

GLICOALCALOIDES COMO CRITERIO DE SELECCION EN CLONES DE PAPA COLOMBIANA.

Antonio Sanabria-Galindo*
Patricia Heredia*
Miguel Arturo Velásquez
José Moreno**

RESUMEN

A partir de flores de *Solanum tuberosum* de la variedad I.C.A. R-12 se aisló un patrón de α -chaconina del 98.5% de pureza y por hidrólisis de los glicoalcaloides se obtuvo un patrón de solanidina del 98.7% de pureza. Después de seleccionar las mejores condiciones de análisis, se determinó el contenido de glicoalcaloides totales en los tubérculos de 5 clones de *S. tuberosum* por titulación en solventes no acuosos empleando como indicador una mezcla de azul de bromofenol y fenol.

SUMMARY

From flowers of *Solanum tuberosum* I.C.A. R-12 variety a α -choconine standard 98.5% purity was isolated and by glycoalkaloids hydrolysis a solanidine standard 98.7% purity was obtained. After making a choice of the best analytical conditions the total content of glycoalkaloids in tubers of 5 clones of *S. tuberosum* was determined by volumetric titration with non acuous solvents using a mixture of bromophenol blue and phenol as titration indicator.

INTRODUCCION

La papa, *Solanum tuberosum* L., constituye un producto básico en la alimentación del pueblo colombiano y su cultivo es muy importante dentro de la actividad agrícola de clima frío. Lo anterior ha sido motivo para que el Instituto Colombiano Agropecuario (I.C.A.) inicie programas de mejoramiento tendientes a obtener variedades con ciertos caracteres deseables como elevado rendimiento y resistencia a enfermedades, plagas y heladas, entre otros.

Desafortunadamente también pueden aparecer caracteres indeseables como variedades con altas concentraciones de glicocorticoides y por esta razón es indispensable contar con métodos confiables que permitan determinar el contenido de estos compuestos en las variedades o clones que se pongan a disposición de los cultivadores.

Los glicocoalcaloides (GA) presentes en especies del género *Solanum* normalmente son alquilaminas esteroidales con el esqueleto C₂₇ del colestano que se encuentran en la planta en forma de glicósidos (1).

En la papa (*S. tuberosum*) los principales glicoalcaloides son α -salinina (1) y α -chaconina (2) aislada inicialmente por Kuhn y Low (2) de *Solanum chacoense*, los cuales representan como mínimo el 95% de los glicoalcaloides totales (GAT). Además de estos glicoalcaloides también se han extraído de *S. tuberosum* y de *S. chocoense* las formas beta y gamma de solanina y de chaconina, las cuales poseen cadenas de azúcares más cortas, y en algunas variedades de papa se ha obtenido hasta 33% de (3), solanidina libre (3).

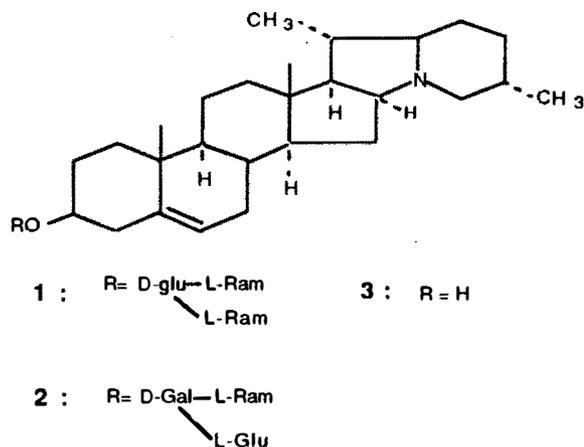
En los tubérculos de papa, los glicoalcaloides (GA) se acumulan en las células parenquimáticas de la peridermis y en áreas de alta actividad metabólica como la región de los ojos (4). Dentro del tubérculo, los GA están en mayor concentración en las capas externas siguiendo un gradiente descendente hacia adentro (3). El contenido de glicoalcaloides totales (GAT) en tubérculos de papa oscila entre 1 y 35 mg. por 100 g. en peso fresco (5, 6) y algunos estudios como el de Bushway y Ponnampalam (7) demuestran que los GA son estables durante los procedimientos de cocción. Estas concentraciones

* Universidad Nacional, Depto. de Farmacia, A. A. 14.490, Bogotá, Colombia.

