

IDENTIFICACIÓN Y VALORACIÓN DE LAS SAPONINAS DE *Chenopodium quinoa* Willd EN VARIEDAD AMARILLA MARANGANI Y NEGRA COLLANA, AYACUCHO 2018

José Yarlequé Mujica, Marco Arones Jara, Hugo Luna Molero, Brita Anaya González

Instituto de Investigación de Ciencias de la Salud

E-mail: jaymujica@hotmail.com

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo la identificación y valoración de las saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd de la variedad amarilla marangani y negra collana. La investigación se llevó a cabo en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNSCH y en el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas. La muestra estuvo constituida por un kilogramo de semillas de *Chenopodium quinoa* Willd de la variedad amarilla marangani y negra collana, proveniente de la Estación Experimental INIA-Ayacucho. La extracción se realizó según el Método descrito por Harinder et al. El secado se realizó utilizando el atomizador Mini Spray Dryer Buchi B-290, con un 100% de aspiración, temperatura de entrada 120°C, temperatura de salida 79°C y 2% de flujo de muestra. Se realizó la reacción de Liebermann Burchad para identificar la presencia de triterpenos y esteroides; así como el perfil cromatográfico y espectrofotométrico según lo descrito por Lock. La valoración física se realizó por el Test Afrosimétrico, el Índice afrosimétrico y la valoración biológica se evaluó por el índice hemolítico y el índice de pez. Las variedades amarilla marangani y negra collana de *Chenopodium quinoa* Willd presentan triterpenos y esteroides; presentan valores de Rf característicos de 0,0448; 0,8806; 0,9105 y 0,0694; 0,4861 y 0,9306 respectivamente. Del análisis espectral de los extractos de *Chenopodium quinoa* Willd, se identificó espectros de absorción UV para la variedad amarilla marangani a 215 nm y de la variedad negra collana a 310 nm. Las variedades amarilla marangani y negra collana de *Chenopodium quinoa* Willd dan positivo al Test Afrosimétrico; presentan un Índice Afrosimétrico de 1100 y 1000 para la droga seca y de 3100 y 2986 para el extracto atomizado respectivamente. Las saponinas de la quinua producen un 100% de mortalidad en el Índice de Pez y presentan un Índice Hemolítico de 3333,3 y 1666,7 respectivamente.

Palabras clave: *Chenopodium quinoa* Willd, variedad amarilla marangani, variedad negra collana; valoración química y física; saponinas.

IDENTIFICATION AND ASSESSMENT OF THE SAPONINS OF *Chenopodium quinoa* willd IN MARANGANI YELLOW AND BLACK COLLANA VARIETY, AYACUCHO 2018

ABSTRACT

The objective of this research work is to identify and evaluate the saponins of *Chenopodium quinoa* Willd of the yellow variety marangani and black collana. The research was carried out in the Center for Development, Analysis and Quality Control of Medicines and Phytomedicines of the Faculty of Health Sciences of the UNSCH and in the Biochemistry laboratory of the Faculty of Biological Sciences. The sample was constituted by a kilogram of seeds of *Chenopodium quinoa* Willd of the yellow variety marangani and black collana, coming from the Experimental Station INIA-Ayacucho. The extraction was carried out according to the method described by Harinder et al. Drying was done using the Buchi B-290 Mini Spray Dryer with 100% suction, inlet temperature 120 ° C, outlet temperature 79 ° C and 2% sample flow. The Liebermann Burchad reaction was performed to identify the presence of triterpenes and steroids; as well as the chromatographic and spectrophotometric profile as described by Lock. The physical assessment was made by the Afrosimetric Test, the Afrosimetric Index and the biological assessment was evaluated by the hemolytic index and the fish index. The yellow marangani and black collana varieties of *Chenopodium quinoa* Willd present triterpenes and steroids; present characteristic Rf values of 0.0448; 0.8806; 0.9105 and 0.0694; 0.4861 and 0.9306 respectively. From the spectral analysis of *Chenopodium quinoa* Willd extracts, UV absorption spectra were identified for the marangany yellow variety at 215 nm and the black collana variety at 310 nm. The yellow marangani and black collana varieties of *Chenopodium quinoa* Willd are positive for the Afrosymetric Test; they present an Afrosimetric Index of 1100 and 1000 for the dry drug and of 3100 and 2986 for the atomized extract respectively. Quinoa saponins produce 100% mortality in the Fish Index and have a Hemolytic Index of 3333.3 and 1666.7 respectively.

