payne *et al.*, 2004). Algunos *Lupinus* contenían un sabor amargo lo que provoco que científicos comenzaran a realizar domesticación de especies con menor presencia del sabor amargo. Durante 1920s, el alemán, R.Von Senbusch, seleccionó exitosamente por primera vez *Lupinus* menos amargo o bajos en alcaloides (May *et al.*, 1993). Esto desencadenó posteriores esfuerzos de mejoramiento de tipos de *Lupinus* “dulce” o de bajo contenido en alcaloides generando la creación de un nuevo cultivo a partir del viejo tipo amargo. Esto representa una de las

primeras aplicaciones de la genética mendeliana a las plantas de cultivo (Johnson *et al.*, 1986, Putman, 1993). Mientras tanto en Rusia (1929-1932) se publica por primera vez el método de producción de *Lupinus*. Después de ese descubrimiento recibe el estatus de cultivo de forraje (Kurlovich, 2002). Se generaron genotipos enanos con posibilidades de producir las primeras especies tolerantes al frío en el sureste de EE.UU., las cuales fueron liberados para su investigación. En la Figura 1 se puede ver la domesticación y cultivo de *Lupinus* blanco contra otros cultivos. Históricamente, la investigación en el sureste de EE.UU. se centró en tres especies de (*L. albus*, *L. angustifolius* L. y *L. luteus*.) para introducirlos en invierno como cultivos forrajeros desde la década de 1930 hasta la década de 1950 (Noffsinger y Van Santen, 2005). Las primeras plantaciones experimentales en los Estados Unidos fueron probablemente realizadas en la década de 1930 por los investigadores del USDA (por sus siglas en inglés United States Department of Agriculture, Departamento de Agricultura de los Esatado Unidos), principalmente como abono verde o cultivo de cobertera en el sur del cinturón de algodón. Aumentó en 1950 a más de un millón de hectáreas el “cinturón de *Lupinus*”, la llanura costera se extendió por todo el sureste de Estados Unidos. El cultivo esencialmente había desaparecido por la década de 1960 (Putman, 1993). Entre 1951 y 1952 se congelan, en gran parte del mundo debido a la disponibilidad de fertilizantes nitrogenados baratos de origen químico, resultado de la Segunda Guerra Mundial y por la falta de apoyo gubernamental estos cultivos fueron abandonados por científicos y perdiendo terreno año con año desde 1960 hasta 1980 (Noffsinger y Van Santen, 2005).

Mientras tanto en 1920 en Australia llegaron semillas de Alemania que permanecieron almacenadas, y en 1954, se convirtieron en la base de un estudio por el Dr. JS Gladstones

para evaluar su utilidad en la agricultura de la parte de Australia Occidental. El trabajo se amplió a un Proyecto de doctorado y se dio lugar a la liberación por la Federación de Agricultores de Australia Occidental, a los agricultores en 1959 de variedades de *Lupinus*: amarillo (*L. luteus* L.) variedad sueca *Weiko III* de hojas estrechas de la variedad Borre (Smith, 2004)

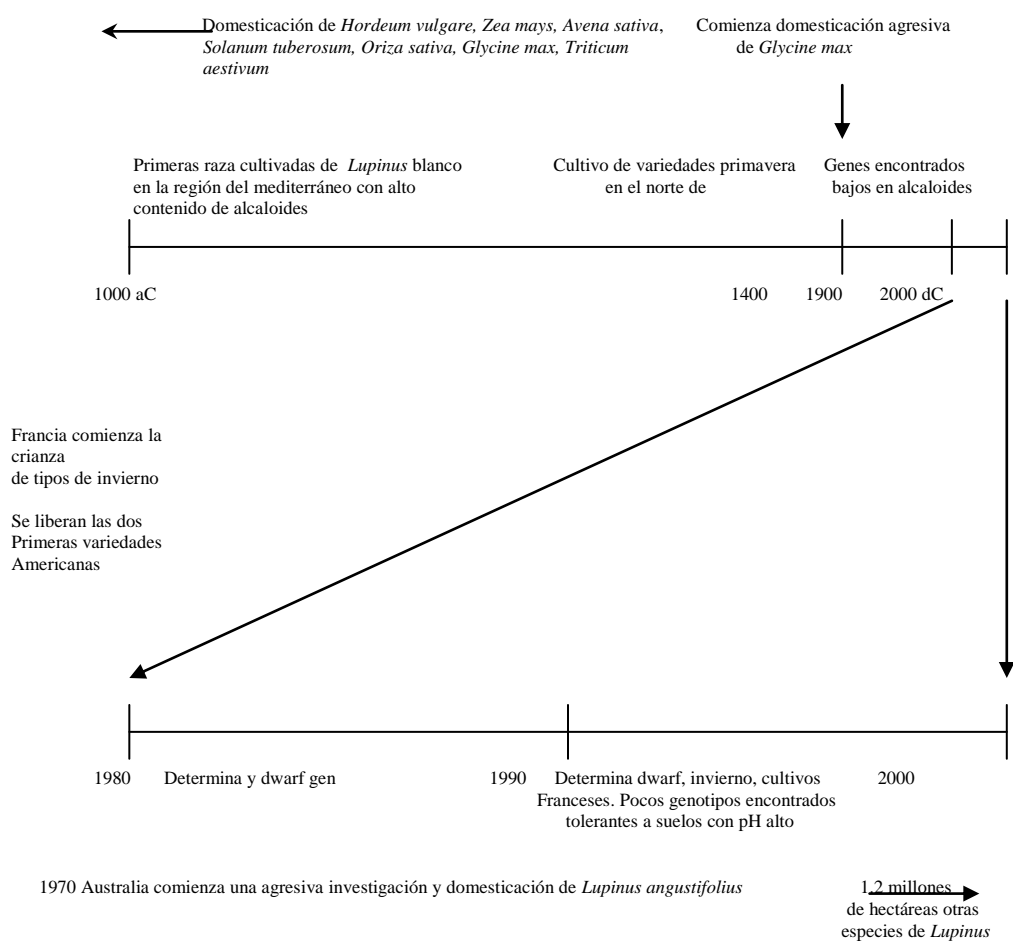


Figura 1. Domesticación y cultivo de *Lupinus* blanco frente a otros cultivos (Noffsinger y van Santen, 2005).

El programa en Australia de cultivo de *Lupinus* dirigido por el Dr. J S Gladstones para la domesticación de dos especies de *Lupinus*: *L. angustifolius* y *L. cosentinii* comenzó en 1960 en la Universidad de Australia Occidental. Él lo había colectado alrededor del sureste

del país para usar en su programa de cultivo. La expansión en la diversidad genética sobre *Lupinus* del Dr. Gladstones llegó al sur de Italia en 1968, Norte de África, España y Portugal en 1973; Francia en 1978 y Grecia en 1984 (Smith, 2004).

Varias semillas de este género han sido usadas como alimento por más de tres mil años en el área del mediterráneo. Esas semillas amargas tuvieron que ser lavadas antes de consumirlas, para remover la mayor cantidad del contenido de alcaloides. Desde la segunda mitad del siglo XX en adelante, las variedades con bajo contenido de alcaloides *Lupinus* blanco (*L. albus*), *Lupinus* amarillo (*L. luteus*), y *Lupinus* azul (*L. angustifolius*) han sido domesticados y seleccionados. En los ochenta el cultivo fue sometido a evaluación del análisis de crecimiento. Uno de esos resultados fue el descubrimiento de un gen que significativamente redujo el contenido de alcaloides de la planta y semillas. Estas variedades genéticas “dulces” pudieron ser comidas sin ser lavadas y sin riesgo de envenenamiento (Luckett, 2007). En 2004, variedades de estas tres especies mencionadas son principalmente cultivadas en varias partes de Australia, Europa y América del Sur, y usadas para alimentación o aplicaciones de alimentación. Por ejemplo: las semillas de *L. azul* tienen alto contenido de polisacáridos (no almidón) y más proteínas que la soya, con similar perfil de aminoácidos. Por sus usos en la industria de los alimentos, están comenzando a desplazar a la soya en productos como tempe, miso, salsa fermentadas, galletas, pan, etc. (Martins *et al.*, 2005).

Por otra parte, se ha demostrado que la administración oral de *L. termis* reduce la presión sanguínea alta e hiperglucemia en conejos, ratas y ratones. En efecto, la adición de semillas de *Lupinus* a la comida de diabético-hipocolésterolémicos decrece los niveles de colesterol

postprandial de conejos. Además un número de beneficios a la salud resultan de la ingestión de oligosacáridos tales como proliferación de bífidobacteria y reducción de bacterias perjudiciales, reducción de presión sanguínea y estos podrían tener efectos anticancerígenos (El-Sayed y El-Mousallamy, 2008).

Los Alcaloides quinolizidinicos, los cuales han mostrado efectos antimutagénicos contra 1-nitropireno, reportando que las semillas de *Lupinus* fueron consideradas como un excelente recurso de genisteina y daizeina. El rol dietético del contenido proteínas fue obtenido por algunas investigaciones. Observándose una baja incidencia de tumores, lo cual han sido correlacionadas con el alto consumo de Cereales y Leguminosas (Sakr *et al.*, 2006).

2.2 Distribución geográfica

La mayor diversidad de *Lupinus* se encuentra en el nuevo mundo con cerca de 90 % en género (Ainouche y Bayer, 1999). El género *Lupinus* comprende aproximadamente 500 especies, varias de las cuales son cultivadas por semillas (Mossé *et al.*, 1987), encontrando de tipo herbáceas anuales, perennes y bianuales (Bermúdez *et al.*, 2002). La mayoría crecen en América del Norte y Sur, solo 12-13 especies crecen fuera del nuevo mundo; en las tierras altas del norte de África y en el Sur de Europa (Armstrong, 2007, Ainouche y Bayer, 1999). Se ha especulado que *Lupinus* se originó en América del Sur (Wink *et al.*, 1995). Están principalmente distribuidas en zonas con temperaturas alpinas, y biomas subtropicales de la cordillera occidental del nuevo mundo, desde Alaska hasta el Sur de Argentina y Chile, a lo largo de las montañas rocosas y andinas, algunas de las especies se encuentran particularmente en la parte Este-Central de América del Sur (Ainouche y

Bayer, 1999). Más de 110 especies han sido reportadas en México. En otras palabras, México representa el 22 % de este taxon conocidos alrededor del mundo, y el 7.8 % son endémicas (Bermúdez *et al.*, 2002). Otro estudio basado en revisiones de herbario reveló que el número de especies de este género en la República Mexicana es de aproximadamente 111, las cuales se distribuyen de Baja California a Chiapas, a lo largo de la cadena montañosa, siendo el mayor centro de diversidad el Eje Neovolcánico, donde converge la Sierra Madre Occidental y la Sierra Madre Oriental. Estas especies ocupan hábitats desde el nivel del mar en Baja California hasta las más altas montañas de México como el Pico de Orizaba y el Popocatepetl a los 5650 y 5450 msnm de elevación respectivamente. La mayoría de las especies crecen en regiones montañosas y principalmente en bosques de pino y pino-encino (Zamora, 2005), en la Figura 2 y Cuadro 1 se puede ver la distribución de *Lupinus* en México (Bermúdez *et al.*, 1999). Vavilov consideró la región del mediterráneo y áreas montañosas de México y Andes como centro de origen del género *Lupinus* (Kurlovich *et al.*, 2000).

En el viejo continente las especies son todas anuales, herbáceas, y predominantemente autógamas. Sus frutos y semillas son generalmente largos, y sus hojas son siempre digitadas. Dos grupos distintos son reconocidos primariamente en función de la textura de la cubierta de la semilla (especies con: semillas lisas y semillas rugosas). Las lisas comprenden cinco especies usualmente tratadas como miembros de cuatro secciones, *Albi*, *Micranth*, *Angustifoli*, y *Lutei*, esos taxones están distribuidos alrededor del Mediterráneo. Las rugosas contienen seis o siete especies caracterizadas por su gran semejanza morfológica y la superficie de su testa típica rugosa-tuberculosa, característica única en el

género. Estas especies están principalmente distribuidas en el norte de África y el este del Mediterráneo (Ainouche y Bayer, 1999).

La Figura 2 se ilustra el mapa de la distribución de *Lupinus* en América, así como, la extensión geográfica de las principales zonas Andinas las cuales se radiaron mostrándose en color naranja. En Chile *L. microcarpus*, es el grupo con sus homólogos de América del Norte “b”, pero la aparición de *L. microcarpus* en Chile central (que se muestra en rojo) es dudoso que sea nativo de esta zona. Los dibujos ilustran las formas de vida que abarca las especies en el área Andina (Hughes y Eastwood, 2006): **a.**Árbol, *L. semperflorens*; **b.** Hierba postrada, *Lupinus sp. nov.*; **c.**Arbusto leñoso perennes, *L. smithianus*; **d.** Hierba efímera anual, *L. mollendoensis*; **e.** Roseta tallo gigante, *L. weberbaueri*; **f.** Planta arbusto leñoso perenne, *Lupinus sp. nov.*; **g.** Roseta acaulescent, *L. nubigenus*; **h.** Arbustoa leñoosa perennes, *Lupinus sp. nov.*; **i.** Roseta enana acaulescent, *L. pulvinaris*; **j.** Hierba Postrada, *L. prostratus*.

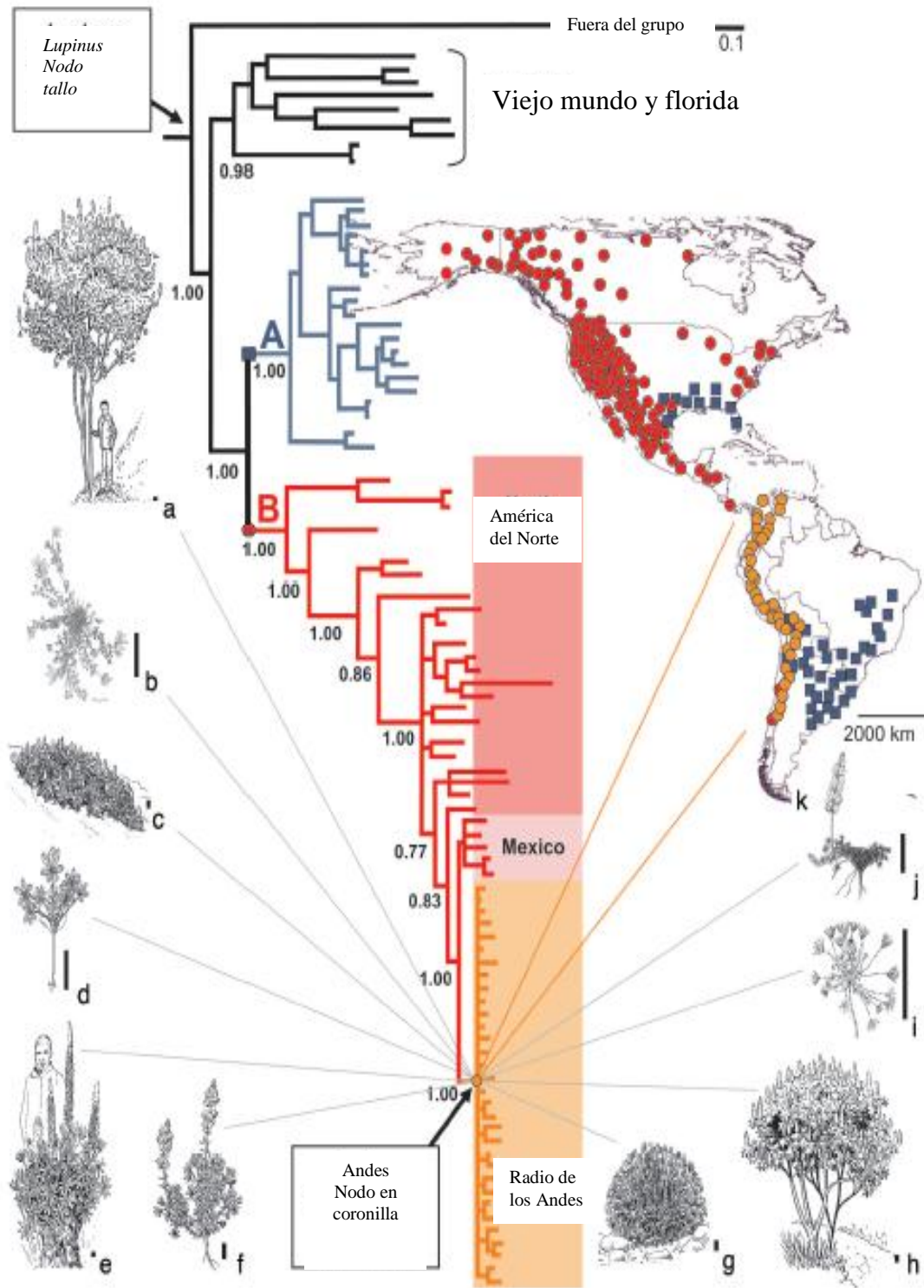


Figura 2. Distribución de *Lupinus* en América (Hughes y Eastwood, 2006).

Cuadro 1. Características de la provincia morfotectónica y distribución de especies de *Lupinus* en México (Bermúdez *et al.*, 1999)

Provincia	Provincias morfotectónicas	Área de provincias	de Rango de elevación (msnm)	Características geomórficas dominantes	Número de especies	Especies en común con otras áreas
1	Baja California	144000 (7.34%)	0-2130 (0-1000)	Sierra y planicies	23	3
2	Planicies y Sierras del Noreste	236833 (12.02%)	0-2200 (200-1000)	Sierra y planicies	0	0
3	Sierra Madre Occidental	289000 (14.68%)	200-3000 (2000-3000)	Sierras y mesetas	35	16
4	Mesetas y Cordilleras de Chihuahua y Coahuila	255900 (12.52%)	200-2000 (800-1200)	Sierras y mesetas	5	5
5	Sierra Madre Oriental	145500 (7.54%)	200-3000 (1000-2000)	Sierras	20	10
6	Planicie Costera del Golfo	170600 (8.66%)	0-200	Planicies	0	0
7	Meseta Central	85300 (4.33%)	1000-3300 (2000-3000)	Mesetas	0	6
8	Faja Volcánica Transmexicana	175700 (9.17%)	1000-5000 (1000-2000)	Picos y mesetas	44	16
9	Sierra Madre del Sur	195700 (9.93%)	0-3500 (1200-1800)	Sierras y depresiones	15	8
10	Sierra Madre de Chiapas	105400 (5.35%)	0-2500 (200-1000)	Sierras, depresiones y planicies	0	0
11	Plataforma de Yucatán	167600 (8.46%)	0-200	Planicies y topografía kárstica	0	0



Figura 3. Mapa sobre la distribución de especies de *Lupinus* en México (Bermúdez *et al.*, 1999).

En la Figura 3 y Cuadro 1 se muestra la distribución de *Lupinus* en México. En el nuevo mundo, *Lupinus* es notorio por ser un género muy complejo (Ainouche y Bayer, 1999). Poliploides e híbridos pueden contribuir a la complejidad taxonómica (Wheeler *et al.*, 2005). Existen confusiones taxonómicas en la literatura, donde el número de taxones se distinguen basados sólo por algunas pequeñas inconsistencias morfológicas. En el nuevo mundo ha sido tratado como una especie polimórfica, aunque en general *Lupinus* en el nuevo mundo, particularmente en América Central y América del Sur sigue siendo necesaria una investigación extensiva, un número de grupos complejos son

reconocidos y otros son muy similares entre ellos, lo que representa una buena base para futuros análisis (Ainouche y Bayer, 1999).

2.3 Toxicidad de *Lupinus*

Históricamente, estas plantas, han sido una de las mayores causas de intoxicación de ovejas en Montana, Idaho, y Wyoming. Las semillas y las vainas contienen altos niveles de alcaloides y son suculentas y relativamente paleatibles. Una estrategia de manejo que se ha desarrollado es evitar el pastoreo en zonas con una gran densidad de *Lupinus* al final del verano y el otoño que es el desarrollo y la maduración de las vainas (James *et al.*, 2005). Se sabe que varias especies de *Lupinus* no han sido domesticadas, comparada con otros granos; las plantas de *Lupinus* (*Lupinus* spp.) se dan abundantemente en los pastizales y con frecuencia son tóxicas para el ganado. Algunos reportes sugieren que animales jóvenes consumen más *Lupinus* que animales adultos con experiencia. Además, el estrés lactacional en las hembras puede alterar la selección de forraje por lo que las vacas en este periodo pueden consumir más *Lupinus* que vacas no lactantes (Pfister *et al.*, 2008).

Más recientemente, *Lupinus* se ha vinculado a la enfermedad de la “torcedura de ternero” en los bovinos, estos nacen con la espina del cuello y las piernas torcidas y se da cuando la madre durante los días de gestación 40-70 días consumieron *Lupinus* donde el alcaloide teratogénico anagirina, fue identificado como el inhibidor de la circulación fetal (James *et al.*, 2005).

Según van Barneveld (1999), el uso este ha sido limitado debido a la presencia de alcaloides quinolizidínicos principalmente lupanina. Lupanina y otros alcaloides que afectan a los humanos y animales en el sistema nervioso central causando síntomas tales como depresión respiratoria, acción hipotensora, inhibición de la transmisión neuromuscular y fibrilación cardíaca, ocasionando la muerte por insuficiencia respiratoria. Las aves de corral pueden tolerar sin efectos adversos 15-25% de alcaloide de este género; en los niveles superiores, se ven afectadas (Brenes *et al.*, 2005). Mientras que los cerdos son sensibles a la presencia de alcaloides en la dieta (< 0.04 g/kg es tolerable), cuando contiene concentraciones más alta causan vómitos. Los valores altos en alcaloides se atribuyeron a *Lupinus* crecido sobre suelos arenosos grises e infértiles deficientes en manganeso (Mn) y potasio (K), y donde los rendimientos de maduración fueron bajos debido a una temporada de sequía.

Los cultivares dulces son empleados en raciones de alimentación de aves, salvo en déficit de aminoácidos azufrados, especialmente metionina. En el caso de las formas amargas de las semillas las investigaciones en aves de carne: patos o broilers, los resultados en general no señalaron efectos tóxicos al incorporarlas hasta en un 25% en la crianza de patos y entre un 10 a 12% en broilers y ponedoras (Cubillos *et al.*, 1999).

2.4 Germinación de semillas de *Lupinus*

La principal forma de propagación de las leguminosas es por semilla; sin embargo, muchas presentan la impermeabilidad del tegumento. (Sanabria *et al.*, 2004).

Se dice que algunas semillas de *Lupinus* pueden permanecer viables hasta por 1 año de vida. Se sabe que cuando las plantas florecen de Abril a Mayo, las semillas maduran de Mayo a Agosto. Cuando florecen de Marzo a Junio las semillas maduran de Junio a Julio.

El porcentaje de germinación varía dependiendo del estado de las semillas (frescas o almacenadas), y el tratamiento químico, mecánico o físico al cual haya sido sometida para ayudar a la germinación.

Cuando la germinación de semillas de *Lupinus* se realiza en papel filtro, papel absorbente o arena, todos en presencia de humedad; se da la proliferación de hongos principalmente en papel absorbente y papel filtro (De Cortes *et al.*, 2005).

2.5 Hongos que interactúan con el género de *Lupinus*

Para el caso de *Lupinus*, las enfermedades son propagadas y provocadas por hongos del género *Fusarium* así como *Botrytis cinérea*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Colletotrichum gloeosporioides*. También se ha reportado la presencia de hongos en semillas como es el caso de *Penicillium*, *Rhizopus* y *Alternaria alternata*. *Fusarium* se presenta en semillas desinfectadas y no desinfectadas, lo cual indica la presencia de colonias internas y externas en las semillas (Cwalina-Ambroziak y Paweł, 2004).

Entre las enfermedades que atacan a *Lupinus*, la antracnosis, causada por *Colletotrichum lupini* es considerada como la más devastadora, que produce pérdidas en cultivos que van de 10-100 % en *L. albus* y del 10-50 % en *L. angustifolius*. Los

alcaloides de *Lupinus*, y especialmente los esteres, en las primeras etapas de desarrollo de la planta podrían desempeñar un papel en la protección natural contra los agentes patógenos (Von Baer *et al.*, 2006).

2.6 Porcentajes de proteínas y aceite en el género *Lupinus*

Las semillas de *Lupinus* se caracterizan por el alto contenido de proteínas entre 30-50 % y los estudios se centra particularmente en la cantidad y calidad de proteínas (el perfil de aminoácidos) debido al uso potencial de estos en la alimentación de humanos y animales (Suchý *et al.*, 2008).

Sin embargo, poca atención se ha prestado al contenido y la calidad de aceite de *Lupinus*. A diferencia de la proteína cuyo nivel varía en una amplia gama (30-50 %) dependiendo de una variedad particular, el contenido de aceite es considerablemente menor (5-20 %) (Suchý *et al.*, 2008; Mohamed y Rayas-Durate, 1995). Roth-Maier y Kirchgessner (1993) reportaron los niveles de grasa en variedades de *L. blanco* y *L. amarillo* siendo 7,6 % y 4,6 %, respectivamente. Uzun *et al.* (2007) reportaron el promedio de nivel de grasa de 10,75 % en dos variedades de *L. blanco* y contiene 30-40 % de fibra. La variación en composición se debe a recursos genéticos y ambientales (Mohamed y Rayas-Durate, 1995). Un estudio comparativo en la dinámica de las grasas sobre el desarrollo en las semillas de tres especies de *Lupinus* (Borek *et al.*, 2009) dio:

Lupinus amarillo (***L. luteus*** L.); presento un contenido de aceite cerca del 6 %

Lupinus blanco (***L. albus*** L.); presento un contenido de aceite 7–14 %

Lupinus de los andes (***L. mutabilis*** dulce); present un contenido de aceite cerca del 20 %

Las semillas secas de soya contienen entre 12 a 26 %, muy similar al rango que presenta el género *Lupinus*.

Por otra parte, el tamaño de las semillas no está asociado con la composición de estas, puesto que dependerá de los genotipos y factores ambientales (Crochemore *et al.*, 1994).

Por lo tanto en este trabajo se pretendió determinar el contenido de aceite y perfil de ácidos grasos en semillas de *Lupinus uncinatus* Schlecht y se evaluó dichos parámetros a través del tiempo, para determinar su posibles usos, así mismo se determino la calidad de proteínas remanentes en la harina después de la extracción del aceite.

3. Objetivo General

- a) Determinar el contenido de aceite y el perfil de ácidos grasos presentes en semillas de *Lupinus uncinatus* Schlecht y evaluar los cambios de éstos respecto al tiempo para determinar sus posibles usos en proceso dentro de la industria y evaluar la torta residual en cuanto a su proteína.

3.1. Objetivos Específicos

- a) Determinar la relación de las semillas por tamaños (longitud y ancho) en tres periodos de tiempo (con tres años, un año y recién colectadas) de *L. uncinatus* Schlecht.
- b) Porcentaje de aceite y dinámica del perfil de ácidos grasos en semillas de *Lupinus uncinatus* Schlecht, respecto al tiempo.
- e) Caracterizar la viscosidad del aceite de las semillas de *L. uncinatus* Schlecht a diferentes temperatura en tres diferentes colectas con (con tres años, un año y recién colectadas).
- f) Caracterizar las proteínas de la torta después de la extracción de aceite en diferentes colectas de semillas.

4. Planteamiento General del Trabajo

La importancia de generar información sobre el género *Lupinus* y en específico de *L. uncinatus* Schlecht, llevó a desarrollar este trabajo, se planteó a partir de aspectos poco estudiados como la concentración de aceites y el perfil de estos, reconociendo en esta fase cuestiones que se deberían relacionar, tales como el tamaño y peso de las semillas, en relación a la humedad, la estabilidad del contenido de aceite en las semillas con respecto al tiempo de colecta, entre otras, el desarrollo se resume de la siguiente forma.

La investigación dio inicio en 2009 en el mes de julio y concluyó en 2012

Primero, se determinó que especie del género *Lupinus* la región del Tlálloc en el Valle de México se estudiaría.

Segundo, se seleccionó *L. uncinatus* Schlecht para este estudio, y se trabajó con semillas almacenadas en el casco del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, las cuales fueron colectadas en la región antes citada, que se encuentra entre los 19° 23' 43" y 19° 28' 37" latitud norte y entre los 98° 42' 51" y 98° 48' 12" longitud oeste entre 2800-4120 msnm, las cuales en trabajos previos de estudiantes de Colegio de Postgraduados se tenían almacenadas desde el año 2007, las que se nombraron como semillas con tres años.

Tercero, se realizaron colectas en la misma parcela de las semillas con tres años, durante el año 2009 (se nombraron como semillas con un año) y 2010 (semillas recién colectadas, que fueron colectadas en estado verde).

Cuarto, se observaron diferencias, entre las semillas de los tres lotes, por lo que se decidió no mezclar y comenzar el estudio de la siguiente forma; se determino el largo, ancho, peso y humedad, para establecer si estos valores también tienen efecto en el contenido y perfil de los ácidos grasos presente en las semillas.

Quinto, se determino el contenido de humedad y aceite de las diferentes semillas, así como el perfil de ácidos grasos de cada colecta.

Sexto, se realizó análisis de viscosidad de los aceites para verificar si estos tenían alguna correlación con el perfil de ácidos grasos presentes en las semillas

Septimo, por último se analizó por **electroforesis la proteína** de la torta después de la extracción del aceite para ver si esta podría tener alguna aplicación.

El trabajo esta distribuido en cinco Capítulos.

5. Literatura Citada

- Ainouche, A-K and Bayer, R.J. 1999.** Phylogenetic relationships in *Lupinus* (Fabaceae: Papilionoideae) based on internal transcribed spacer sequences (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *American Journal of Botany* 86: 590-607.
- Bermúdez, K., Robledo, N., Martínez, J., Tei, A. and Wink, M. 1999.** Biodiversity of the genus *Lupinus* in México. Proceedings 9th International Lupin conference, Klink/Müritz, 20-24 june, 1999. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand.
- Bermúdez, K., Robledo, N., Necha, B. and Wink, M. 2002.** Alkaloid Profile of Leaves and Seeds of *Lupinus hintonii* C. P. Smith. *Z. Naturforsch.* 57c, 243-247.
- Blade, S., Lopetinsky, K., Olson, M., Laflamme, P. and Phillips, C. 2004.** High protein lupins: diversifying the pulse industry in western Canada. 4th International Crop Science Congress. Brisbane, Australia, 26 Sep – 1 Oct 2004.
- Borek, S., Pukacka, S., Michalski, K. and Ratajczak, L. 2009.** Lipid and protein accumulation in developing seeds of three lupine species: *Lupinus luteus* L., *Lupinus albus* L., and *Lupinus mutabilis* Sweet. *Journal of Experimental Botany*, 60(12): 3453–3466
- Brenes, A., Marquardt, R., Muzquiz, M., Guenter, W., Viveros, A. and Arija, I. 2005.** Short communication. Effect of enzyme addition on the nutritive value of six lupin cultivars with different alkaloid content. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 3(2): 203-208.