** Laboratorio Nacional de Insumos Agropecuarios, ICA, Tibaitatá, Colombia

de GA pueden ser afectadas por factores genéticos (8), el medio ambiente (5), se incrementan por exposición de los tubérculos a la luz del sol o artificial (10), aumenta a mayor temperatura y tiempo de almacenamiento (10) y por lesiones y magulladuras causados durante el transporte y el procesamiento (9) e igualmente fertilizantes como el ácido fosfórico (11) y el sulfato de magnesio (12) incrementan el contenido de GA en los tubérculos.

Con respecto al papel fisiológico que cumplen los GA en la papa, se les ha clasificado como metabolitos de estrés y se considera que son importantes en el control de algunas enfermedades por hongos (13) y por nemátodos e insectos (14). De acuerdo con Nishie y col. (15) la solanina produce disminución de la actividad motora en ratones, aumento del tiempo de sueño en ratones tratados con pentobarbital, cambio del trazado de electroencefalogramas y aceleración de la velocidad respiratoria en conejos, efectos inotrópicos positivos similares al glicósido cardiotónico K-estrofantósido y efecto hemolítico (3).



La toxicidad de los glicoalcaloides (GA) de la papa se conoce desde hace mucho tiempo, ya desde 1918 Harris y Cockburn (18) informaron sobre intoxicaciones y muertes de humanos causadas por el consumo accidental de papa con altas concentraciones de GA y posteriormente se han publicado varios trabajos sobre la toxicidad de estos alcaloides en humanos y animales de granja (3). La teratogenicidad de los GA de la papa ha causado preocupación desde que en 1972 Remwick (17) propuso sobre la base de un estudio epidemiológico comparativo que las malformaciones en humanos conoci-

das como anencefalía y espina bífida eran causadas por el consumo materno de papas infestadas con *Phytophthora infestans*. Aunque las malformaciones neurológicas se desmintieron en publicaciones como la de Nevin y Merret (18), en trabajos posteriores se demostró que los GA α -solanina y α -chaconina producen una elevada letalidad en embriones de ratas (19) y que efectivamente estos GA sí dan lugar a muchas malformaciones, especialmente a nivel esquelético, en diferentes especies de animales (19).

Además de las implicaciones toxicológicas señaladas anteriormente, varios estudios como el de Sindén y col. (20) demuestran que concentraciones de glicoalcaloides totales (GAT) superiores a 14 mg/100 g. de peso fresco producen sabor amargo detectado en paneles sensoriales. En general, se ha establecido que las variedades de papa para consumo humano no deben contener una concentración de GAT superior a 20 mg./100 g. de peso fresco.

El análisis cuantitativo de los GAT en papa se ha efectuado desde hace más de 70 años y con este propósito se han empleado diferentes métodos, entre los cuales se pueden señalar los siguientes: A. *Gravimétricos*: Desarrollados a partir de 1900, y en general consisten en la extracción de los GA con ácido acético diluido y posterior precipitación con amoníaco (16). B. *Colorimétricos*: Estos procedimientos evalúan las coloraciones desarrolladas por los GA o sus aglicones con diferentes reactivos como Marqués (ácido sulfúrico-formaldehído) (21) y el método de Coxon y col. (22) que utiliza azul de bromotimol. C. *Polarográficos*: Como el utilizado por Pierzchalski y Mrozowska (23). D. *Volumétricos*: Aunque se han empleado valoraciones volumétricas en medios acuosos, revisten mayor interés analítico las titulaciones no acuosas, entre las que se destacan el método de Fitzpatrick y Osman (24), en el cual los GA se extraen con una mezcla de MeOH-CHCl₃ 2:1 (55), se hidrolizan con H₂SO₄ 2N, se precipitan con amoníaco y el aglicón disuelto en MeOH anhidro se titula con una mezcla de azul de bromofenol al 0.067.7% y fenol al 10% en metanol. Este método fue modificado en 1980 por Bushway y col. (6) con el propósito de eliminar el proceso de hidrólisis. E. *Cromatografía en capa delgada*: Este procedimiento normalmente se combina con una determinación densitométrica aproximada de los GA después de revelar son SbCl₃, reactivo