Keywords: *Chenopodium quinoa* Willd, yellow variety marangani, black variety collana; chemical and physical assessment; saponins.

INTRODUCCIÓN

La quinua es un alimento ancestral de gran importancia alimentaria. *Chenopodium quinoa* presenta muchas

variedades, así, a nivel mundial se ha reportado alrededor de cien variedades, de los cuales 20 variedades existen en nuestro país.

Su composición química mayoritaria incluye de 14 a 20% de proteínas; sin embargo, también posee metabolitos secundarios como flavonoides, saponinas, además de muchos minerales.

Las saponinas, son un metabolito secundario ubicado en la capa externa de la semilla de quinua, responsable de su sabor amargo, el cual debe ser eliminado previo a su consumo; sin embargo, estos tienen una gran utilidad no sólo en el ámbito farmacéutico, sino también en la industria cosmética, minerías y la agricultura, de ahí la importancia de su estudio y puesta en valor.

Está determinado que la quinua contiene saponinas triterpénicas derivadas básicamente del ácido oleanólico, ácido fitolacagénico, de la hederagenina. Así mismo, la composición cuali-cuantitativa está determinada por la amplia gama de variedades de la quinua.

En ese sentido, el presente proyecto de investigación tiene como finalidad aportar mayor información química respecto a dos variedades de quinua, la variedad amarilla maranganí y la variedad negra ccollana, los cuales serán proporcionados por el Centro Experimental INIA-Ayacucho.

El problema identificado es cuáles son las clases de saponinas presentes en la variedad amarilla maranganí y negra collana de *Chenopodium quinoa* Willd., para ello se planteó el objetivo general de evaluar las clases de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd en la variedad amarilla maranganí y negra collana y los objetivos específicos son:

- Identificar la presencia de saponinas en la variedad amarilla maranganí y negra collana.
- Determinar el perfil cromatográfico de las saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd en la variedad amarilla maranganí y negra collana.
- Caracterizar químicamente las saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd en la variedad amarilla maranganí y negra collana.
- Valoración física y biológica de las saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd de la variedad amarilla maranganí y negra collana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio.- El proyecto se llevará a cabo en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNSCH y en el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas.

Tipo de investigación.- Básica descriptiva

Muestra.- 1 kg de saponina de *Chenopodium quinoa* de la variedad amarilla maranganí y negra collana, proveniente de la Estación Experimental INIA-Ayacucho.

Procedimiento experimental

Extracción y obtención de saponinas

- Extracción de saponinas.- Las saponinas de las semillas

de quinua fueron extraídas en medio alcohólico y se precipitaron por cambio de solventes utilizando éter y se cuantifica teniendo en cuenta sus propiedades de disminuir la tensión superficial de los líquidos y formar ésteres de colessterina con los glóbulos rojos produciendo su rompimiento y liberación de la hemoglobina. Método descrito por Harinder et al. 1, con las modificaciones adecuadas.

- Secado y pesado.- Se secaron 100g de semillas de quinua amarilla y negra (anexo 1) en un horno a temperatura de 40°C durante 24 horas. Luego molido en un mortero de porcelana hasta pulverizarlas. Se pesaron en una balanza analítica 10 g de muestra.¹
- Extracción.- A la muestra pesada se agregó 200 ml de una solución de Et-OH: H₂O_(d) (7.0:3.0) y sometido por 30 minutos con agitación continua en un rotavapor. Se filtró la muestra en un vaso precipitado, utilizando un papel filtro N°1.¹
- Concentración.- Se concentró la muestra en un rotavapor a una temperatura no mayor a 45°C hasta llegar a una cantidad aproximada de 100ml.¹
- Eliminación de lípidos.- Se retiró los lípidos tratando la muestra con 50 ml de éter de petróleo en un pera de separación. Se agitó vigorosamente por 30 minutos y se dejó en reposo por 24 h. Se eliminó la fracción etérea y luego la fase hidroalcohólica se concentró con ayuda de un rotavapor a 60°C, hasta eliminar el alcohol y reducir el volumen a la mitad.¹
- Secado por atomización.- El secado final se realizó utilizando el atomizador Mini Spray Dryer Buchi B-290, con un 100% de aspiración, temperatura de entrada 120°C, temperatura de salida 79°C y 2% de flujo de muestra.²