- Cederlund, H. 2006.** The microbiology of railway tracks. Towards a Rational Use of Herbicides on Swedish Railways. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences. 50 p.
- Chel-Guerrero, L., Sciligo, A., Gallegos, S., Dávila, G. and Añón, M. 2006.** Physicochemical and structural characterization of Lima bean (*Phaseolus lunatus*) globulins. LWT - Food Science and Technology. 40(9): 1537-1544
- Crochemore, M.L., Huyghe, C., Papineau, J. and Julier, B. 1994.** Intra-plant variability in seed size and seed quality in *Lupinus albus* L. Agronomy. 14:5-13
- Cubillos, A., Gädicke, P., Von Baer, D. and Ahumada, F. 1999.** Determinación de la dosis letal media (DL50) de alcaloides del lupino en pollas de reposición blancas y Marrón Archivos de Medicina Veterinaria 31 249 – 256
- Cwalina-Ambroziak, B. and Pawel, T. 2004.** Fungi colonizing seeds of two cultivars of yellow lupine (*lupinus luteus* l.) Cultivated in two Crop rotation. Acta fytotechnica et zootechnica. 7: 57–60
- De Cortes, M., Altares, P., Pedrosa, M., Burano, C., Cuadrado, C., Oyoaga, C., Muzquiz, M., Jiménez, C. and Dávila-Ortiz, G. 2005.** Alkaloid variation during germination in diferent lupin species. Food chemistry, 90, 347-355.
- De Felipe, M. 2006.** El Lupino en la Agricultura Sostenible y el Medio Ambiente. Schironia. 5: 32-40.
- DFWA. 2001.** Feeding Lupins to Fish: A review of the nutritional and biological value of lupins in aquaculture feeds. W. Australia. 117pp. (<http://www.wa.gov.au/westfish/res/broc/report/lupin/summary.html>).
- Elizalde, A., Porrilla, Y. y Chaparro D. 2009.** Factores Antinutricionales en Semillas. Facultad de Ciencias Agropecurias 7(1): 45-54

- El-Nagerabi and Elshafie, A.E. 2000.** Incidence of seed-borne fungi and Aflatoxins in Sudanese lentil seeds. *Mycopathologie.*, 149: 151-156.
- El-Sayed, S. and El-Mousallamy. 2008.** Allelopathic Effect of Acacia Raddiana Leaf Extract on the Phytochemical Contents of Germinated *Lupinus termis* Seeds. *Journal of Applied Sciences Research*, 4(3): 270-277.
- Estrada, E., Villareal, J., Delgado, A., Pando, M., Scott, L., Jurado, E. and Yen, C. 2006.** Diversity and distributional patterns of legumes in Southern nuevo León, México. *The Southwestern Naturalist* 51(1): 1-10.
- FAO Statics Division.** <http://faostat.fao.org/site339/default.aspx>. Revisado 23 de abril de 2010
- Glencross, B., 2001.** Feeding Lupins to Fish: A review of the nutritional and biological value of lupins in aquaculture feeds. Ed. The Departament of Fisheries, Government of Western Australia. 117 pp.
- Glencross, B.D. 2004.** Lupins. *Aqua Feeds: Formulation & Beyond*, Research Division, Department of Fisheries, North Beach, Australia. Volume 1(2): 15 pp
- Gümes-Vera, N., Peña-Bautista, R.J., Jiménez-Martínez, C. and Dávila-Ortiz, G. 2008.** Effective detoxification and decoloration of *Lupinus mutabilis* seed derivatives and effect of these derivatives on bread quality and acceptance. *Journal of the science of food and agriculture*, 88
- Hughes, S.G., 1988.** Assessment of lupin flour as a diet ingredient for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 71: 379-385.
- Hughes, C. and R. Eastwood. 2006.** Island radiation on a continental scale: exceptional rates of plant diversification alter uplift of the Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103(27):10334-10339

- James L., Gardner D., Lee S., Panter K., Pfister. J., Ralphs M. and Stegelmeier B. 2005.** Important Poisonous Plant on Rangelands. Society for Range Management. 3-9.
- Jiménez-Martínez, C. and Dávila-Ortiz, G. 2007.** Elaboración de un producto tipo botana a base de harina de trigo fortificada con ailado proteico de *Lupinus mutabilis*. Alfa Editores técnicos, 12-20
- Johnson, J., Mieller, J. and Bedell, D. 1986.** Tifwhite-78 Lupine Seed as a Feedstuff for Cattle. Journal of Dairy Science. 69: 142-147.
- Kinghorn, A., Selim, M. and Smolenski, S. 1980.** Alkaloid distribution in some new world *Lupinus* species. Phytochemistry. 19:1705-1710.
- Kurlovich, B. 2002.** Lupins: Geography, Classification, Genetic Resources, and Breeding. OY International North Express. St. Petersburg, Russia – Pellosniemi, Finland, Publicado por Bogouslav Kourlovitch. 468 p.
- Kurlovich, B., Rep'ev S., Petrova, M., Buravtseva, T., Kartuzova, L. and Voluzneva, T. 2000.** The significance of Vavilov's scientific expeditions and ideas for development and use of legume genetic resources. Plant Genetic Resources Newsletter. 124: 23-32
- Laimutė, T., Lugaukas, A. and Repeckienė, J. 2006.** Measures suppressing the development of fungi on *Lupinus luteus* L. Žemės ūkio mokslai. 2:24-36.
- Luckett, D. 2007.** Lupini bean – a bitter contamination risk for sweet albus lupins. Primefacts. 682: 1-4.
- Maknickienė, Z. and Asakaviciūtė, R. 2008.** Alkaloid content variations in lupin (*Lupinus L.*) Genotypes and vegetation periods. Biologija. 54(2): 112-115

- Martins, J., Riottot, M., De Abreu, M., Viegas-Crespo, A., Lança, M., Almeida, J., Freire, J. and Bento, O. 2005.** Cholesterol-lowering effects of dietary blue lupin (*Lupinus angustifolius* L.) in intact and ileorectal anastomosed pigs. *Journal of lípido Research*. 46: 1539-1547.
- May, M., Otterby, D., Linn, J., Hansen, W., Johnson, D. and Putnam, D. 1993.** Lupins (*Lupinus Albus*) as a Protein Supplement for Lactating Holstein Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*. 76:2682-2691.
- Mohamed, A.A., and Rayas-Durate, P. 1995.** Composition of *Lupinus albus*. *Cereal Chem*. 72:643–647.
- Mosse, J., Huet, J.C., and Baudet, J. 1987.** Relationships between nitrogen, amino acids and storage proteins in *Lupinus albus* seeds. *Phytochemistry* 26:2453.
- Múzquiz, M., 1988.** Factores antinutritivos y toxicos que afectan a la utilización de la semillas de *Lupinus hispanicus* Boiss et Reut para su uso alimentario. Tesis. Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación. Instituto Nacional de Investigación Agrarias. Madrid, España. 343 p
- Nadal, S., Cubero, J.I. y Moreno, M.T. 2004.** Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Publicado por Mundi-Prensa Libros.
- Noffsinger, S. and van Santen, E. 2005.** Evaluation of *Lupinus albus* L. Germplasm for the Southeastern USA. *Crop Science Society of America*. 45: 1941-1950.
- Payne, W., Chen, C. and Ball, D. 2004.** ALTERNATIVE CROPS Agronomic Potential of Narrow-Leafed and White Lupins in the Inland Pacific Northwest. *Agronomy Journal*. 96(6): 1501-1508.

- Pfister, J., Lee, S., Panter, K., Motteram, E. and Gay, C. 2008.** Effects of Experience and Lactation on Lupine Consumption by Cattle. *Rangeland Ecol manage.* 61: 210-244.
- Planchuelo, A.M. 1982.** Revisión bibliográfica del género *Lupinus*, Literature review of genus *Lupinus*. *Lupine, Inter. Lup. Ass* 4: 37-39
- Putnam, D. 1993.** An interdisciplinary approach to the development of lupin as an alternative crop. p. 266-277. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), *New crops*. Wiley, New York.
- Rodríguez-Ambriz, S. Martínez-Ayala, A., Millán, F. and Dávila-Ortiz, G. 2005.** Composition and functional properties of *Lupinus campestris* protein isolates. *Plant Food for Human Nutrition*, 60: 99-107
- Roth-Maier, D.A. and Kirchgessner, M. 1993.** Nutrient composition and nutritive value of white and yellow lupins (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) for pigs and poultry. *Agribiological Research* 46: 218-228.
- Sakr, S., Lanfon, H. and El-Abb, S. 2006.** Ameliorative Effect of Lupinus Seeds on Histopathological and Biochemical Changes Induced by Aflatoxin-B1 in Rat Liver. *Journal of Applied Science Research* 2(5): 290-295.
- Sanabria, D., Silva-Acuña, R., Oliveros, M. and Manrique, U. 2004.** Germinación de semillas de las leguminosas arbustivas forrajeras *Cratylia argentea* y *Cassia moschata* sometidas a inmersión en ácido sulfúrico. *Biagro* 16(3).
- Shoeneberger, H., Gross, R., Cremerand, H.D., and Elmadfa, I. 1982.** Composition and protein quality of *Lupinus mutabilis* *J. Nutr.* 112, 70-76.
- Singh, R., Chung, G. and Nelson, R. 2007.** Landmark research in legumes. *Genome.* 50: 525-537

- Sipsa, S. 2008.** Lupins for health and Wealth Proceeding of the 12 th International Lupin Conference. En J.A. Palta and J.B. Berger (Ed), Lupin products-Concepts and really (pag 506-513). Canterbury, New Zealand: International Lupin Association.
- Smith, C. 2004.** The Australian Lupin Collection annual report 2003. Plant Industries Department of Agriculture Western Australia. Department of Agriculture Government of Western Astrallia 18 p.
- Suchý, P., Straková, E., Kroupa, L. and Vecerek, V. 2008.** The fatty acid content of oil from seeds of some lupin varieties, proceedings of the 12th International Lupin Conference, 188-191 Sept. 2008, Fremantle, Western Australia. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand.
- Uzun, B., Arslan, C., Karhan, M. and Toker, C. 2007.** Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.). Food Chemistry 102: 45-49.
- Van Bemeveld, R. 1999.** Understanding the nutritional chemistry of lupin (*Lupinus* spp.) seed to improve livestock production efficiency. Nutrition Research. 12: 203-230.
- Vilariño, M. del P. and Ravetta, D. 2008.** Tolerance to herbivory in lupin genotypes with different alkaloids concentration: Interspecific differences between *Lupinus albus* L. and *L. angustifolius* L. Enviromental and Experimental Botany. 63(1-3): 130-136.
- Von Baer, D., Saelzer, R., Vega, M., Ibieta, P, Molina, L., Vin Baer, E., Ibáñez, R. and Hashagen, U. 2006.** Isoflavones in *Lupinus albus* and *Lupinus angustifolius*: quantitative determination by capillary zone electrophoresis,

evolution of their concentration during plant development and effect on anthracnose causing fungus *Colletotrichum lupini*. Journal of Chilean Chemical Society. 51(4): 1025-1029.

Wheeler, E., Edward, R. and Allen, G. 2005. Morphological and molecular evidence concerning the Relationship of *lupinus polyphyllus* and *L. Wyethii* (fabaceae). Madroño 52(2): 107-113.

Wink, M., Meißner, C., and Witte, L. 1995. Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *Lupinus*. Phytochemistry, 38, 139-153.

Wyszkowski, M., Wyszkowska, J. and Ziolkowska. 2004. Effect of soil contamination with diesel oil on Bellow lupine yield and macroelements content. Plant Soil Environ. 50(5):218-226

Zamora, J. 2005. Alcaloides en *Lupinus exaltatus* Zucc. (Fabaceae): Contenido, composición y actividad biológica. Tesis. Colegio de Postgraduados. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas campus montecillo. Botánica. Texcoco, Estado de México.

CAPÍTULO I

TAMAÑO Y PESO DE SEMILLA DE *Lupinus* DE LA SIERRA NEVADA, ESTADO DE MÉXICO, A TRAVES DEL TIEMPO

Resumen

Se determinaron las medidas de largo y ancho de semillas de *L. uncinatus* Schlecht, colectadas en la ladera oriental del Tláloc en Sierra Nevada, México; en tres periodos diferentes, utilizando un software (Scion Imagen v1.40), con los datos se corrieron análisis de varianza y se determinó que semillas de estudio presentan más variables evaluadas entre los tiempos de colecta que entre el lote de semillas o el peso de éstas.

1. Introducción

Muchos aspectos de la reproducción de las plantas, tales como tamaño, cantidad y el potencial reproductivo de las semillas han sido durante mucho tiempo un motivo de preocupación (Schaal, 1980) y se han encontrado que la masa de estas varía considerablemente entre especies en los diversos hábitats y las diferentes etapas de la descendencia; sin embargo, dentro de una especie, el tamaño de la semilla ha sido por mucho tiempo considerado como el componente más estable de rendimiento reproductivo. En semilla grande, las especies compensan la disminución en la producción de semillas con el aumento de la supervivencia durante el establecimiento de las plántulas (Moles y Westoby, 2004); sin embargo, estudios han detectado variación intraespecífica en tamaño de semilla promedio entre cortes anuales, entre las poblaciones de una especie y entre los individuos dentro de una población. Incluso

dentro de las plantas, el tamaño de grano puede variar considerablemente así mismo las infrutescencias, frutos dentro de infrutescencias y semillas dentro del fruto (Susko y Lovett-Doust, 2000).

Las semillas de las plantas no sólo son un órgano de propagación y dispersión, además son el principal tejido vegetal cosechado por la humanidad. La cantidad de proteína presente en las semillas varía entre ~10 % en cereales a ~40 % en algunas leguminosas y oleaginosas (Shewry *et al.*, 1995). Ecologistas en general han entendido que las semillas de una especie y el tamaño de éstas guardan un equilibrio entre la producción de unas pocas, cada una con alta probabilidad de éxito en el establecimiento, en comparación con la producción de muchas semillas pequeñas (Moles y Westoby, 2006). Además un rasgo característico de las plantas superiores es su capacidad para sintetizar una enorme variedad de moléculas orgánicas, los llamados metabolitos secundarios (Wink, 1988), que en muchas ocasiones se almacenan principalmente en las semillas.

L. uncinatus Schlecht crece en la Sierra Nevada del Estado de México sobre el cerro Tláloc, entre los 19° 23' 43" y 19° 28' 37" latitud norte y entre los 98° 42' 51" y 98° 48' 12" longitud oeste entre 2800-4120 msnm; con poblaciones densas en parcelas de cultivos y orillas de caminos, entre los 2932-2994 msnm y pendientes de 2-23 %, se ha reportado asociada a cultivos y en claros de bosques de coníferas, a 2600-3700 msnm. La descripción de la planta se puede ver en la Cuadro 1.1., y las imágenes de las semillas y la planta en la Figura 1.1. (Alderete-Chávez *et al.*, 2008).



Figura 1.1. Flores, hojas y semillas de *L. uncinatus* Schlecht (Alderete-Chávez *et al.*, 2008).

Con base en lo anterior y la escasa información sobre semillas de *Lupinus*; el objetivo del presente estudio fue evaluar el tamaño de las semillas de *Lupinus uncinatus* Schlecht del Tláloc Sierra Nevada, Estado de México y si hay cambios en estas a través del tiempo, para después poder comparar la humedad y contenido de aceites, y determinar si tiene potencial como biocombustible.

Cuadro 1.1. Descripción de *L. uncinatus* Schlecht (Alderete-Chávez *et al.*, 2008).

(Alderete-Chávez *et al.*, 2008).

Descripción	Definición	Observación
Planta	Perenne, anual o bianual	Herbácea
Altura	Más de 1 m	
Tallos	Huecos	
Estipulas	7 a 9 mm de largo	No siempre
Pecíolos	1.5 a 2.5 cm de largo	
Foliolos	5 a 8	3 a 4 cm de largo 6 a 8 mm de ancho
Ápices	Ligeramente agudos	Plumosos
Flores	Extendidas	Moradas oscuras
Frutos	Vainas dehiscentes 4.5 a 5.5 cm de largo	9 a 49 vainas por planta y de 1 a 7 semillas viables por vaina
Florece	A partir de Marzo	
Semillas maduras	Aparecen a mediados de Mayo	Blanquecinas a cenicientas, de tipo recalcitrante (raro en este género)

1.1 Materiales y métodos

1.2 Ubicación geográfica

El área de estudio se localiza en la ladera oriental de la Sierra Nevada en el Estado de México en el cerro Tláloc, entre los 19° 23' 43" y 19° 28' 37" latitud norte y entre los 98° 42' 51" y 98° 48' 12" longitud oeste en un rango altitudinal de 2932-2994 msnm. Las características fisicoquímicas del suelo en el área de estudio se presentan en el Cuadro 1.2 (Alderete-Chávez *et al*, 2008).

Cuadro 1.2. Características fisicoquímicas del suelo en el área de estudio (Alderete-Chávez *et al*, 2008).

Especies	pH	M.O. %	N		P	K
			mg·kg ⁻¹			Cmol g ⁻¹
Suelo del área de colecta de <i>L. uncinatus</i> Schlecht	6.2-6.3	3.32	0.13	14.7	1.46	

1.3 Germoplasma

Se trabajo con:

- 1) Semillas almacenadas en el casco del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo colectadas en 2007, a las que se les llamará semillas con tres años
- 2) Semillas colectadas en julio de 2009, a las que se les llamará semillas con un año de edad
- 3) Semillas colectadas en mayo 2010 y se les llamarán semillas recién colectadas.

1.4 Variables evaluadas

1.4.1 Tamaño

Se colocaron 25 semillas (IBPGR, 1981), con tres años de edad, 25 semillas con un años de edad, así como 25 semillas recién colectadas de *L. uncinatus* Schlecht en la cama del escáner y se obtuvieron las imágenes, Figura 1.2; todo se realizó por triplicado.



Figura 1.2. Semillas de *L. uncinatus* Schlecht

Utilizando software Scion Imagen v1.40 se medio largo y ancho.

1.4.2 Peso

Se tomaron 100 semillas con tres años, un año y recién colectadas las cuales se seleccionaron al azar, se pesaron en una balanza analítica con precisión de 0.0000 g todo se realizó por triplicado.

1.4.3 Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó acabo utilizando software online <http://www.graphpad.com/quickcalcs/Grubbs1.cfm> para pruebas de Grubbs y paquete estadístico SAS; con la prueba estadística ANOVA detecto si hay variación y prueba de Tukey para comprobar diferencias obtenidas, donde presentaban significancia estadística entre los tratamientos.

1.5 Resultados y discusión

1.5.1. Medidas de ancho y longitud de las semillas

Las medidas de longitud y ancho en milímetros de las semillas de *L. uncinatus* Schlecht se muestran en el Cuadro 1.3, se presentan los valores promedio para las semillas con tres años, un año y recién colectadas, además en Cuadro 1.4 se presentan los resultados de prueba ANOVA para longitud en mm de las diferentes colectas .

Cuadro 1.3. Valores promedio de longitud y ancho en milímetros de las semillas de *L. uncinatus* Schlecht con tres años, un año y recién colectadas.

		Tres años	Un año	Recién colectadas
Longitud	Valor promedio (mm)	4.68±0.36	6.13±0.62	6.52±0.56
	Ancho	Valor promedio (mm)	3.30±0.36	4.70±0.54

± Desviación Estándar

Cuadro 1.4. Valores de prueba ANOVA para semillas con tres años, un año y recién colectadas para longitud en mm.

Fuentes de variación	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio del error
Tiempo	2	47.03	23.51***
Rep	24	0.27	0.88 ^{NS}
CV			9.33

*** y ^{NS}, Altamente significativo y no significativo respectivamente con una α del 0.5%.

Cuadro 1.5. Valores promedio de la longitud en semillas con tres años, un año y recién colectadas

Colectan en Tiempo	Media	Grupo
Recién colectadas	6.5235	A
Un año	6.1314	B
Tres años	4.6823	C

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Cuadro 1.6. Valores promedio del ancho en semillas con tres años, un año y recién colectadas

Colectan en Tiempo	Media	Grupo
Recién colectadas	4.9026	A
Un año	4.7336	A
Tres años	3.3313	B

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Al igual que para las otras variables evaluadas, el análisis de varianza mostró que hubo diferencias altamente significativas entre la longitud de las semillas según la fecha en que se realizó la colecta ($Pr > F = <0.0001$), y según la prueba de medias, los valores más altos los presentaron aquellas que fueron recién colectadas, disminuyendo la longitud, las de un año y después las de tres años como se aprecia en Cuadro 1.5; por otra parte el análisis de varianza mostró que hubo diferencias altamente significativas entre el ancho de las semillas según la fecha en que se realizó la colecta ($Pr > F = <0.0001$), y según la prueba de medias, los valores más altos los presentaron aquellas que fueron recién colectadas y un año disminuyendo la longitud con las de tres años como se aprecia en Cuadro 1.6

1.5.2 Peso de semillas.

Los pesos de las semillas de *L. uncinatus* Schlecht se muestran en el Cuadro 1.8, los resultados para las diferentes colectas.

Cuadro 1.8. Peso en gramos de grupos de *L. uncinatus* Schlecht con tres años, un año y recién colectadas.

	Muestra	Valor medio Peso (g)
Tres años	3 réplicas de 100 semillas	1.9392±0.03
Un año	3 réplicas de 100 semillas	4.3989±0.15
Recién colectadas	3 réplicas de 100 semillas	3.630767±0.23

± Desviación Estándar

Al igual que para las otras variables evaluadas, el análisis de varianza mostró que hubo diferencias altamente significativas entre el peso de las semillas según la fecha en que se realizó la colecta ($Pr > F = < 0.0001$), y según la prueba de medias, los valores más altos los presentaron aquellas que fueron recién colectadas, disminuyendo el peso, las de un año y después las de tres años (Cuadro 1.9)

Cuadro 1.9. Valores promedio del peso de semillas de *Lupinus* con tres años, un año y recién colectadas.

Colectan en Tiempo	Media	Grupo
Recién colectadas	3.6308	A
Un año	4.3989	C
Tres años	1.9392	B

Los intervalos de confianza de los tres niveles de peso para las semillas con tres años, un año y recién colectadas no presenta semejanza como se observa en Cuadro 1.9 dando de esta forma un resultado en el cual las tres colectas son diferentes en peso. En los Cuadros 1.10, 1.11 y 1.12 se observa el resumen de medidas y pesos para las semillas con tres años, un año y recién colectadas, con sus intervalos de confianza y desviación estándar respectivamente.

Cuadro 1.10. Valores para semillas con tres años de *L. uncinatus* Schlecht

	Valor promedio (μ)	DS (σ)	95% Intervalo de confianza	
Longitud (mm)	4.68	0.367182	4.53-4.83	n =25
Ancho (mm)	3.3314	3.672224	3.19-3.48	n = 25
Peso (g)	1.9392	0.032552	1.90-1.98	n = 3 (100 semillas por replica)

Cuadro 1.11. Valores para semillas con un año de *L. uncinatus* Schlecht

	Valor promedio (μ)	DS (σ)	95% Intervalo de confianza	
Longitud (mm)	6.13	0.620680	5.88-6.38	n = 25
Ancho (mm)	4.7346	5.462781	4.52-4.95	n = 25
Peso (g)	4.3989	0.150644	4.23-4.57	n =3 (100 semillas por replica)

Cuadro 1.12. Valores para semillas recién colectadas de *L. uncinatus* Schlecht

	Valor promedio (μ)	DS (σ)	95% Intervalo de confianza	
Longitud (mm)	6.52	0.564420	6.30-6.75	n =25
Ancho (mm)	4.9026	0.501140	4.71-5.10	n = 25
Peso (g)	3.6308	0.231699	3.37-3.89	n = 3 (100 semillas por replica)

Según Ortega-David *et al.* (2010), las semillas de *L. mutabilis* tiene una longitud de 10.11 mm y el ancho 5.24 mm, mientras que Martínez *et al.* (2008) analizo que *L. bilineatus* tiene una longitud 3.82 mm y ancho 2.73 mm. Al comparar los resultados obtenidos para *L. uncinatus* Schlecht se puede apreciar que son diferentes tanto en comparación con estos así como también entre el período de colecta entre el mismo *L. uncinatus* Schlecht.

El utilizar un software para determinar el tamaño (longitud y ancho) de semillas en *L. uncinatus* Schlecht con diferentes tiempos de colecta arrojó datos en los cuales al comparar y observar que las semillas varían con respecto al tiempo de colecta independiente del su peso, por lo tanto, el método empleado es adecuado para

establecer las dimensiones de semillas de este género, resaltando que es más fácil manipular semillas pequeñas de esta forma y evitar errores con métodos tradicionales, asimismo siendo un medio relativamente accesible para cualquier investigador, barato y rápido al efectuar más repeticiones en período de tiempo menor.

1.6 Conclusiones

Al inicio de la investigación se percibió diferencia en cuanto a las colectas en tamaño y se realizó la comprobación de longitud, ancho y peso, lo cual se verificó para establecer si las colectas eran diferentes. Resultado que las diferentes colectas fueron diferentes, tomando la decisión de separar las colectas, así como a establecer estos parámetros como necesarios para realizar una identificación de propiedades específicas de las semillas.

1.7 Literatura citada

- Alderete-Chavez A., Espinosa, V., Ojeda, E., Ehsan, M., Perez, J., Cetina, V.M., Rodriguez, A.D. and De la Cruz-Landero, N. 2008.** Natural Distribution and Principal Characteristics of *Lupinus* in the Oriental Face of Tlalóc Mountain in Sierra Nevada, México. *Journal of Biological Science* 8(3): 604-609
- IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources) SECRETARIAT. 1981.** Lupin Descriptors. Rome, 26 pp
- Martínez, M.J., Rodríguez-Trejo, D.A., Guizar-Nolazco, E. y Bonilla-Beas, R. 2008.** Escarificación artificial y natural de la semilla de *Lupinus bilineatus*

- Benth. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 14(2): 73-79.
- Moles, A.T. & Westoby, M. 2006.** Seed size and plant strategy across the whole life cycle. *Oikos*, **113**, 91–105.
- Moles, A.T. and Westoby, M. 2004** Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature. *Journal of Ecology*, **92**, 372–383.
- Ortega-David, E., Rodriguez, A. y Zamora-Burano, A. 2010.** Caracterización de semillas de lupino (*Lupinus mutabilis*) sembrado en los Andes de Colombia. *Acta agronomica*. 59(1): 111-118
- Schaal, B. A. 1980.** Reproductive capacity and seed size in *Lupinus texensis*. *Am. J. Bot.* 67(5):703-709.
- Shewry, P., Napier, J. and Tatham, A. 1995.** Seed Storage Proteins: Structures and Biosynthesis. *The Plant Cell* 7: 945-956
- Susko, D. J., and Lovett-Doust, L. 2000.** Patterns of seed mass variation and their effects on seedling traits in *Alaria petiolata* (Brassicaceae). *American Journal of Botany* 87: 56–66.
- Wink, M. 1988.** Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theor Appl Genet* 75:225-233

CAPÍTULO II

ESTABLECIMIENTO DEL MÉTODO PARA EXTRACCIÓN DE ACEITE Y EVALUACIÓN DE LA VARIACIÓN DEL PORCENTAJE DE ESTE A TRAVÉS DEL TIEMPO

Resumen

La extracción de aceite de las semillas de *L. uncinatus* Schlecht, se realizó empleando un equipo Soxhlet 2050, el cual permitió la extracción de varias muestras en un tiempo más corto comparado con el tradicional Soxhlet. Por otra parte el contenido de humedad de las semillas se puede relacionar con la edad de estas, pero no así la concentración de aceite en las semillas.

1. Introducción

Las leguminosas en términos generales se pueden clasificar como bajas y altas en contenido de lípidos comestibles, este último a menudo descrito como semillas oleaginosas (Hulse, 1991). Son cultivadas y usadas como forraje, oleaginosas y “grano” para el consumo directo de la semillas o simplemente como “abono verde” (Delwiche, 1978). Entre las principales y más cultivadas semillas de estas oleaginosas destacan la soya (*Glycine max* L. Merr.) y el cacahuete (*Arachis hypogaea* L.), que representan aproximadamente el 50 y 16 % respectivamente de la producción mundial del total de los cultivos de leguminosas de grano. A pesar de ser generalmente consideradas como un alimento por el contenido de proteínas y composición de aminoácidos, estas especies, son cultivadas más por su contenido de aceite. El aceite se extrae ya sea por calor y prensado o por extracción con disolvente; asimismo el residuo es de alto valor proteico “tortas” que se utiliza principalmente como alimento para

animales. Con el control tecnológico apropiado y el cuidado adecuado de higiene, ésta puede ser apta para el consumo humano.

Para la extracción de los aceites vegetales, el hexano es normalmente el disolvente que se utiliza, mismo que se filtra a través del lecho de semillas oleaginosas y el aceite se disuelve, recuperándose con el tiempo por la evaporación del hexano en varias fases mediante la calefacción de vapor directo e indirecto, la segunda etapa es a menudo al vacío. Las características fundamentales de la extracción de las semillas oleaginosas son: (1) eficiencia de recuperación de aceite, tanto cuantitativa como cualitativamente, (2) la eficiencia de recuperación del disolvente, ya sea hexano a sustancias más caras, tóxicas y flamables, y (3) la calidad, sobre todo, la calidad higiénica y nutricional de la torta residual, debido a que la torta suele utilizarse como alimento barato para animales o como un ingrediente de fertilizantes nitrogenados (Hulse, 1991).

El género *Lupinus* típicamente contiene entre 5 a 20 % de aceite, además de 36 a 52 % de proteínas, y entre 30 a 40 % de fibra. Las variaciones en composición se deben a diferencias genéticas y ambientales (Mohamed y Rayas-Duarte, 1995). No obstante, ha recibido mucha menos atención el contenido y la calidad de aceite de *Lupinus*. Sin embargo hay quienes dicen por ejemplo, Roth-Maier y Kirchgessner (1993) reportaron los niveles de grasa cruda en variedades de *Lupinus* blanco (*L. albus*) 7.6 %; Uzun *et al.* (2007) obtuvo 10.75 % en dos variedades de *L. albus*; Wilson *et al.* (2008) reportaron en *L. albus* con un 9 % aceite para esta especie; Boschini *et al.* (2008) indicaron que en una variedad de *L. albus* L., las semillas contienen aproximadamente entre 9 a 14 % de aceite; Borek *et al.* (2009) reportaron en *L. albus* 14.7 % de aceite.

Por otra parte Roth-Maier y Kirchgessner (1993) reportaron los niveles de grasa cruda en variedades de *Lupinus* amarillo (*L. luteus*) siendo 4.6 %, asimismo se reportó que *L. luteus* tiene un 5 % de aceite (Wilson *et al.*, 2008). Otros estudios muestran que *L. luteus*, contiene alrededor del 6 % de aceite (Borek *et al.*, 2009). Algunos estudios indican que nuevos genotipos europeos de *L. angustifolius* L., se adaptan a las praderas en Alberta Canadá donde la cantidad de aceite va de 6 a 8 % lo que da beneficios para la alimentación animal (acuicultura, lácteos, aves de corral y cerdos). Además de lo anterior se han reportado otras variedades de *Lupinus* con diferentes cantidades de aceite. Como es el caso de *L. angustifolius*, el cual tiene un 6.4 % de aceite y *L. mutabilis* contiene entre 16 a 20% de aceite (Wilson *et al.*, 2008). Borek *et al.* (2009) reportan para esta última especie valores superiores a los de la soya, ya que llega a contener entre 12 y 26 % de aceite

Cabe mencionar, que se han reportado especies de *Lupinus* con cantidades menores de 4 % de aceite como es el caso de *L. arboreus* Simms con un 2 % y *L. nootkatensis* Donn con 2 % de aceite (Roth *et al.*, 1984). Dentro del perfil de ácidos grasos de las semillas de *Lupinus* se ha advertido que tiene excelentes propiedades emolientes para la industria cosmética.

Es necesario señalar que con una baja cantidad de aceite (entre 8 a 10%) indica que la semilla no se consideran como oleaginosas, pero si se les puede dar otros usos como es el caso de algunos procesos a base de soya (Blade *et al.*, 2004), la harina desengrasada de soya es más rentable en términos comerciales que el mismo aceite

En la presente investigación se determinó la cantidad de aceite en las diferentes colectas para establecer el porcentaje que contienen las semillas de *L. uncinatus* Schlecht.

2.1 Materiales y métodos

2.1.1 Preparación de muestra en el sistema Soxtec 2050 de Foss

Se hizo una comparación de método tradicional Soxhlet y Soxtec 2050, siendo seleccionado el método Soxtec 2050, por ser más eficiente en consumo de disolventes y tiempo dando resultados similares de forma cuantitativa de las extracciones.

Para el método Soxtec 2050, se pesaron 23 g de semillas con tres años, 23 g de semillas de con un año y 23 g de semillas recién colectadas de *L. uncinatus* Schlecht; las cuales fueron molidas en un en mortero, se distribuyeron en nueve muestras respectivamente, las cuales se pesaron colocándolas en papel filtro Whatman 4 (colocando 7 gramos por papel filtro “igualando pesos”) y se secaron por 24 hora en un horno Thomas Scientific de aire forzado a 90 °C. Después de las 24 horas se colocaron en un desecador por otras 24 horas para tener peso constante.

Una vez secas y a peso constante, las muestras se colocaron en dedales de celulosa con anillo metálico enumerados de 1 al 9. Una vez etiquetadas las muestras se colocaron en el equipo de extracción. El disolvente utilizado fue hexano, este se colocó en vasos de aluminio especiales, los cuales fueron previamente llevados a peso constante, se les colocó un volumen de 60 mL de hexano por vaso y por muestra, estos se llevaron a la plancha de calentamiento del equipo Soxtec 2050.

2.1.2 El programa que se estableció se muestra en Cuadro 2.1.

Cuadro 2.1. Programa generado en equipo Soxtec 2050 para *L. uncinatus* Schlecht

Solvente en ebullición	Enjuague	Recuperación solvente	Pre-secado
40 min	60 min	30 min	20 min

Al finalizar las etapas del equipo Soxtec 2050, se llevaron los vasos de aluminio con el aceite a secar por 5 min al horno Thomas Scientific a 60°C. Después se colocaron en un desecador por 30 min y se determinó el porcentaje de aceite por diferencia de pesos.

2.2 Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando software online <http://graphpad.com/quickcaks/grubbs1-cfm> para pruebas de Grubbs y paquete estadístico SAS.

2.3 Resultados y discusión

Cuadro 2.2. Valores promedio del porcentaje de aceite y humedad en semillas de *L. uncinatus* Schlecht. con tres años, un año y recién colectadas.

Muestras	Valores promedio	
	% Aceite	% Humedad
Tres años	9.61±0.21	5.80±0.16
Un año	7.76±1.11	5.40±0.57
Recién colectada	8.56±1.64	8.40±2.02

± Desviación estándar

2.3.1 Porcentaje de aceite

Para verificar significancia entre el porcentaje de aceite de las semillas se aplicó la prueba de ANOVA, ver Cuadro 2.3

Cuadro 2.3 Valores de prueba ANOVA para semillas con tres años, un año y recién colectadas para porcentaje de aceite.

Fuentes de variación	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio del error
Tiempo	2	15.47	7.73*
Rep	8	8.63	1.07 ^{NS}
CV			13.86

* y ^{NS}, Significativo y no significativo respectivamente con una α del 0.5%.

Lo que muestra que existe diferencia significativa entre los tiempos de colectas por lo que se aplicó la Prueba del rango estudentizado de Tukey para determinar si las tres colectas son diferentes entre sí Cuadro 2.4.

Cuadro 2.4. Prueba Turkey del porcentaje de aceite para semillas con tres años, un año y recién colectadas.

Aceite	Media	Grupo
Recién colectadas	8.5578	BA
Un año	7.7578	B
Tres años	9.6067	A

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Y se observa que el mayor contenido de aceite lo presentaron las semillas con tres años y a diferencia de la longitud y ancho, en este caso no fue en orden de colecta la disminución siendo las de un año con menor cantidad de aceite, quedando las semillas con un año entre las recién colectadas y tres años.

2.3.2 Humedad

Para el caso de humedad, el análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas ($p < 0.05$), lo mismo que la prueba de comparación de medias y mínimas diferencias significativas, como se puede ver en el Cuadro 2.2. El contenido de humedad se encuentra entre 5.9 a 8.4 %, notándose que *L. uncinatus* Schlecht presenta variaciones por almacenamiento y fecha de colecta de semillas en cuanto al porcentaje de la humedad.

Y para identificar si son significativamente diferentes las colectas entre si se aplico Prueba de Turkey ver cuadro 2.5.

Cuadro 2.5. Prueba Turkey del porcentaje de humedad para semillas con tres años, un año y recién colectadas.

Humedad	Media	Grupo
Recién colectadas	8.398	B
Un año	5.433	A
Tres años	5.822	A

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Surgió un evento en donde las semillas con tres años y un año presentan una humedad de entre 5.4 y 5.8 a diferencia de semillas recién colectadas que tienen una mayor cantidad de humedad.

2.4 Conclusiones

L. uncinatus Schlectht, presenta variabilidad en cuanto a la producción de aceite, sin embargo la colecta con mayor cantidad de aceite fue la de tres años y la de menor cantidad fue la un año, al tratar de relacionar si la cantidad de agua presente en la semilla podría influir en el contenido de aceite fue negativo, debido a que en este caso la

colecta con mayor cantidad de agua recién colectadas y la colecta con menor cantidad de agua fueron tanto la colecta con tres años y un año; este comportamiento aparentemente está asociado con las condiciones climáticas, las características del suelo y la edad de la planta, parámetros que no fueron medidos en este estudio y no se puede correlacionar directamente con ellos. Pero se deduce que las semillas con mayor edad o tiempo de almacenamiento pierde humedad en un rango entre 5.4 y 5.8 para conservarse a diferencia de las frescas que es mayor la cantidad de humedad.

2.5 Literatura citada

Blade, F. Lopetinsky, K. Olson, M. Laflamme, P. and Phillips, C. 2004. High protein lupins: diversifying the pulse industry in western Canada. New directions for a diverse planet: Proceedings of the 4th International Crop Science Congress Brisbane, Australia , 26 September – 1 October 2004.