de Dragendorff, indicadores fluorescentes y reactivo de Clarke. F. *Cromatografía en fase gaseosa*: Debido a la baja volatilidad de los GA no se puede lograr la separación directamente y por esta razón se ha trabajado con los derivados permetilados y trimetilsililados o se hidrolizan los GA y se determina los aglicones. G. *Cromatografía líquida de alta eficiencia* (CLE): Bushway y col. (25) establecieron las condiciones óptimas para la separación y evaluación de α -solanina y α -chaconina con una buena exactitud usando fases normales. H. *Métodos inmunológicos*: En 1979 Vallejo y Ergovich (26) publicaron un procedimiento que permite la valoración de GA por radioinmunoensayo y en 1983 Morgan y col. (27) informaron sobre la evaluación de GA con gran exactitud y sensibilidad por el ensayo de inmunosorbente de enzima ligada (ELISA).

Por lo expuesto, se puede apreciar la gran variedad de métodos que se han empleado para la valoración de glicoalcaloides (GA) en tubérculos de papa y entre éstos tal vez los dos últimos permiten una evaluación más precisa y exacta; desafortunadamente el gran costo de equipos y reactivos limitan su utilización por muchos laboratorios. Por esta razón, el presente trabajo tuvo como finalidad obtener un método que permita la valoración de GA, con un nivel aceptable de precisión y de exactitud en un laboratorio con equipos y reactivos corrientes.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal: Los patrones de alcaloides se obtuvieron a partir de las flores de *Solanum tuberosum* variedad ICA-R12. Para la evaluación de los métodos se utilizaron tubérculos de papa de la variedad San Jorge y el clon 82-228-1 del banco de germoplasma del ICA. Los 7 clones para los cuales se determinó el contenido de glicoalcaloides también fueron suministrados por el banco de germoplasma del ICA.

Equipos y reactivos: Los análisis espectrofotométricos se efectuaron en un equipo UV-Vis Shimadzu modelo 760, el EM en un espectrómetro Jeol Modelo JMS-20 a 40 eV y los p.f. en un fusiómetro Büchi SMP 20. Siempre se utilizaron reactivos grado analítico.

Obtención de los patrones: El procedimiento seguido es una modificación de los métodos de Porter (27) y de Bushway y col. (6). Por secado en una estufa con aire circulante de 11.5 Kg. de flores sin

pedicelo de papa de la variedad ICA-R12 se obtuvieron 1.175 g. de material pulverizado. Este material se extrajo por homogenización en una licuadora durante 5 min. con 111. de AcOH al 5%, se centrifugó a 4.000 r.p.m. por 20 min. se filtró al vacío por papel, se adicionó NH_4OH al 25% hasta pH 11, se calentó a 70°C por media hora y se dejó en reposo a 5°C durante la noche. El precipitado se separó por centrifugación a 15.000 r.p.m., se redisolvió en AcOH al 5% y se repitió el proceso anterior por dos veces más; el residuo obtenido se suspendió en EtOH al 80% se hizo reflujo durante 3 h., se filtró en caliente, se concentró en un evaporador rotatorio a un pequeño volumen, se adicionó NH_4OH hasta pH 11, se calentó a 70°C por media hora, se dejó en reposo a 5°C durante la noche y se centrifugó a 15.000 r.p.m.; el residuo se colocó al reflujo nuevamente con EtOH al 80% y se repitió el proceso descrito dos veces. El residuo final obtenido se disolvió en EtOH al 80% hirviendo, se filtró en caliente, se adicionaron 3 volúmenes de Me_2CO , el precipitado se separó por centrifugación a 6.000 r.p.m., el residuo se redisolvió en EtOH al 80% y se repitió el proceso de precipitación con Me_2CO dos veces más. El residuo se recrystalizó 3 veces de EtOH al 80% y al final se obtuvieron 960 mg. de mezcla de GA (rendimiento = 0,07%).