Identificación química

- Identificación de saponinas.- Para la identificación química se realizó la reacción de Liebermann Burchad. A una porción de muestra se añadió gotas de ácido acético más 3 mL de anhídrido acético/ácido sulfúrico (50:1). Las saponinas triterpenoidales dan color rosado o púrpura mientras que las esteroidales dan azul verdoso.³
- Perfil cromatográfico.- La detección por CCD se desarrolló en placas de silicagel tratada con nitrato de plata (7-15%). Los sistemas de solvente variaron CHCl₃:EtOAc (1:1), CHCl₃:EtOH (9:1), CHCl₃:Me₂CO (9:1), bz:Me₂CO (17:3). Como agentes cromogénicos se usarán el reactivo de Carr Price (SbCl₃ al 20% en CHCl₃), reactivo de Liebermann-Burchad (1 mL de H₂SO₄ + 20 mL de Ac₂O + 50 mL de CHCl₃, cloruro de zinc (30 g de ZnCl₂ completando a 100 mL con MeOH), vainillina-H₂SO₄ (1g de vainillina en 100 mL de H₂SO₄), H₂SO₄ al 50%, sulfato de amonio y sulfato ácido de amonio (1:1).³

- c. **Perfil espectrofotométrico.**- El perfil espectrofotométrico se realizó por espectrofotometría UV-VIS.³

Valoración física

- a. **Test Afrosimétrico.**- Se tomó la cuarta parte del extracto etanólico seco en un tubo de ensayo y se añadió 5 ml de agua destilada, calentar al BM hirviendo por 2 minutos, agitar vigorosamente, observar la aparición de espuma muy persistente; la persistencia en minutos de la espuma se califica con cruces: 5 - 20 min. (+); 20 - 25 min. (++); 30 - más (+++).
- b. **Índice afrosimétrico (I .A.).**- Es el número que expresa el volumen en centímetros cúbicos en que está disuelto un gramo de material saponínico para producir espuma de un centímetro de altura en un tubo de 16 mm de diámetro que contiene 10 ml., de solución. Este método de evaluación de saponinas está basado en la propiedad físico-química que presentan las soluciones acuosas de saponinas, de disminuir la tensión superficial de los líquidos acuosos, provocando abundante espuma por agitación. En esta medida es preciso efectuarla en determinadas condiciones para que pueda tomarse como base analítica. Para determinarlo se procedió a preparar una solución de la muestra al 0,5% de semilla molida. Se tomó 10 tubos del mismo diámetro (16 mm) y se colocó 1 mL de la solución de la muestra en el primer tubo, 2 ml, en el segundo tubo, 3 ml, en el tercer tubo y así sucesivamente hasta llegar a 10 ml, en el décimo tubo. Se completó a 10 ml, con agua destilada en todos los tubos, se agitó medio minuto y dejó en reposo a los tubos por 15 minutos, al cabo de los cuales se observó en qué tubo la espuma alcanza 1 cm. de altura (medida convencional). Si este índice es inferior a 20 puede decirse que la muestra prácticamente no contiene saponinas.
- c. **Índice hemolítico.**- Se preparó una suspensión de glóbulos rojos, lavados varias veces en centrífuga, con solución de cloruro de sodio al 0,9%, para obtener una solución al 2%. Por otra parte se hace una lixiviación de la muestra con SSF para obtener una concentración de 1%. Se tomaron 11 tubos y se colocó 0,1 ml de la solución de saponina, en el segundo 0,2 ml, y así sucesivamente hasta llegar a 1 ml en el tubo N° 10; en el tubo N° 11 no se colocó solución de saponinas porque sirvió de blanco. Se agregó a todos los tubos solución salina para completar 5 ml y 5ml de suspensión de glóbulos rojos, se mezcló por inversión. A las 15 horas se observa a partir de qué tubo comienza a producirse hemólisis (color rojo transparente). En los tubos en que no se han efectuado hemólisis los glóbulos rojos se sedimentaron, quedando el líquido incoloro o ligeramente coloreado.⁴
- d. **Índice de pez.**- Es una constante propuesta por Kobert y se define como la concentración de saponina que en 100 ml de solución determina la muerte de un pez de una especie determinada y un peso dado después de una hora de inmersión en la solución. Se opera con lotes de tres peces *Poecilia reticulata* «gupis» que fueron colocados en dosis distintas del extracto acuoso: 0.5%; 1% y 3% de semilla molida. Generalmente cuando se usa una