Borek, S., Pukacka, S., Michalski, K. and Ratajczak, L. 2009. Lipid and protein accumulation in developing seeds of three lupine species: *Lupinus luteus* L., *Lupinus albus* L., and *Lupinus mutabilis* Sweet. *Journal of Experimental Botany*, 60(12): 3453–3466

Boschin, G., D'Agostina, A., Annicchiarico, P. and Arnoldi, A. 2008. Genotypic and genotype-environmental effects on fatty Acid composition of *Lupinus albus* L. Seed. *Lupins for Health and Wealth' Proceedings of the 12th International Lupin Conference*, 14-18 Sept. 2008, Fremantle, Western Australia. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand. 321-323

Delwiche, C.C. 1978. Legumes: Past, Present, and Future. *BioScience*. 28(9):565-570

- Hulse, J.H. 1991.** Nature, composition and utilisation of grain legumes. P. 11-27. In: Uses of tropical Legumes: Proceedings of a Consultants Meeting, 27-30th March 1989, ICRISAT Centre. ICRISAT, Patancheru, A.P. 502 324 India.
- Levin, D.A. 1974.** The Oil Content of Seeds: An Ecological Perspective. The American Naturalist. 108(960):193-206
- Mohamed, A. and Rayas-Duarte, P. 1995.** Composition of *Lupinus albus*. American Association of Cereal Chemists. 72(6):643-647
- Roth, W.B. Carr, ME. Cull, I.M. Phillips, B.S. and Bagby, M.O. 1984.** Evaluation of 107 Legumes for Renewable Sources of Energy. Economic Botany 38(3):358-364
- Roth-Maier, D.A. and M. Kirchgessner. 1993.** Nutrient composition and nutritive value of white and yellow lupins (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) for pigs and poultry. Agribiological Research 46: 218-22
- Uzun, B., Arslan, C., Karhan, M. and Toker, C. 2007.** Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.). Food Chemistry 102: 45-49.
- Wilson, J.G. Clements, J.C. Quealy, J. and Hang, Y. 2008.** Development of an interspecific hybridization protocol for *Lupinus*. 'Lupins for Health and Wealth' Proceedings of the 12th International Lupin Conference, 14-18 Sept. 2008, Fremantle, Western Australia. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand. 147-151

CAPÍTULO III

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE SEMILLAS DE *Lupinus uncinatus* Schlecht.

Resumen

Se determinó el perfil de ácidos grasos en semillas de *L. uncinatus* Schlecht, donde se logró obtener datos para diferentes colectas de semillas de *L. uncinatus* Schlecht (tres años, Un año y recién colectadas), además de obtener el perfil por colecta, se desarrolló la cinética de los cambios para las semillas recién colectadas en tres tiempos (frescas, con tres meses y seis meses después de la colecta) logrando visualizar que los ácidos grasos si cambian con el tiempo.

3. Introducción

Las semillas, contienen una gran cantidad de fuentes de carbono como carbohidratos, lípidos y proteínas. Estas reservas son convertidas a metabolitos solubles que son transportados y utilizados en su desarrollo y respiración. En algunas semillas, la principal fuente de reserva son los aceites (Eastmond y Graham, 2001). En la germinación de semillas oleaginosas, a medida que estas se desarrollan, favorecen la concepción de que las grasas se conviertan en carbohidratos (Murlin, 1934; Canvin y Beevers, 1961). Los aceites vegetales están compuestos casi en su totalidad de moléculas de triacilgliceridos (TG), Figura 3.1 muestra una estructura típica de triglicéridos (Srivastava y Prasad, 2000), que se componen de tres ácidos grasos unidos a un esqueleto de glicerol, y representan una fuente renovable de las materias primas que pueden ser fácil y económicamente extraídos de las semillas (Cahoon *et al.*, 2007). La composición de triglicéridos (TG) en las semillas, determina las propiedades físicas

y químicas del aceite (Katavic *et al.*, 1995), durante el desarrollo de éstas (Kunst *et al.*, 1992) y, por tanto, su uso como aceite comestible o aplicaciones industriales (Katavic *et al.*, 1995).

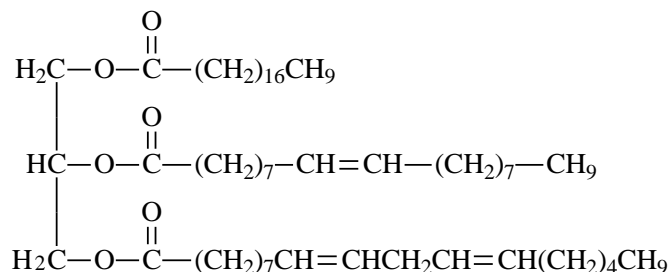


Figura 3.1. Estructura de una molécula típica de un triglicérido Srivastava y Prasad, 2000.

Debido a esto, muchos científicos agrícolas en diversas partes del mundo buscan usos prácticos para las plantas que actualmente no se cultivan. Cabe señalar, que el metabolismo de las plantas ha evolucionado y desarrollado la capacidad para producir una amplia gama de increíbles compuestos y diversas estructuras, incluyendo más de 20,000 diferentes terpenoides, flavonoides, alcaloides y ácidos grasos (Ohlrogge, 1994). El objetivo preferido de las investigaciones, han sido los aceites y grasas, especialmente las producidas por semillas de plantas con flores (Smith, 1985). Donde, los ácidos grasos han sido intensivamente explotados para usos industriales en productos tales como lubricantes, plastificantes y surfactantes. En efecto, una tercera parte de la producción de aceites vegetales en el mundo son utilizados actualmente para propósitos no alimentarios (Ohlrogge, 1994).

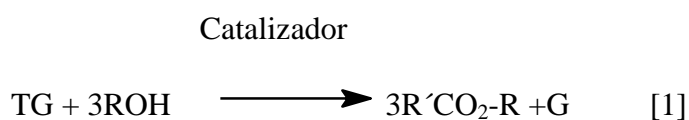
Comúnmente, el análisis de grasas totales en valor nutricional anteriormente consistía en la extracción de grasas crudas y se determinaban por método gravimétrico. El valor de este enfoque cambió con la aplicación de la Ley de etiquetado nutricional y educación de 1990 la cual define la grasa como la suma de los ácidos grasos mono-, di-

y triglicéridos. Esta definición requiere un análisis de los ácidos grasos por sí mismos, más que de triglicéridos o grasa cruda. Estos métodos se han desarrollado a lo largo de los años para el análisis de ácidos grasos en los alimentos. Por lo general, las grasas son extraídas de la matriz con diferentes disolventes orgánicos, mismas que se saponifica (hidrólisis ácida o básica) para formar ácidos grasos libres -AGL- (Cantellops *et al.*, 1999). También se utilizan enzimas como medio para separar ácidos grasos (Gryglewicz, 1999).

Varios métodos se utilizan actualmente para analizar los ácidos grasos (Kazal *et al.*, 1999, Mir *et al.*, 2002; Nuernberg *et al.*, 2002; Budge y Iverson, 2003, Cooper *et al.*, 2004). Estos métodos, sin embargo, no son necesariamente convenientes y con frecuencia debe ser optimizadas las condiciones de reacción, incluyendo el catalizador y la temperatura (Lewis *et al.*, 2000, Park *et al.*, 2002; Shahin *et al.*, 2003).

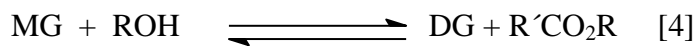
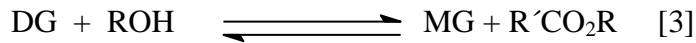
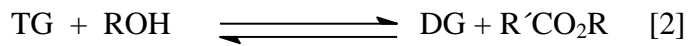
Los TG sufren tres reacciones por etapas con formación intermedia de diglicéridos (DG) y monoglicéridos (MG) y las consiguientes producción de 3 moles de ésteres metílicos (EM) y 1 mol de glicerol (G) de la siguiente manera (Darnoko y Cheryan, 2000).

La reacción global es (Darnoko y Cheryan, 2000):



Las reacciones por pasos son (Darnoko y Cheryan, 2000):

$$k_1$$



Después las mezclas de las reacciones de transesterificación, son analizadas por cromatografía de gases (Cantellops *et al.*, 1999).

Las estructuras de los ácidos grasos son designadas cotidianamente por una notación abreviada, C18:2, donde C18 indica lo largo de la cadena y el número después de los dos puntos el número de dobles enlaces (Ohlrogge, 1994). Los principales lípidos que se almacenan en semillas de las plantas superiores son ácidos grasos C16 y C18. Las semillas oleaginosas de las crucíferas y otras plantas también se acumulan algunos ácidos grasos C20 y C22, de cadena larga; debido a su longitud de la cadena relativamente más larga en comparación con los ácidos grasos más comunes en las plantas. La presencia de estos en los aceites vegetales afecta notablemente su uso. Es el caso del ácido erúico (C22:1), el cual tiene efectos negativos sobre la nutrición y por lo tanto no es deseable en los aceites comestibles. Por otra parte, los aceites vegetales ricos en ácido erúico se han encontrado muchos usos industriales: directamente como

combustible diesel y como materia prima para una amplia gama de productos, incluidas las pinturas, inhibidores de la corrosión, cosméticos, plásticos, productos farmacéuticos, y lubricantes (James *et al.*, 1995).

La composición de TG depende de la interacción de grupos diferentes de enzimas en la ruta de biosíntesis de lípidos. Las enzimas del ácido graso sintasa en el complejo de plástidos en el desarrollo de semillas son responsables de la biosíntesis de los ácidos grasos incluyendo hasta el ácido oleico (Katavic *et al.*, 1995). Los ácidos grasos desempeñan un papel crítico en las células como precursores metabólicos de las membranas biológicas y reservas de energía (Ross *et al.*, 2003).

Los ácidos grasos son sintetizados del acetil-CoA (acetil-Coenzima A) por una serie de reacciones localizadas en los plástidos (Figura 3.2). El conjunto de ácidos grasos y la introducción del primer doble enlace se produce mientras que estas estructuras se unen a ACP (proteína acarreadora de aciles por sus siglas en inglés Acyl Carrier Protein). Después de su liberación de ACP por la acción de una tioesterasa específica, los ácidos grasos pueden cruzar la membrana envolvente del plástido, tras lo cual estos son reesterificados a CoA (Coenzima A). El metabolismo y las modificaciones de los ácidos grasos se cree se produce principalmente por las enzimas de la membrana de restricción (ER). Estas reacciones incluyen la desaturación para introducir dobles enlaces adicionales y su formación, vía reacciones de aciltransferasa, de tres cadenas de acil en un esqueleto de glicerol para producir triglicéridos, está la forma de almacenamiento de ácidos en las semillas (Ohlrogge, 1994).

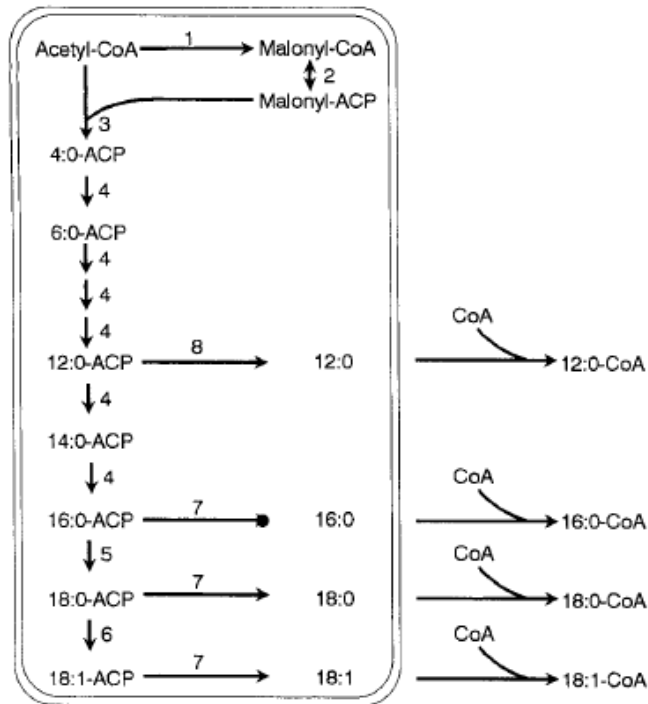


Figura 3.2. Esquema simplificado del metabolismo de ácidos grasos de plástidos. Malonil-ACP es también el co-sustrato de los dos carbonos donadores para cada reacción de condensación enzimática. Las enzimas representadas por números son: 1, acetil-CoA carboxilasa; 2, malonil-CoA:ACP transacilasa; 3, 3-cetoacil-ACP sintasa III; 4, 3-cetoacil-ACP sintasa I; 5, 3-cetoacil-ACP sintasa II; 6, estearoil-ACP desaturasa; 7, oleoil-ACP tioesterasa; 8, de cadena media acil-ACP tioesterasa. Además de 3-cetoacil-ACP sintasa, cada adición de dos carbonos requiere además la adición de 3-cetoacil-ACP reductasa, 3-hidroxiacil-ACP dehidrasa, y anoil-ACP reductasa (Ohlrogge, 1994).

Por una parte, el contraste dentro de la composición de ácidos grasos de los lípidos de la membrana de la planta, contra las reservas en forma de lípidos de las semillas, en estas se presentan dentro de una gran diversidad de ácidos grasos. Hasta la fecha, han sido descritos un número > 300 ácidos grasos, por otra parte se ha estimado que miles más podrían estar presentes en todo el reino vegetal. Las estructuras de estos ácidos grasos

pueden variar en longitud de la cadena 8-24 átomos de carbono, pueden tener dobles enlaces en posiciones inusuales, o nuevos grupos funcionales, tales como hidroxilo, epoxi, cíclico, halógeno o un grupo acetilénico en su cadena de acilo. Debido a su composición química estructuras se apartan significativamente de los ácidos grasos comunes y son por lo general sólo se encuentran en unas pocas especies vegetales, estos ácidos grasos se consideran inusuales. En muchos casos, los ácidos grasos inusuales son, el ácido graso mayoritario en los aceites de semillas de una especie vegetal (Millar, 2001).

En otro sentido, un estudio preliminar con *Lupinus* blanco, indicó que las semillas de éste puede contener de 4.7 a 10.6 % de aceite, lo cual depende de la ubicación de crecimiento y las condiciones ambientales. Este estudio también mostró variación para los ácidos grasos entre los genotipos de *Lupinus*. Sin embargo, las características de los aceites para éste no están bien establecidas (Bhardwaj *et al.*, 2004). La poca información sobre la influencia de los factores ambientales y agrícolas en la composición de los ácidos grasos para *Lupinus* ocasiona que los usuarios finales necesiten saber si la calidad de las colectas en los granos sobre los ácidos grasos diferentes dentro de la misma variedad se puede considerar homogénea o, por el contrario, pueden variar en función en el ambiente. Dado que, el ambiente ejerce una marcada influencia, dando preferencia a los lotes de granos que se producen bajo condiciones ambientales capaces de la maximizar su calidad (Boschin *et al.*, 2007)

La composición de ácidos grasos de *Lupinus* es comparable al aceite de soya (Jappe y Vieths, 2010). El contenido es también bastante alto en algunas especies, por ejemplo, *L. albus* del grupo mediterráneo que llega a un máximo de alrededor de 15 %, en

comparación con el 9 % en *L. luteus* y *L. angustifolius*. Varias especies americanas, como *L. elegans* y *L. mutabilis*, tienen un contenido de aceite de alrededor de 20 % de materia seca (Gustafsson y Gadd, 1964).

3.1 Materiales y método

Los ácidos grasos se prepararon por transesterificación de los lípidos usando CH_3OK de acuerdo al método oficial publicado en el Official Journal of European Union (Annex XB. 05/09/1991 No 1248/44), el cual ha sido aplicado ya en otras especies de *Lupinus* (Boschin et al., 2008). Empleando un cromatógrafo de gases Agilent 7890A con detector de ionización de flama, inyección automática Split usando el automuestreador modelo Agilent 7683, una columna HP-INNOWax (30 m x 0.320 mm x 0.25 μm número de catálogo 19091N-113Agilent). La configuración y condiciones analíticas del equipo fueron basadas en la norma UNE-EN ISO 5508:1996. Temperatura de entrada al inyector 250°C, temperatura del horno 50°C, constante durante 2 min, aumentando hasta 220°C a razón de 30°C/min, constante durante 20 min y acto seguido la temperatura se eleva nuevamente hasta 255°C con velocidad de calentamiento de 5 °C/min. Finalmente, la temperatura se mantuvo a 255°C durante 5 min (Postrun); la temperatura del detector 280°C y gases detector Hidrógeno 40 mL/min; aire 450 mL/min; helio 30 mL/min. Se utilizaron patrones de ácidos grasos para la comparación respectiva.

3.2 Resultados y discusión

El porcentaje de la composición del perfil de ácidos grasos de las semillas de *L. uncinatus* Schlecht con tres años, un año y recién colectadas se presentan en el Anexo

1 y el promedio del perfil de ácidos grasos en el Cuadro 3.1. El orden de abundancia del ácido graso es variable por semillas para el caso

Semillas con tres años lleva el siguiente orden de abundancia:

C18:2 *cis+trans* > C16:1 > C18:1 *cis+trans* > C18:3n3 > C18:0 > C22:0+C20:5 > C24:0 > C20:0 > C16:1 > C22:2 > C13:0 = C14:1 > C20:1 > C17:1 > C23:0 > C8:0 > C15:0 = C15:1 = C17:0 > C14:0 y esquemáticamente se presenta en la Figura 3.3.

Semillas con un año lleva el siguiente orden de abundancia:

C18:2 *cis+trans* > C16:1 > C18:1 *cis+trans* > C18:3n3 > C18:0 > C22:6 > C24:0 > C20:0 > C17:1 > C22:1n9 = C22:2 > C16:1 > C13:0 = C14:1 > C8:0 = C15:0 > C15:1 = C20:1 > C23:0 > C14:0 = C17:0 y esquemáticamente se presenta en la Figura 3.4.

Semillas recién colectadas lleva siguiente orden de abundancia:

C18:0 > C15:1 > C17:0 > C18:2 *cis + trans* > C22:6 > C24:1n9 > C20:3n3 > C22:0+C20:5 > C4:0 > C16:0 > C24:0 > C23:0 > C16:1 = C17:0 = C18:3n6 > C6:0 = C18:3n3 = C20:0 y esquemáticamente se presenta en la Figura 3.5.

Mostrando diferencias entre los tres ensayos, pero siendo más marcada la diferencia del perfil de ácidos grasos entre semillas recién colectadas contra un año y tres años.

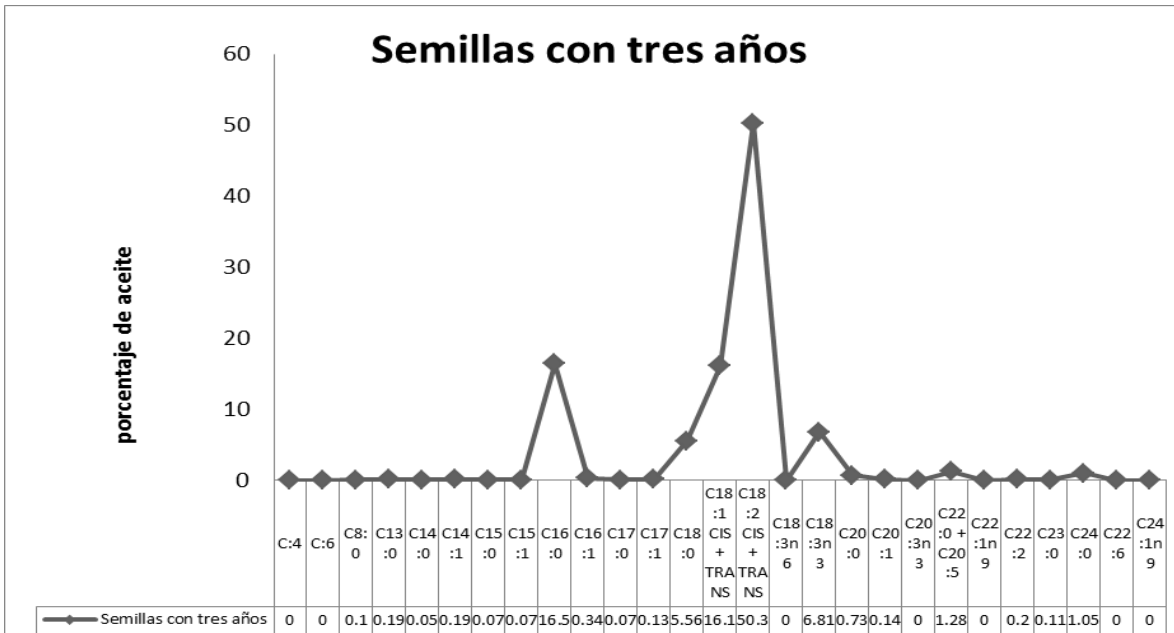


Figura 3.3 Gráfica de perfil de acidos grasos de semillas con tres años

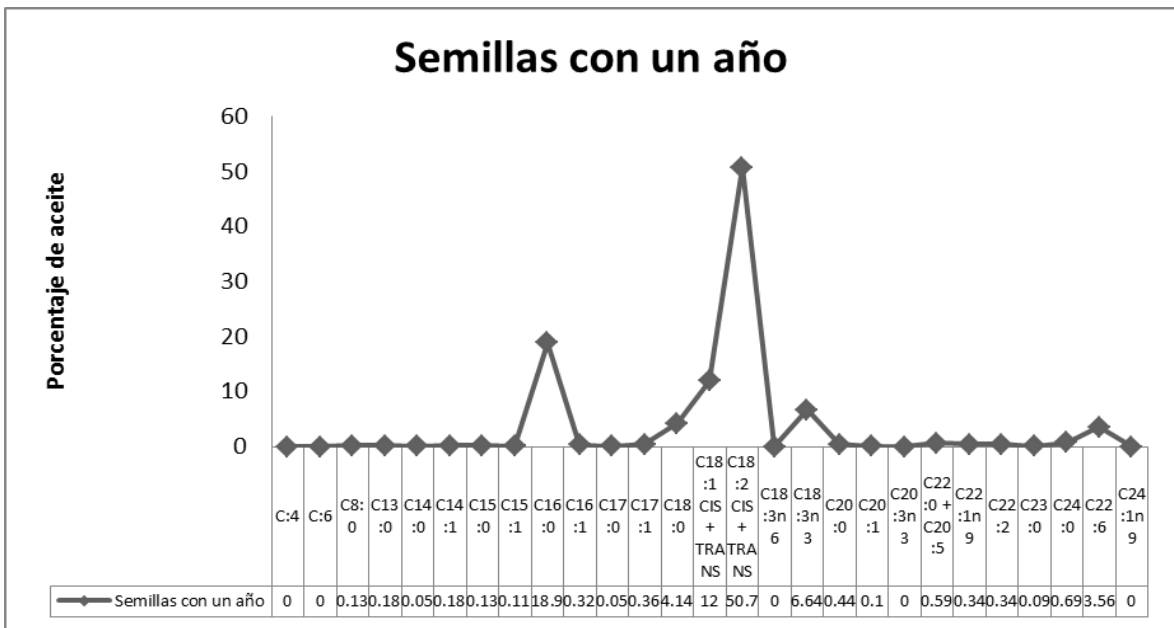


Figura 3.4 Gráfica de perfil de acidos grasos de semillas con un años

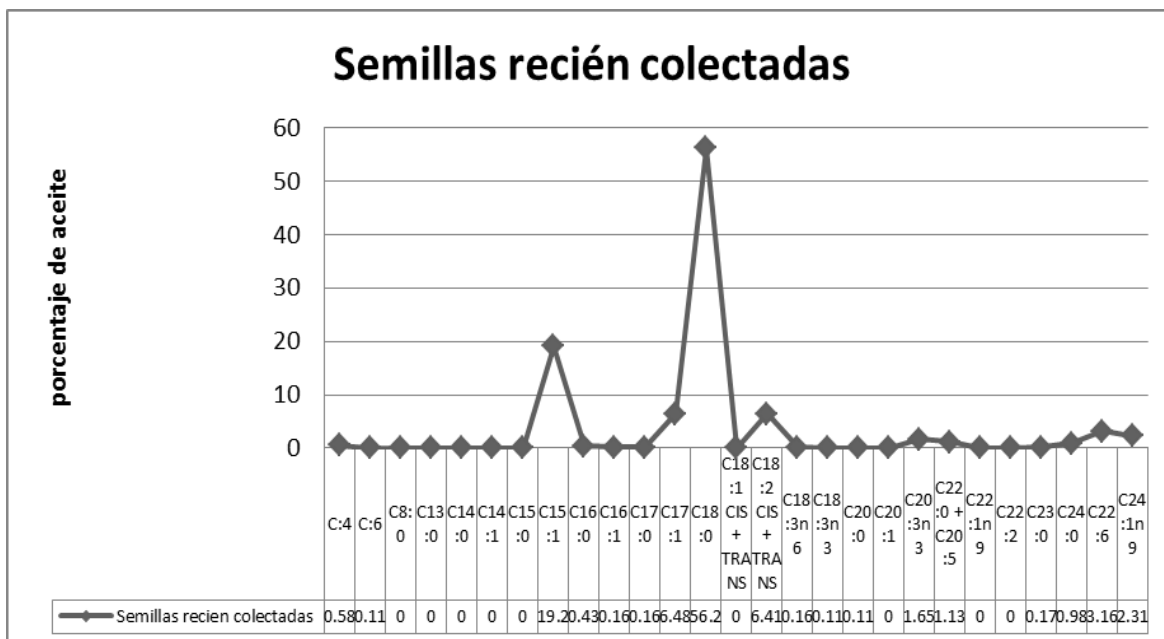


Figura 3.5 Gráfica de perfil de ácidos grasos de semillas recién colectadas

Como se observó que las semillas recién colectadas estaban aún verdes se procedió a almacenarlas en una caja de cartón a temperatura ambiente, y se sometieron a análisis de perfil de ácidos grasos a los tres meses y seis meses ver Anexo 1. Donde se observaron los cambios en la composición de estos. En el Cuadro 3.2 esta los valores promedios de los ácidos grasos para semillas recién colectadas.

En donde se aprecia que el contenido de aceites variaba enormemente siendo en un inicio el ácido esteárico el principal componente con un 56.23 % en semillas recién colectadas; a los tres meses este era de 30.15% y a los seis meses 4.06%.

En la literatura se dice que la presencia de la enzima delta 9- desaturasa participa en la conversión de ácido esteárico a ácido oleico (Grinari *et al.*, 2000). Como el cambio fue grande, se observó un aumento en C18:1 *cis+trans* a los seis meses. Al observar las

diferencias se procedió a comparar los resultados con lo reportado en la literatura, para otras especies de *Lupinus* ver cuadro 3.3.

Cuadro 3.1. Valores medios de perfil de ácidos grasos para semillas de *Lupinus uniconatus* Schlecht con tres años, un año y recién colectadas

COMPUESTO	FORMULA	Valores promedio		
		Semillas 3 años	Semillas 1 año	Semillas recién colectadas
ACIDO BUTIRICO	C:4	---	---	0.58±0.10
ACIDO CAPROICO	C:6	---	---	0.11±0.02
ACIDO CAPRILICO	C8:0	0.10±0.00	0.13±0.00	---
ACIDO TRIDECANOICO	C13:0	0.19±0.00	0.18±0.00	---
ACIDO MIRISTICO	C14:0	0.05±0.00	0.05±0.00	---
ACIDO MIRISTOLEICO	C14:1	0.19±0.00	0.18±0.00	---
ACIDO PENTADECANOICO	C15:0	0.07±0.00	0.13±0.00	---
ACIDO CIS-10-PENTADECENOICO	C15:1	0.07±0.00	0.11±0.00	19.16±0.83
ACIDO PALMITICO	C16:0	16.45±0.18	18.88±0.37	0.43±0.04
ACIDO PALMITOLEICO	C16:1	0.34±0.00	0.32±0.00	0.16±0.04
ACIDO HEPTADECANOICO	C17:0	0.07±0.00	0.05±0.00	0.16±0.03
ACIDO CIS-HEPTADECENOICO	C17:1	0.13±0.00	0.36±0.00	6.46±0.42
ACIDO ESTEARICO	C18:0	5.56±0.05	4.14±0.11	56.09±2.79
C18:1 CIS + TRANS	C18:1 CIS + TRANS	16.14±0.17	11.96±0.42	---
C18:2 CIS + TRANS	C18:2 CIS + TRANS	50.32±0.55	50.73±0.16	6.40±0.35
ACIDO GAMA-LINOLENICO	C18:3n6	---	---	0.16±0.03
ACIDO LINOLENICO	C18:3n3	6.81±0.09	6.64±0.34	0.11±0.02
ACIDO ARAQUIDICO	C20:0	0.73±0.01	0.44±0.00	0.11±0.00
ACIDO CIS-11-EICOSENOICO	C20:1	0.14±0.00	0.10±0.00	0.76±0.03
ACIDO CIS-11,14,17-EICOSATRIENOICO	C20:3n3	---	---	1.65±1.28
C22:0 + C20:5	C22:0 + C20:5	1.28±0.02	0.59±0.00	1.12±0.13
ACIDO ERUCICO	C22:1n9	---	0.34±0.00	---
ACIDO CIS-13,16-DOCOSADIENOICO	C22:2	0.20±0.00	0.34±0.00	---
ACIDO TRICOSANOICO	C23:0	0.11±0.00	0.09±0.00	0.18±0.03
ACIDO LIGNOCERICO	C24:0	1.05±0.01	0.69±0.12	0.97±0.00
DHA	C22:6	----	3.56±0.19	3.15±2.70
ACIDO NERVONICO	C24:1n9	---	---	2.31±0.29

± Desviación estándar

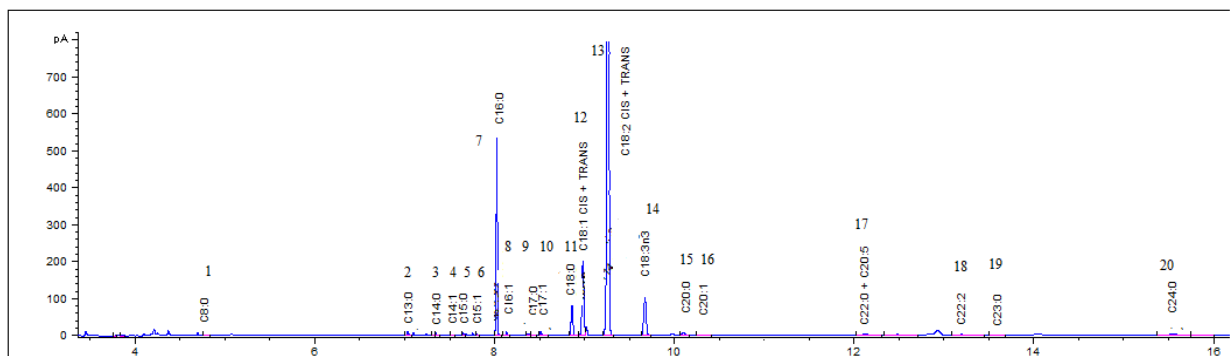


Figura 3.6. Cromatograma semillas con tres años *L. uncinatus* Schlecht

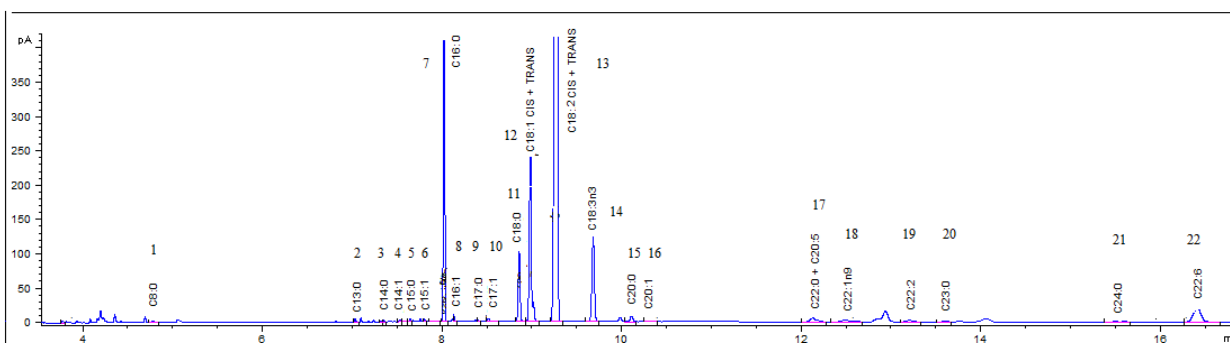


Figura 3.7. Cromatograma semillas con un año de *L. uncinatus* Schlecht

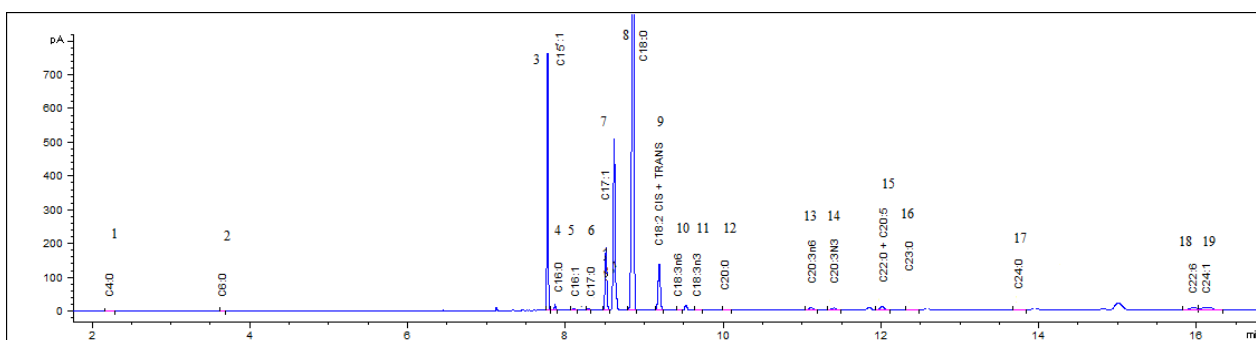


Figura 3.8. Cromatograma semilla recién colectadas de *L. uncinatus* Schlecht

Cuadro 3.2. Valores medios de perfil de ácidos grasos para semillas de *L. uncinatus* recién colectadas y su evaluación trimestral y semestral.