Una cromatografía en capa delgada (CCD) de los GA sobre cromatoplasmas con sílica gel G, desarrolladas con la fase inferior de $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-NH}_4\text{OH}$ 2% (2:2:1) y revelada con reactivo de Dragendorff produjo 2 manchas con R_f 0,26 (A) y 0,40 (B). Este sistema se utilizó para separar por CCD preparativa 141 mg. de la mezcla de GA, a partir de los cuales se obtuvieron 25,2 mg. de A y 73,9 mg. de B. Los 2 GA A y B se recrystalizaron de EtOH al 80%, se separaron sobre el mismo soporte y los eluentes $\text{MeOH-AcOEt-AcOH-H}_2\text{O}$ (30:20:10:1) (R_f de A = 0,28; R_f de B = 0,41) y $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-AcOH}$ (50:45:5) (R_f de A = 0,76; R_f de B = 0,87). el GA A fundió a 274-275°C (d) y el GA B a 270-271°C (d).

Se hidrolizaron 15,3 mg. de A y 19,7 mg. de B por reflujo en HCl al 5% en MeOH durante 3 h.; concluida la hidrólisis se adicionó NH_4OH al 5%, se calentó en b.m. por 10 min., se agregaron 5 ml. de agua y se extrajo con CHCl_3 por 3 veces. Con el fin de eliminar los iones cloruro, cada una de las fases acuosas se pasó por una columna intercambiadora

de cationes fuertemente ácida y en los eluatos se identificaron los azúcares.

Los azúcares producidos en la hidrólisis se identificaron por separación en CCD y comparación con patrones de glucosa, galactosa y ramnosa. Se utilizaron placas cubiertas con sílica gel G-AcONa 0,02M (1:2) desarrolladas con CHCl_3 -MeOH (60:40) y con sílica gel G- H_3BO_3 0,02M (1:2) eluidas con HOH-Me₂CO- CHCl_3 -MeOH (75:5:10:10); en ambos sistemas se reveló con ftalato de anilina y con anisaldehído- H_2SO_4 (28). Se obtuvieron los siguientes valores de Rf: galactosa = 0,38, glucosa = 0,46 y ramnosa = 0,66 en el primer sistema, y galactosa = 0,30, glucosa = 0,24 y ramnosa = 0,50 en el segundo sistema. Por comparación cromatográfica se estableció que por hidrólisis del GA A se produce glucosa, galactosa y ramnosa, y por hidrólisis de B, glucosa y ramnosa.

Una CCD de los aglicones resultantes de la hidrólisis de los GA A y B (sílica gel G, eluente CHCl_3 -MeOH 90:10, revelado con Dragenforff) produjo una mancha mayor con RF = 0,61 (C) y un producto en proporción muy inferior con Rf = 0,83 (D). La hidrólisis de 120 mg. de la mezcla de GA en las condiciones anotadas, seguida de una separación por CCPD y cristalización de CHCl_3 -MeOH (1:1) permitió obtener 20 mg. del alcaloide C cromatográficamente puro. El alcaloide C presentó un p.f. de 215°C y un EM m/z (int. relativa %): 387 (M⁺, 10%), 204 (60) y 150 (100), según Budzikiewics y col. (72), característico de la fragmentación de la molécula de solanidina. El alcaloide D es el solanotreno, producto de deshidratación de la solanidina, que siempre se forma durante la hidrólisis.