infusión de la muestra al 1% deben morir en el tiempo señalado (1 hora) por lo menos 1 de los 3 peces. Los peces mueren por la acción hemolítica que producen las saponinas en las cavidades braquiales de estos animales.

Análisis de datos

Los resultados se presentarán en cuadros y gráficos. Para la valoración física y biológica se calculará la media y el error estándar.

RESULTADOS

Tabla 1. Análisis químico de *Chenopodium quinoa* Willd en variedad amarilla marangani y negra collana. Ayacucho 2018.

Análisis	Variedad	
	<i>Amarilla marangani</i>	<i>Negro ccollana</i>
Liebermann Burchad	Verde oscura (+++)	Verde oscura (+++)
Rf	0,0448 0,8806 0,9105	0,0694 0,4861 0,9306

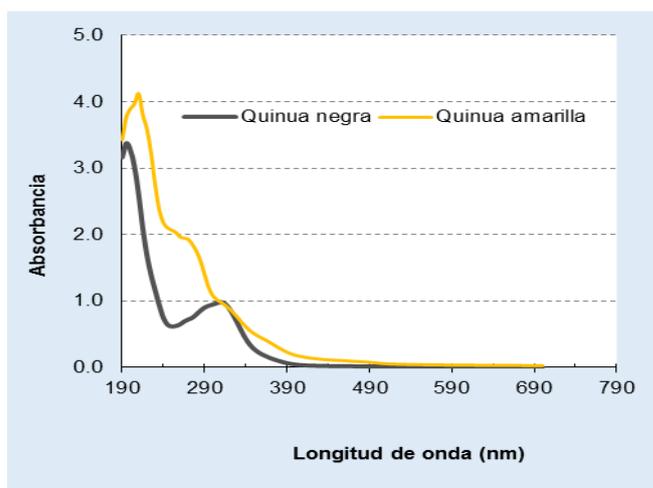


Figura 1. Espectro de absorción UV-VIS de los extractos atomizados de *Chenopodium quinoa* Willd en variedad amarilla marangani y negra collana. Ayacucho 2018.

Tabla 2. Test afrosimétrico de *Chenopodium quinoa* Willd en variedad amarilla marangani y negra collana. Ayacucho 2018.

Análisis	Variedad	
	<i>Amarilla marangani</i>	<i>Negro ccollana</i>
Test afrosimétrico	(+++)	(+++)

Tabla 3. Índice afrosimétrico de *Chenopodium quinoa* Willd en variedad amarilla marangani y negra collana. Ayacucho 2018.

Tubo #	Cantidad (g)	Índice afrosimétrico			
		<i>Amarilla marangani</i> (grano molido)	<i>Negro ccollana</i> (grano molido)	<i>Amarilla marangani</i> (atomizado)	<i>Negro ccollana</i> (atomizado)
1	0,010	1100	1000	3100	2986
2	0,020	580	500	1500	1463
3	0,025	430	400	1210	1170
4	0,030	350	333	395	375
5	0,040	275	250	783	733
6	0,050	215	200	605	585

Tabla 4. Índice de Pez de *Chenopodium quinoa* Willd en variedad amarilla marangani y negra collana. Ayacucho 2018.