COMPUESTO	FORMULA	Valores promedio		
		Semillas recién colectadas	Semillas recién colectadas 3 meses	Semillas recién colectadas 6 meses
		%aceites	%aceites	%aceites
ACIDO BUTIRICO	C:4	0.58±0.10	---	3.61±0.30
ACIDO CAPROICO	C:6	0.11±0.11	1.94±0.07	---
ACIDO CAPRILICO	C8:0	---	1.11±0.10	---
ACIDO UNDECANOICO	C11:0	---	1.06±0.04	---
ACIDO LAURICO	C12:0	---	0.45±0.09	0.05±0.00
ACIDO TRIDECANOICO	C13:0	---	0.44±0.12	0.06±0.00
ACIDO MIRISTICO	C14:0	---	0.52±0.08	0.17±0.00
ACIDO MIRISTOLEICO	C14:1	---	0.87±0.06	0.12±0.01
ACIDO PENTADECANOICO	C15:0	---	0.47±0.05	0.04±0.00
ACIDO CIS-10-PENTADECENOICO	C15:1	19.16±0.83	10.17±0.86	0.05±0.00
ACIDO PALMITICO	C16:0	0.43±0.04	0.90±0.05	0.55±0.01
ACIDO PALMITOLEICO	C16:1	0.16±0.04	0.22±0.02	8.07±0.01
ACIDO HEPTADECANOICO	C17:0	0.16±0.03	---	0.08±0.00
ACIDO CIS-HEPTADECENOICO	C17:1	6.46±0.42	3.48±0.42	0.05±0.00
ACIDO ESTEARICO	C18:0	56.09±2.79	30.15±2.42	4.05±0.01
C18:1 CIS + TRANS	C18:1 CIS + TRANS	---	---	20.65±0.13
C18:2 CIS + TRANS	C18:2 CIS + TRANS	6.40±0.35	3.14±0.08	28.86±0.01
ACIDO GAMA-LINOLENICO	C18:3n6	0.16±0.03	0.18±0.01	0.12±0.00
ACIDO LINOLENICO	C18:3n3	0.11±0.02	0.19±0.01	0.62±0.01
ACIDO ARAQUIDICO	C20:0	0.11±0.00	0.33±0.05	0.16±0.00
ACIDO HENEICOSANOICO	C20:5	---	0.18±0.02	---
ACIDO ARAQUIDONICO	C20:4n6	---	0.43±0.03	---
ACIDO CIS-11-EICOSENOICO	C20:1	---	---	0.13±0.00
ACIDO CIS-8,11,14-EICOSATRIENOICO	C20:3n6	0.76±0.03	---	---
ACIDO CIS-11,14-EICOSADIENOICO	C20:2	---	---	0.09±0.01
ACIDO CIS-11,14,17-EICOSATRIENOICO	C20:3n3	1.65±1.28	6.64±0.98	---
C22:0 + C20:5	C22:0 + C20:5	1.12±0.13	9.93±0.28	0.08±0.01
ACIDO ERUCICO	C22:1n9	---	---	3.02±0.13
ACIDO CIS-13,16-DOCOSADIENOICO	C22:2	---	---	6.21±0.00
ACIDO TRICOSANOICO	C23:0	0.18±0.03	---	0.20±0.04
ACIDO LIGNOCERICO	C24:0	0.97±0.00	3.40±0.07	11.69±0.21
DHA	C22:6	3.15±2.70	10.93±0.74	10.05±0.12
ACIDO NERVONICO	C24:1n9	2.31±0.29	12.88±1.62	1.22±0.17

± Desviación típica

En un trabajo de 1966 se llegó a la conclusión que el ácido oleico es el precursor del ácido linoleico realizado en las hojas, donde existe una conversión lenta de ácido linoleico (Dutton y Mounts, 1966), entonces se ha visualizado en otros experimentos que durante la germinación existen cambios en los aceites vegetales, por ejemplo en *Medicago sativa*, la cantidad de triglicéridos (TAG) se redujo mientras que la de diacilglicéridos (DAG) y monoacilglicéridos (MAG) se incrementó. La composición de ácidos grasos de TAG no cambió, sino que de DAG y MAG mostró un aumento de la disminución de ácido linoleico y linolénico, y en ácidos palmítico y oleico. El contenido de ácidos grasos libres se mantuvo bastante constante, pero la composición de ácidos grasos se desplazado a una mayor saturación (Huang and Grunwald, 1990).

Otras investigaciones que se han realizado en algunas plantas como colza, cártamo, girasol, lino, ricino, las cuales se cultivaron a temperaturas de 10, 16, 21, y 26.5 ° C durante el período de desarrollo de la semilla. El contenido de aceite de girasol, cártamo, ricino no se vio afectada por la temperatura. Pero un mayor contenido de aceite en la colza y lino se encontró a la menor temperatura y una disminución continua se observó con el aumento de la temperatura. En las otras tres especies (colza, girasol, lino) se dispondrá de ácidos grasos altamente insaturados disminuyó a medida que la temperatura se incrementó. Este descenso estuvo acompañado de un aumento en el ácido oleico. Los niveles de ácidos grasos saturados en todas las especies no fueron afectadas por los cambios de temperatura (Canvin, 1961).

Generalmente se piensa que las plantas oleaginosas cultivadas en un clima más cálido producirán semillas que contengan menos grasas altamente insaturados que cuando

crece en un ambiente más frío (Wolf *et al.*, 1982), pero esto debe ser analizado y cuantificado por especie y área geográfica sin pretender generalizar. Sin embargo, la baja estabilidad oxidativa de los aceites vegetales, incluso sus antioxidantes naturales presentes son una limitante para los uso; la estabilidad oxidativa de un aceite por aire que pasa a través de una muestra en estricto control de la temperatura. Una corriente de aire pasa a través de la muestra de aceite, ayuda en la rápida degradación de los triglicéridos en ácidos orgánicos volátiles (Isbell *et al.*, 1999). La oxidación de compuestos olefínicos por el oxígeno atmosférico es importante en el desarrollo de la rancidez, en la producción de olores desagradables y en la polimerización de los aceites secantes. Los primeros productos aislables son hidroperóxidos insaturados. Estos son intermediarios transitorios que reaccionan dando, entre otros, compuestos con funciones carbonilo, los que a su vez pueden catalizar oxidaciones posteriores o descomponerse en compuestos indeseables. La calidad oxidada de los aceites tienen efectos significativos sobre su estabilidad durante el almacenamiento y sobre su valor nutricional (Grompone, 1991).

Entonces el contenido de aceite para la combinación de las muestras individuales de *L. uncinatus* Schlecht oscilaron entre 6.97 % a 9.64 % aproximadamente una media de 7.76 % \pm 1.11 desviaciones estándar. Estos valores parecen coincidir con datos de la literatura. El género *Lupinus* normalmente contiene 5 a 20 % de aceite. (Mohamed y Rayas Duarte, 1995), que es un parámetro muy grande. Como a continuación: Roth-Maier y Kirchgessner (1993) que los niveles de aceite en algunas variedades de *Lupinus* blanco (*Lupinus albus*) es del 7.6 %. Por otra parte Uzun *et al.* (2007) obtuvo 10.75 % en dos variedades de *L. albus*, mientras que Wilson *et al.* (2008) reportó *L. albus* con un contenido de 9 % de aceite; además de que Boschini *et al.* (2008) afirma que la semilla

de una variedad de *L. albus* L., contiene aproximadamente 9-14 % de aceite. Otros estudios (Borek *et al.*, 2009) en el informe de *L. albus* muestras que contienen 14.7 %. Por otra parte, en *L. angustifolius* se informó con un 6.4 %, y *L. mutabilis* con 16-20 % de aceite (Wilson *et al.*, 2008). Borek *et al.*, (2009) está de acuerdo en que *L. mutabilis* contiene alrededor del 20 % respecto a aceite de soya a partir de semillas secas, que puede variar del 12 al 26 %.

En promedio, los ácidos grasos se clasifican en el siguiente orden de abundancia para *L.uncinatus* Schlecht: para las semillas con tres años los TAGS (total de ácidos grasos saturados), el porcentaje fue 25%, con respecto a AGM (ácidos grasos monoinsaturados) 13% y AGP (ácidos grasos poliinsaturados) 63%. Datos de la literatura de *L. albus* AB47 presentaron para TAGS 25%, con respecto a ácidos grasos monoinsaturados 59% y 16% para ácidos grasos poli-insaturados (Boschin *et al*, 2008.) *L.albus* biovar astra para TAGS 12%, AGM 59% y AGP 29% (Gross, 1982); *L. albus* cv. Luxe para TAGS 27%, con respecto a ácidos grasos monoinsaturados un 55% y ácidos grasos poliinsaturados de 18% (Boschin *et al*, 2007; Boschin *et al*, 2008.) *L. angustifolius* para TAGS 18%, con respecto a ácidos grasos monoinsaturados un 40% y ácidos grasos poliinsaturados 43% (Pettersen *et al*, 1997; Yáñez *et al.*, 1983.) *L. angustifolius* para TAGS 22%, con respecto a ácidos grasos monoinsaturados un 32% y ácidos grasos poliinsaturados 45% (Blade *et al*, 2004.), *L. angustifolius* dulce con TAGS 15%, con respecto a ácidos grasos monoinsaturados un 35% y ácidos grasos poli-insaturados 45% (Uzun *et al*, 2007.); *L. exaltus* con TAGS 26%, con respecto a ácidos grasos monoinsaturados 14% y ácidos grasos poli-insaturados 60% (García-López *et al.*, 2001), *L. luteus* TAGS 18%, con respecto a ácidos grasos monoinsaturados 24% y ácidos grasos poli-insaturados 55% (Pettersen *et al.*, 1997; Yáñez *et al.*, 1983);

L. mexicanus con TAGS 26%, con respecto a de ácidos grasos monoinsaturados 17% y ácidos grasos poli-insaturados 56% (García-López *et al.*, 2001.) *L. montanus* con TAGS 34%, con respecto a ácidos grasos monoinsaturados 13% y ácidos grasos poli-insaturados 53% (García-López *et al.*, 2001.) *L. mutabilis* con TAGS 19%, con respecto a ácidos grasos monoinsaturados 54% y ácidos grasos poli-insaturados 28% (Schoeneberger *et al.*, 1982.) *L. mutabilis* amargo con TAGS 20%, con respecto a ácidos grasos monoinsaturados 41% y ácidos grasos poli-insaturados 40% (Bruto, 1982); *L. mutabilis* semi-dulce con TAGS 19%, con respecto a AGM 54% y AGP 29% (Gross, 1982); *L. stipulatus* con TAGS 37%, con respecto a ácidos grasos monoinsaturados 14% y ácidos grasos poli-insaturados 48 % y *L. varius* con TAGS 17% (García-López *et al.*, 2001.), en relación con AGM 19% y AGP 60% (Bagci *et al.*, 2004).

En otro sentido, se analizaron los datos de TAGS, AGM y AGP *L. uncinatus* Schlecht contra tres años y los reportados en la literatura, las especies amargas y dulces. En donde se observó que las especies dulces presentan bajo contenido de alcaloides y tienen un mayor porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados, en comparación con las especies que tienen una alta concentración de alcaloides, por un mayor porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, como se observó. Según las observaciones, las especificaciones de *L. uncinatus* Schlecht con tres años muestra tener una alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados, y esto podría generar que tenga una alta concentración de alcaloides. Pero va a ser una necesidad el análisis de alcaloides específicos frente a ácidos grasos para demostrar si esto es real.

Cuadro 3.3. Comparación de ácidos grasos en diferentes especies del género *Lupinus*

planta	4:0	6:0	8:0	11:0	12:0	13:0	14:0	14:1	15:0	15:1	16:0	16:1	17:0	17:1	18:0	18:1 trans+cis	18:1n7	Referencia
Lupinus	0.002	0.001	0.000	0.000	0.007	0.001	0.067	0.001	0.000	0.000	3.764	0.103	0.050	0.011	1.698	19.927	---	Suchý <i>et al.</i> , 2008
Lupinus agustifolius	---	---	---	---	---	---	0.2	---	---	---	11	0.1	---	---	3.8	---	1.9	Pettersson <i>et al.</i> , 1997; Yáñez <i>et al.</i> , 1983
Lupinus albus AB47 LE	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16.25	0.29	---	---	1.74	50.46	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus AB47 LL	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16.37	0.43	---	---	1.94	49.86	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus AB47 S	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16.83	0.50	---	---	2.63	47.98	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Biovar astra	---	---	---	---	---	---	0.2	---	---	---	7.2	0.4	---	---	2.1	57.3	---	Gross, 1982
Lupinus albus CH304/70	---	---	---	---	<0.01	---	0.11	---	---	---	6.10	0.32	---	---	1.47	50	---	Moss <i>et al.</i> , 1997
Lupinus albus CH304/73	---	---	---	---	<0.01	---	0.15	---	---	---	8.20	0.21	---	---	1.77	52.4	---	Moss <i>et al.</i> , 1997
Lupinus albus cv. Luxe F1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	15.56	0.36	---	---	3.91	52.09	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe F2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16.01	0.36	---	---	3.24	52.56	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe F3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	14.44	0.41	---	---	3.81	51.16	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe F4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	15.13	0.58	---	---	3.87	50.25	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	18.57	0.77	---	---	2.83	48.08	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	18.47	0.74	---	---	2.72	49.83	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	14.56	0.91	---	---	3.15	52.87	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16.48	0.67	---	---	2.74	51.56	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	15.87	0.47	---	---	2.76	42.86	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	14.93	0.45	---	---	2.48	45.80	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16.88	0.51	---	---	3.56	47.21	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	21.57	0.83	---	---	2.73	42.78	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	19.02	1.03	---	---	1.37	43.79	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ecotype LE	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16.47	0.54	---	---	2.27	48.73	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ecotype LL	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	17.71	0.60	---	---	1.34	47.5	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ecotype S	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	15.75	0.50	---	---	2.95	45.35	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus L	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	7.6	---	---	---	1.5	47.6	---	Uzun <i>et al.</i> , 2007
Lupinus albus Lucille LE	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	19.25	0.62	---	---	2.02	44.17	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Lucille LL	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	19.53	0.79	---	---	2.07	44.87	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Lucille S	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	19.85	0.54	---	---	2.52	45.09	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ludent LE	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	17.23	0.48	---	---	1.34	43.98	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008

Cuadro 3.3. Comparación de ácidos grasos en diferentes especies del género *Lupinus*

planta	4:0	6:0	8:0	11:0	12:0	13:0	14:0	14:1	15:0	15:1	16:0	16:1	17:0	17:1	18:0	18:1 trans+cis	18:1n7	Referencia
Lupinus albus Ludent LL	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	18.02	0.80	---	---	1.80	41.82	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ludent S	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	17.74	0.59	---	---	1.80	40.76	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Multitalia LE	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16.69	0.64	---	---	1.41	48.49	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Multitalia LL	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16.75	0.36	---	---	1.70	47.46	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Multitalia S	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	15.17	0.44	---	---	2.42	46.55	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus var. Astra	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Yáñez <i>et al.</i> , 1983
Lupinus albus var. Multotupa	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Pettersen <i>et al.</i> , 1997, Yáñez <i>et al.</i> , 1983
Lupinus albus var. Multolupa	---	---	---	---	---	---	0.2	---	---	---	8.0	0.9	---	---	1.7	50.4	---	http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmacologicas/massoni/01/4anexo1.html
Lupinus angustifolius F6-RF	---	---	---	---	---	---	0.21	---	---	---	11.47	---	0.08	---	5.85	32.8	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius G24	---	---	---	---	---	---	0.21	---	---	---	14.64	0.08	0.09	---	4.35	29.58	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius G28	---	---	---	---	---	---	0.20	---	---	---	14.04	0.08	0.09	---	5.14	31.06	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius G6	---	---	---	---	---	---	0.19	---	---	---	14.36	---	0.1	---	6.16	30.28	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius P12-1	---	---	---	---	---	---	0.18	---	---	---	11.68	0.00	0.08	---	4.93	36.04	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius Sweet	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10.3	---	---	---	4.8	34.9	---	Uzun <i>et al.</i> , 2007
Lupinus campetris	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Jiménez-Martínez <i>et al.</i> , 2003
Lupinus exaltus CG	---	---	---	---	---	---	0.20	---	---	---	20.00	0.2	---	---	4.8	13.8	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus exaltus CG	---	---	---	---	---	---	0.20	---	---	---	20.20	0.2	---	---	5.6	12.4	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus exaltus Z	---	---	---	---	---	---	0.20	---	---	---	20.60	0.1	---	---	6.6	13.8	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus luteus	---	---	---	---	---	---	TR	---	---	---	4.8	TR	---	---	2.5	---	0.70	Pettersen <i>et al.</i> , 1997, Yáñez <i>et al.</i> , 1983
Lupinus luteus L.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5.3	---	---	---	1.5	31.5	---	Uzun <i>et al.</i> , 2007
Lupinus mexicanus G	---	---	---	---	---	---	0.40	---	---	---	19.90	0.5	---	---	5.0	15.3	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus H	---	---	---	---	---	---	0.30	---	---	---	19.50	0.4	---	---	4.8	15.4	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus I	---	---	---	---	---	---	0.30	---	---	---	19.10	0.3	---	---	3.0	16.0	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus M	---	---	---	---	---	---	0.90	---	---	---	28.70	0.6	---	---	6.0	14.4	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus P	---	---	---	---	---	---	0.30	---	---	---	17.50	0.5	---	---	5.3	23.3	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus T	---	---	---	---	---	---	0.30	---	---	---	19.80	0.5	---	---	4.6	17.2	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus montanus B	---	---	---	---	---	---	0.70	---	---	---	27.30	0.7	---	---	6.9	17.1	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus montanus T	---	---	---	---	---	---	0.80	---	---	---	25.90	0.7	---	---	3.6	9.6	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus montanus T	---	---	---	---	---	---	0.90	---	---	---	25.70	0.6	---	---	3.7	9.9	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mutabilis	---	---	---	---	---	---	0.32	---	---	---	9.83	0.43	---	---	7.82	53.87	---	Schoeneberger <i>et al.</i> , 1982
Lupinus mutabilis amargo	---	---	---	---	---	---	0.6	---	---	---	13.4	0.2	---	---	5.7	40.4	---	Gross, 1982
Lupinus mutabilis L.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0.6	---	---	---	3	41.7	---	Uzun <i>et al.</i> , 2007

Cuadro 3.3. Comparación de ácidos grasos en diferentes especies del género *Lupinus*

planta	4:0	6:0	8:0	11:0	12:0	13:0	14:0	14:1	15:0	15:1	16:0	16:1	17:0	17:1	18:0	18:1 trans+cis	18:1n7	Referencia
<i>Lupinus mutabilis</i> semi-dulce	---	---	---	---	---	---	0.3	---	---	---	9.8	0.4	---	---	7.8	53.9	---	Gross, 1982
<i>Lupinus stipulatus</i> ME	---	---	---	---	---	---	0.80	---	---	---	26.40	0.7	---	---	7.6	13.7	---	García-López <i>et al.</i> , 2001
<i>Lupinus uncinatus</i> 3 años	---	---	0.1	---	---	0.19	0.05	0.19	0.07	0.07	16.45	0.34	0.07	0.13	5.26	16.14	---	
<i>Lupinus uncinatus</i> 1 año	---	---	0.13	---	---	0.18	0.05	0.18	0.13	0.11	19.60	0.32	0.05	0.38	4.30	12.42	---	
<i>Lupinus uncinatus</i> recién coletadas	0.58	0.11	---	---	---	---	---	---	---	19.16	0.43	0.16	0.16	6.48	56.23	---	---	
<i>Lupinus uncinatus</i> recién coletadas 3 meses	---	1.94	1.11	1.06	0.45	0.44	0.52	0.87	0.47	10.17	0.90	0.22	---	3.48	30.15	---	---	
<i>Lupinus uncinatus</i> recién coletadas 6 meses	3.61	---	---	---	0.05	0.06	0.17	0.12	0.04	0.05	0.55	8.07	0.08	0.05	4.05	20.65	---	
<i>Lupinus varius</i>	---	---	---	---	---	---	0.0	---	---	---	12.8	0.0	0.0	---	3.8	19.1	---	Bagci <i>et al.</i> , 2003

Cuadro 3.3. Comparación de ácidos grasos en diferentes especies del género *Lupinus*

planta	18:1n9trans	18:1n9cis	18:2 n6 cis+trans	18:3 n3	18:3 n6	20:0	20:1	20:2	20:3	20:3n6	20:4	21:0	20:4n6	20:3n3	referencia
Lupinus	---	---	19.4	4.515	---	---	1.127	0.101	---	0.000	---	0.041	0.000	0.014	Suchy <i>et al.</i> , 2008
Lupinus agustifolius	4.0	33.5	37.1	5.3	---	0.9	0.3	0.4	0.2	---	0.0	---	---	---	Peterson <i>et al.</i> , 1997, Yáñez <i>et al.</i> , 1983
Lupinus albus AB47 LE	---	---	9.49	5.40	---	1.28	6.93	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus AB47 LL	---	---	9.78	5.50	---	1.26	6.87	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus AB47 S	---	---	9.98	6.58	---	1.65	6.46	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Biovar astra	---	---	21.3		8.2	1.3	---	---	---	---	---	---	---	---	Gross, 1982
Lupinus albus CH304/70	---	---	17.4	10.6	<0.01	1.07	5.22	0.49	<0.01	---	<0.01	---	---	---	Moss <i>et al.</i> , 1997
Lupinus albus CH304/73	---	---	16.1	70.1	<0.01	1.41	52.8	<0.01	<0.01	---	<0.01	---	---	---	Moss <i>et al.</i> , 1997
Lupinus albus cv. Luxe F1	---	---	9.85	5.94	---	2.03	4.4	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe F2	---	---	10.09	5.58	---	2.00	4.5	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe F3	---	---	10.93	6.78	---	2.3	4.24	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe F4	---	---	10.06	6.33	---	2.22	4.78	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L1	---	---	10.74	5.31	---	1.74	4.92	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L2	---	---	10.07	5.34	---	1.61	4.86	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L3	---	---	9.20	4.81	---	1.94	5.3	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L4	---	---	10.41	5.58	---	1.67	4.48	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S1	---	---	17.23	9.02	---	1.73	3.98	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S2	---	---	16.78	8.57	---	1.78	3.86	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S3	---	---	12.80	6.55	---	1.99	4.57	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S4	---	---	13.41	5.97	---	1.71	4.43	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S5	---	---	14.16	8.33	---	1.67	4.04	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ecotype LE	---	---	7.79	5.56	---	1.55	6.78	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ecotype LL	---	---	8.29	5.91	---	1.31	5.92	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ecotype S	---	---	10.46	6.60	---	1.89	6.60	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus L	---	---	20.3	---	9.2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Uzun <i>et al.</i> , 2007
Lupinus albus Lucille LE	---	---	13.40	7.38	---	1.27	5.16	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Lucille LL	---	---	12.18	7.33	---	1.46	4.97	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Lucille S	---	---	11.83	7.52	---	1.43	4.99	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008

Cuadro 3.3. Comparación de ácidos grasos en diferentes especies del género *Lupinus*

planta	18:1n9trans	18:1n9cis	18:2 n6 cis+trans	18:3 n3	18:3 n6	20:0	20:1	20:2	20:3	20:3n6	20:4	21:0	20:4n6	20:3n3	referencia
Lupinus albus Ludent LE	---	---	13.80	9.04	---	1.33	5.62	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ludent LL	---	---	13.64	8.95	---	1.20	6.28	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ludent S	---	---	15.81	10.36	---	1.15	5.01	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Multitalia LE	---	---	8.81	6.94	---	1.25	6.69	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Multitalia LL	---	---	9.43	7.40	---	1.20	6.31	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Multitalia S	---	---	11.27	8.78	---	1.42	6.35	---	---	---	---	---	---	---	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus var. Astra	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Yáñez <i>et al.</i> , 1983
Lupinus albus var. Multotupa	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Petterson <i>et al.</i> , 1997, Yáñez <i>et al.</i> , 1983
Lupinus albus var. Multolupa	---	---	21.2	9.1	---	traza	4.5	---	---	---	---	---	---	---	http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/massoni01/4anexo1.html
Lupinus angustifolius F6-RF	---	---	40.99	5.36	---	0.79	0.23	0.00	---	---	0.11	0.08	---	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius G24	---	---	41.76	5.1	---	0.76	0.26	0.00	---	---	0.14	0.09	---	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius G28	---	---	40.88	4.63	---	0.84	0.24	0.00	---	---	0.13	0.09	---	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius G6	---	---	39.29	5.06	---	0.98	0.28	0.00	---	---	0.16	0.09	---	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius P12-1	---	---	38.19	5.36	---	0.79	---	0.00	---	---	0.12	0.08	---	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius Sweet	---	---	37.0	---	6.2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Uzun <i>et al.</i> , 2007
Lupinus campetris	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Jiménez-Martínez <i>et al.</i> 2003
Lupinus exaltus CG	---	---	53.4	7.6	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus exaltus CG	---	---	54.4	7.1	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus exaltus Z	---	---	52.0	6.7	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus luteus	---	20.3	47.3	8.0	---	2.6	1.8	---	---	---	---	---	---	---	Petterson <i>et al.</i> , 1997, Yáñez <i>et al.</i> , 1983
Lupinus luteus L.	---	---	46.9	---	4.2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Uzun <i>et al.</i> , 2007
Lupinus mexicanus G	---	---	50.8	8.6	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus H	---	---	51.6	8.0	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus I	---	---	51.7	7.7	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus M	---	---	34.8	10.9	---	1.3	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus P	---	---	47.5	5.6	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus T	---	---	49.5	8.1	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus montanus B	---	---	32.4	12.6	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus montanus T	---	---	43.0	14.2	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus montanus T	---	---	42.3	14.6	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mutabilis	---	---	25.89	2.57	---	0.62	---	---	---	---	---	---	---	---	Schoeneberger <i>et al.</i> , 1982
Lupinus mutabilis amargo	---	---	37.1	---	2.9	0.2	---	---	---	---	---	---	---	---	Gross, 1982

Cuadro 3.3. Comparación de ácidos grasos en diferentes especies del género *Lupinus*

planta	18:1n9trans	18:1n9cis	18:2 n6 cis+trans	18:3 n3	18:3 n6	20:0	20:1	20:2	20:3	20:3n6	20:4	21:0	20:4n6	20:3n3	referencia
<i>Lupinus mutabilis</i> L.	---	---	38.8	---	2.6	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Uzun <i>et al.</i> , 2007
<i>Lupinus mutabilis</i> semi-dulce	---	---	25.9	---	2.6	0.6	---	---	---	---	---	---	---	---	Gross, 1982
<i>Lupinus stipulatus</i> ME	---	---	37.0	11.3	---	NP	---	---	---	---	---	---	---	---	García- López <i>et al.</i> , 2001
<i>Lupinus uncinatus</i> 3 años	---	---	50.3	6.81	---	0.73	0.14	---	---	---	---	---	---	---	
<i>Lupinus uncinatus</i> 1 año	---	---	50.6	6.86	---	0.46	0.11	---	---	---	---	---	---	---	
<i>Lupinus uncinatus</i> recién coletadas	---	---	6.4	0.11	0.16	0.11	---	---	---	0.75	---	---	---	---	1.65
<i>Lupinus uncinatus</i> recién coletadas 3 meses	---	---	3.1	0.19	0.18	0.33	---	---	---	---	---	---	0.43	---	6.64
<i>Lupinus uncinatus</i> recién coletadas 6 meses	---	---	28.9	0.62	0.12	0.16	0.13	0.09	---	---	---	---	---	---	
<i>Lupinus varius</i>	---	---	57.8	---	2.1	0.0	0.0	0.0	---	---	---	---	---	---	Bagci <i>et al.</i> , 2003

Cuadro 3.3. Comparación de ácidos grasos en diferentes especies del género *Lupinus*

planta	20:5n3	22:0	22:0+20:5	22:1	22:1n9	22:2	23:0	24:0	22:6	24:1	Contenido de aceite en porcentaje de peso	referencia
Lupinus	0.003	1.731	---		0.403	0.038	0.085	0.387	0.000	0.017	---	Suchý <i>et al.</i> , 2008
Lupinus agustifolius	---	1.90	---	<0.01	---	---	---	0.4	---	---	5.6	Petterson <i>et al.</i> , 1997, Yáñez <i>et al.</i> , 1983
Lupinus albus AB47 LE	---	5.20	---	2.96	---	---	---	---	---	---	9.40	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus AB47 LL	---	5.20	---	2.78	---	---	---	---	---	---	9.40	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus AB47 S	---	5.44	---	1.95	---	---	---	---	---	---	9.40	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Biovar astra	---	1.0	---	---	0.9	---	---	---	---	---	---	Gross, 1982
Lupinus albus CH304/70	---	4.04	---	2.28	---	---	---	0.92	---	---	11.1	Moss <i>et al.</i> , 1997
Lupinus albus CH304/73	---	4.48	---	1.98	---	---	---	1.03	---	---	10.5	Moss <i>et al.</i> , 1997
Lupinus albus cv. Luxe F1	---	5.05	---	0.82	---	---	---	---	---	---	13.61	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe F2	---	4.75	---	0.91	---	---	---	---	---	---	13.17	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe F3	---	5.09	---	0.82	---	---	---	---	---	---	12.74	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe F4	---	5.65	---	1.12	---	---	---	---	---	---	11.89	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L1	---	5.57	---	1.47	---	---	---	---	---	---	8.45	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L2	---	4.99	---	1.36	---	---	---	---	---	---	8.8	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L3	---	5.99	---	1.28	---	---	---	---	---	---	7.97	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe L4	---	5.19	---	1.23	---	---	---	---	---	---	9.39	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S1	---	5.37	---	0.7	---	---	---	---	---	---	9.45	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S2	---	5.11	---	0.51	---	---	---	---	---	---	10.37	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S3	---	5.15	---	0.78	---	---	---	---	---	---	10.44	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S4	---	5.66	---	0.89	---	---	---	---	---	---	7.69	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus cv. Luxe S5	---	5.72	---	0.86	---	---	---	---	---	---	6.98	Boschin <i>et al.</i> , 2007; Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ecotype LE	---	6.25	---	4.06	---	---	---	---	---	---	10.55	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ecotype LL	---	6.56	---	4.84	---	---	---	---	---	---	10.55	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ecotype S	---	7.20	---	2.70	---	---	---	---	---	---	10.55	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus L	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10.7	Uzun <i>et al.</i> , 2007
Lupinus albus Lucille LE	---	4.83	---	1.90	---	---	---	---	---	---	9.08	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Lucille LL	---	4.81	---	1.78	---	---	---	---	---	---	9.08	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Lucille S	---	4.87	---	1.35	---	---	---	---	---	---	9.08	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ludent LE	---	5.20	---	1.98	---	---	---	---	---	---	9.26	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Ludent LL	---	5.25	---	2.25	---	---	---	---	---	---	9.26	Boschin <i>et al.</i> , 2008

Cuadro 3.3. Comparación de ácidos grasos en diferentes especies del género *Lupinus*

planta	20:5n3	22:0	22.0+20:5	22:1	22:1n9	22:2	23:0	24:0	22:6	24:1	Contenido de aceite en % de peso	referencia
Lupinus albus Ludent S	---	5.36	---	1.43	---	---	---	---	---	---	9.26	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Multitalia LE	---	5.56	---	3.52	---	---	---	---	---	---	9.23	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Multitalia LL	---	5.94	---	3.44	---	---	---	---	---	---	9.23	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus Multitalia S	---	5.48	---	2.14	---	---	---	---	---	---	9.23	Boschin <i>et al.</i> , 2008
Lupinus albus var. Astra	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10.7	Yáñez <i>et al.</i> , 1983
Lupinus albus var. Multotupa	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	12.8	Petterson <i>et al.</i> , 1997, Yáñez <i>et al.</i> , 1983 http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/masson01/4anexo1.html
Lupinus albus var. Multolupa	---	---	---	1.3	---	---	---	---	---	---	---	---
Lupinus angustifolius F6-RF	---	1.58	---	---	---	---	---	0.31	---	0.00	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius G24	---	2.20	---	---	---	---	---	0.40	---	0.00	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius G28	---	2.10	---	---	---	---	---	0.37	---	0.00	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius G6	---	2.31	---	---	---	---	---	0.49	---	0.00	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius P12-1	---	1.78	---	---	---	---	---	0.37	---	0.00	---	Blade <i>et al.</i> , 2004
Lupinus angustifolius Sweet	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5.9	Uzun <i>et al.</i> , 2007
Lupinus campetris	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	13.1	Jiménez-Martínez <i>et al.</i> 2003
Lupinus exaltus CG	---	NP	---	NP	---	---	---	---	---	---	7.9	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus exaltus CG	---	NP	---	NP	---	---	---	---	---	---	7.9	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus exaltus Z	---	NP	---	NP	---	---	---	---	---	---	10.4	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus luteus	---	7.10	---	0.8	---	---	---	0.8	---	---	5.4	Petterson <i>et al.</i> , 1997, Yáñez <i>et al.</i> , 1983
Lupinus luteus L.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5.6	Uzun <i>et al.</i> , 2007
Lupinus mexicanus G	---	NP	---	NP	---	---	---	---	---	---	8.0	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus H	---	NP	---	NP	---	---	---	---	---	---	7.1	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus I	---	NP	---	NP	---	---	---	---	---	---	6.0	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus M	---	0.2	---	---	---	---	---	---	---	---	7.4	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus P	---	NP	---	NP	---	---	---	---	---	---	8.0	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mexicanus T	---	NP	---	NP	---	---	---	---	---	---	5.7	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus montanus B	---	2.3	---	NP	---	---	---	---	---	---	11.5	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus montanus T	---	2.3	---	NP	---	---	---	---	---	---	8.9	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus montanus T	---	2.2	---	NP	---	---	---	---	---	---	8.5	García- López <i>et al.</i> , 2001
Lupinus mutabilis	---	0.50	---	---	---	---	---	---	---	---	---	Schoeneberger <i>et al.</i> , 1982
Lupinus mutabilis amargo	---	0.2	---	---	n/a	---	---	---	---	---	---	Gross, 1982
Lupinus mutabilis L.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16.0	Uzun <i>et al.</i> , 2007
Lupinus mutabilis semi-dulce	---	0.5	---	---	n/a	---	---	---	---	---	---	Gross, 1982
Lupinus stipulatus ME	---	2.5	---	NP	---	---	---	---	---	---	11.4	García- López <i>et al.</i> , 2001

Cuadro 3.3. Comparación de ácidos grasos en diferentes especies del género *Lupinus*

planta	20:5n3	22:0	22.0+20:5	22:1	22:1n9	22:2	23:0	24:0	22:6	24:1	Contenido de aceite en porcentaje de peso	referencia
Lupinus uncinatus 3 años	---	---	1.28	---	---	0.20	0.11	1.05	---	---	9.61	
Lupinus uncinatus 1 año	---	---	0.61	---	0.35	0.35	0.09	0.71	2.69	---	7.76	
Lupinus uncinatus recién coletadas	---	---	1.13	---	---	---	0.17	0.98	3.16	2.31	8.6	
Lupinus uncinatus recién coletadas 3 meses	---	---	9.93	---	---	---		3.4	10.93	12.88	---	
Lupinus uncinatus recién coletadas 6 meses	---		0.08	---	3.02	6.21	0.2	11.69	10.06	1.22	---	
Lupinus varius	---	0.8	---	0.0	---	---	---	0.0	---	---	26.1	Bagci <i>et al.</i> , 2003

3.3 Conclusiones

El género *Lupinus*, es uno de los menos estudiados en México, por ello los resultados en la presente investigación se tienen datos relevantes de *L. uncinatus* Schlecht, lo que representa una contribución importante al conocimiento del perfil de ácidos grasos del género y en específico de esta especie en el área de estudio. La cuantificación de los ácidos grasos se realizó en diferentes etapas de crecimiento o almacenamiento; las semillas recién colectadas (verdes) presentaron mayor cantidad de aceite saturado pero la eficiencia en cuanto a la cantidad de aceite permaneció igual en cualquier etapa de las semillas con pequeñas variaciones las cuales pueden ser asociadas a factores climáticos, ningún parámetro ambiental se cuantificaron en este trabajo. Para semillas con tres años y un año la presencia de aceites insaturados es la que predomina. Tal comportamiento presentado como es el caso del ácido oleico (18:1 n-9) que se sabe es uno de los más abundante en los aceites vegetales de las semillas, el cual que se puede biosintetizar a partir del ácido esteárico (18:0), como parte de su metabolismo primario. Además, ahora se sabe que la mayor concentración de aceite de semillas sin madurar predomina el ácido esteárico y al transcurrir el tiempo cambia, donde el metabolismo primario sigue trabajando en la semilla como material de conservación y reserva, a su vez influye mucho el momento de su colecta y condiciones de almacenamiento. Y esto al comparar con otras especies, da indicios sobre la concentración de alcaloides separando las especies en dulces y amargas en relación a su perfil de ácidos grasos.