Valoración de los patrones obtenidos: Se empleó el método de titulación en medio acuoso publicado por Fitzpatrick y Osman en 1974 (29) y aplicado también por Bushway y col. en 1980 (6), el cual utiliza como solución valorante azul de bromofenol al 0,067% y fenol al 10% en MeOH anhidro. Alícuotas de 1, 2, - 5 ml. de la solución titulante se valoraron con un patrón de tomatina de 100% de pureza (Sigma Chem. Co. Ref. T1401) de concentración de 1,01 mg./ml. en metanol, encontrándose que 1 ml. de la solución titulante equivale a 1.05 mg. de tomatina. De la misma manera, alícuotas de 1, 2, ... 5 ml de α -choconina (1,39 mg/ml.) y de solanidina (0,40 mg/ml.) en metanol se valoraron con la solución titulante y se obtuvo que 1 ml. de titulante equivale a 0,86 mg. de α -choconina y a 0.41

mg. de solanidina. (Todas las titulaciones se hicieron por duplicado y siempre se tuvo en cuenta el titulante gastado con un blanco de metanol). Los anteriores análisis permiten calcular que la α -choconina obtenida tiene una pureza del 98,48% y la solanidina del 98,65%. También se valoró una solución de 1,04 mg/ml. de la mezcla de glicoalcaloides obtenidos y se estableció que 1 mg. de dicha mezcla equivale a 1,01 mg de α -Chaconina.

Selección de las mejores condiciones para la determinación de glicoalcaloides totales (GAT):

Se emplearon tubérculos sanos y limpios de la variedad San Jorge y del clon 82-228-1. Los tubérculos se dividieron en 8 partes aproximadamente iguales y de cada uno se tomaron 2/8 opuestos. La escogencia de las condiciones óptimas de análisis se efectuó de acuerdo con un análisis de varianza trabajando con un nivel de confianza del 95% (nivel de significación del 5% (30).

Se hizo un estudio analítico y estadístico con el fin de determinar las condiciones óptimas del método de Bushway y col. (13) para los siguientes parámetros: a. Volumen de la mezcla extractora: se probaron por triplicado volúmenes de 75, 100, 200 y 250 ml. de la mezcla de MeOH- CHCl_3 (2:1). b. Tiempo de agitación de los GA en HCl: el método original (6) utiliza un baño con ultrasonidos durante 5 min.; para el presente trabajo se sustituyó por agitación magnética a 600 r.p.m. y se ensayaron por triplicado tiempos de 10, 20 y 30 min.

Con base en los resultados obtenidos se adoptó el siguiente procedimiento: 20 g. de tubérculos de papa picados se homogenizaron en una licuadora con 100 ml. de MeOH- CHCl_3 (2:1) durante 10 min., se filtró por papel Whatmann No. 1, se lavó el residuo con la misma mezcla y se aforó a 100 ml. Una alícuota de 50 ml. se concentró en un evaporador rotatorio a 15 ml., se adicionaron 15 ml. de HCl 0,2 N, se agitó magnéticamente por 20 min., se filtró por papel Whatmann No. 1, se lavó el residuo con el mismo ácido, al filtrado se le adicionó NH_4OH del 25% hasta pH = 11, se calentó a 70°C por 20 min., se dejó en reposo a 5 °C durante la noche, se centrifugó 20 min. a 6.000 r.p.m., se lavó el residuo con NH_4OH al 10%, se volvió a centrifugar y el residuo se dejó en reposo hasta que se disiparon los vapores de amoníaco. El residuo se agitó con 9 ml. de una mezcla de THF-HOH-MeCN (5:3:2),

se aforó a 10 ml. y se centrifugó 20 min. a 6.000 r.p.m. Una alícuota de 1 ml. se llevó a sequedad sobre un b.m. y el residuo se disolvió en 5 ml. de MeOH absoluto. La anterior solución se tituló con una solución que contiene 10% de fenol y 0,067% de azul de bromofenol en MeOH absoluto.

La precisión del método de Bushway y col. (6) en las condiciones descritas se evaluó por su aplicación a la valoración por triplicado de 3 muestras homogéneas de tubérculos de papa de la variedad San Jorge y del clon 82-228-1. La respuesta del método se determinó aplicando el procedimiento a la valoración de alícuotas de 0,5; 1; 2; 3; 5; 8; 11 y 14 ml. de la mezcla de GA de concentración 0,66 mg/ml. en MeOH llevadas a un volumen de 100 ml. con MeOH-CHCl₃ (2:1), concentraciones que equivalen a 1,64 mg. de mezcla de GA/100 g. de tejido (la primera) y 46,20 mg. de GA/100g. de tejido (la última). La exactitud del procedimiento se evaluó por el método del incremento: se prepararon 3 mezclas homogéneas de la variedad San Jorge y de cada una se tomaron 5 muestras; a 4 de las muestras se les adicionó mezcla de GA a niveles de 1,51; 7,53; 15,08; y 30,12 mg/100 g. de tejido; a la quinta muestra no se le agregaron GA.