Vaso #	Concentración (%)	Índice de Pez	
		<i>Amarilla marangani</i> (grano molido)	<i>Negro collana</i> (grano molido)
1	0,5	100,0	100,0
2	1,0	100,0	100,0
3	3,0	100,0	100,0

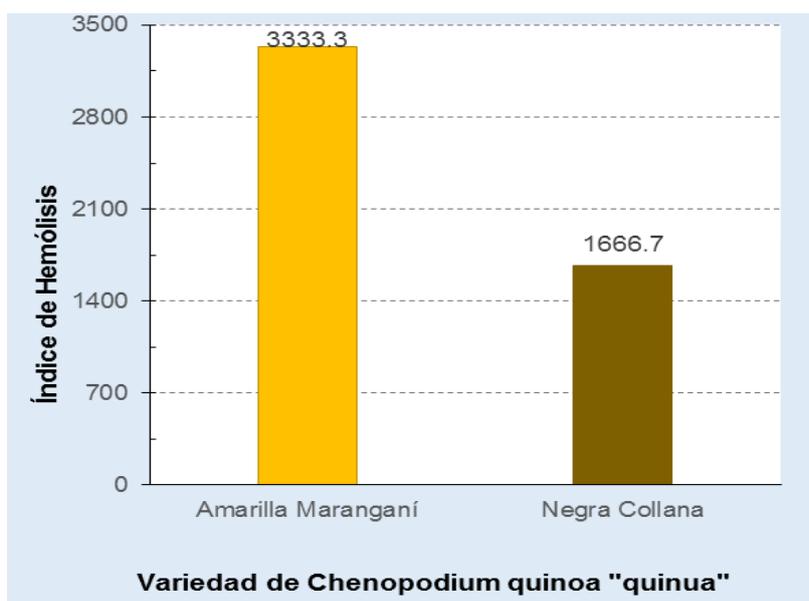


Figura 2. Índice Hemolítico de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd en variedad amarilla marangani y negra collana. Ayacucho 2018.

DISCUSIÓN

En la tabla 1, se reporta los resultados del análisis químico de las dos variedades de *Chenopodium quinoa* Willd. Al realizar la prueba de Liebermann Burchad, observamos que se desarrolla una coloración verde oscura en ambas variedades, siendo mayor en la variedad negra collana. Al respecto, las saponinas con los compuestos más abundantes en el extracto acuoso. Zegarra⁵, refiere que todas las variedades de quinua

resultaron positivas a la presencia de triterpenoides y saponinas; siendo la variedad Markjo la que mostró de manera cualitativa el mayor contenido de dichos metabolitos, además de resultar positiva a la prueba de alcaloides. Taranco⁶, menciona que la mayor cantidad de saponinas se encuentra en la cascarilla respecto al grano y otras partes de la planta. Gunsha⁷, afirma que los metabolitos secundarios más representativos presentes en el agua de lavado de la quinua son: saponinas triterpénicas y azúcares.

Así mismo podemos observar los valores de Rf resultados de la cromatografía en capa, usando como fase móvil CH₂Cl:EtOH (19:1): los valores de Rf obtenidos son de 0,0448; 0,8806 y 0,9105 para la variedad amarilla de marangani y los valores para la variedad negra collana fueron de 0,0694; 0,4861 y 0,9306.

La identificación de saponinas se determina mediante pruebas de espuma y de hemólisis, mediante Cromatografía de Capa Fina (CCF) usando como revelador reactivos específicos, que producen coloración. La técnica más utilizada es la CCF, en la que se utiliza mezclas de disolventes: cloroformo, metanol y agua. El método para la cuantificación de saponinas propuesto por Baccou y colaboradores en 1977, se basa en reacciones de coloración con anisaldehído, ácido sulfúrico y acetato de etilo⁸.

Esta determinación puede realizarse directamente y no permite la interferencia de azúcares, esteroides, ácidos grasos y otros aceites vegetales, ya que las saponinas tienen las mismas propiedades colorimétricas ya sea que se encuentran en forma libre, enlazadas a azúcares, esterificadas con ácido acético o mono o polihidroxiladas. La sensibilidad del método es especialmente buena, ya que la formación del cromóforo (complejo coloreado), puede ser detectado sin dificultad, utilizando una longitud de onda a 430 nm. Compuestos como el colesterol, lanosterol, cortisol y cortisona no muestran interferencias y ningún tipo de absorción⁸.

La estructura de los productos coloreados aún no se ha dilucidado, sin embargo se cree que son los anillos E y F los que toman parte en reacciones de condensación. El ácido sulfúrico causa la hidrólisis de las saponinas, y las saponinas formadas reaccionan inmediatamente con el ácido sulfúrico, acetato de etilo y anisaldehído, formando un complejo coloreado responsable del espectro de absorción⁹.

