



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LA
SAPONINA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*) HIDROLIZADA
Y NO HIDROLIZADA SOBRE *Drosophila melanogaster*”**

TESIS DE GRADO

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO**

**PRESENTADO POR:
LUIS ENRIQUE BONIFAZ PAREDES**

**RIOBAMBA – ECUADOR
2010**

DEDICATORIA

A Dios por ser el guía de mi vida y darme la oportunidad de culminar mis estudios brindándome vida, salud y amor cada día de mi vida.

Desde el fondo de mi corazón a mis padres Elías y Teresita por ser ejemplo de perseverancia, humildad, amor, y mucho sacrificio.

A todas las personas que viven y vivieron en mi entorno los cuales me han demostrado su esfuerzo, confianza, amistad, cariño y amor

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Al Centro Biológico de Recursos Naturales por el apoyo brindado en la realización del trabajo investigativo. A la Facultad de Recursos Naturales

A la Dra. Susana Abdo por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente tesis.

A la Ing. Norma Erazo y Dr. Carlos Pilamunga, miembros del tribunal de tesis por sus acertadas opiniones en la realización de este trabajo

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que el trabajo de investigación: “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LA SAPONINA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*) HIDROLIZADA Y NO HIDROLIZADA SOBRE *Drosophila melanogaster*”, de responsabilidad del señor egresado Luis Enrique Bonifaz Paredes, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dra. Yolanda Días DECANA FAC. CIENCIAS	-----	-----
Dr. Luis Guevara DIRECTOR ESCUELA BIOQUÍMICA Y FARMACIA	-----	-----
Dra. Susana Abdo DIRECTOR DE TESIS	-----	-----
Dr. Carlos Pilamunga MIEMBRO DEL TRIBUNAL	-----	-----
Tc. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	-----	-----
NOTA DE TESIS	-----	

Yo. **Luis Enrique Bonifaz Paredes**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenece a la **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**.

LUIS ENRIQUE BONIFAZ PAREDES

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

INIAP	Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias
Ha	Hectárea
t	Tonelada
m	Metro
Km	Kilómetro
Kg	Kilogramo
F	Familia
mm	Milímetro
°C	Grados centígrados
DL₅₀	Dosis letal 50
mL	Mililitro
g	Gramos
mg	Miligramos
L	Litro
UV	Ultra violeta
N°	Número
cm	Centímetro
min	Minuto
Abs	Absorbancia
DCA	Diseño Completamente al Azar
Cm	Concentración Media
Vm	Volumen medio
GR	Glóbulos Rojos
nm	Nanómetro
ST	Sólidos Totales
%C	Porcentaje de Cenizas
P	<i>Drosophila melanogaster</i>
S1	Saponina Hidrolizada
S2	Saponina no Hidrolizada
C1	Concentración 0,1 %
C2	Concentración 0,5 %
R1	Repetición 1
R2	Repetición 2
R3	Repetición 3
R4	Repetición 4
B	Blanco Plaga <i>Drosophila melanogaster</i>
C	Control insecticida Karate (Agripac)

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	
ÍNDICE GRÁFICOS	
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	
ÍNDICE DE ANEXOS	
INTRODUCCIÓN	- 18 -
CAPÍTULO I	- 21 -
1. MARCO TEÓRICO	- 21 -
1.1. ORIGEN DE LOS PESTICIDAS NATURALES	- 21 -
1.2. INSECTICIDAS NATURALES A PARTIR DE EXTRACTOS VEGETALES	- 23 -
1.2.1. NATURALEZA DE LOS COMPUESTOS	- 23 -
1.3. ¿CÓMO ACTÚAN LOS INSECTICIDAS?.....	- 24 -
1.3.1. REGULADORES DE CRECIMIENTO	- 25 -
1.3.2. INHIBIDORES DE LA ALIMENTACIÓN.....	- 26 -
1.3.3. REPELENTES	- 26 -
1.3.4. CONFUSORES	- 27 -
1.4. INSECTICIDAS NATURALES DE USO POPULAR	- 28 -
1.5. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS INSECTICIDAS VEGETALES...-	33 -
1.5.1. VENTAJAS	- 33 -
1.5.2. DESVENTAJAS.....	- 33 -
1.6. ¿CUÁLES PLANTAS UTILIZAR?	- 34 -
1.7. PLAGAS	- 35 -

1.7.1.	CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS.....	- 38 -
1.8.	INCONVENIENTES DE LOS PRODUCTOS QUÍMICOS.....	- 39 -
1.8.1.	ESTRATEGIAS DE CONTROL	- 40 -
1.9.	QUINUA (<i>Chenopodium quinoa</i>) COMO MATERIA PRIMA PARA LA ELABORACIÓN DE UN INSECTICIDA NATURAL.....	- 41 -
1.9.1.	DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	- 41 -
1.10.	LAS SAPONINAS COMO OBSTÁCULO Y POTENCIALIDAD	- 43 -
1.11.	PROCESOS DE DESAMARGADO DE LA QUINUA	- 46 -
1.12.	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SAPONINA	- 46 -
1.13.	CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS MOSCA DE LA FRUTA (<i>Drosophila melanogaster</i>).....	- 48 -
1.13.1.	HABITAD.....	- 49 -
1.13.2.	CICLO DE VIDA	- 49 -
1.13.3.	MORFOLOGÍA EXTERNA DEL ADULTO	- 50 -
1.13.3.1.	CABEZA.....	- 50 -
1.13.3.2.	TÓRAX.....	- 51 -
1.13.3.3.	ABDOMEN.....	- 52 -
1.14.	CONTROL FÍSICO – QUÍMICO DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA	- 53 -
1.14.1.	TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS	- 53 -
1.14.2.	CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE SAPONINAS PRESENTES EN EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA	- 54 -
1.14.3.	ESTUDIOS CROMATOGRÁFICOS DE LAS SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA	- 54 -
1.14.4.	DETERMINACIÓN DE LA DL ₅₀	- 55 -
CAPÍTULO II.....		- 56 -
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	- 56 -
2.1.	LUGAR Y PRUEBAS DE ENSAYO.....	- 56 -