También se estudiaron las condiciones óptimas para utilizar el método de Coxon y col. (22), pero aunque su precisión es aceptable, presenta una exactitud muy baja (48,2% de recuperación absoluta) y por esta razón se escogió el procedimiento de Bushway y col. (6).

Finalmente, se determinó por triplicado el contenido de glicoalcaloides totales (GAT) en tubérculos de 7 clones de papa mediante la utilización del procedimiento descrito antes.

RESULTADOS Y DISCUSION

Obtención de los patrones: Mediante una complementación del método de Porter (27), modificado por Bushway y col. (6), a partir de 1,175 Kg. de flores de papa secas de la variedad ICA-R12 se obtuvieron 960 mg. de una mezcla de GA, (rendimiento del 0,07%). La separación por CCD en varios sistemas cromatográficos permitió establecer que la mezcla de GA está constituida por dos glicoalcaloides A y B. La separación de 141 mg. de la mezcla de GA por CCDP en placas con sílica del G eluidas con CHCl₃-MeOH-NH₄ 2^o (2:2:1), produjo 25,2 mg. del GA a (Rf + 0,26; pf. 274-275OC (d))

y 73,9 mg. de B (Rf + 0,40; p.f 270-271^oC(d)). Por hidrólisis del GA A se obtuvieron los azúcares glucosa, galactasa y ramnosa, y como aglicones un alcaloide C en mayor proporción (Rf = 0,61) y uno D en concentración muy inferior (Rf = 0,83). La hidrólisis del GA B produjo los azúcares glucosa y ramnosa y los mismos alcaloides C y D presentes en el glicoalcaloide A. Por hidrólisis de 120 mg de la mezcla de GA seguida de la separación por CCPD se obtuvieron 20 mg. del alcaloide C cromatográficamente puro. El alcaloide C presentó un p.f. de 215^oC y un EM con M^t = 397 y dos fragmentos principales a m/z 204 (60^o%) y 150 (100^o%), los cuales, según Budzikiewics y col. (31), concuerdan exactamente con el EM de solanidina. La identidad del alcaloide C, permite inferir que el compuesto D es solantreno, producto de deshidratación de solanidina que siempre se forma en el proceso de hidrólisis ácida. Con base en los resultados anteriores, se puede deducir que el glicoalcaloide A es α -solanina (aglicón solanidina y azúcares glucosa, galactasa y ramnosa) y que el glicoalcaloide B es α -chaconina (aglicón solanidina y azúcares glucosa y ramnosa).

Valoración de los patrones: De acuerdo con los anteriores resultados, la mezcla de GA está constituida por α -solanina y α -chaconina en proporción aproximada 1:3 y por esta razón, se consideró más adecuado un patrón de α -chaconina para evaluar los GAT por el método de Bushway y col. (6). Inicialmente, se valoró la solución titulante (10% de fenol y 0,067% de bromofenol en MeOH absoluto) con un patrón de tomatina con 100% de pureza y se encontró que 1 ml. de titulante equivale a 1,05 mg. de tomatina. De la misma manera se determinó que 1 ml. de la solución titulante equivale a 0,88 mg. de α -chaconina y a 0,41 mg. de solanidina. Por valoración con la solución titulante se estableció que 1 mg. de la mezcla de GA equivale a 1,01 mg de α -chaconina. Finalmente, los cálculos demostraron que el patrón de α -chaconina obtenido tiene una pureza de 98,49% y el de solanidina de 98,65% valores que están de acuerdo con las publicaciones (32).

Selección de condiciones y evaluación del método de Bushway y col. (6) para la determinación de GAT.