En el análisis de cromatografía en capa fina realizado para la identificación de saponinas esteroidales, se utilizaron como referencias los estándares de ergosterol, β-sitosterol, estigmasterol y diosgenina. Según la literatura, la presencia de saponinas se distingue por una coloración azul – violeta y amarilla bajo la luz ultra violeta a 365 nm. Los estándares presentaron un Rf de 0.97 con banda de coloración amarilla y *L. graveolens* (Rf 0.955), *L. guatemalensis* (Rf 0.941), *P. alliaceae* (Rf 0.970) *P. pseudoaureum* (Rf 0.970) y *S. domingensis* (Rf 0.955) presentaron una banda de color amarilla con Rf muy apegado al de los estándares, lo que indica que las plantas de estudio contienen saponinas esteroidales⁹.

En la figura 1, se presenta los espectros de absorción UV-Vis de los extractos atomizados de las variedades de *Chenopodium quinoa* Willd. Podemos observar que la variedad amarilla de marangani presente un pico de absorción máxima a 215 nm; mientras que la variedad negra collana, presenta un pico de absorción máxima a 310 nm. Lock³, refiere que el espectro UV es muy útil para deducir la presencia y ubicación de grupos cromóforos por aplicación de las reglas de Woodward. Así mismo, Lock señala que los compuestos triterpenoides y esteroides en general muestran señales en el espectro IR, especialmente a 3650-3590 cm⁻¹ y a 1055 cm⁻¹ correspondientes a -OH secundarios; señales a

2960-2850 cm⁻¹ y 1485-1445 cm⁻¹ correspondientes a estiramientos de -CH- y flexiones de -CH₂-; señales a 1385-1380 cm⁻¹ y 1370-1365 cm⁻¹ de gem-dimetil, insaturaciones podrían observarse a 3040-3010 cm⁻¹ correspondientes a estiramientos hidroxilos a cetonas elimina las bandas de -OH, apareciendo las absorciones del carbonilo a 1718-1704 cm⁻¹ si es una ciclohexanona o a 1378-1749 cm⁻¹ para las ciclopentanonas; la conjugación con dobles enlaces provoca desplazamientos a 1680-1660 cm⁻¹; los acetatos absorben a 1733-1739 cm⁻¹ y a 1250-1200 cm⁻¹; los anillos de lactona a 1725-1715 cm⁻¹.

En ese sentido, lo que necesitamos, se continuará en una etapa final la evaluación de los espectros IR de los extractos, que nos darían mayor información sobre la estructura química de los triterpenoides presentes.

Cabe mencionar también que Lock señala que en las saponinas esteroidales son además características las absorciones en forma de 4 bandas llamadas A, B, C y D, aproximadamente a 980, 920, 900 y 860 cm⁻¹ respectivamente. Con las saponinas 25-L la banda B tiene una absorción más fuerte que la banda C, mientras que en la serie 25-L aparecen a 987-984 cm⁻¹ y 850 cm⁻¹; mientras que en la serie D ellas están a 981-976 cm⁻¹ y 860 cm⁻¹ respectivamente.

Así mismo, las saponinas triterpenoides carecen de estas absorciones características por lo que a pesar de la coincidencia del comportamiento tensoactivo, hemolítico y cambios coloridos, la ausencia de estos detalles en el IR pueden confirmar que una sustancia pertenece a este grupo de saponina triterpenoide.

Es importante señalar que una técnica muy útil para determinar la estructura química de las saponinas es la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón, ya que es muy característico para esteroides y triterpenos.

Así la espectrofotometría de masas ha sido la herramienta más fuerte y usual para elucidar el esqueleto y especialmente la localización del doble enlace en los triterpenos; la fragmentación característica de los diferentes esqueletos permite asignar un triterpeno dado a una de las clases.

El Test afrosimétrico es un método físico para la valoración de saponinas en muestras vegetales. En la tabla 2, se presente los resultados de la evaluación de test afrosimétrico de las dos variedades de *Chenopodium quinoa* Willd, presentando resultados positivos para ambas variedades.