3.4 Literatura citada

- Bagci E, Brueh LI, Özçelik H, Aitzetmuller K, Vural M and Sahim A. 2004.** Un estudio de los patrones de ácidos grasos y tococromanoles de algunas plantas Fabaceae (Leguminosae) de Turquía. *Grasas y Aceites*. 55(4): -384
- Bhardwaj, H., Hamama A. and van Santen, E. 2004.** Fatty Acids and Oil Content in White Lupin Seed as Affected by Production Practices. *Journal of the American Oil Chemists' Society* . 81 (11): 1035-1038
- Blade, S., Lopetinsky, K., Olson, M., Laflamme, P. and Phillips, C. 2004.** High protein lupins: diversifying the pulse industry in western Canada. 4th International Crop Science Congress. Brisbane, Australia, 26 Sep – 1 Oct 2004
- Borek, S., Pukacka, S., Michalski, K. and Ratajczak, L. 2009.** Lipid and protein accumulation in developing seeds of three lupine species: *Lupinus luteus L.*, *Lupinus albus L.*, and *Lupinus mutabilis Sweet*. *Journal of Experimental Botany*, 60: 3453–3466
- Boschin, G., D'Agostina, A., Annicchiarico, P., and Arnoldi, A. 2007.** The fatty acid composition of the oil from *Lupinus albus* cv. Luxe as affected by environmental and agricultural factors. *European Food Research and Technology*, 225, 769–776.
- Boschin, G., D'Agostina, A., Annicchiarico, P., and Arnoldi, A. 2008.** “Effect of genotype and environment on fatty acid composition of *Lupinus albus* L. seed”, *J Food Chem*. 108.:600-606
- Budge, S. M., and S. J. Iverson. 2003.** Quantitative analysis of fatty acid precursors in marine samples: direct conversion of wax ester alcohols and dimethylacetals to FAMES. *J. Lipid Res*. 44:1802-1807.

- Cahoon, E.B., Shockey, J.M., Dietrich, C.R., Gidda, S.K., Mullen, R.T. and Dyer, J.M. 2007.** Engineering oilseeds for sustainable production of industrial and nutritional feedstocks: solving bottlenecks in fatty acid flux. *Curr Opin Plant Biol* 10: 236–244
- Cantellops, D., Reid, P., Eitenmiller, R. and Long, A. 1999.** Determination of Lipids in Infant Formula Powder by Direct Extraction Methylation of Lipids and Fatty Acid Methyl Esters (FAME) Analysis by Gas Chromatography. *Journal of AOAC International* 82(5): 1128-1139
- Canvin, D.T. and Beevers, H. 1961.** Sucrose Synthesis from Acetate in the Germinating Castor Bean: Kinetics and Pathway* *J Biol Chem* 236:988–995
- Cooper, S. L., L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, K. G. Hallett, M. Enser, and Wood, J. D. 2004.** Manipulation of the n-3 polyunsaturated fatty acid content of muscle and adipose tissue in lambs. *J. Anim. Sci.* 82:1461-1470.
- Darnoko, D., and Cheryan, M. 2000.** Kinetics of Palm Oil Transesterification in a Batch Reactor, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 77:1263–1267.
- Dutton, H.J. and Mounts, T.L. 1966.** Desaturation of fatty acids in seeds of higher plants. *J Lipid Res* 7: 221-225
- Eastmond, P.J., and Graham, I.A. 2001.** Re-examining the role of the glyoxylate cycle in oilseeds. *Trends Plant Sci.* 6:72–78.
- Garcia- Lopez, P.M., Muzquiz, M.A., Lopez-Ruiz, M.A., Zamora-Natera, J.F., Burbano, C., Pedrosa, M.M., Cuadrado, C., Garzón-De la Mora, P. 2001.** Chemical composition and Fatty Acid Profile of several Mexican wild Lupins, *Journal of Food Composition and Analysis*, 14:645-651.

- Griinari, J.M., Corl, B.A., Lacy, S.H., Chouinard, P.Y., Nurmela, K.V.V. and Bauman, D.E. 2000.** Conjugated Linoleic Acid Is Synthesized Endogenously in Lactating Dairy Cows by Δ^9 -Desaturase. *Journal of Nutrition* 130:2285-2291.
- Grompone, M.A. 1991.** Propiedades físicas y químicas de las grasas bovinas fraccionadas e interesterificadas. *Grasas y aceites*. 42: 349-355
- Gross, R. 1982.** Situación Actual de la Investigación Alimentaria del lupino. Proyecto Lupino. I Instituto Nacional de Nutrición. Lima - Perú. *Int. N° 8*:142-167
- Gryglewicz, S. 1999.** Rapeseed oil methyl esters preparation using heterogeneous catalysts. *Bioresource Technology* 70: 249-253
- Gustafsson, A. and Gadd, W. 1964.** Mutations and Crop Improvement. 11. The Genus lupines (Leguminosae). *HERE* 53(3):15-39
- Huang, L., and C. Grunwald. 1990.** Lipid and Fatty Acid Changes During Germination of Alfalfa Seeds, *Phytochemistry* 29:1441–1445.
- Isbell, T.A., T.P. Abbott, and Carlson, K.D. 1999.** Oxidative Stability Index of Vegetable Oils in Binary Mixtures with Meadowfoam Oil, *Ind. Crops Prod.* 9 : 115–123.
- Jappe, U. and Vieths, S. 2010.** Lupine, a source of new as well as hidden food allergens. *Mol. Nutr. Food Res* 54: 113–126
- James, D.W., Lim, E., Keller, J., Plooy, I., Ralston, E., and Dooner, H.K. 1995.** Directed tagging of the *Arabidopsis FATTY ACID ELONGATION (FAE1)* gene with the maize transposon activator. *Plant Cell* 7:309–319.

- Jiménez-Martínez, C., Hernández-Sánchez, H. and Dávila-Ortiz, G. 2003.**
Production of a yogurt-like product from *Lupinus campestris* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83:513-522
- Katavic, V., Reed, D.W., Taylor, D.C., Giblin, E.M., Barton, D.L., Zou, J., Mackenzie, S.L., Covello, P.S. and Kunst, L. 1995.** Alteration of seed fatty acid composition by an ethyl methanesulfonate-induced mutation in *Arabidopsis thaliana* affecting diacylglycerol acyltransferase activity. *Plant Physiol* 108: 399-409
- Kazala, E.C., F. J. Lozeman, P. S. Mir, A. L. Laroche, D. R. C. Bailey, and R. J. Weselake. 1999.** Relationship of fatty acid composition to intramuscular fat content in beef from crossbred Wagyu cattle. *J. Anim. Sci.* 77:1717-1725.
- Kunst, L., Taylor, D.C., and Underhill, E.W. 1992.** Fatty acid elongation in developing seeds of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol. Biochem.* 30: 425-434.
- Lewis, T., P. D. Nichols, and T. A. McMeekin. 2000.** Evaluation of extraction methods for recovery of fatty acids from lipid-producing microheterotrophs. *J. Microb. Methods* 43:107-116.
- Millar, A.A., Smith, M.A. and Kunst, L. 2000.** All fatty acids are not equal: Discrimination in plant membrane lipids. *Trends Plant Sci.* 5:95–101
- Mir, P. S., Z. Mir, P. S. Kuber, C. T. Gaskins, E. L. Martin, M. V. Dodson, J. A. Elias Calles, K. A. Johnson, J. R. Busboom, A. J. Wood, G. J. Pittenger, and J. J. Reeves. 2002.** Growth, carcass characteristics, muscle conjugated linoleic acid (CLA) content, and response to intravenous glucose challenge in high percentage Wagyu, WagyuX Limousin, and Limousin steers fed sunflower oil-containing diets. *J. Anim. Sci.* 80:2996-3004.

- Mohamed, A. and Rayas-Duarte, P. 1995.** Composition of *Lupinus albus*. American Association of Cereal Chemists, 72:643-647
- Moss, A.R., Givens, D.I., Grundy, H.F. and Wheeler, K.P.A. 1997.** The nutritive value for ruminants of lupin seeds from determinate plants and their replacement of soya bean meal in diets for young growing cattle. Animal Feed Science Technology 68:11-23
- Murlin, J. 1934.** The conversion of fat to carbohydrate in the Germinating castor bean. The Journal of General Physiology. 17: 283-302.
- Nuernberg, K.G., Nuernberg, K., Ender, S., Lorenz, K., Winkler, R. Rickert, and H. Steinhart. 2002.** N-3 fatty acids and conjugated linoleic acids of longissimusmuscle in Beef cattle. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 104:463-471.
- Ohlrogge, J.B. 1994.** Design of new plant products. Engineering of fatty acid metabolism. Plant Physiol 104: 821-826
- Park, S.J., Park, C.W., Kim, S.J., Kim, J.K., Kim, Y.R., Park, K.A., Kim, J.O. and Ha, Y.L. 2002.** Methylation methods for the quantitative analysis of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in various lipid samples. J. Agric. Food Chem. 50:989-996.
- Petterson, D., Sipsa, S. and Mackintosh, J. 1997.** The chemical composition and nutritive value of Australian pulses. Grains research and development corporation, Canberra, Australia. 65 pp.
- Ross, B.M., McKenzie, I., Glen, I. and Bennett, C.P. 2003.** Increased levels of ethane, a non-invasive marker of n-3 fatty acid oxidation, in breath of children with attention deficit hyperactivity disorder. Nutr Neurosci. 6:277-281

- Roth-Maier, D.A., and Kirchgessner., M. 1993.** Nutrient composition and nutritive value of white and yellow lupins (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) for pigs and poultry. *Agribiological Research*, 46, 218-22
- Schoeneberger, H., Gross, R., Cremer, M. D. & Elmadfa, I. 1982.** Composition and protein quality of *Lupinus mutabilis*. *J. Nutr.* 112:70-76.
- Shahin, A.M., McGuire, M.K., Ritzenthaler, K.L. and Shultz, T.D. 2003.** Determination of c9,t11-CLA in major human plasma lipid classes using a combination of methylating methodologies. *Lipids* 38:793-800.
- Smith, C.R. Jr. 1985.** Unusual seed oils and their fatty acids. *In* EH Pryde, ed, *Fatty Acids*, Ed 2. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, pp 29-47
- Srivastava, A. and Prasad, R. 2000.** Triglycerides-based diesel fuels. *Renewable Sustainable Energy Rev.* 4, 111-133.
- Suchý, P., Straková, E., Kroupa, L. and Večerek, V. 2008.** The fatty acid content of oil from seeds of some lupin varieties. "Lupin for health and wealth" Proceeding of the 12th International Lupin Conference 14 – 18 Sept 2008, Fremantle, Western Australia. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand. 188-191 pp
- Uzun, B., C., Arslan, M. Karhan and Toker, C. 2007.** Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.). *Food Chemistry* 102: 45-49
- Wilson, J.G., Clements, J.C., Quealy, J. and Hang, Y. 2008.** Development of an interspecific hybridization protocol for *Lupinus*. 'Lupins for Health and Wealth' Proceedings of the 12th International Lupin Conference, 14-18 Sept. 2008, (pp.

147-151). Fremantle, Western Australia. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand.

Wolf, R.B., J.F. Cavins, R. Kleiman and L.T. Black, 1982. Effect of temperature on soybean seed constituents: Oil, protein, moisture, fatty acids and sugars. J. Am. Oil Chem. Soc., 59: 230-232.

Yáñez, E., Ivanovic, D., Owen, D. and Ballester, D.1983 Chemical and Nutricional Evaluation of Sweet Lupines. Annals of Nutrition and Metabolism 27: 513-520.

CAPÍTULO IV

PROTEÍNAS DE LA TORTA DE SEMILLA DE *Lupinus uncinatus* Schlecht.

Resumen

Se cuantificaron las proteínas de la torta después de la extracción de aceite de semillas de *L. uncinatus* Schlecht. Estos datos se presentan para las diferentes colectas por métodos de electroforesis y la concentración de cada proteína identificada en un rango de pesos moleculares de 15 kDa hasta 230 kDa, corroborando que esta tiene potencial de uso dentro de la elaboración de alimentos de uso animal o humano

4. Introducción

Algunas leguminosas acumulan grandes cantidades de proteínas en sus semillas (Argos *et al.*, 1985), en algunos casos, puede contribuir tanto como 50 % del peso seco total de éstas (Casey y Domoney, 1984). Siendo, en algunas partes del mundo el único suplemento de proteína en la dieta humana (Duran y Gius, 1997). Frecuentemente esas proteínas están desprovistas de actividad catalítica y localizada en compartimentos especializados subcelular referidos como cuerpos de proteínas. Éstas son movilizadas después de la germinación apoyando el temprano crecimiento y desarrollo de las plántulas, a lo que se llaman proteínas de almacenamiento –PA- (Argos *et al.*, 1985). La mayoría de estas proteínas se compone de PA, la definición general abarca: (i) constituyen una gran proporción de la proteína total de semillas, (ii) se sintetizan durante el desarrollo de la semilla, (iii) son secuestrados en la membrana de organelos (cuerpos de proteínas), y (iv) se hidrolizan en la germinación al proporcionar esqueletos

de carbono y nitrógeno de la plántula en desarrollo. Las PA en las semillas de leguminosas han sido comparadas con la fracción globulina de la proteína total, una equivalencia que ha ganado en general, si no universal, la aceptación. Las PA de la globulina que se encuentran en las semillas de leguminosas, se dividen en dos tipos principales, el 7S y 11S, cada una de las cuales consta de una familia de moléculas estrechamente relacionadas (Casey y Domoney, 1984).

Las proteínas 11S de semillas de leguminosas son ampliamente definida como las proteínas oligoméricas de la masa molecular de 3 a 4 x 10⁵ Da, que contienen seis ácidos (α -) y seis de base (β) subunidades disulfuro-consolidado enlazadas con pares $\alpha\beta$, la mayoría α - subunidades tienen masas moleculares de aproximadamente 40 x 10³ Da y las β -subunidades son de masa molecular de aproximadamente 20 x 10³ Da (Casey y Domoney, 1984).

Las propiedades químicas y tecno-funcionalidad de las proteínas en las leguminosas es determinada por la presencia de globulinas y albuminas Cuadro 4. 1 (Lampart-Sczapa, 2001; Duranti *et al.*, 2008).

Cuadro 4.1. Distribución porcentual de fracciones proteicas en leguminosas

Leguminosa	Proteína	
	Albuminas	Globulinas
Chicharo (<i>Pisum sativum</i>)	21.3	56.7
Haba (<i>Vicia faba</i>)	20.0	60.0
Lupinus perla (<i>Lupinus albus</i>)	12.8	79.2
Soya (<i>Glycine max</i>)	10.0	90.0

Nota: Los valores son el porcentaje del total de proteínas

Lupinus es atractivo como semilla de leguminosa con un alto contenido en proteínas (40-50 %), que se compara favorablemente con la soya. Las globulinas representan las

principales proteínas de almacenamiento en la mayoría de las semillas de leguminosas. En *Lupinus* (*L. albus*, *L. luteus*, *L. angustifolius* y *L. mutabilis*), tres glicosilasas globulinas (enzimas) han sido caracterizadas: α -conglutina (legumin o una proteína similar a 11S), β -conglutina (vicilina o Proteínas 7S) y γ -conglutina. *L. albus*, α -conglutinas esta constituida por 4 tipos de subunidades con masa molecular entre 50 y 65 kDa; γ -conglutina consta de un solo tipo de subunidad con masa molecular de 42-43 kDa, compuesto de dos cadenas de polipetidos, 7 con masa molecular de 50 a 67 kDa, dos en un rango de 33-38 kDa, más un número de polipetidos con bajo peso molecular (Marthez-Ayala y Paredes-López, 2001), en el Cuadro 4.2 se observa la clasificación de proteínas de *Lupinus*.

Cuadro 4.2. Semillas de *Lupinus* clasificación de proteínas (Sironi *et al.*, 2005).

Tipo de proteína	Familia proteína	Promedio de coeficiente de sedimentación	Rango de masa molecular (kDa)
Conglutina α	Legumin	11S	300-430
Conglutina β	Vicilin	7S (ácido)	143-260
Conglutina δ	Rica-azufre	2S	11-13, 23-26
Conglutina γ	---	7S (básico)	50

El porcentaje sobre la presencia de las proteínas en *Lupinus* va de la siguiente forma: siendo las globulinas las principales (87%), que constan de dos proteínas importantes, β -conglutina (proteína similar a vicilina, lo que representa 43,4%), α -conglutina (proteína legumin, 33%) y dos componentes de menor importancia, δ -conglutina (12,5%) y γ -conglutina (6%). Este género es cada vez más utilizado como una fuente de proteína en países europeos donde estos se utiliza como un sustituto o reemplazo de la soya (Jappe y Vieths, 2010).

La electroforesis de proteínas de la semilla ha demostrado ser una poderosa herramienta para estudios taxonómicos y evolutivos de numerosas plantas. La semillas de *Lupinus*

globulinas y albuminas han sido usadas para investigar la relación taxonómica entre especies de *Lupinus* por electroforesis. Donde se ha encontrado que las semillas de estos son consideradas una buena fuente de lisina y generalmente pobres en contenido amino ácidos de sulfuros (Gulewicz *et al.*, 2008). También es una planta interesante en cuanto a que el contenido de proteínas es alto en comparación a soya y otros cultivos. Aproximadamente el 48 % de proteínas, en comparación a 35-43 % en soya (Jul *et al.*, 2003). Es importante conocer si la torta residual de *L. uncinatus* Schlecht, presenta las proteínas características del género después de la extracción del aceite y proponer un posible uso.

4.1 Materiales y método

4.1.1 Purificación y separación de proteínas totales (Fourouber *et al.*, 2007)

4.1.1.1 Amortiguador de extracción

a) Composición:

Sacarosa	700 mM
Tris base	50 mM
HCl	30 mM
Ditiotreitol (DTT)	2 mM
KCl	100 mM
Na ₂ EDTA	5 mM

b) Preparación:

Para 100 mL

Sacarosa	24 g
Tris base	0.6 g
HCl	210 μ L
Ditiotreitol (DTT)	30 mg
KCl	750 mg
Na ₂ EDTA	180 mg

Nota: Aforar a 100 mL con agua

4.1.1.2 Acetato de Amonio 0.1 M en metanol: se pesaron 0.77 g y disolvió en 100 mL de metanol.

4.1.1.3 Fenol saturado en agua: se pesaron 100 g los cuales se colocaron en un frasco ámbar a baño María (65°C), hasta que se fundieron los cristales, agregándose un volumen, aproximado de 100 mL de agua destilada, se agito con magneto durante 30 minutos. Dejando que se separen las dos fases. Se eliminó fase acuosa, superior (se cuidó no traer el fenol, fase orgánica). Repitiendo 2 veces, se midió el pH con papel (este fue aproximadamente de 7.0).

4.2 Protocolo de extracción:

- Se colocó un gramo de torta en un mortero, agregado nitrógeno líquido hasta cubrir el tejido y pulverizarlo.
- Se transfirió el polvo a un tubo Falcón de 30 mL conteniendo 5 mL de amortiguador de extracción y agregando 6 mL de fenol saturado con agua.
- Se tapó el tubo y agito vigorosamente durante dos minutos.
- Se centrifugo a 4000Xg durante 10 minutos.

- e) Se tomaron 5 mL de la fase superior y transfiriéndola a otro tubo conteniendo 25 mL de acetato de amonio 0.1M en metanol. Se tapó y mezcló. Enfriando a -20°C durante 2 horas para precipitar las proteínas.
- f) Se centrifugó a 4000Xg durante 10 minutos, resuspendiendo el precipitado en 1.5 mL de metanol (máximo) y transfirió a un microtubo de 1.5 mL.
- g) Se centrifugó durante 10 minutos a 8000Xg en una microcentrífuga. Se eliminó el sobrenadante y se seco el precipitado.
- h) Se resuspendió en un volumen de 20-50 μL de SDS al 1 %. Se calentó a 37°C durante 5 minutos y centrifugó a 8000Xg.
- i) Se almacenaron a 4°C .

4.2.1 Separación de proteínas utilizando 2100 bioanalyzer de Agilent (Agilent, 2001-2006).

4.2.1.1 Protocolo proteínas 230

4.2.1.2 Preparación de *Gel-Dye Mix* (mezcla de gel colorante).

- a) Se tomaron 25 μl de proteína 230 *Dye* concentrada punto azul, colocándolo en gel de matriz para proteína 230 punto rojo, con ayuda de un Vortex, se mezcló bien y se le aplicó un spin de 15 segundos con la microcentrífuga.
- b) Se transfirió a un vial con filtro, para centrifugar a $2500\text{ g} \pm 20\%$ por 15 min.
- c) Se guardó con la fecha, para utilizar durante cuatro semanas.

4.2.1.3 Preparación *Destaining Solution* (solución colorante)

- a) Se tomaron 650 μL de *Gel-Dye Mix* (punto rojo) en un nuevo vial con filtro y se etiquetó un tubo incluyendo la fecha de la preparación.
- b) Se centrifugó a $2500\text{ g} \pm 20\%$ por 15 min. Un tubo fue suficiente para 25 chips.

4.2.1.4 Preparación *Denaturing Solution* (Solución desnaturalizadora)

- a) Se vertieron 7 μL de 1 M (solución Dithiothreitol*) el buffer muestra (vial con botón blanco).
- b) Se mezcló con ayuda de un Vortex por 5 segundos.

4.2.1.5 Preparación de la muestra y ladder (escalera)

- a) Se combinaron 4 μL de proteína (muestra) y 2 μL de la *Denaturing solution* en un tubo de 0.5 mL.
- b) El tubo con la muestra de 6 μL se colocó en un termociclador a una temperatura de 95-100 °C durante 5 minutos. Después se enfrió.
- c) Se le dio un spin de 5 segundos con la microcentrifuga.
- d) Se adicionaron 84 μL de agua deionizada y se agitó con ayuda de un Vortex.

4.3 Chip para proteína

4.3.1 Cargar el gel *Dye-Mix*.

- a) Se ajustó la base del chip priming station a posición A y se ajustó el clip para la jeringa a la posición media para proteínas.
- b) Se colocó un chip nuevo de proteína 230, en chip priming station.

- c) Se pipetearon 12 μ L de Gel Dye-Mix en el pozo marcado G
- d) Se colocó la jeringa a 1 mL y se cerró chip priming station.
- e) Presionando la jeringa hasta que se quedó fija con el clip, esperando 60 segundos para quitar el clip; esperando por 5 segundos hasta que lentamente el embolo de esta llegara a la posición de 1 mL.
- f) Se removió la solución sobrante que se colocó en G
- g) Se Pipetearon 12 μ L de Gel-Dye Mix en G y G.
- h) Se pipetearon 12 μ L de Destaining solution en espacio DS.

4.3.2 Cargar el ladder y la muestra

- a) Se pipetearon 6 μ L de muestra en los 10 pozos del chip, que son espacios para muestra.
- b) También se pipetearon 6 μ L de ladder el espacio marcado con una escalera
- c) Se colocó el chip en 2100 bioanalyzer, donde se analizaron las muestras por electroforesis en un tiempo de 20 min.

4.4 Resultados y discusión

Los resultados de SDS-PAGE en las semillas con tres años, un año y recién colectadas de *L. uncinatus* Schlecht, muestran bandas de 63 a 15 kDa (Figura 4.1, 4.2. y 4.3). Garzón-de la Mora *et al.* (2008) obtuvieron proteínas por precipitación isoeléctrica de *L. albus* e indican la presencia mayoritaria de globulinas (Cerletti *et al.*, 1978; Oomah y Bushuk, 1983). Las globulinas son una clase de proteínas muy heterogénea, esta clasificada α , δ y γ -conglutina (Sirtori *et al.*, 2010).

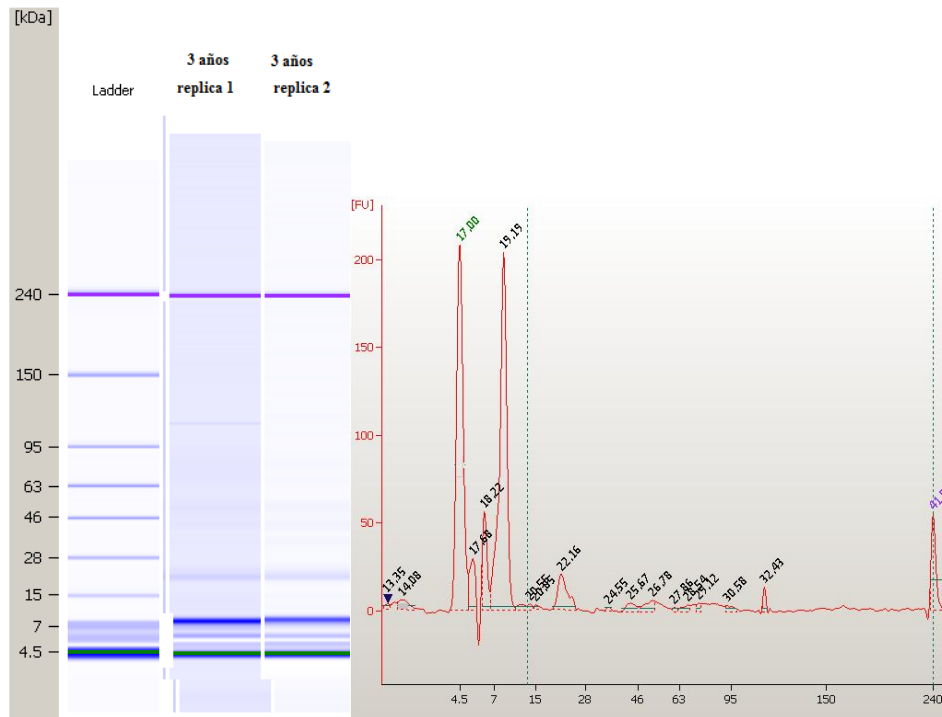


Figura 4.1. Perfil electroforético SDS-PAGE de semillas con tres años de *L. uncinatus* Schlecht. Lader es el carril marcador molecular (15-230 kDa), carril replica 1 y 2 de *L. uncinatus* Schlecht. Y cromatograma de las replicas de *L. uncinatus* Schlecht.

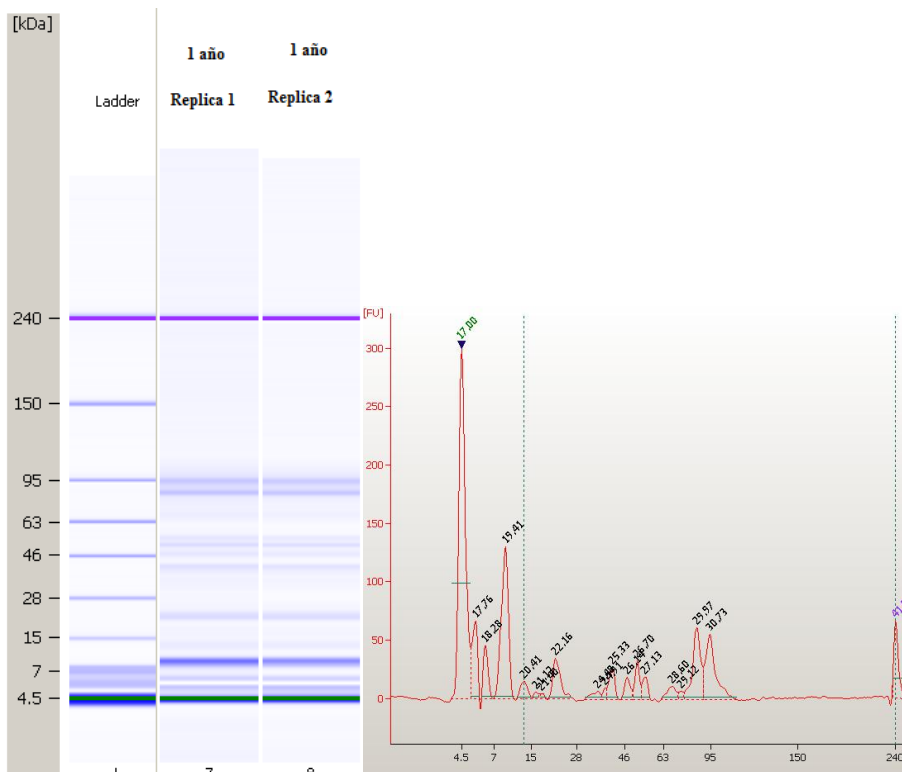


Figura 4.2. Perfil electroforético SDS-PAGE de semillas con un año de *L. uncinatus* Schlecht. Lader es el carril marcador molecular (15-230 kDa), carril replica 1 y 2 de *L. uncinatus* Schlecht. Y cromatograma de las replicas de *L. uncinatus* Schlecht.

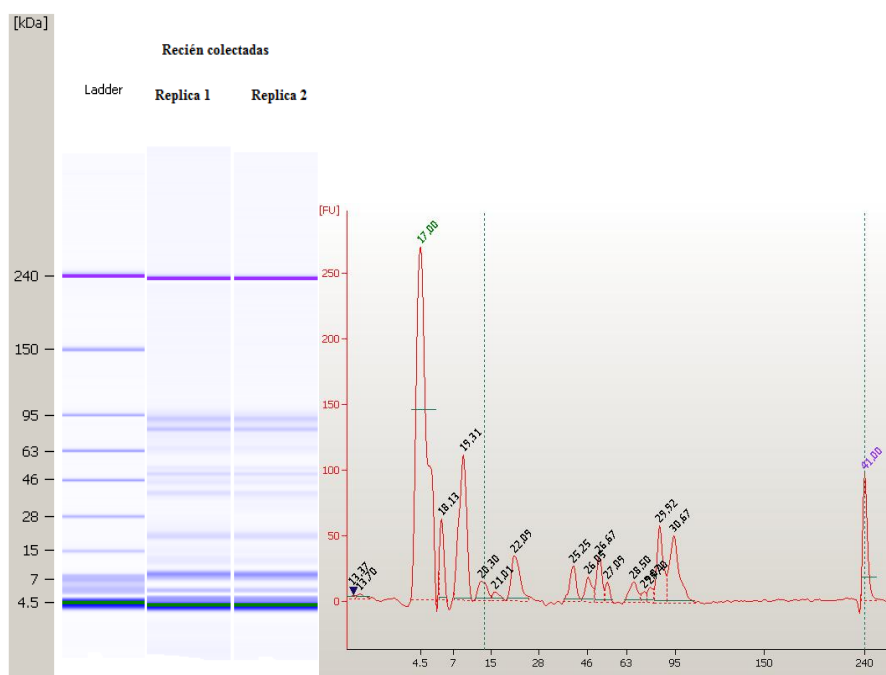


Figura 4.3. Perfil electroforético SDS-PAGE de semillas recién colectadas de *L. uncinatus* Schlecht. Lader es el carril marcador molecular (15-230 kDa), carril replica 1 y 2 de *L. uncinatus* Schlecht y cromatograma de las replicas de *L. uncinatus* Schlecht.

El perfil de las tres colectas se muestran bandas localizadas entre 63 y 45 kDa, en *L. uncinatus* Schlecht y se distinguen bandas inferiores a 45 kDa probablemente corresponden a la subunidad ácida de α -conglutina (42-52 kDa) detectada en *L. albus* estudiado por Duranti *et al.* (2008). En investigaciones realizadas en proteínas de *L. angustifolius* y *L. albus* se ha observado la presencia de β -conglutina, también denominada vicilina compuesta de monómeros de peso molecular que oscilan de 17 a 20 kDa y 53-64 kDa; en el patrón electroforético de las tres colectas se exhiben bandas

próximos a estos pesos moleculares, lo que indica la presencia de β -conglutina (Duranti *et al.*, 2008).

Cuadro 4.3. kDa de semillas con tres años, un año y recién colectadas de *L. uncinatus* Schlecht

Semillas con tres años Tamaño [kDa]	Semillas con un año Tamaño [kDa]	Semillas recién colectadas Tamaño [kDa]
14	16.5	15.8
15.1	18	21.3
21.8	21.8	34.7
36	35.5	40.7
43.6	38.4	46.2
52.1	41.3	51
60.6	46.9	54.4
67.8	51.4	67.7
74.9	54.8	74
92.9	68.5	78.6
114.1	74.9	85
	85.4	94.2
	94.7	

Cuadro 4.4. *L. uncinatus* Schlecht kDa entre 20-22 y 34-36 para semillas con tres años, un año y recién colectadas.