Con el propósito de determinar las condiciones óptimas, la precisión y la exactitud del método de Bushway y col. (6) se trabajó con la variedad San Jorge y el clon 82-228-1 del ICA, los cuales poseen

respectivamente concentraciones bajas (< de 10 mg/100 g. de peso fresco) y medianas (10-20 mg/100 g. de peso fresco) de GAT.

En primer lugar se evaluó por triplicado el volumen de mezcla de MeOH-CHCl₃ (2:1) necesario para extraer los GAT de 20 g. de tubérculos de papa y se encontró como volumen adecuado 100 ml., ya que no hay diferencias a un nivel de significación de 0,05 con volúmenes superiores, de 200 y 250 ml.

Bushway y col. (6) utilizan ultrasonidos para la disolución de los GA en HCl 0,2 N. Para el presente estudio se utilizó agitación magnética a 600 r.p.m. y se ensayaron tiempos de 10, 20 y 30 min., y mediante una prueba de intervalo múltiple de Duncan (30) se demostró que a un nivel de significación del 0,05% no hay diferencias entre los tiempos de agitación de 20 y 30 min. y por tanto se trabajó con 20 min. de agitación.

Con base en estos resultados, se modificó el método de Bushway y col. (6) y el procedimiento detallado se describió en los Métodos. Los resultados de la evaluación de la precisión del procedimiento indican que para concentraciones bajas y medianas de GA en tubérculos de papa, el método es reproducible a un nivel de significación del 0,05 (30). Los valores de los Coeficientes de Variación (C.V.) indican que el método es más reproducible para niveles medios de GA (C.V. = 4,22%) que para niveles bajos de GA (C.V. = 5,66%). Mediante el método del incremento descrito antes, se encontró que para niveles de GA muy bajos (< de 5 mg/100 g. de peso fresco) y muy altos (> de 36 mg/100 g. de peso fresco) la recuperación es inferior al 95%, mientras que para concentraciones comprendidas entre 6-35 mg/100 g. de peso fresco la recuperación oscila entre 96,5 y 98,7%; también se determinó que el método tiene una recuperación relativa del 96,98% y una exactitud absoluta del 92,52%. Con base en los anteriores valores, se estableció que el método de Bushway y col. (6) adoptado, es óptimo para concentraciones de GA en tubérculos de papa comprendidas entre 6,42 y 35,23 mg./100 g. de peso fresco.

Determinación del contenido de glicoalcaloides en tubérculos de siete clones de papa

Establecidas las condiciones óptimas del método de Bushway y col. así como su precisión y su exac-

titud, se utilizó para la determinación por triplicado del contenido de glicoalcaloides (GA), calculados como α -chaconina, de los tubérculos de 7 clones de papa suministrados por el banco de germoplasma del ICA. Los resultados se observan en la Tabla 1.

TABLA 1. CONTENIDO DE GLICOALCALOIDES EN TUBERCULOS DE SIETE CLONES DE PAPA SUMINISTRADOS POR EL BANCO DE GERMOPLASMA DEL ICA

CLON	α -chaconina mg./100 g. p. fresco	α -chaconina Promedio mg./100 g. p. fresco
ER. D: AR 81-144-10	4,93	4,99
	5,27	
	4,79	
PR. D: AR 7994-3	11,56	11,16
	10,71	
	11,22	
ER. D: AR	9,01	9,07
	9,35	
	8,84	
PR. D: AR 82-222-1	8,16	8,10
	7,82	
	8,33	
BS ₃ D: AR 83-226-1	6,29	5,84
	5,78	
	5,44	
ER. D: AR 82-300-1	3,91	3,97
	4,25	
	3,74	
BS ₃ D: AR 82-228-1	12,41	12,41
	12,75	
	12,07	

De acuerdo con los anteriores resultados, ninguno de los clones evaluados presentó niveles de glicoalcaloides, expresados como α -choconina, superiores al límite de 20 mg/100 g. de peso fresco de tubérculo, normalmente aceptado como seguro para el consumo humano.