En la tabla 3, se presentan los valores del índice afrosimétrico de las dos variedades de *Chenopodium quinoa* Willd en variedad amarilla marangani y negra collana. Ambas variedades, tanto como droga seca como extracto atomizado, presenta alto índice afrosimétrico. En todas las condiciones evaluadas, se desarrollan espuma de más de un centímetro de altura, lo que corrobora su alto contenido de saponinas; sólo ya con la adición de 0,01 g de droga seca o extracto atomizado, se logra desarrollar espuma de más de un centímetro de altura.

En la tabla 4, se reportan los resultados del Índice de Pez. Ambas variedades lograron producir muertes en 3 de 3 peces

evaluados; vale decir el 100% de mortalidad. Demostrando de esta manera su gran actividad.

Las plantas se han utilizado desde tiempos antiguos para el tratamiento de todo tipo de afecciones, considerándose en el tiempo actual como una alternativa para la medicina tradicional natural que está fuera del alcance de la población en países como el nuestro¹⁰.

Las saponinas pueden tener un esqueleto tipo esterooidal o de tipo triterpenoide (derivados del escualeno); la diferencia radica en que las saponinas esterooidales han eliminado 3 de sus radicales metilo mientras que las triterpénicas los mantienen intactos. Además, algunos triterpenos no presentan el sistema policíclico característico del esterano¹⁰.

El contenido de saponinas en las plantas depende de diversos factores tales como, el tipo de cultivo, edad de la planta, estado fisiológico, la localización geográfica o el órgano vegetal. Las saponinas de vegetales han sido conocidas por causar hemólisis, y estudios sobre la correlación entre las estructuras moleculares y la actividad hemolítica sugieren que menores modificaciones en la estructura de la parte de la aglicona pueden tener enormes efectos sobre su potencia hemolítica¹⁰.

Las saponinas presentan un grupo de características generales que sirven de base para su identificación rápida: 1) producción de espuma al ser agitadas sus soluciones acuosas, lo cual es la base de la reacción de selivoflo empleada en el tamizaje fitoquímico; 2) producción de hemólisis de los glóbulos rojos por la mayoría de ellas, propiedad que se aprovecha en las técnicas en que se cuantifica la potencia de estas sustancias; 3) toxicidad en animales poiquilotérmicos, en especial los peces (sapotoxinas), a los cuales provocan parálisis de las agallas; 4) producción de una reacción positiva en la prueba de Liebermann-Burchard. Por lo general, las sustancias esterooidales en esta prueba manifiestan colores que van desde el azul hasta el verde y las triterpénicas, rosado, rojo o violeta. Además, la mayoría de las saponinas son solubles en diferente grado en soluciones de etanol al 80 %, propiedad que se emplea en diversas técnicas para su extracción y purificación¹⁰.

Su actividad hemolítica y antilipémica y su capacidad de bajar los niveles de colesterol en el suero son una de sus características más importantes¹¹.

En el organismo, las saponinas ocasionan dolor estomacal, náuseas, ligera diarrea y problemas en la digestión, puesto que la fase jabonosa producida al mezclarse con el agua y al ser agitada por los movimientos peristálticos de las vísceras, hace que se rompan las fuerzas de tensión superficial de las fases líquidas que intervienen en el proceso de digestión. Parte de estos tóxicos también puede ser asimilada por el organismo, teniendo que pasar por el hígado para ser biotransformados en formas menos tóxicas, y de esta manera propiciar un proceso de desintoxicación¹⁰.

El poder hemolítico de las saponinas depende de varios factores como el pH, temperatura, tipo de sangre, etc. Es por ello que la muestra siempre debe ser manejada bajo condiciones estándar¹².

En la figura 2, se presenta los resultados de la evaluación del

Índice Hemolítico de las dos variedades de quinua. La variedad amarilla maranganí presenta mayor índice hemolítico, con un valor de 3333,3 en comparación con la variedad negro collana que presentó un índice de 1666,7.

Al respecto, podemos mencionar que el poder hemolítico es característico de las saponinas triterpénicas pero es variable según los sustituyentes de la estructura (por ejemplo, los grupos carboxílicos COOH disminuyen el poder hemolítico). Las saponinas esterooidales monodesmosídicas son hemolíticas mientras que las bidesmosídicas no lo son. Debido a su poder hemolítico resultan muy tóxicas si se administran por vía intravenosa (contactan directamente con la sangre) mientras por vía oral su toxicidad es muy baja¹⁰.