Semillas	kDa	ng/ μ L	Total %
Tres años	21.8	87.9	45.6
	36	3.8	2.0
Un año	21.8	105.3	16.8
	35.5	19.6	3.1
Recién colectadas	21.3	84.8	18.7
	34.7	16.5	3.6

En el Cuadro 4.4, se presentan los kDa entre 20-22 y 34-36 que se puede predecir que es la ruta biosintética de *Lupinus* β -conglutina, que durante la germinación de semillas, β -conglutina experimentan un ciclo mayor de proteólisis limitada en la que muchas de sus subunidades constituyentes se procesan en un polipéptido de 20 kDa denominada vejiga.

Un estudio de *L. albus*, donde el objetivo era purificar y caracterizar dos alérgenos principales de *Lupinus*, mostro que el alérgeno de 20 kDa es un péptido de la fracción de alfa-conglutina y la proteína de 34.5 kDa corresponde a la fracción de β -conglutina (Guillamón *et al.*, 2006).

Esta investigación sirvió para establecer el uso de la torta derivada de la extracción de aceite de *L. uncinatus* Schlecht; como se observó las semillas recién colectada presentaron mayor estabilidad en cuanto a proteínas presentes y concentración mientras que las de tres años la variabilidad fue grande, que se puede atribuir al almacenamiento y estrés por el hexano en la extracción. Esto sirvió para demostrar que si se genera un deterioro o cambio en cuanto a las proteínas de la torta después de la extracción de aceite y más cuando las semillas tienen más tiempo. También se le podría encontrar usos como alimento pues los resultados coincidieron con lo reportado en la literatura, pero para llegar a ese punto primero se le tendría que hacer un análisis químico-proximal de las semillas y después ver el uso, destacando que podría tener sustancias tóxicas como alcaloides.

4.5 Conclusiones

Las conglutinas o vicilinas son proteínas de reserva que pertenecen a la familia de las globulinas 7S. Las vicilinas son los componentes principales de las globulinas, formados por 10 a 12 subunidades con masas moleculares entre 15 a 72 kDa, estas globulinas no poseen enlaces disulfuro. Las conglutinas representan a las proteínas de la semilla madura y frescas de *L. uncinatus* Schlecht, estas globulinas son proteínas

oligoméricas, cada monómero tiene dos subunidades de 30 kDa y 17 kDa unidas por enlaces disulfuro y la cadena pesada es glicosilada. La conglutina glicosilada tiene la capacidad de unirse a carbohidratos en la presencia de iones metálicos; esto sugiere que tiene un papel en la semilla como una lectina. Las lectinas se consideran armas valiosas en el campo de la Genética, la Biomedicina y la Inmunología. Su utilidad está basada en la propiedad que tienen de combinarse con varios tipos de glicoconjugados presentes en las superficies celulares y fluidos corporales.

4.6 Literatura citada

Agilent Technologies, Inc. 2000. 2001-2006. Agilent Protein 230 Kit Guide. Printed in Germany. 31 pp

Argos, P., Narayana, S.V.L., and Nielsen, N.C. 1985. Structural similarity between legumin and vicilin storage proteins from legumes. EMBO J. 4, 1111

Casey, R. and Domoney, C. 1984. The genetics of legume storage proteins. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 304: 349-358

Cerletti, P., Fumagali, A. and Johnson, S. K. 2003. Protein quality and physicofunctionality of Australian sweet lupin (*Lupinus angustifolius* cv. Gunguru) protein concentrates prepared by isoelectric precipitation or ultrafiltration. Food Chemistry, 83:575-583

Durant, M. and Gius, C. 1997. Legume seeds: protein content and nutritional value. Field Crops Research 53(1-3):31-45

Duranti, M., Consonni, A., Magni, C., Sessa, F. and Scarafoni, A. 2008. The major proteins of lupin seed: Characterisation and molecular properties for use as functional and nutraceutical ingredients. Trends in Food and Technology. 1-11

- Faurobert, M., Pelpoir, E. and Chaib, J. 2007.** Phenol Extraction of Proteins for Proteomic Studies of Recalcitrant Plant Tissues. *Plant Proteomic Methods and Protocols* (Ed.) H. Thiellement. 416 pp
- Garzón-de la Mora, P., Avalos-Alcantara, G. Gurrola- Díaz, C., López, J., Brune, D.C., García-López, J.S., et al. 2008.** Isolation and purity assessment of *Lupinus albus* conglutins. *Proceeding 12 Th international Lupin conference.* 152-156
Australia
- Guillamón, E.; Burbano, C.; Múzquiz, M.; Pedrosa, M.M.; Cuadrado, C. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid (España). Dept. de Tecnología de los Alimentos; Sancho, A.; Crespo, J.F.; Fernández, C.; Rodríguez, J. 2006.** Purification and characterization of lupin (*Lupinus albus* L.) allergens. *JCCM.* 435-442
- Gulewicz P., C. Martínez-Villaluenga, J. Frias, D. Ciesiolka, K. Gulewicz and C. Vidal-Valverde. 2008.** Effect of germination on the protein fraction composition of different lupin seeds. *Food Chem.* 107:830-844.
- Jappe, U and Vieths, S. 2010.** *Lupine*, a source of new as well as hidden food allergens. *Mol. Nutr. Food Res.* 2010, 54, 113–126
- Jul, L.B., Flengmark, P., Gylling, M., Itenov, K. 2003.** Lupin seed (*Lupinus albus* and *Lupinus luteus*) as a protein source for fermentation use., *Industrial Crops and Products*, 18,199-211
- Lampart-Szczapa, E. 2001.** Chemical and functional properties of food proteins. Z.E. Sikorski (Ed.) Boca Ratón, Florida, United States of America: CRC Press 544 pp

- Marthez-Ayala, AL. and Paredes-Lopez, O. 2001.** Molecular characterization of the β -conglutin of Lupin seeds. *Journal of Food Biochemistry* 25 : 15-31.
- Oomah, B.D. and Bushuk, W. 1983.** Characterization of Lupine Proteins. *Journal of Food Science*. 48:38-41
- Salmanowicz, B. 1999.** Seed globulins in the Old World *Lupinus* species: Comparative study by HPLC. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46: 409–417
- Sironi, E. Sessa, F. and Duranti, M. 2005.** A simple procedure of lupin seed protein fractionation for selective food applications. *Eur Food Res Technol* 221:145–150
- Sirtori, E., Resta, D., Brambilla, F., Zacherl, and Arnoldi A. 2010.** The effects of various processing conditions on protein isolate from *Lupinus angustifolus*. *Food Chemistry*. 120:496-504

CAPTULO V

VISCOSIDAD EN ÁCEITE DE *Lupinus uncinatus* Schlecht.

Resumen

Se presenta resultados de viscosidad del aceite obtenido de las semillas de *L.uncinatus* Schlecht a diferentes temperaturas (0 a 90 °C) y una comparación entre diferentes colectas (semillas con tres años, un año y recién colectadas) en donde se logro diferenciar entre las viscosidades de estas que son atribuida a la composición de los ácidos grasos presentes en las muestras.

5. Introducción

Uno de los principales criterios para la calidad de los biocombustibles es el estudio de su estabilidad. Los derivados de aceites vegetales, especialmente tienden a deteriorarse debido a las reacciones de hidrólisis y oxidación. Su grado de insaturación lo hace susceptible a la polimerización oxidativa y térmica, lo que puede conducir a la formación de productos insolubles que causan problemas en el sistema de combustión, especialmente en la bomba de inyección (Mittelbach y Gangl, 2001).

La oxidación de los lípidos ha sido objeto de intensas investigaciones. Durante la exposición al aire, especialmente ácidos grasos insaturados (AGI) se pueden formar especies oxigenadas, tales como hidroperóxidos y posteriormente la degradación de los productos. La composición de un AGI es un factor importante que influye en la oxidación. Por lo tanto, la reacción de oxidación de compuestos AGI con diversa cantidad de dobles enlaces afecta a la calidad y utilidad del aceite para diversas

aplicaciones en diferentes áreas como la nutrición y la industria. Algunas aplicaciones industriales en la que se afecta son como lubricantes y biodiesel. El tema de la estabilidad a la oxidación afecta al biodiesel principalmente por contacto con el aire durante el almacenamiento y afecta a los lubricantes a través del contacto del lubricante con partes calientes del motor acelerando el proceso de oxidación.

Los aceites vegetales están compuestos principalmente de triglicéridos, moléculas que constan de tres cadenas de ácidos grasos (generalmente 16 o 18 carbonos) esterificados a glicerol (Figura 5.1a). Las cadenas son químicamente similares a los hidrocarburos alifáticos que componen el grueso de las moléculas que se encuentran en el petróleo (también llamada la gasolina) y diesel (Figura 5.1b). Los hidrocarburos en la gasolina contienen entre 5 y 12 átomos de carbono por molécula, son volátiles al mezclados con el aire y se enciende con una chispa en un motor convencional. Por el contrario, los componentes del combustible diesel suelen tener 10-15 átomos de carbono por molécula y se encienden por la alta compresión obtenida en un motor diesel. La demostración de las primeras versiones de los motores diesel fueron diseñados para funcionar con aceite de cacahuete, lo que refleja el hecho de que triglicéridos derivados de las plantas y los derivados de combustibles del petróleo son químicamente similares, con estructuras que consisten en gran parte de las cadenas de la reducción de carbonos. Sin embargo, la mayoría de las plantas tienen un rango de viscosidad que es mucho más alto que el del diesel convencional: $17.3-32.9 \text{ mm}^2\text{s}^{-1}$ en comparación con $1.9-4.1 \text{ mm}^2\text{s}^{-1}$, respectivamente. La alta viscosidad genera una pobre combustión en los motores modernos de diesel, como resultado da una combustión incompleta. Para vencer ese problema, los triglicéridos son convertidos a ésteres metílicos de ácidos grasos por esterificación con un alcohol primario, más comúnmente metanol (Figura 5.1b). El

resultado es un combustible comúnmente llamado biodiesel el cual tiene una viscosidad dinámica en un rango de $1.9\text{-}6.0\text{ mm}^2\text{s}^{-1}$ (Durret *et al.*, 2008).

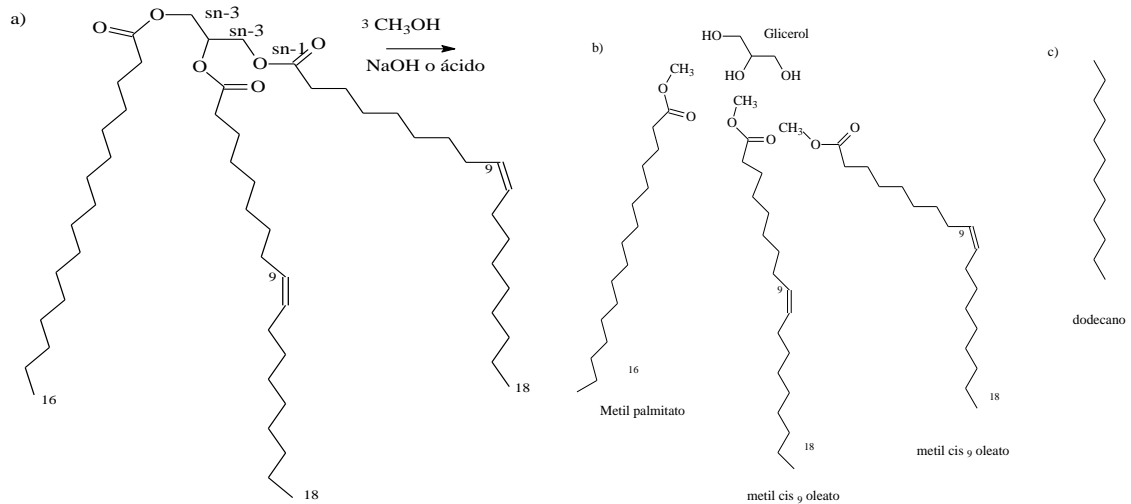


Figura 5.1. Producción de biodiesel a partir de triglicéridos por esterificación con metanol. El triglicérido a) es convertido a glicerol y metil éster de ácido graso; b) al reaccionar con metanol en presencia de un catalizador ácido o álcali; c) dodecano una representación encontrada en hidrocarburo convencional de diesel, ilustra la similitud de estructura entre los compuestos.

Los principales problemas que se presentan en el biodiesel son el crecimiento y la aglomeración de cristales de cera sólida cuando la temperatura ambiente disminuye. Durante el arranque, los sólidos formados en el tanque de combustible pueden causar problemas de operatividad, como tapan los filtros y conductos de combustible. Con respecto a las condiciones de América del Norte, los combustibles diesel desarrollan problemas cuando las temperaturas bajan entre -10 a -15°C . Investigaciones anteriores con los ésteres metílicos de aceite de soja ha mostrado que la temperatura de corte es cerca de 0°C . Esta investigación también mostró que la mezcla ésteres metílicos con

destilados mejora las propiedades de forma significativa a baja temperatura. Sin embargo, este método sólo es efectivo cuando el contenido de éster metílico se lleva a cabo en mezcla relativamente baja. Por ejemplo, el 20 % volumen de esteres metilo de soya en diesel número 2, o el 30 % en volumen en diesel número 1, asegura que la temperatura de corte será menor o igual a -10°C . En consecuencia, el producto líquido debe demostrar que sus propiedades mejoran su flujo en frío (Dunn *et al.*, 1996).

La viscosidad (μ) se ha utilizado ampliamente en la industria petrolera para el cálculo de transporte de líquidos a través de las tuberías. La complejidad de cada fracción de petróleo cuya composición no se puede determinar en la actualidad, varios métodos empíricos se han propuesto para la predicción de la viscosidad de diferentes fracciones de petróleo (Krisnangkura *et al.*, 2006).

Por otra parte una polémica que ha suscitado acalorados debates entre los investigadores en el campo es la cuestión de si la insaturación en aceites vegetales, especialmente polinsaturaciones, tienen alta viscosidad y hace que los depósitos excesivos de carbón, que los anillos se pegue y taponamiento de los orificios de los inyectores. Un trabajo de Ryan, Dodge y Callahan, según se informó en un simposio de AOCS (American Oil Chemists' Society que quiere decir Sociedad Americana de Química de Aceites) 1983, mostraron que la viscosidad puede ser el factor predominante. Entonces el calentamiento del combustible proveniente de aceite vegetal a 145°C redujo la viscosidad a cerca de la del diesel número 2 a 40°C (4cSt vs 2cSt). Cuando el aceite vegetal caliente se inyecta en un cilindro, las características del chorro de combustible mostraron en gran medida mejoradas y el índice de cetano del aceite

vegetal fue mayor de 36.6 a 38 °C a 39.3 a 145 °C, lo que se aproxima a la especificación mínima de 40 para el diesel (Pryde, 1984).

La alta viscosidad y no volatilidad de los aceites vegetales, que dan lugar a la atomización del combustible inadecuado y la combustión incompleta. Métodos que se están investigando para reducir la viscosidad vegetales incluyen: dilución con aceite diesel, otros derivados del petróleo, alcoholes y diversos aditivos, las líneas de combustible de calefacción, uso de ésteres simples en lugar de aceites de triglicéridos, y la formación de microemulsiones con etanol acuoso (Pryde, 1982).

Durante las últimas décadas, la industria ha estado tratando de formular lubricantes biodegradables con características técnicas superiores a los basados en aceite mineral (Petróleo). Los volúmenes de lubricantes, especialmente en los aceites para motores y fluidos hidráulicos son relativamente grandes y la mayoría de estos están basados en aceites minerales. Lubricantes a base de aceites vegetales todavía constituyen un estrecho segmento; sin embargo, se están encontrando un sentido en aplicaciones tales como lubricantes para motosierra, perforación, metalurgia, lubricantes para la industria alimentaria, aceites para engranajes abiertos, grasas biodegradables, fluidos hidráulicos, aceites de origen marino, motor fuera de borda y lubricantes, aceites para el agua y bombas subterráneas, lubricantes para ferrocarril, lubricantes absorbente, lubricantes para tractor, desmoldeo, lubricantes para motor de dos tiempos y otros (Erhan y Asadauska, 2000).

Por lo tanto, cuando un fluido es considerado por su idoneidad como lubricante. Además de biodegradabilidad, las siguientes características debe ser objeto de atención:

la limpieza (de partículas), compatibilidad con lubricantes de aceite mineral y homogeneidad durante el almacenamiento a largo plazo, la acidez, la viscosidad, índice de viscosidad, punto de fluidez, almacenamiento en frío, la volatilidad, estabilidad oxidativa (para los aceites vegetales también índice yodo), compatibilidad con elastómeros y posiblemente otras propiedades, dependiendo de la aplicación prevista (Erhan y Asadauska, 2000).

La mayor proporción de los aceites vegetales que se consumen como alimentos contienen distintas proporciones de los cinco principales ácidos grasos (Cuadro 5.1). Estos cinco ácidos grasos son: ácido palmítico, esteárico, oleico, linoleico y α -linolénico. Las propiedades de los aceites depende en gran medida de su composición en ácidos grasos y algunas composiciones son deseables para aplicaciones específicas. Por ejemplo, los aceites de cocina contienen en general una mayor proporción de los monoinsaturados (como el ácido oleico), que son más estables a altas temperaturas, mientras que las margarinas a menudo son ricas en ácidos grasos saturados (por ejemplo, los ácidos palmítico y esteárico). Otros aceites, tales como aceites para ensalada, contienen más grasas poliinsaturadas (ácidos linoleico y α -linolénico). Tradicionalmente, la producción de aceites para aplicaciones específicas que se ha logrado mediante la mezcla de diversos aceites vegetales o por hidrogenación parcial, por lo que los dobles enlaces de ácidos grasos se eliminan para que el aceite más saturados. Sin embargo, la hidrogenación también introduce *trans* no deseados en el aceite, el cual tiene efectos indeseables sobre la salud humana y nutrición (Erhan y Asadauskas, 2000)

Cuadro 5.1. Composición de ácido graso de cultivos domesticados y especies no domesticados

Plantas	Porcentaje de ácidos grasos										
	8:0	10:0	12:0	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:1	Inusuales
Principales aceite de cultivos											
Palma de aceite				5	36	2	50	8			
Soya					11	4	23	54	8		
Canola					4	2	60	21	10	1	
Girasol					7	5	19	68			
Coco	7	7	48	18	9	3	6	2			
Otros cultivos y especies salvajes											
<i>Borago officinalis</i> ^a					10	4	16	38	<1	4	23
<i>Echium plantagineum</i>					6	3	14	13	33		12/17
<i>Cuphea hookeriana</i>	50	25	4	1	7		4	5			
<i>Cuphea pulcherrima</i>	96	2			1			1			
<i>Cuphea lanceolata</i>		83	2	2	3		3	5			
<i>Ricinus communis</i>					1	1	3	4			89
<i>Coriandrum sativum</i>					4	3	8	17	1		66
<i>Crepis alpina</i>				1	4	1	2	18			74
<i>Vernonia galamensis</i>					3	3	4	21			67
<i>Momordica charantia</i>					2	17	15	9			57
<i>Brassica napus</i>					5	1	15	14	9	7	45

Para el caso de *L. uncinatus* Schlecht, era necesario conocer su viscosidad y verificar la influencia de ácidos grasos mono o poli insaturados contra saturados y entender como afectaría la propiedad de la viscosidad en las diferentes colectas.

5.1 Materiales y métodos

La viscosidad de aceite de *L. uncinatus* Schlecht se determino en un viscosímetro Brookfield (DV-II + Pro). El sistema de geometría fue proporcionado por un adaptador para muestras pequeñas, el cual consta de una cámara para la muestra de forma cilíndrica (con un volumen de entre 2 a 16 mL) y una chaqueta, que se ajusta al viscosímetro Brookfield. El adaptador para la muestra (modelo SC4-13RP) se colocaron 6 mL de aceite (Brookfield Ingeniería Labs Inc., 2008), se adapto un recirculador con termostato al cual se le añadió anticongelante y se determino muestras de 0 a 90°C para las semillas con tres años, un año y recién colectadas, y se midieron a 100 rpm viscosidad dinámica en cPs (centipoise), SS (fuerza de torsión) y SR (fuerza de corte) por triplicado.

5.2 Resultados y discusión

La viscosidad dinámica del aceite de *L. uncinatus* Schlecht se determino, así como la fuerza de corte y torsión a diferentes temperaturas con variación de 5 °C de la siguiente forma: 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 y 90°C en el Cuadro 5.2 se presenta los resultados promedio de las tres colectas y en la Figura 5.2 se presenta resultados de los valores promedio de la viscosidad dinámica contra temperaturas, en donde se aprecia claramente que son diferentes los aceite de las semillas con tres años, un año y recién colectadas.

Cuadro 5.2. Viscosidad a 100 rpm de semillas de *L. uncinatus* Schlecht con tres años, un año y recién colectadas

T	Tres años*	Un año*	Recién colectadas*
°C	cPs	cPs	cPs
	Promedio	Promedio	Promedio
0	215±0.00	17±0.00	9.8±0.58
5	186.5±0.00	15±0.00	11.4±0.656
10	148±0.00	11.5±0.00	10.0±0.00
15	116±0.00	9.5±0.00	8.5±0.00
20	104±0.00	9±0.00	7.5±0.00
25	80±0.00	7.5±0.00	6.5±0.00
30	68±0.00	5±0.00	6.0±0.00
35	58±0.00	5±0.00	6.0±0.00
40	48±0.00	3±0.00	5.0±0.00
45	43±0.00	3±0.00	4.8±0.289
50	39±0.00	3±0.00	4.5±0.00
55	35±0.00	3±0.00	4.0±0.00
60	34±0.00	3±0.00	3.5±0.00
65	30±0.00	2.5±0.00	3.5±0.00
70	27±0.00	2±0.00	3.0±0.0±0.00
75	24±0.00	2±0.00	3.0±0.0±0.00
80	24±0.00	2±0.00	2.5±0.00
85	22±0.00	2±0.00	2.5±0.00
90	21±0.00	2±0.00	2.0±0.00

* valores promedios de nueve repeticiones

± Desviación estándar

Cabe señalar que las semillas con un año y recién colectadas son muy similares en comportamiento con una ligera variación, donde las semillas con un año fue más viscosa.

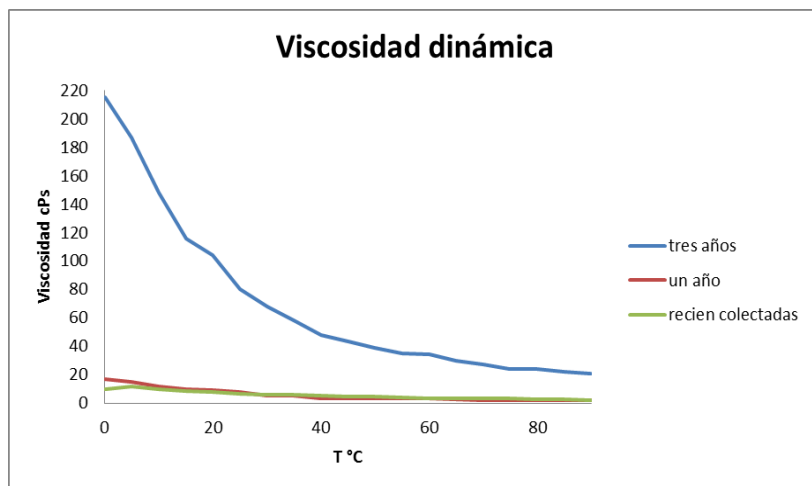


Figura 5.2. Comparación de viscosidad contra temperatura para los aceites de las semillas de *L. uncinatus* Schlecht de tres años, un año y recién colectadas

Se determinó que el aceite es tipo newtoniano, es decir, que para cada medición de viscosidad y temperatura el esfuerzo al cortante manifestó el mismo valor para las semillas *L. uncinatus* Schlecht con tres años, un año y recién colectadas.

Un dato importante al realizar la regresión lineal para cada medición de viscosidad a diferente temperatura, el aceite de las semillas recién colectadas fue la más lineal, es decir su comportamiento fue ascendente de forma más estable. También estas semillas presentaron una viscosidad más baja en cPs, en comparación con las otras dos muestras ver Figuras 5.3, 5.4 y 5.5.

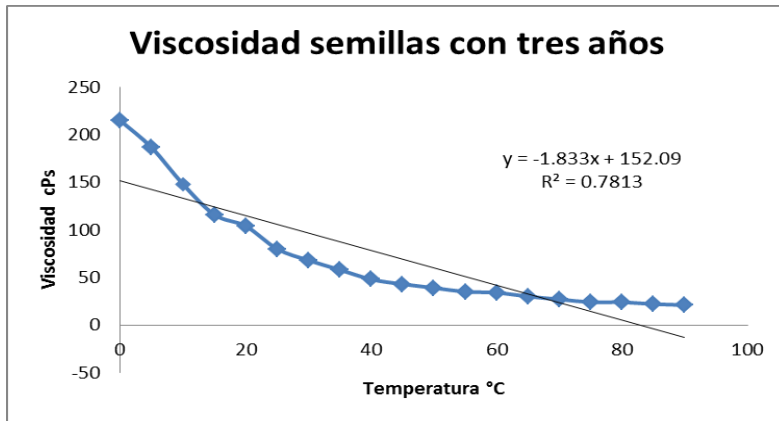


Figura 5.3 Viscosidad de semillas de *L. uncinatus* con tres años y regresión lineal.

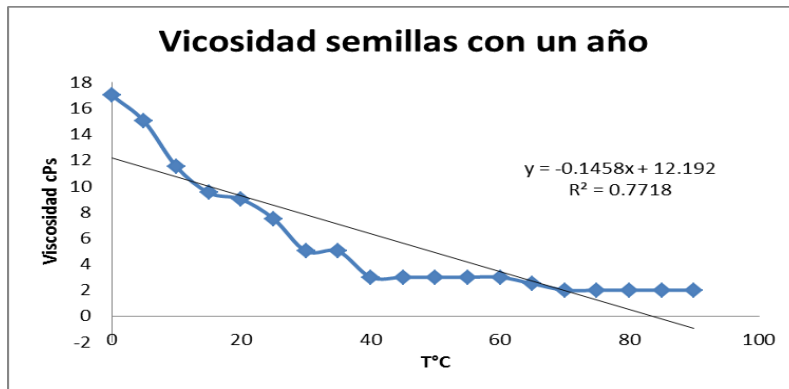


Figura 5.4 Viscosidad de semillas de *L. uncinatus* con un año y regresión lineal

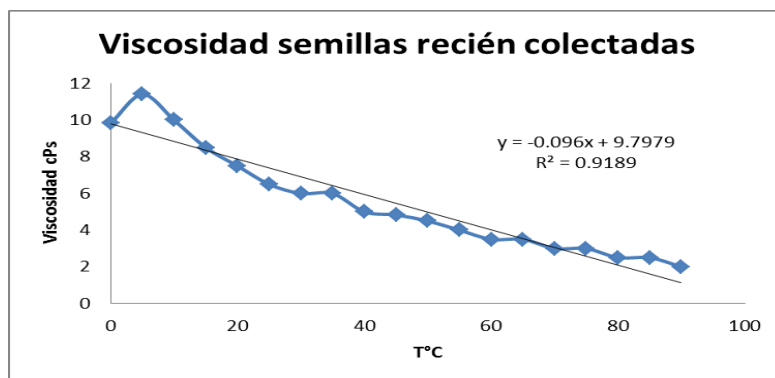


Figura 5.5 Viscosidad de semillas de *L. uncinatus* con recién colectadas y regresión lineal

5.3 Conclusión

L. uncinatus Schlecht, presenta potencial para el uso como biocombustible, sin embargo el contenido de aceite es bajo. El contenido de aceite es bajo, comportándose con rendimientos inferiores que la semillas de soya, que la cantidad máxima de aceite obtenida fue por debajo del 10% haciéndola no rentable. Sin embargo, fue notorio que el aceite de las semillas recién colectadas presentaron los mejores resultados de viscosidad, siendo estas comparadas con la viscosidad común de diesel de hidrocarburos; este comportamiento está asociado no solamente con ser semillas frescas, sino que la edad y perfil de ácidos grasos de la planta tuvo un papel muy importante debido a que los aceite saturados fueron los que estuvieron presentes y estos ocasiona que la viscosidad sea más baja en comparación de las semillas con tres años que los ácidos grasos monoinsaturados son los más abundantes. La tendencia encontrada da indicios, de que, aparentemente existe un efecto favorable como aditivo el usar este aceite de *L. uncinatus*, para mejorar la viscosidad de otros o aceite vegetales con alta viscosidad y con estos resultados podrían establecerse el tiempo en el cual debe ser colectadas las semillas para usos como aditivo para biocombustibles.

5.4 Literatura citada

- Brookfield Engineering Labs Inc. 2008.** Viscometers, rheometers & texture analyzers for laboratory and process applications. Brookfield Eng. Labs 4-35 p.
- Dunn R. O., Shockley M. W., Bagby M. O. 1996.** Improving the lowtemperature properties of alternative diesel fuels: vegetable oil derived methyl esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73:1719–1728.
- Durrett, T., Benning, C. and Ohlrogge, J. 2008.** Plant triacylglycerols as feedstocks for the production of biofuels. *Plant J.* 54:593–607.
- Erhan, S.Z. and Asadauskas, S. 2000.** Lubricant basestocks from vegetable oils. *Ind. Crop. Prod.* 11:277–282.
- Krisnangkura, K., Yimsuwan, T. and Pairintra, R. 2006.** An empirical approach in predicting biodiesel viscosity at various temperatures *Fuel.* 85(1):107-113
- Mittelbach, M., and S. Gangl. 2001.** Long Storage Stability of Biodiesel Made from Rapeseed and Used Frying Oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78:573–577.
- Pryde E.H. 1982.** Vegetable oil fuel standars. International conference on plant and vegetable oils as fuels, Fargo, ND, USA, 2 Aug 1982 101-105
- Pryde E.H.1984.** Vegetable oils as fuel alternative *Journal of the American oil chemists society* 61(10): 1609-1610.

6. Discusión general

Las semillas de *Lupinus* son empleadas por su proteína como un buen recurso para la alimentación debido a su valor nutricional (alta proteína, lípidos y fibra), pero también por su adaptabilidad a suelos marginales y climas (Muzquiz *et al.*, 2011). Recordando que el género *Lupinus* típicamente contiene de 36 a 52 % de proteína, 5 a 20 % de aceite, y 30 a 40 % de fibra, se dice que esa variación depende de aspectos genéticos y diferencias ambientales (Mohamed y Rayas-Durate, 1995). Cabe señalar que los principales resultados para este género están asociados a las especies dulces que tienen niveles bajos de alcaloides y son lo que se comercializan (*L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus*, *L. mutabilis*).

Lupinus en la ladera oriental del volcán Tláloc, en específico *L. uncinatus* (Ehsan *et al.*, 2007), ha sido caracterizado morfológicamente por Alderete-Chavez *et al.* (2008), en dicha descripción no se precisaron datos sobre la descripción morfológica de la semilla en relación a tamaño y peso, además del contenido de humedad en las semillas. Los estudios sobre diversidad de las diferentes colectas inicialmente se basaron en características morfológicas de las semillas (tamaño y peso) y posteriormente en bioquímicos (perfil de ácidos grasos de las semillas). A través del software Scion Image v1.40 se detectó que las semillas frescas y maduras presentan diferencias significativas, así el peso oscila entre unos 19 y 44 mg, en donde las semillas frescas pesan más que las semillas maduras. Para el caso de las dimensiones de las semillas, estas varían en cuanto ancho entre 3.3 y 4.7 mm y con respecto a la longitud entre 4.7 y 6.5 mm, al igual que en peso las semillas maduras presentan los valores menores. Lo cual se atribuye al contenido de humedad de estas, el que se estimó entre 5.4 y 8.4 %; siendo las semillas frescas las que presentaron mayor cantidad de humedad (8.40% con una

desviación estándar de 2.02) en cambio las semillas con un año (5.40% con una desviación estándar de 0.57) y recién colectadas (5.80 % de humedad y una desviación estándar de 0.21) presentaron valores mucho más bajos que las recién colectadas. Las tres colectas mostraron valores inferiores al 15 % de humedad (Cuadro 2.1). Roberts (1981), Nikolaeva *et al.* (1985) y Chin *et al.* (1989) informaron este valor como límite para la categoría de las semillas ortodoxas (semillas que sobreviven a los periodos de desecación y congelación durante su conservación *ex situ*). Por otra parte, Nikolaeva *et al.* (1985) y Chin *et al.* (1989) plantearon que las semillas frescas de las leguminosas presentan entre 7 y 11% de humedad, y posiblemente se deba a la fuerte impermeabilidad de las cubiertas en las semillas de estas especies, aspecto importante para evitar variaciones en el contenido de humedad debido al ambiente de almacenamiento (Nikolaeva *et al.*, 1985). Según estos resultados, se infiere que las semillas de las accesiones estudiadas pudieran pertenecer a la categoría de ortodoxas, debe tenerse en cuenta que el contenido de humedad que se informa, corresponde con el de las semillas frescas. Asimismo, se dice que entre los métodos de conservación *ex situ*, el almacenamiento de semillas, se ha mostrado como el más eficaz (Plucknett *et al.*, 1987). Las semillas son, en general, de pequeño tamaño, poseen constituciones genéticas diferentes y, de forma natural, son capaces de mantenerse viables durante largos períodos de tiempo. Además, si se mantienen con un bajo contenido en humedad, a bajas temperaturas, teóricamente, el período de conservación se incrementa a cientos e incluso miles de años (Roberts, 1973). Un rasgo importante que se observó fue que las semillas con mayor edad (un año y tres años), perdieron humedad y se conservaron en buenas condiciones cumpliendo la recomendación realizada por Gómez-Campo (2006) que planteó como recomendable secar las semillas ortodoxas entre 4 y 6% de humedad; además pueden ultrasecarse (a 3% de humedad) y evitar así el envejecimiento seminal

sin que sufran daños (Ellis y Hong, 2006), para este estudio el mismo comportamiento de la especie permite su auto conservación.

Además de morfológicamente *L. uncinatus* Schlecht hasta ahora ha sido caracterizado en cuanto al grado de tolerancia a Cd y su acumulación en la planta en respuesta a diferentes tratamientos del Cd en el suelo, sugiriendo su uso en la fitoestabilización y revegetación de los suelos contaminados con el dicho elemento (Ehsan *et al.*, 2009). Asimismo, también se ha investigado en medio hidropónico la respuesta a Zn, donde mostró capacidad de fitoextracción de dicho elemento (Ehsan, 2007). Pero *L. uncinatus* Schlecht hasta la fecha no ha sido estudiada en función de alcaloides, proteína, ácidos grasos, en esta investigación se efectuó el estudio de contenido de aceite de las semillas de esta especie, además de tomar en cuenta diferentes colectas que varían según la edad de estas, anteponiendo la premisa de Crochemore *et al.* (1994) que dice “el tamaño de las semillas no esta asociado con la composición de estas, puesto que dependerá de los genotipos y factores ambientales”.

