

Universidad Nacional Agraria La Molina

Facultad de Industrias Alimentarias



Desarrollo de un Método Espectrofotométrico para la Determinación de Acido Oleanólico en Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.)

Tesis presentada para optar el Título de

**INGENIERO EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**

**Carlos César Augusto
Elías Peñafiel**

Lima – Perú

1990

TABLA DE CONTENIDO

	<u>Pags.</u>
I.- INTRODUCCION	13
II.- REVISION DE LITERATURA	16
2.1. La Quinua	16
2.1.1. Clasificación Botánica	16
2.1.2. Datos Agronómicos	19
2.1.3. El valor nutritivo de la quinua	22
2.2. Las saponinas	25
2.2.1. Conceptos Generales	25
2.2.2. Acido Oleanólico	36
2.2.3. Propiedades	40
2.2.3.1. Físicas	40
2.2.3.2. Químicas.....	41
2.2.3.3. Biológicas	41
2.2.4. Métodos para la Identificación y Determinación Cuantitativa de Saponinas y de Acido Oleanólico.....	46
2.2.4.1. Consideraciones Generales.....	46
2.2.4.2. Detección e Identificación.....	47
2.2.4.3. Determinación Cuantitativa de saponinas y de Acido Oleanólico.....	50
2.2.4.3.1. Sililación	55
2.2.5. Espectrofotometría de saponinas,sapogeninas y ácido oleanólico	59
2.2.6. Aislamiento de Saponinas	65
III.- MATERIALES Y METODOS	74

3.1. Materia prima	74
3.2. Equipos, materiales y reactivos	74
3.2.1. Equipos y materiales	74
3.2.2. Reactivos	74
3.3. Metodología seguida	75
IV.- RESULTADOS Y DISCUSION.....	77
4.1. Aplicación en Quinua del método de Honerlagen y Tretter (1979).....	77
4.1.2. Detección de carbohidratos.....	80
4.1.3. Estudio espectrofotométrico de los extractos de Saponinas y Sapogeninas.....	82
4.1.4. Estudio espectrofotométrico del standard de ácido oleanólico.....	86
4.1.5. Conclusiones	89
4.2. Evaluación de la recuperación de ácido oleanólico en tres flujos extractivos.....	92
4.2.1. Conclusiones.	103
4.3. Purificación de ácido oleanólico y propuesta de un método espectrofotométrico definitivo.....	103
4.3.1. Determinación espectrofotométrica.....	109
4.3.2. Expresión de ácido oleanólico en términos de saponinas semipurificadas.....	112
4.3.3. Relación de sapogenina/azúcar. Ensayos de aná- lisis de azúcares por cromatografía de gas.	116
4.3.4. Conclusiones	118
V.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	120
VI.- BIBLIOGRAFIA	122
VII.- APENDICES	128

INDICE DE FIGURAS Y CUADROS

FIGURAS:

Nº 1 : Partes del fruto de la quinua.	18
Nº 2 : Ejemplo de la estructura de una saponina.....	27
Nº 3 : Sapogenina (genina) liberada por la hidrólisis de saponina	27
Nº 4 : Azúcares liberados por la hidrólisis de saponina....	27
Nº 5 : Ejemplo de la complejidad en estructura de saponinas.	28
Nº 6 : Ejemplo de saponina triterpénica.	29
Nº 7 : Digitonina, presentada como un ejemplo de saponina esteroidal.	29
Nº 8 : Vía más probable para la biosíntesis de saponinas..	31
Nº 9 : Geninas que sirven como base para la clasificación de las saponinas triterpénicas.	37
Nº 10: Ejemplo de sapogeninas que han sido caracterizadas en la naturaleza.	37
Nº 11: Sapogeninas que han sido caracterizadas en quinua...	38
Nº 12: Ac. oleanólico, (fórmula desarrollada).....	38
Nº 13: Ac. oleanólico, (fórmula semidesarrollada).....	38
Nº 14: Flujo para la determinación del ácido oleanólico por cromatografía de gas.	53
Nº 15: Flujo para la determinación de saponinas en raíces de Ginseg Panax y extractos.	56
Nº 16: Trimetil silil derivación de ácido oleanólico	60
Nº 17: Degradación del BSTFA mediante el agua.....	60

Nº 18: Espectros de absorción en ácido sulfúrico concentrado del ác. oleanólico, hederagenin y otros.....	63
Nº 19: Flujo para la purificación preliminar se saponinas de quinua.	65
Nº 20: Método para la purificación de saponinas de quinua Real.....	69
Nº 21: Método para la obtención de sapogeninas de quinua Real a partir de saponinas purificadas.....	71
Nº 22: Aplicación con ligeras modificaciones del flujo de Honerlagen y Tretter (1979) a la extracción de saponinas de quinua.....	79
Nº 23: Espectros de absorción del standard de saponina blanca Merck y del extracto crudo de saponinas.....	83
Nº 24: Espectros de absorción del standard de Glucosa Anhidra.....	84
Nº 25: Espectros de absorción del standard de ácido oleanólico y del extracto de sapogeninas.....	85
Nº 26: Espectros de absorción del ácido oleanólico a los 55' y a las 24 horas después de la reacción.....	89
Nº 27: Curva standard de ácido oleanólico determinada por espectrofotometría.	90
Nº 28: Flujos para la determinación de ácido oleanólico en quinua por cromatografía de gas.....	93
Nº 29: Cromatograma de los TMS-Derivados de las sapogeninas	102
Nº 30: Flujo espectrofotométrico definitivo resumido así como su evaluación.....	105
Nº 31: Flujo espectrofotométrico definitivo para la cuantificación de ácido oleanólico	106

Nº 32: Cromatografía en capa fina (tLC) de las saponinas.	109
Nº 33: Espectros de absorción del standard de ácido oleanólico y de la mancha cuyo Rf es similar al del ácido oleanólico.	111
Nº 34: Flujo para la obtención de saponinas semipurificadas	115
Nº 35: Espectros de absorción del extracto crudo de saponinas de quinua y de saponinas semipurificadas.....	117

CUADROS:

Nº 1 : Promedio de los valores nutricionales en granos de quinua.....	23
Nº 2 : Comparación del contenido de aminoácidos esenciales de la proteína de grano de quinua.....	24
Nº 3 : Comportamiento de las saponinas frente a los métodos : afrosimétrico, hemolítico, espectrofotométrico....	33
Nº 4 : Procedencia y estructura de saponinas encontradas en la naturaleza.....	39
Nº 5 : Propiedades y usos de las saponinas en general.....	42
Nº 6 : Variación de la absorbancia en función del tiempo ..	87
Nº 7 : Curva de calibración del standard de ácido oleanólico	91
Nº 8 : Condiciones gas cromatograficas seguidas para la determinación de los TMS derivados de saponinas.....	96
Nº 9 : Porcentajes de ácido oleanólico determinados por GC.	97
Nº 10: Tratamiento estadístico del % del ácido oleanólico..	100
Nº 11: Análisis de varianza de los porcentajes de ácido oleanólico.....	100
Nº 12: Media (X), desviación standard (S) y coeficiente de de variabilidad (CV).....	112