BIBLIOGRAFIA

1. K. Schreiber, "Steroid alkaloids of the Solanum group". en "The Alkaloids", Ed por R.H.F. Manske Academic Press, New York, 1968, Vol. 10, pp. 1-192.
2. R. Kuhn e I. Low, Ann. Acad. Sci. Fennicee. Ser. A. 2, 488-495 (1955). Vía Chem Abstr. 50, 18546 (1956)
3. S.J. Sadhay y Y. Salhunke, Advances Food Research 21, 307-354 (1975).
4. R. Reeve, E. Hautala y M. Wayer, Am. Potato J. 46, 374-386 (1979).
5. S. L. Sinden y R. E. Webb, Am. Potato J. 49, 334-338 (1972).
6. R.J. Bushway, A.M. Wilson y A.A. Bushway, Am. Potato J. 57, 561-565 (1980).
7. R.J. Bushway y R. Ponnampalam, J. Agric. Food Chem. 29, 814-817 (1981).
8. L.L. Sandford y S. L. Sinden, Am. Potato J. 49, 204-217 (1972)
10. B.C. Patil, D.K. Salunkhe y B. Songh, J. Food Sci. 36, 474-476 (1971).
11. F. Von Morgenster, Landw. Vers. Sta. 65, 301-308 (1907). Vía Chem. Abstr. 1, 1305 (1907).
12. E. Duane y M. Nell, J. Agric. Food Chem. 32, 465-466 (1984).
13. J. Kuc, J. Hentlign, N. Garas y Y. Doke, J. Food Protection 42, 508-511 (1979).
14. W.M. Tingen, Am. Potato J. 61, 157-167 (1984).
15. K. Nishie, M.R. Gumbmann y A.C. Keyl, Toxicology and Applied Pharmacology 19, 81-92 (1971).
16. F.W. Harris y T. Cockburn, Analyst. 43, 133-137 (1918). Vía Chem. Abstr. 12, 1403 (1918).
17. J.H. Renwich, Br. J. Prev. Soc. Med. 26, 67-68 (1972).
18. N. Nevin y D. Merret, Br. J. Prev. Soc. Med. 29, 111-115 (1975).
19. S. Chaube y C. Swinyrad, Toxicology and Applied Pharmacology 36, 227-237 (1976).
20. S.L. Sinden, K.L. Deal y B.B. Aulenbech, J. Food Sci. 41, 520-523 (1976).
21. B. Alberti, Z. Unters Lebensmittel 64, 260-262 (1932). Vía Chem. Abstr. 27, 2758 (1933).
22. D.T. Coxon, K.R. Price y P.G. Jones, J. Sci. Food Agric. 30, 1043-1049 (1979).
23. T. Pierschalski y A. Mrozowska, Chem Anal. 13, 367-377 (1968). Vía Chem. Abstr. 69, 74386 (1968).
24. T.J. Fitzpatrick, J.D. Mackenzie y P. Gregory, Am. Potato J. 55, 247-248 (1978).
25. R.J. Bushway, J. Liquid Chromatogr. 25, 1313-1322 (1982).
26. R. Vallejo y C. Ercegovich, Trace Org. Anal. New Front. Chem. J. 519, 333-340 (1979). Vía Chem. Abstr. 91, 106679 (1979).
27. W. Porter, Am. Potato J. 49, 403-406 (1972).
28. E. STAHL: Thin-Layer Chromatography', 2a. Edición, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1969.
29. T.J. Fitzpatrick y S. Osman, Am. Potato J. 51, 318-323 (1974)
30. R. Stell y J. Torrie, "Principles and procedures of Statistics with special reference to the Biological Sciences", McGraw Hill Book Company Inc., New York, 1960, pp. 128-139.
31. H. Budzikiewics, C. Djerassi y D.H. Williams, "Structure elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry. Vol. II. Steroids, Terpenoids, Sugar and miscellaneus class", Holden-Day, Inc., San Francisco, London, Amsterdam, 1964, pp. 10-12.
32. R.J. Bushway, J. Chromatog. 178, 533-541 (1979).