Por lo que al observar el contenido de aceite en las especies del género *Lupinus* se encuentra entre 5 al 15% según Martínez-Villaluenga *et al.*, (2006); porque otros autores manejan valores por arriba del 20% (Mohamed y Rayas-Durate, 1995). Los resultados obtenidos para el caso de *L. uncinatus* Schlecht, coinciden para semillas frescas a maduras que oscilan entre 7.8 a 9.6, mostrando mayor concentración las semillas maduras, estando de acuerdo con lo manejado 6 a 13 % (Erba *et al.*, 2005); al comparar los resultados con una de las especies comerciales se encontró que se parece más al contenido reportado para *L. albus* L. que contiene 9 a 14 % de aceite según Boschini *et al.*, (2008)

En cuanto a la composición sobre el perfil de ácidos grasos se ha dicho que incluye 50-60% de ácido oleico, 16-23% ácido linoleico, estos valores presentan un balance de ácidos grasos (omega 6 y omega 3) parecido a lo reportado para aceite de soya y es probable que tenga beneficios similares sobre la salud (Boschin *et al.*, 2008). Pero además de eso se sabe que la poca información sobre la influencia de los factores ambientales y agrícolas en la composición de los ácidos grasos para *Lupinus* ocasiona que los usuarios finales necesiten saber si la calidad de los lotes en los granos sobre los ácidos grasos diferentes dentro de la misma variedad se puede considerar homogénea o, por el contrario, pueden variar en función en el medio ambiente, que cada vez es mayor. Si el ambiente ejerce una marcada influencia, dando preferencia a los lotes de granos que se producen bajo condiciones ambientales capaces de maximizar su calidad (Boschin *et al.*, 2007), tomando como base lo anterior se procedió a evaluar el perfil de ácidos grasos de *L. uncinatus* Schlecht antes de determinar un comportamiento general. De lo anterior, los resultados arrojaron resultados muy diferentes y aquí solo se tomo una variable para analizar y fue maduras de las semillas.

El efecto asociado a los cambios del aceite con el tipo se reflejó más cuando en un solo lote se obtuvieron cambios graduales de aceite de tener C18:0 cuando las semillas estaban frescas a C18:2 *cis* + *trans*. Cabe resaltar que en semillas maduras la concentración de C18:2 *cis* + *trans* fue siempre superior al 50 %.

Al comparar datos de la literatura sobre porcentaje de C18:1 (Bagci *et al.*, 2003; Blade *et al.*, 2004; Boschin *et al.*, 2007; Boschin *et al.*, 2008; García-Lopez *et al.*, 2001; Jiménez-Martínez *et al.*, 2003; Suchý *et al.*, 2007; Uzun *et al.*, 2007; entre otros), se encontró que con este dato se puede predecir si una especie es dulce o amarga, ver la Figura 6.1 en donde se observa claramente que las especies dulces contienen un mayor porcentaje de

C18:1. Además de predecir toxicidad por medio de ácidos grasos, el aceite de *Lupinus*. Es bien sabido ahora que para *L.uncinatus* el porcentaje de ácido linolénico es bajo comparado con soya, en la cual existe en gran cantidad, característica que favorece la conservación del aceite ya que se oxida rápidamente y puede originar cambios indeseables en el sabor (Lara, 2003). La concentración de ácidos grasos saturados es relativamente baja, con sus homólogos soya y oliva. Esta característica es interesante para la salud del organismo, ya que el consumo de grasas saturadas se correlaciona con el nivel de colesterol en la sangre y la insuficiencia coronaria, a pesar de que el metabolismo orgánico utiliza los ácidos grasos saturados y monoinsaturados fundamentalmente como fuente de energía a través de la vía de degradación oxidativa.

Para el caso de la proteína, la cual está asociada a la edad de la semilla, es decir las semillas frescas y maduras presentaron menor presencia de proteínas o mejor dicho se detectaron un número menor de pesos moleculares en comparación con las semillas de un año que fueron las más diversas, respecto a la presencia de β -conglutinam (vicilina) que están compuestas por monómeros de peso molecular que oscilan entre 17 a 20 kDa y 53-64 kDa; en el patrón electroforético de las tres colectas se exhibieron dichas bandas, lo que podría indicar la presencia de β -conglutina como lo indica Duranti *et al.*, (2008) y estas se ven más concentradas en semillas maduras donde las semillas con tres años tenían una concentración del 46 % para la fracción de 21.8 kDa y las recién colectadas de 18.7% de la fracción de 21.3 kDa; mientras que para el caso de la fracción de 36 kDa para semillas con tres años y 34.7 kDa para las recién colectadas los rangos fueron entre 2 y 3.6 % respectivamente, por lo que se puede apreciar que no hubo mucho cambio en comparación al monómero que oscila entre 17 a 20 kDa, coincidiendo con Garzón-de la Mora *et al.* (2008) quienes obtuvieron proteínas por precipitación isoelectrica de *L. albus* mostrando la presencia mayoritaria de globulinas.

Como es bien sabido, los materiales evaluados en la presente investigación no tienen importancia económica *per se* a nivel nacional. Sin embargo, podría ser utilizada en programas de mejoramiento genético debido a las características que presenta el género. Como es el caso de la industria acuícola, la cual ha incrementado la demanda de insumos para fabricación de alimentos entre los que destaca la harina de pescado, principal fuente de proteína, para alimentos de peces que contienen entre 50 y 75%. La industria acuícola se encuentra ante un difícil panorama, ya que la disponibilidad de harina de pescado es incierta e inestable, además de que su creciente precio influye sobre el costo de los alimentos, limitando la rentabilidad de las empresas (McCoy, 1990). La semilla de *Lupinus* se ha probado fundamentalmente en la alimentación de trucha como sustituto de la soya cruda o desengrasada. En este sentido, Higuera *et al.* (1988) obtuvo que al sustituir un 30% de proteína de semilla cruda de *L.albus* se tenían buenos resultados al alimentar truchas. Por otro lado Huges, 1988. Estudió el efecto de sustituir la soya entera con *Lupinus* blanco en dietas para trucha. Observó que la trucha utiliza esta semilla de manera semejante a la soya. Aún cuando el valor energético del *Lupinus* es bajo por su menor contenido de aceite, aparentemente la disponibilidad de su proteína es mayor debido a que su digestibilidad es más elevada que la de la soya entera. Moyano *et al.* (1992) obtuvieron resultados similares al control cuando usaron dietas conteniendo de 50 a 70% de una mezcla de proteínas vegetales, incluyendo gluten de maíz, concentrado proteico de papa y semilla de *Lupinus* blanco como sustituto de la harina de soya. En el caso de la alimentación de tilapia, Viola *et al.* (1988) estudiaron el efecto de sustituir 30 y 45% de la proteína animal con semilla de *L. angustifolius* en sus dietas. Ellos observaron que en ambos niveles los animales crecieron igual o mejor que un control, lo cual es atribuido a que posiblemente los carbohidratos de la semilla son

más digeribles que los de soya, además de la capacidad de la tilapia para digerir carbohidratos.

Por otra parte, el aceite como bioaditivo o biocombustible tiene potencial por la calidad de este como se vio en los tratamiento de calor, las muestras de aceite comprobaron que si influyen respecto a la viscosidad, además de verificar que el porcentaje de ácidos grasos saturado, monoinsaturados y polinsaturados; afectan el comportamiento final de la viscosidad a temperaturas bajas. Por lo que las semillas recién colectadas presentaron una menor viscosidad con respecto a las otras dos colectas, donde el mayor porcentaje en éstas fue el C18:0 siendo mayor el porcentaje de aceite saturado en comparación con las semillas de tres años que el mayor porcentaje fue aceite polinsaturado. A manera de explicación como funcionaria el aceite con menor viscosidad como biocombustible; un combustible con alta viscosidad no será pulverizado adecuadamente por los sistemas de inyección que poseen los motores diesel de inyección directa modernos. Las mezclas B60 y B30, aunque cumplen con la especificación del índice de cetanos poseen valores de viscosidad por fuera de los rangos recomendados en las normas. Con mezclas B15 y B5, las cuales cumplen especificaciones, es de esperar un funcionamiento adecuado en los motores que las utilicen (Benavides *et al.*, 2007). Aunque no pueda ser empleado como bioaditivo, los monoacil gliceroles, son moléculas anfífilas usadas como surfactantes no iónicos y emulgentes. Habitualmente son aplicadas en la industria alimentaria (aditivos de comida, margarinas, salsas) y cosmética (en cremas y lociones para mejorar la consistencia de las mismas). Además, debido a sus excelentes propiedades lubricantes y plásticas, son usados en la formulación y procesamiento de aceites para la maquinaria de la industria textil (Zheng *et al.*, 2008).

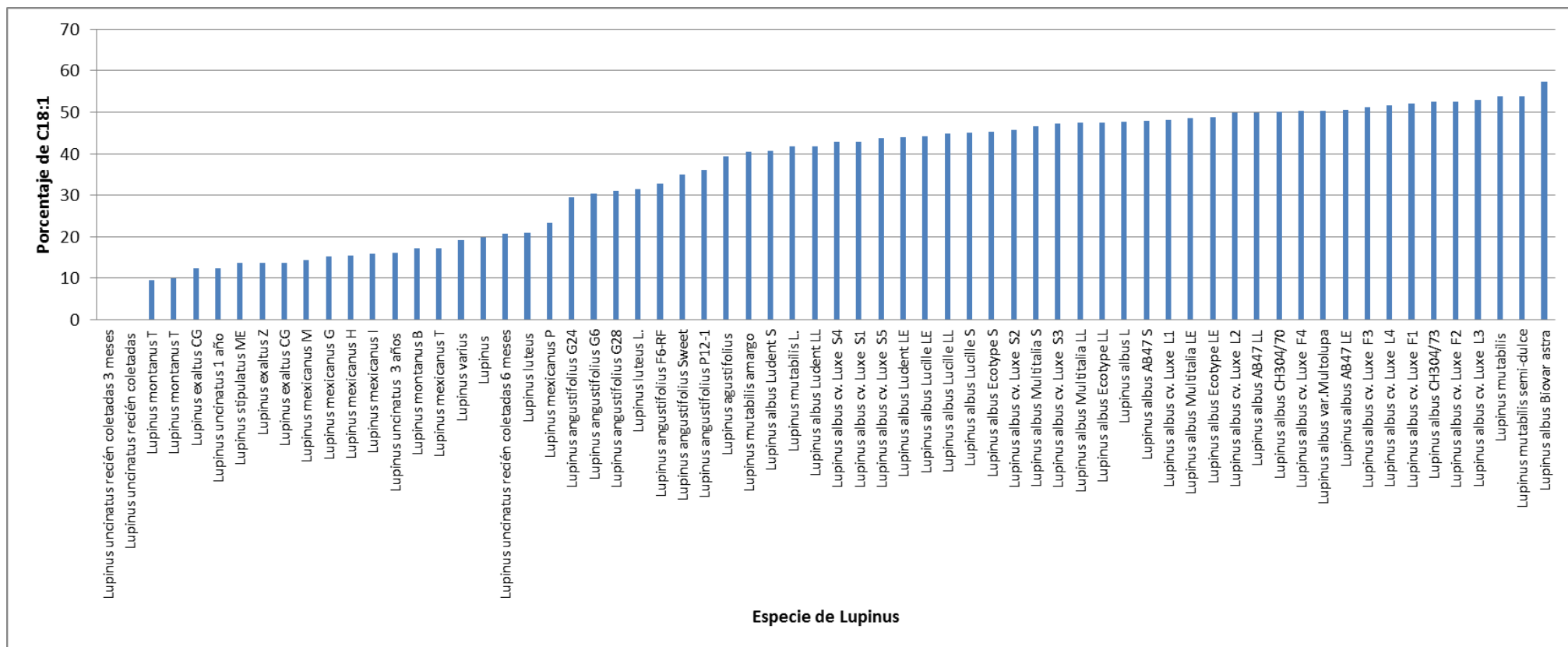


Figura 6.1 Comparación de concentración de C18:1 entre varias especies del género *Lupinus* (datos extraídos de diferentes fuentes)

6.1 Literatura citada

- Alderete-Chavez, A., Espinosa, V., Ojeda, E., Ehsan, M., Perez, J., Cetina, V.M., Rodriguez, A.D. and De la Cruz-Landero, N. 2008.** Natural Distribution and Principal Characteristics of *Lupinus* in the Oriental Face of Tlalóc Mountain in Sierra Nevada, México. *Journal of Biological Science* 8(3): 604-609
- Bagci E, Brueh LI, Özçelik H, Aitzetmuller K, Vural M and Sahim A. 2004.** Un estudio de los patrones de ácidos grasos y tococromanos de algunas plantas Fabaceae (Leguminosae) de Turquía. *Grasas y Aceites.* 55(4): -384
- Benavides, A., Benjumea, P. y Pashova, V. 2007.** El biodiesel de aceite de higuera como combustibles alternativo para motores diesel. *DYNA.* 74(153):141-150.
- Blade, S., Lopetinsky, K., Olson, M., Laflamme, P. and Phillips, C. 2004.** High protein lupins: diversifying the pulse industry in western Canada. 4th International Crop Science Congress. Brisbane, Australia, 26 Sep – 1 Oct 2004.
- Boschin, G., D'Agostina, A., Annicchiarico, P., and Arnoldi, A. 2007.** The fatty acid composition of the oil from *Lupinus albus* cv. Luxe as affected by environmental and agricultural factors. *European Food Research and Technology,* 225, 769–776.
- Boschin, G., D'Agostina, A., Annicchiarico, P., and Arnoldi, A. 2008.** “Effect of genotype and environment on fatty acid composition of *Lupinus albus* L. seed”, *J Food Chem.* 108.:600-606
- Chin, H.F., Krishnapillay, B. and Stanwood, P.C. 1989.** Seed moisture: Recalcitrant vs. Orthodox seed. *Seed Moisture CSSA spec. publ.* (14):15-22.

- Crochemore, M.L., Huyghe, C., Papineau, J. and Julier, B. 1994.** Intra-plant variability in seed size and seed quality in *Lupinus albus* L. *Agronomy*. 14:5-13
- Duranti, M., Consonni, A., Magni, C., Sessa, F. and Scarafoni, A. 2008.** The major proteins of lupin seed: Characterisation and molecular properties for use as functional and nutraceutical ingredients. *Trends in Food and Technology*. 1-11
- Ehsan, M. 2007.** Fitorremediación de suelos contaminados con Cd y Zn mediante el uso de *Lupinus uncinatus* schldl. Tesis doctorado, Colegio de Postgraduados. 81 pp
- Ehsan, M., P. A. Molumeli, V. E. Hernández, A. B. Reyes, J. P. Moreno, M. S. Hernández, E. O. Trejo, D. J. Contreras, A. R. Bello and E. R. Santoyo 2007.** Contamination Time Effect on Plant Available Fractions of Cadmium and Zinc in a Mexican Clay Loam Soil. *Journal of Applied Sciences* 7: 2380-2384.
- Ehsan, M., Santamaría-Delgado, K., Vázquez-Alarcón, A., Alderete-Chavez, A., De la Cruz-Landero, N., Jaén-Contreras, D. and Augustine Molumeli, P. 2009.** Phytostabilization of cadmium contaminated soils by *Lupinus uncinatus* Schldl. *Spanish Journal of Agricultural Research* 7(2): 390-397
- Ellis, R.H. and Hong, T.D. 2006.** Temperature sensibility of the low-moisture-content limite to negative seed longevity-moisture content relations in hermetic storage. *Annals of Botany*. 97:785.
- Erba, M., Certel, M. and Uslu, M.K. 2005.** Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus* L.). *Food Chem* 89:341-345
- Jiménez-Martínez, C., Hernández-Sánchez, H. and Dávila-Ortiz, G. 2003.** Production of a yogurt-like product from *Lupinus campestris* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83:513-522

- García- Lopez, P.M., Muzquiz, M.A., Lopez-Ruiz, M.A., Zamora-Natera, J.F., Burbano, C., Pedrosa, M.M., Cuadrado, C., Garzón-De la Mora, P. 2001.** Chemical composition and Fatty Acid Profile of several Mexican wild Lupins, *Journal of Food Composition and Analysis*, 14:645-651.
- Gómez-Campo, C. 2006.** Long term seed preservation: update standards are urgent. Monographs ETSIA, Universidad Politécnica de Madrid, 168, 1-4.
- Gross, R. 1982.** Situación Actual de la Investigación Alimentaria del lupino. Proyecto Lupino. I Instituto Nacional de Nutrición. Lima - Perú. Int. N° 8:142-167
- Higuera, M. de la, García-Gallego, M., Sanz, A., Cardenete, G., Suárez, M.D. and Moyano, F.J. 1988.** Evaluation of lupin seed meal as an alternative protein source in feeding of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 71: 37-50.
- Hughes, S.G. 1988.** Assessment of lupin flour as a diet ingredient for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 71: 379-385.
- Lara, A. 2003.** Estudio de alternativas tecnológicas para el desarrollo de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet). Tesis de Doctorado en Química. Riobamba. Facultad de Ciencias Químicas 35-36 pp
- Martínez-Villaluenga, C., Frías, J. and Vidal-Valverde, C. 2006.** Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L and *Lupinus luteus* L) after extraction of α -galactosides. *Food Chem* 98: 291-299.
- McCoy, H.D. 1990.** Fishmeal — the critical ingredient in aquaculture feeds. *Aquaculture Magazine*, 16(2):43-50.
- Mohamed, A.A. and Rayas-Durate, P. 1995.** Composition of *Lupinus albus*. *Cereal Chem.* 72:643–647.

- Moyano, F.J., Cardenete, G. and De la Higuera, M. 1992.** Nutritive value of diets containing a high percentage of vegetable proteins for trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Living Resources*, 5:23-29.
- Muzquiz, M., Guillamon, E., Burbano, C., Pascual, H., Cabellos, B., Cuadrado, C. and Pedrosa, M. 2011.** Chemical composition of a new *Lupinus* species found in Spain, *Lupinus mariae-josephi* H. Pascual (Fabaceae). *Spanish Journal of Agricultural Research*. 9(4): 1233-1244
- Nikolaeva, M.G., Rasumova, M.V. and Gladkova, V.N. 1985.** Manual de técnicas pregerminativas para semillas dormantes (en ruso). Nauka, Moscú. 348 p.
- Petterson, D., Sipsa, S. and Mackintosh, J. 1997.** The chemical composition and nutritive value of Australian pulses. Grains research and development corporation, Canberra, Australia. 65 pp.
- Plucknett, D.L.; Smith, N.J.H.; Williams, J.T. and Murthi-Anishetty, N. 1987.** Gene banks and the world's food. Princeton University Press.
- Roberts, E.H. 1973.** Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology*, 1: 499-514.
- Roberts, H.E. 1981.** Physiology of ageing and its applications to drying and storage. *Seed Sci. Technol.* 9:359.
- Suchý, P., Straková, E., Kroupa, L. and Vecerek, V. 2008.** The fatty acid content of oil from seeds of some lupin varieties, proceedings of the 12th International Lupin Conference, 188-191 Sept. 2008, Fremantle, Western Australia. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand.

Viola, S., Arieli, Y. and Zohar, G. 1988. Unusual feedstuffs (tapioca and lupin) as ingredients for carp and tilapia feeds in intensive culture. *Bamidgeh*, 40(1): 29-34.

Uzun, B., Arslan, C., Karhan, M. and Toker, C. 2007. Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.). *Food Chemistry* 102: 45-49.

Zheng Y., Chen X. and Shen Y., 2008. “Commodity Chemicals Derived from Glycerol, an Important Biorefinery Feedstock”, *Chem. Rev.* 108: 5253-5277.

7. Conclusión general

La semilla de *L. uncinatus* Schlecht estudiada en este trabajo, presenta diferencias en el perfil de ácidos grasos dependiendo de su edad “ALMACENAMIENTO”, pero no así el contenido de aceite pero sí en su perfil de ácidos grasos.

La tendencia observada en este estudio, resalta que el perfil de ácidos grasos presenta del género *Lupinus*, se debe considerar para establecer el uso que se le puede dar al aceite, ya sea como un bioaditivo en el tema de biocombustible, algún uso industrial o el área de alimentos. Puesto que se logró observar que las semillas cambian su composición de ácidos grasos saturados, monoinsaturados o poliinsaturados dependiendo de la madurez de éstas.

Asimismo, las tres colectas de las semillas tienen diferente potencial en función de la madurez de las semillas, da indicios aparentemente sobre efecto para predecir si una especie de este género es dulce o amarga, siendo esta una posible técnica rápida para identificación de alcaloides. De todo lo anterior se puede concluir que existen varias líneas de investigación sobre el aceite de semillas de género *Lupinus*. Entonces, el aceite de las semillas de *L. uncinatus* Schlecht que se estudió en este trabajo, puede ser empleado para usos industriales o alimenticios, si llegara a considerarse una oleaginosa por la baja cantidad de aceite presente. Por otra parte la torta después de la extracción del aceite de esta especie, muestra ser atractiva como fuente de proteína, al presentar una tendencia hacia globulinas. Encontrando tal vez aplicaciones en la industria de alimentos como sustituto de proteína animal o vegetal a menor precio, siendo esto otra línea de investigación, además de alcaloides que son el mayor obstáculo para su uso.

8. Recomendaciones

Es importante que se continúen los estudios sobre caracterización de las especies de *Lupinus*, lo que permitirá conocer el potencial de uso en diferentes etapas fenológicas de las semillas.

Se debe estudiar más los ácidos grasos puesto que estos pueden aportar ingresos a la economía del país debido a que pueden llegar a ser utilizados en muchos fines y recordando que *Lupinus* puede crecer en una gran variedad de suelos y climas.

El tener conocimiento del tema, permitiría el desarrollo sustentable de cultivos a diferentes escalas evitando así la importación de este tipo de compuesto. Y esto debe ir acompañado de domesticación de especies endémicas o presentes en México y con ello hacer selecciones de mejores genotipos hasta llegar al mejoramiento genético para los fines que se requieran como alimento o bioaditivo.

Potencial como sustituto de proteína animal y vegetal abre línea de investigación que resolvería problemas a la salud humana y crisis alimentaria. Ya sea como proteína o alimento para animales.

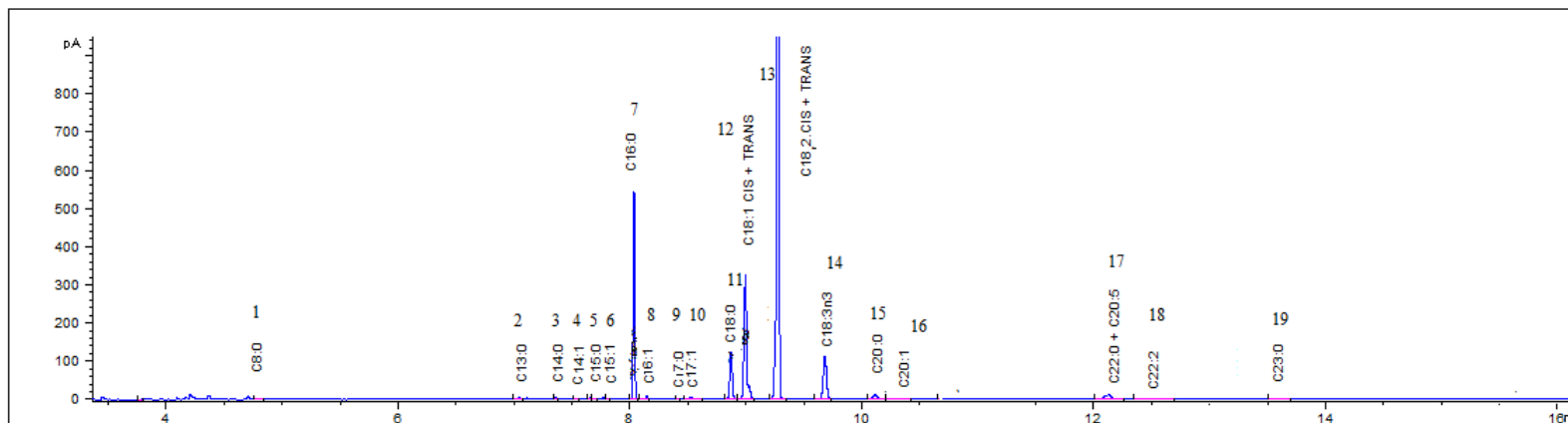
ANEXOS

Anexo 1

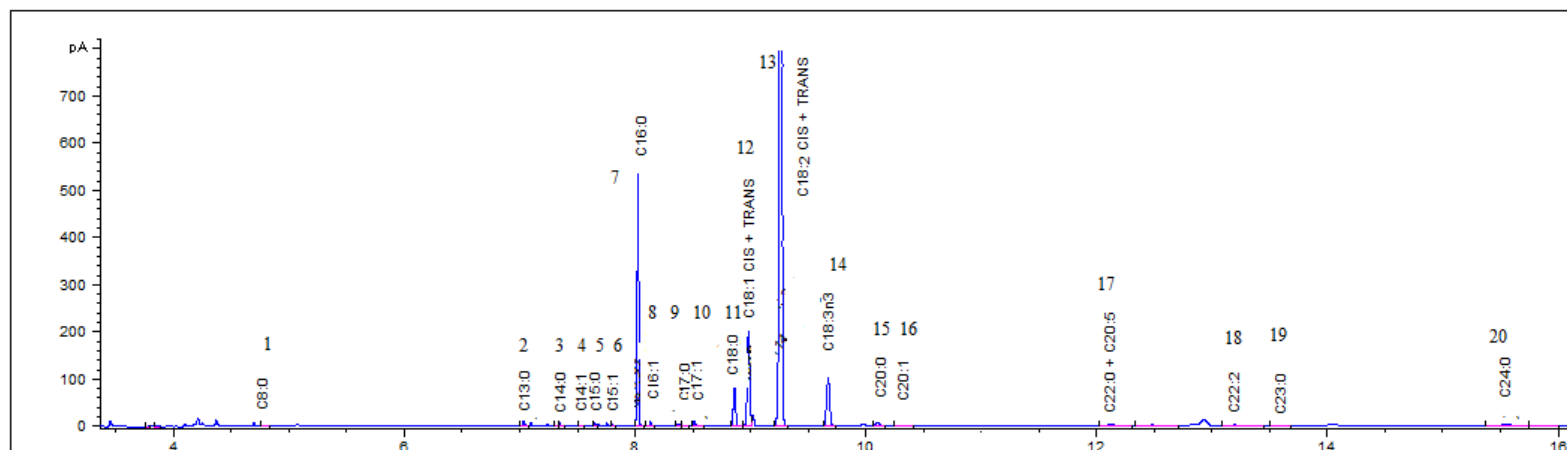
Anexo 1.1. Perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht con tres años

No	COMPUESTO	FORMULA	REPLICA 1				REPLICA 2				REPLICA 3				Valores promedio		
			TR	área	mg/mL	% aceite	TR	área	mg/mL	% aceite	TR	área	mg/mL	% aceite	mg/mL	DS	% aceite
1	ACIDO CAPRILICO	C8:0	4.838	2.3	0.006	0.11	4.79	2.3	0.006	0.09	4.789	3.3	0.008	0.10	0.007	0	0.1
2	ACIDO TRIDECANOICO	C13:0	7.087	7.5	0.016	0.29	7.038	4.5	0.009	0.14	7.038	5.6	0.012	0.15	0.012	0	0.19
3	ACIDO MIRISTICO	C14:0	7.305	1.5	0.003	0.05	7.331	1.6	0.003	0.05	7.33	1.5	0.003	0.04	0.003	0	0.05
4	ACIDO MIRISTOLEICO	C14:1	7.396	5.5	0.013	0.23	7.352	5.2	0.01	0.16	7.352	6.4	0.013	0.17	0.012	0	0.19
5	ACIDO PENTADECANOICO	C15:0	7.714	2.3	0.005	0.09	7.684	1.8	0.004	0.06	7.685	2.2	0.004	0.05	0.004	0	0.07
6	ACIDO CIS-10-PENTADECENOICO	C15:1	7.829	2.5	0.005	0.09	7.807	2.5	0.005	0.08	7.807	2.1	0.004	0.05	0.005	0	0.07
7	ACIDO PALMITICO	C16:0	8.085	464.5	0.918	16.47	8.03	526.2	1.04	16.42	8.032	644.9	1.275	16.45	1.078	0.18	16.45
8	ACIDO PALMITOLEICO	C16:1	8.199	9.9	0.02	0.36	8.137	10.6	0.021	0.33	8.137	12.8	0.026	0.34	0.022	0	0.34
9	ACIDO HEPTADECANOICO	C17:0	8.447	1.6	0.005	0.09	8.409	1.9	0.004	0.06	8.41	2.2	0.005	0.06	0.004	0	0.07
10	ACIDO CIS-HEPTADECENOICO	C17:1	8.477	3.7	0.007	0.13	8.519	5.4	0.01	0.16	8.52	4.4	0.009	0.12	0.009	0	0.13
11	ACIDO ESTEARICO	C18:0	8.95	165.1	0.322	5.78	8.867	177.9	0.347	5.48	8.869	218.1	0.425	5.48	0.365	0.05	5.56
12	C18:1 CIS + TRANS	C18:1 CIS + TRANS	9.084	466.8	0.909	16.31	8.99	521.3	1.015	16.02	8.993	641.9	1.25	16.12	1.058	0.17	16.14
13	C18:2 CIS + TRANS	C18:2 CIS + TRANS	9.381	1420	2.767	50.30	9.272	1597.4	3.180	50.33	9.277	1958.4	3.901	50.32	3.317	0.55	50.62
14	ACIDO LINOLENICO	C18:3n3	9.81	181.2	0.363	6.51	9.677	219.2	0.438	6.92	9.677	269	0.537	6.93	0.446	0.09	6.81
15	ACIDO ARAQUIDICO	C20:0	10.236	21.4	0.041	0.74	10.107	24.3	0.046	0.73	10.108	29.7	0.057	0.74	0.048	0.01	0.73
16	ACIDO CIS-11-EICOSENOICO	C20:1	10.443	5.5	0.011	0.20	10.298	4	0.008	0.13	10.3	4.9	0.01	0.13	0.009	0	0.14
17	C22:0 + C20:5	C22:0 + C20:5	12.324	34.8	0.067	1.20	12.116	41.5	0.082	1.29	12.123	52.3	0.103	1.33	0.084	0.02	1.28
18	ACIDO CIS-13,16-DOCOSADIENOICO	C22:2	13.175	9.36	0.012	0.22	13.194	9.6	0.016	0.25	13.194	7.9	0.015	0.19	0.017	0	0.26
18	ACIDO TRICOSANOICO	C23:0	13.879	2.7	0.005	0.09	13.595	3.8	0.007	0.11	13.594	4.8	0.009	0.12	0.007	0	0.11
20	ACIDO LIGNOCERICO	C24:0	---	---	---	---	15.541	34.5	0.065	1.03	15.541	38	0.072	0.93	0.069	0.01	1.05
			Total:		5.573				6.334				7.752		6.553		100

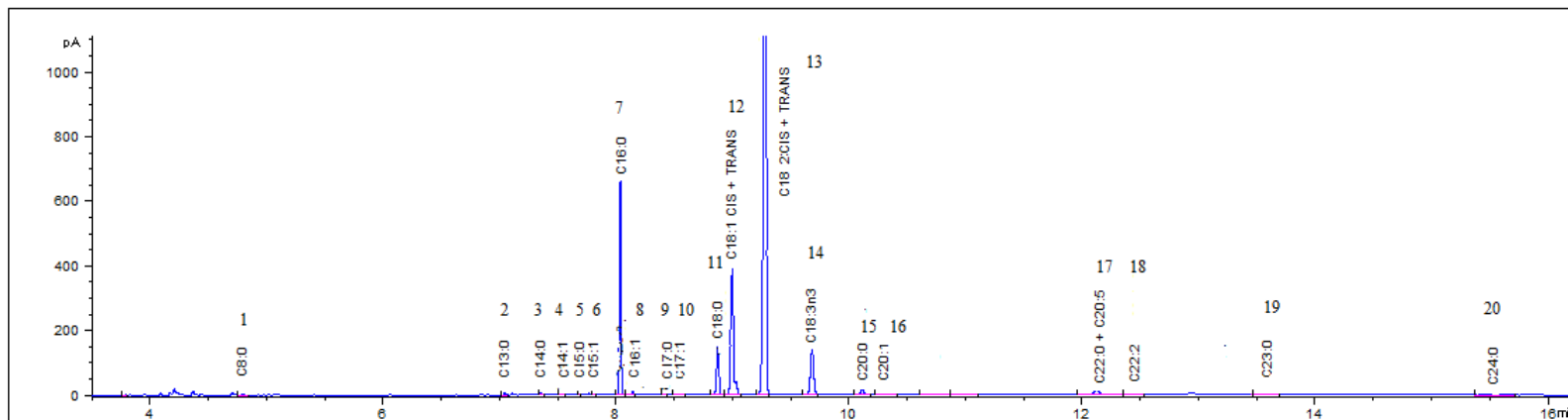
Anexo 1.2. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht con tres años Replica 1



Anexo 1.3. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht con tres años Replica 2



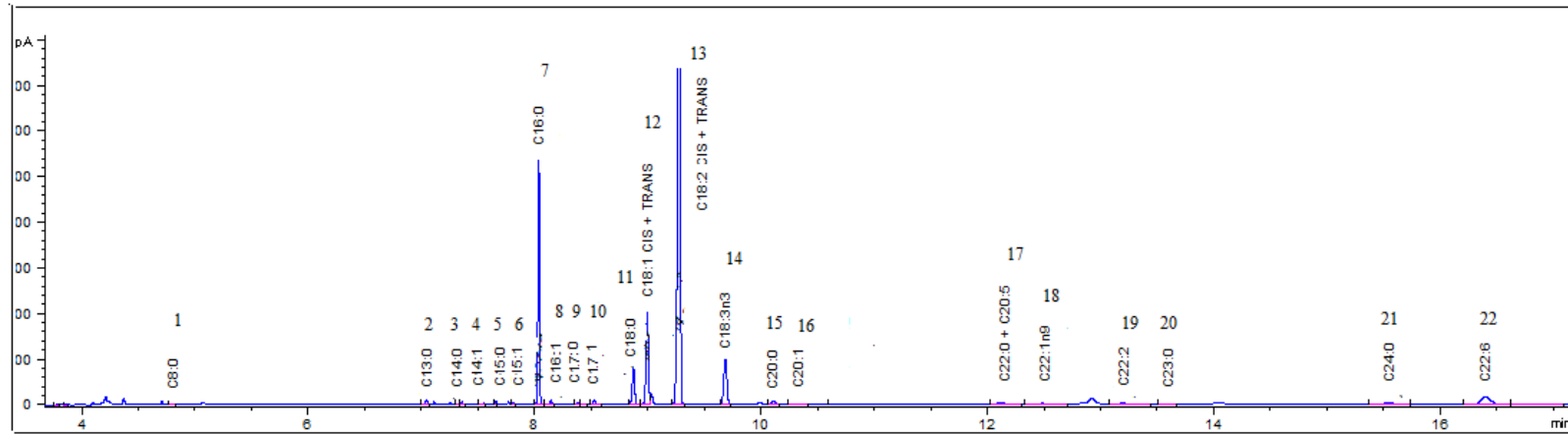
Anexo 1.4. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht con tres años Replica 3