Las saponinas tienen la habilidad de producir ruptura de los eritrocitos, este hecho ha permitido emplear esta característica en la detección y en métodos de cuantificación de saponinas. Este método colorimétrico de hemólisis está basado en el procedimiento del índice hemolítico. En la valoración muestra la existencia de saponinas con diferente actividad hemolítica dependiendo de su estructura. Generalmente se encuentran saponinas monodesmosídicas más activos que sus análogos bidesmosídicos. Así se han aislado más de 20 saponinas de diferentes partes de la quinua (flores, frutos y granos) y se identificaron sus agliconas y respectivos azúcares; sin embargo, la mayor cantidad de saponinas se encuentra en el epispermo del grano, por lo que son abundantes en los residuos (mojuelo) que se desechan en el proceso de beneficiado, a través del cual se separa la cascarilla del grano por fricción (escarificado), actividad que se realiza a la quinua para consumo y exportación¹³.

En ese sentido se concluye:

Se identificó la presencia de saponina en la variedad amarilla maranganí y negra collana de *Chenopodium quinoa* Willd al dar positivo a la reacción de Liebermann Burchard.

Se determinó que las variedades amarilla maranganí y negra collana de *Chenopodium quinoa* Willd presentan valores de Rf característicos de 0,0448; 0,8806; 0,9105 y 0,0694; 0,4861 y 0,9306 respectivamente.

Del análisis espectral de los extractos de *Chenopodium quinoa* Willd, se identificó espectros de absorción UV para la variedad amarilla maranganí a 215 nm y de la variedad negra collana a 310 nm.

Las variedades amarilla maranganí y negra collana de *Chenopodium quinoa* Willd dan positivo al Test Afrosimétrico. Presentan un Índice afrosimétrico de 1100 y 100 para la droga seca y de 3100 y 2986 para el extracto atomizado respectivamente. Producen un 100% de mortalidad en el Índice de Pez y presentan un Índice Hemolítico de 3333,3 y 1666,7 respectivamente.

AGRADECIMIENTO

A Stephany Massiell Barbarán Vilcatoma, por su colaboración para el presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Makkar HP, Siddhuraju P, Becker K. Plant secondary metabolites. Estados Unidos: Humana Press; 2007. 130 p.
2. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Convenio Andrés Bello; 2000.
3. Lock O. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. Primera edición. Lima - Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. 300 p.
4. Lozano M, Ticona E, Carrasco C, Flores Y, Almanza GR. Cuantificación de saponinas en residuos de quinua real *Chenopodium quinoa* Willd. Rev Boliv Quím. 2012;29(2):131-138.
5. Zegarra Vilchez GH. Actividad deterrente y acaricida de principios activos de quinas amargas, aceites esenciales y Tarwi. [Lima]: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2010.
6. Taranco M, Solis C, Chávez N, Peña A. Extracción de saponinas de *Chenopodium quinoa* para su utilización en la elaboración de productos cosméticos [Tesis de grado]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005.
7. Allauca G, Jacqueline L. Elaboración de un emulsionante cosmético a base de las saponinas del agua de lavado de quinua (*Chenopodium quinoa*) en ERPE [Tesis de grado]. [Ecuador]: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2013.
8. Santa Cruz L. Manual: Selección Fitoquímica. Guía Práctica Par Los Lab Quím Prod Nat Fitoquímica USAC Guatem. 1987.
9. Baccou JC, Lambert F, Sauvaire Y. Spectrophotometric method for the determination of total steroidal saponin. Analyst. 1977;102(1215):458-65.
10. Hernández Royero R. Obtención de crudos de saponinas hipocolesteromizantes del *Chenopodium quinoa* Willd. Rev Cuba Med Mil. 1997;26(1):55-62.
11. Bruneton J. Saponósidos. 2da ed. Zaragoza - España: Acribia; 2001.
12. Medinilla B. Manual de laboratorio de fitoquímica. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 1993.
13. Kuljanabagavad T, Thongphasuk P, Chamulitrat W, Wink M. Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. Phytochemistry. 2008;69(9):1919-26.