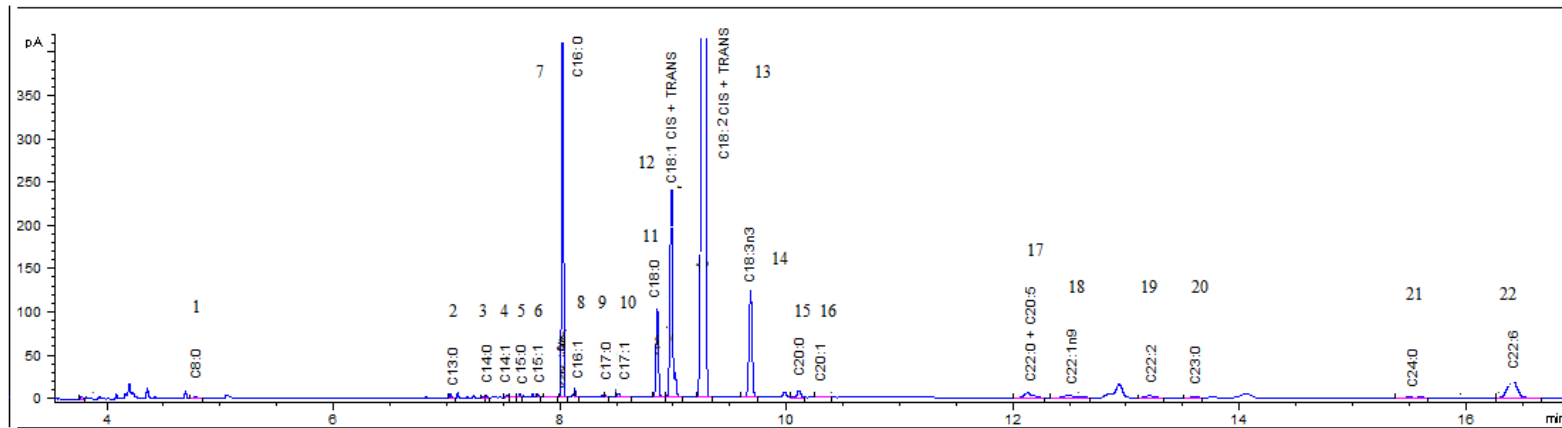
Anexo 1.5. Perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht con un año

TR	COMPUESTO	FORMULA	REPLICA 1			REPLICA 2			REPLICA 3				valor medio			
			TR	%aceite		TR	área	mg/mL	TR	área	mg/mL	%aceite	mg/mL	DS	%aceite	
4.905	ACIDO CAPRILICO	C8:0	4.79	0.008	0.12	4.79	3.1	0.008	0.14	4.79	3.2	0.008	0.12	0.008	0	0.13
7.003	ACIDO TRIDECANOICO	C13:0	7.039	0.01	0.15	7.106	5.2	0.011	0.20	7.038	6	0.012	0.18	0.011	0	0.18
7.352	ACIDO MIRISTICO	C14:0	7.331	0.003	0.05	7.331	1.5	0.003	0.05	7.329	1.6	0.003	0.05	0.003	0	0.05
7.489	ACIDO MIRISTOLEICO	C14:1	7.353	0.011	0.17	7.353	5.6	0.011	0.20	7.352	5.2	0.011	0.17	0.011	0	0.18
7.686	ACIDO PENTADECANOICO	C15:0	7.654	0.008	0.12	7.655	4	0.008	0.14	7.653	3.8	0.008	0.12	0.008	0	0.13
7.824	ACIDO CIS-10-PENTADECENOICO	C15:1	7.809	0.007	0.11	7.809	2.9	0.006	0.11	7.807	3.3	0.007	0.11	0.007	0	0.11
8.03	ACIDO PALMITICO	C16:0	8.032	1.254	19.05	8.033	516.8	1.022	18.46	8.031	643.7	1.273	19.15	1.183	0.37	18.88
8.14	ACIDO PALMITOLEICO	C16:1	8.138	0.02	0.30	8.138	9.4	0.019	0.34	8.137	9.9	0.02	0.30	0.020	0	0.32
8.414	ACIDO HEPTADECANOICO	C17:0	8.411	0.003	0.05	8.411	1.7	0.003	0.05	8.409	1.5	0.003	0.05	0.003	0	0.05
8.543	ACIDO CIS-HEPTADECENOICO	C17:1	8.518	0.024	0.36	8.52	10.3	0.02	0.36	8.517	12.4	0.024	0.36	0.023	0	0.36
8.868	ACIDO ESTEARICO	C18:0	8.867	0.273	4.15	8.868	114.5	0.223	4.03	8.866	144.7	0.282	4.24	0.259	0.11	4.14
8.992	C18:1 CIS + TRANS	C18:1 CIS + TRANS	8.99	0.78	11.85	8.989	330.3	0.643	11.61	8.99	424	0.826	12.42	0.750	0.42	11.96
9.26	C18:2 CIS + TRANS	C18:2 CIS + TRANS	9.275	3.336	50.67	9.273	1409.6	2.819	50.91	9.274	1682.4	3.364	50.60	3.173	0.16	50.73
9.68	ACIDO LINOLENICO	C18:3n3	9.678	0.44	6.68	9.68	192.6	0.385	6.95	9.676	208.9	0.417	6.27	0.414	0.34	6.64
10.108	ACIDO ARAQUIDICO	C20:0	10.105	0.029	0.44	10.108	13.2	0.025	0.45	10.105	15.3	0.029	0.44	0.028	0	0.44
10.298	ACIDO CIS-11-EICOSENOICO	C20:1	10.297	0.006	0.09	10.299	3.5	0.007	0.13	10.296	3.23	0.006	0.09	0.006	0	0.10
12.122	C22:0 + C20:5	C22:0 + C20:5	12.118	0.04	0.61	12.122	17.1	0.034	0.61	12.115	18.7	0.037	0.56	0.037	0	0.59
12.446	ACIDO ERUCICO	C22:1n9	12.481	0.024	0.36	12.483	10.1	0.02	0.36	12.48	10.5	0.02	0.30	0.021	0	0.34
13.193	ACIDO CIS-13,16-DOCOSADIENOICO	C22:2	13.196	0.021	0.32	13.199	10.8	0.02	0.36	13.196	11.6	0.022	0.33	0.021	0	0.34
13.6	ACIDO TRICOSANOICO	C23:0	13.588	0.006	0.09	13.6	2.8	0.005	0.09	13.59	2.6	0.005	0.08	0.005	0	0.09
15.544	ACIDO LIGNOCERICO	C24:0	15.54	0.037	0.56	15.554	23.1	0.044	0.79	15.54	25.4	0.048	0.72	0.043	0.12	0.69
16.189	DHA	C22:6	16.405	0.244	3.71	16.407	99.5	0.201	3.63	16.399	110.2	0.223	3.35	0.223	0.19	3.56
			6.584			5.537			6.648				6.256		100	

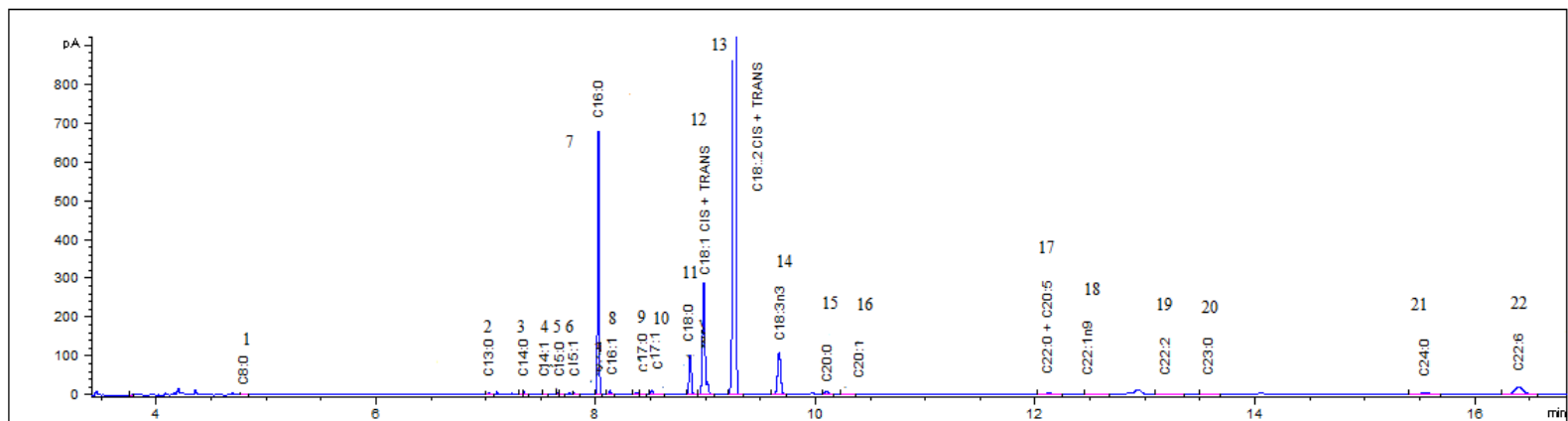
Anexo 1.6. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht con un año Replica 1



Anexo 1.7. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht con un año Replica 2



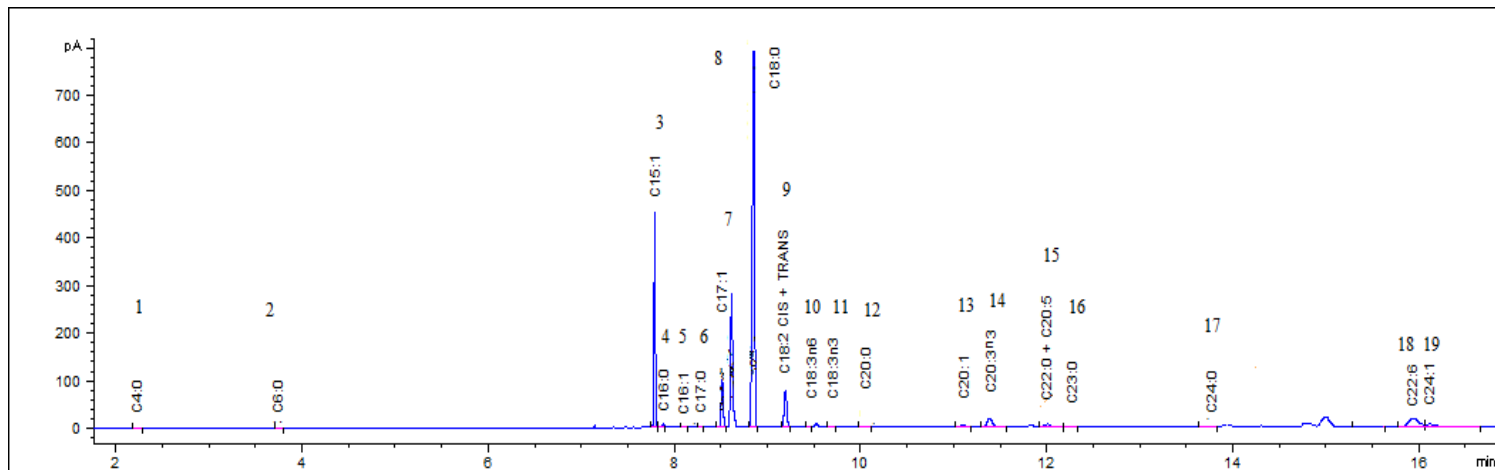
Anexo 1.8. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht con un año Replica 3



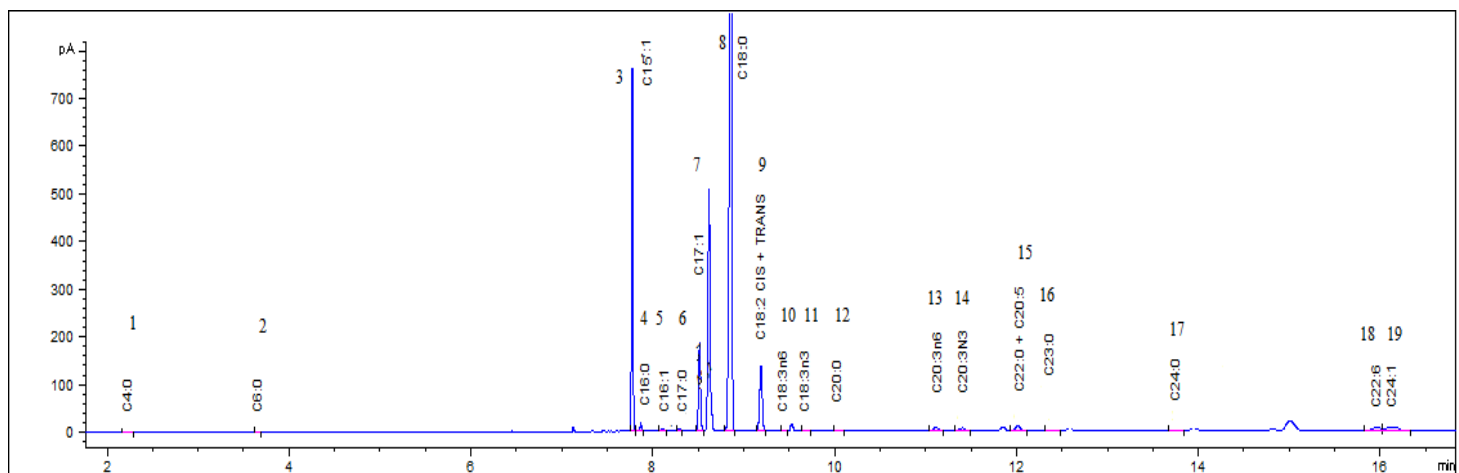
Anexo 1.9. Perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht recién colectadas

No	COMPUESTO	FORMULA	TR	Área	mg/mL	%aceite	TR	área	mg/mL	%aceite	TR	área	mg/mL	%aceite	mg/mL	DS	%aceite
1	ACIDO BUTIRICO	C:4	2.221	4.6	0.034	0.66	2.219	5.2	0.039	0.46	2.219	5.9	0.044	0.61	0.04	0.10	0.58
2	ACIDO CAPROICO	C:6	3.735	2.1	0.007	0.14	3.643	2.2	0.008	0.10	3.643	2.2	0.007	0.10	0.01	0.02	0.11
3	ACIDO CIS-10-PENTADECENOICO	C15:1	7.782	460.8	0.932	18.18	7.784	821	1.661	19.78	7.783	684.9	1.386	19.36	1.33	0.83	19.11
4	ACIDO PALMITICO	C16:0	7.878	10.3	0.02	0.39	7.877	20.1	0.04	0.48	7.876	15	0.03	0.42	0.03	0.04	0.43
5	ACIDO PALMITOLEICO	C16:1	8.101	4.5	0.009	0.18	8.098	7.5	0.015	0.18	8.114	3.8	0.008	0.11	0.01	0.04	0.16
6	ACIDO HEPTADECANOICO	C17:0	8.288	4.7	0.01	0.20	8.286	6.4	0.013	0.15	8.286	4.9	0.01	0.14	0.01	0.03	0.16
7	ACIDO CIS-HEPTADECENOICO	C17:1	8.506	157.9	0.308	6.01	8.509	294.7	0.575	6.85	8.506	239.4	0.467	6.52	0.45	0.42	6.46
8	ACIDO ESTEARICO	C18:0	8.846	1392.4	2.714	52.94	8.855	2509	4.891	58.26	8.85	2096	4.086	57.07	3.90	2.79	56.09
9	C18:2 CIS + TRANS	C18:2 CIS + TRANS	9.188	154.1	0.308	6.01	9.183	272.4	0.545	6.49	9.182	239.4	0.479	6.69	0.44	0.35	6.40
10	ACIDO GAMA-LINOLENICO	C18:3	9.446	5.1	0.01	0.20	9.445	5.7	0.011	0.13	9.444	5.3	0.011	0.15	0.01	0.03	0.16
11	ACIDO LINOLENICO	C18:3n3	9.676	3.4	0.007	0.14	9.678	4.4	0.009	0.11	9.677	3.7	0.007	0.10	0.01	0.02	0.11
12	ACIDO ARAQUIDICO	C20:0	10.027	3.1	0.006	0.12	10.028	4.6	0.009	0.11	10.028	4.3	0.008	0.11	0.01	0.0	0.11
13	ACIDO CIS-8,11,14-EICOSATRIENOICO	C20:1	11.108	16.1	0.037	0.72	11.108	28.1	0.064	0.76	11.106	24.4	0.056	0.78	0.05	0.03	0.76
14	ACIDO CIS-11,14,17-EICOSATRIENOICO	C20:3n3	11.397	80	0.159	3.10	11.393	29.4	0.058	0.69	11.393	41.5	0.082	1.15	0.10	1.28	1.65
15	C22:0 + C20:5	C22:0 + C20:5	12.011	28.1	0.055	1.07	12.009	44	0.086	1.02	12.007	46.5	0.091	1.27	0.08	0.13	1.12
16	ACIDO TRICOSANOICO	C23:0	13.762	5.2	0.01	0.20	13.767	8.3	0.016	0.19	13.752	5.3	0.01	0.14	0.01	0.03	0.18
17	ACIDO LIGNOCERICO	C24:0	15.427	10.7	0.05	0.98	15.418	15.4	0.0815	0.97	15.418	18.3	0.07	0.98	0.07	0.00	0.97
18	DHA	C22:6	15.955	158.5	0.32	6.24	15.948	53	0.107	1.27	15.951	68.5	0.138	1.93	0.19	2.70	3.15
19	ACIDO NERVONICO	C24:1n9	16.118	65.3	0.131	2.56	16.119	82.9	0.167	1.99	16.121	84.4	0.17	2.37	0.16	0.29	2.31
				Total:	5.127				8.3955				7.16	100			100

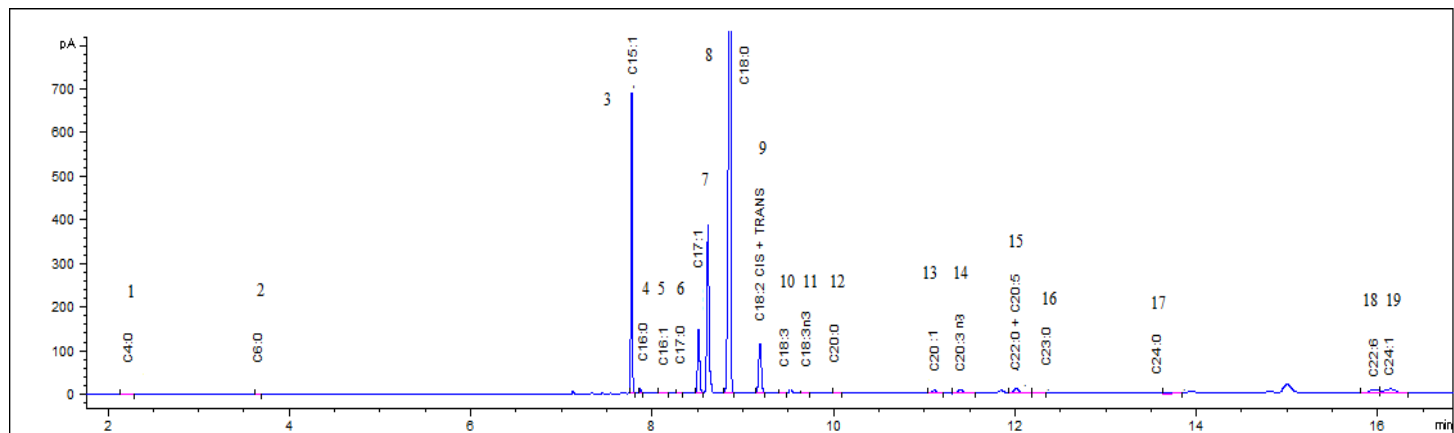
Anexo 1.10. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht recién colectadas Replica 1



Anexo 1.11. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht recién colectadas Replica 2



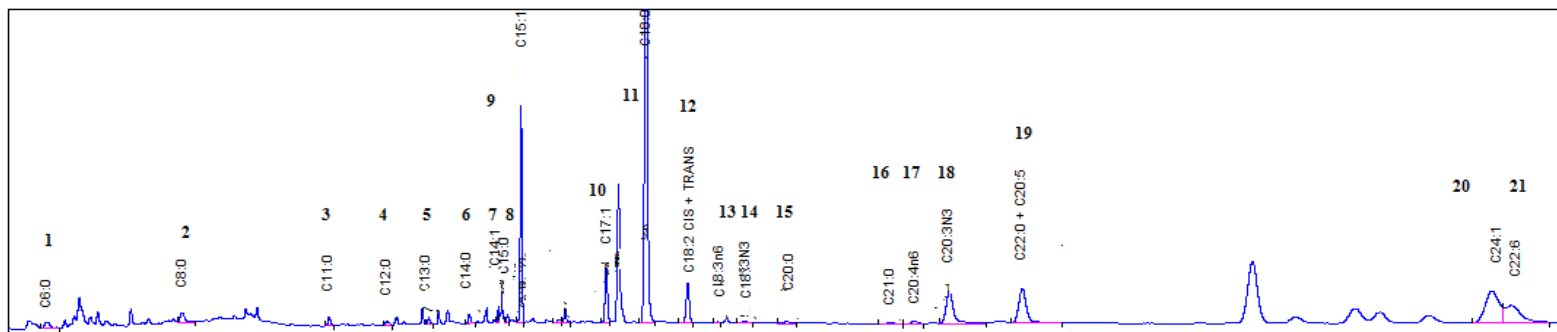
Anexo 1.12. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht recién colectadas Replica 3



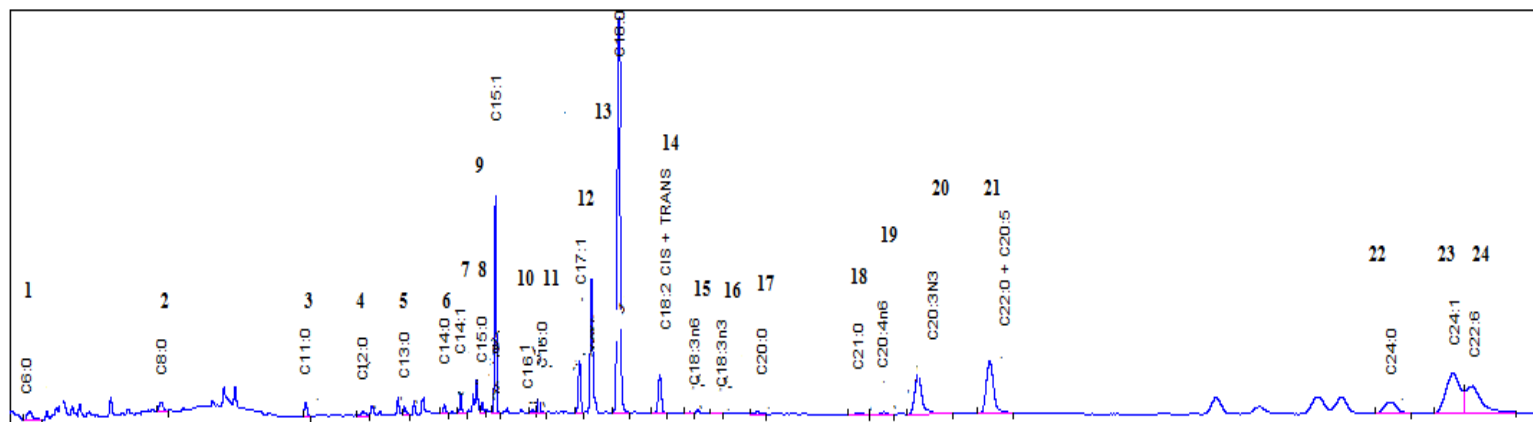
Anexo 1.13. Perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht recién colectadas con tres meses de almacenamiento

No	COMPUESTO	FORMULA	REPLICA 1			REPLICA 2			Valor promedio		
			Área	mg/mL	%aceite	área	mg/mL	%aceite	mg/mL	DS	%aceite
1	ACIDO CAPROICO	C6:0	12.20	0.042	1.98	12.49	0.043	1.89	0.042	0.07	1.94
2	ACIDO CAPRILICO	C8:0	9.92	0.025	1.18	9.38	0.023	1.04	0.024	0.10	1.11
3	ACIDO UNDECANOICO	C11:0	10.36	0.023	1.08	10.58	0.023	1.03	0.023	0.04	1.06
4	ACIDO LAURICO	C12:0	5.03	0.011	0.51	4.04	0.009	0.38	0.010	0.09	0.45
5	ACIDO TRIDECANOICO	C13:0	5.33	0.011	0.53	3.94	0.008	0.36	0.010	0.12	0.44
6	ACIDO MIRISTICO	C14:0	5.89	0.012	0.57	5.15	0.010	0.46	0.011	0.08	0.52
7	ACIDO MIRISTOLEICO	C14:1	9.24	0.019	0.91	9.03	0.019	0.83	0.019	0.06	0.87
8	ACIDO PENTADECANOICO	C15:0	5.32	0.011	0.51	4.96	0.010	0.44	0.010	0.05	0.47
9	ACIDO CIS-10-PENTADECENOICO	C15:1	99.12	0.201	9.56	120.36	0.244	10.78	0.222	0.86	10.17
10	ACIDO PALMITOLEICO	C16:0	2.46	0.005	0.24	2.27	0.005	0.20	0.005	0.02	0.22
11	ACIDO PALMITICO	C16:1	10.01	0.020	0.94	9.90	0.020	0.87	0.020	0.05	0.90
12	ACIDO CIS-HEPTADECENOICO	C17:1	34.25	0.067	3.19	43.78	0.085	3.78	0.076	0.42	3.48
13	ACIDO ESTEARICO	C18:0	305.98	0.596	28.43	369.32	0.720	31.86	0.658	2.42	30.15
14	C18:2 CIS + TRANS	C18:2 CIS + TRANS	32.34	0.065	3.08	36.07	0.072	3.19	0.068	0.08	3.14
15	ACIDO GAMA-LINOLENICO	C18:3n6	1.76	0.004	0.17	2.13	0.004	0.19	0.004	0.01	0.18
16	ACIDO LINOLENICO	C18:3n3	1.92	0.004	0.18	2.21	0.004	0.20	0.004	0.01	0.19
17	ACIDO ARAQUIDICO	C20:0	3.26	0.006	0.30	4.37	0.008	0.37	0.007	0.05	0.33
18	ACIDO HENEICOSANOICO	C20:5	3.02	0.004	0.19	2.82	0.004	0.17	0.004	0.02	0.18
19	ACIDO ARAQUIDONICO	C20:4n6	4.62	0.009	0.45	4.54	0.009	0.41	0.009	0.03	0.43
20	ACIDO CIS-11,14,17-EICOSATRIENOICO	C20:3n3	77.56	0.154	7.33	67.74	0.134	5.94	0.144	0.98	6.64
21	C22:0 + C20:5	C22:0 + C20:5	103.81	0.204	9.73	116.39	0.229	10.13	0.216	0.28	9.93
22	ACIDO LIGNOCERICO	C24:0	38.27	0.072	3.45	40.09	0.076	3.35	0.074	0.07	3.40
23	ACIDO NERVONICO	C24:1	146.47	0.294	14.03	131.99	0.265	11.74	0.280	1.62	12.88
24	DHA	C22:6	118.93	0.240	11.45	116.33	0.235	10.40	0.238	0.74	10.93
Total:				2.098			2.259		2.178		100

Anexo 1.14. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht recién colectadas Replica 1 con 3 meses de almacenamiento



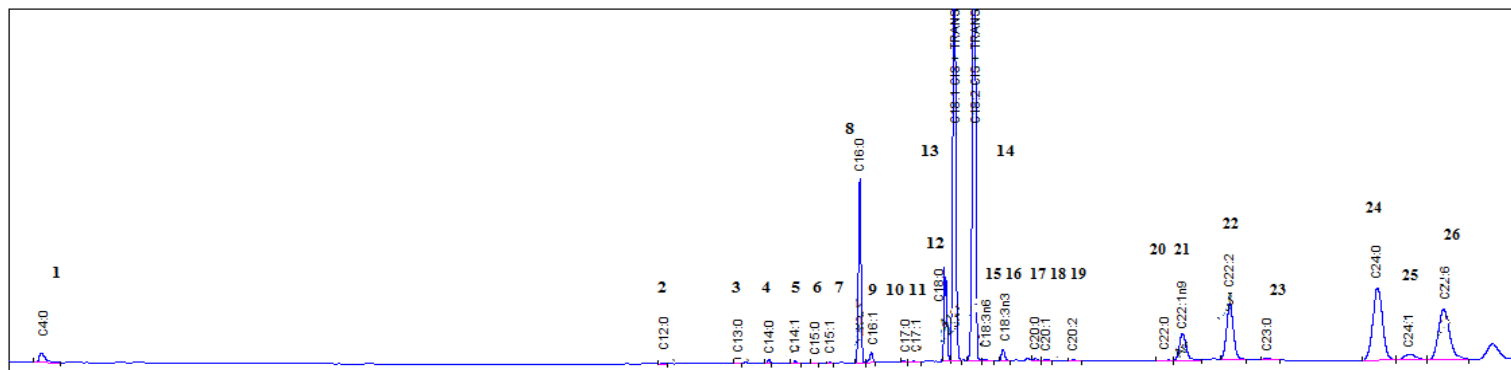
Anexo 1.15. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht recién colectadas Replica 2 con 3 meses de almacenamiento



Anexo 1.16. Perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht recién colectadas
con seis meses de almacenamiento

No	COMPUESTO	FORMULA	REPLICA 1			REPLICA 2			Valor promedio		
			Área	mg/mL	%aceite	Área	mg/mL	%aceite	mg/mL	DS	%aceite
1	ACIDO BUTIRICO	C4:0	46.55	0.345	3.82	41.61	0.308	3.40	0.327	0.30	3.61
2	ACIDO LAURICO	C12:0	1.96	0.004	0.05	2.11	0.005	0.05	0.004	0.00	0.05
3	ACIDO TRIDECANOICO	C13:0	2.70	0.006	0.06	2.53	0.005	0.06	0.005	0.00	0.06
4	ACIDO MIRISTICO	C14:0	7.51	0.015	0.17	7.63	0.015	0.17	0.015	0.00	0.17
5	ACIDO MIRISTOLEICO	C14:1	5.37	0.011	0.12	4.95	0.010	0.11	0.011	0.01	0.12
6	ACIDO PENTADECANOICO	C15:0	1.63	0.003	0.04	1.65	0.003	0.04	0.003	0.00	0.04
7	ACIDO CIS-10-PENTADECENOICO	C15:1	2.18	0.004	0.05	2.15	0.004	0.05	0.004	0.00	0.05
8	ACIDO PALMITOLEICO	C16:0	368.76	0.729	8.08	369.79	0.731	8.07	0.730	0.01	8.07
9	ACIDO PALMITICO	C16:1	24.27	0.049	0.54	25.30	0.051	0.56	0.050	0.01	0.55
10	ACIDO HEPTADECANOICO	C17:0	3.41	0.007	0.08	3.26	0.007	0.07	0.007	0.00	0.08
11	ACIDO CIS-HEPTADECENOICO	C17:1	2.30	0.004	0.05	2.43	0.005	0.05	0.005	0.00	0.05
12	ACIDO ESTEARICO	C18:0	187.81	0.366	4.06	188.05	0.367	4.05	0.366	0.01	4.05
13	C18:1 CIS + TRANS	C18:1 CIS + TRANS	961.34	1.872	20.74	956.63	1.863	20.55	1.867	0.13	20.65
14	C18:2 CIS + TRANS	C18:2 CIS + TRANS	1302.32	2.604	28.86	1308.37	2.616	28.87	2.610	0.01	28.86
15	ACIDO GAMA-LINOLENICO	C18:3n6	5.45	0.011	0.12	5.72	0.011	0.13	0.011	0.00	0.12
16	ACIDO LINOLENICO	C18:3n3	27.58	0.055	0.61	28.64	0.057	0.63	0.056	0.01	0.62
17	ACIDO ARAQUIDICO	C20:0	7.36	0.014	0.16	7.55	0.014	0.16	0.014	0.00	0.16
18	ACIDO CIS-11-EICOSENOICO	C20:1	5.90	0.011	0.13	6.14	0.012	0.13	0.012	0.00	0.13
19	ACIDO CIS-11,14-EICOSADIENOICO	C20:2	4.03	0.008	0.09	4.44	0.009	0.10	0.008	0.01	0.09
20	C22:0 + C20:5	C22:0	6.05	0.008	0.09	4.93	0.006	0.07	0.007	0.01	0.08
21	ACIDO ERUCICO	C22:1n9	146.16	0.281	3.12	137.93	0.265	2.93	0.273	0.13	3.02
22	ACIDO CIS-13,16-DOCOSADIENOICO	C22:2	296.98	0.561	6.21	298.26	0.563	6.21	0.562	0.00	6.21
23	ACIDO TRICOSANOICO	C23:0	8.05	0.015	0.17	10.83	0.021	0.23	0.018	0.04	0.20
24	ACIDO LIGNOCERICO	C24:0	550.72	1.041	11.54	567.22	1.073	11.84	1.057	0.21	11.69
25	ACIDO NERVONICO	C24:1	49.21	0.099	1.10	60.46	0.121	1.34	0.110	0.17	1.22
26	DHA	C22:6	445.30	0.899	9.97	454.50	0.918	10.13	0.909	0.12	10.05
				9.025			9.062		9.043		100

Anexo 1.17. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht recién colectadas Replica 1 con 6 meses de almacenamiento



Anexo 1.18. Cromatograma del perfil de ácidos grasos de semillas *L. uncinatus* Schlecht recién colectadas Replica 1 con 6 meses de almacenamiento