2.2.	RECURSOS MATERIALES.....	- 56 -
2.2.1.	MATERIA PRIMA.....	- 56 -
2.2.2.	EQUIPOS.....	- 57 -
2.2.3.	MATERIALES DE LABORATORIO	- 57 -
2.2.4.	REACTIVOS	- 58 -
2.3.	FACTORES DE ESTUDIO.....	- 59 -
2.4.	UNIDAD EXPERIMENTAL O DE ANÁLISIS	- 59 -
2.5.	OBTENCIÓN DEL MATERIAL PRIMA.....	- 60 -
2.6.	CONTROL FÍSICO QUÍMICO DE LA DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA	- 60 -
2.6.1.	DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES	- 60 -
2.6.2.	DETERMINACIÓN DE CENIZAS (Técnica NTE INEN 401)	- 61 -
2.6.3.	DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL	- 62 -
2.7.	OBTENCIÓN DE SAPONINAS.....	- 62 -
2.7.1.	SAPONINAS NO HIDROLIZADAS	- 62 -
2.7.1.1.	TRATAMIENTO DE LA MUESTRA	- 63 -
2.7.1.2.	PREPARACIÓN DEL EXTRACTO METANÓLICO	- 63 -
2.7.1.2.1.	SOLUCIONES DE SAPONINA NO HIDROLIZADA	- 64 -
2.7.2.	SAPONINAS HIDROLIZADAS	- 65 -
2.7.2.1.	HIDRÓLISIS ÁCIDA DE LA SAPONINA.....	- 65 -
2.7.2.2.	SOLUCIONES DE SAPONINA HIDROLIZADA.....	- 66 -
2.8.	TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS	- 66 -
2.8.1.	ENSAYO DE SUDAN	- 67 -
2.8.2.	ENSAYO DE LIEBERMANN-BURCHARD	- 67 -
2.8.3.	ENSAYO DE FEHLING.....	- 69 -
2.8.4.	ENSAYO DE LA ESPUMA	- 69 -
2.9.	CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE SAPONINAS PRESENTES EN EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA (HEMÓLISIS)-	70
2.9.1.	CUIDADOS PARA PIPETEAR LOS GLÓBULOS ROJOS	- 71 -

2.9.2.	LAVADO DE LOS GLÓBULOS ROJOS	- 72 -
2.10.	ESTUDIOS CROMATOGRÁFICOS	- 73 -
2.10.1.	CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA DE SAPONINAS NO HIDROLIZADAS	- 73 -
2.10.2.	CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA DE SAPONINAS HIDROLIZADAS	- 73 -
2.11.	METODOLOGÍA.....	- 74 -
2.11.1.	FASE DE CAMPO	- 74 -
2.11.2.	FASE DE LABORATORIO	- 74 -
2.12.	PROCEDIMIENTO	- 75 -
2.12.1.	CRianza DE LA MOSCA DE LA FRUTA, <i>Drosophila melanogaster</i> ... 75 -	- 75 -
2.13.	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA.....	- 78 -
2.14.	DETERMINACIÓN DE LA DL ₅₀	- 79 -
2.15.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	- 80 -
2.16.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	- 81 -
2.16.1.	TEST DE ANOVA.-	- 81 -
2.16.2.	PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS.-	- 81 -
2.16.3.	COEFICIENTE DE VARIACIÓN.-.....	- 81 -
2.16.4.	ANÁLISIS DE REGRESIÓN Y CORRELACIÓN PARA LA DL ₅₀ .- ...	- 81 -
CAPÍTULO III.....		- 82 -
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 82 -
3.1.	CONTROL FÍSICO QUÍMICO DE LA DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA	- 82 -
3.2.	DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL.....	- 83 -
3.3.	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LA SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE QUINUA UTILIZADOS EN EL TAMIZAJE FITOQUÍMICO	- 84 -
3.4.	TAMIZAJE FITOQUÍMICO.....	- 84 -

3.5.	CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE SAPONINAS PRESENTES EN EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA (HEMÓLISIS)-	85
-		
3.6.	CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA (TLC) DE SAPONINAS NO HIDROLIZADAS LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA OCTUBRE 2009.....	- 86 -
3.7.	RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.....	- 88 -
3.7.1.	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA SOBRE <i>Drosophila melanogaster</i>	- 88 -
3.7.2.	ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LAS SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.....	- 91 -
3.7.3.	PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LAS SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.....	- 93 -
3.7.4.	DETERMINACION DE LA DL ₅₀	- 97 -
	CONCLUSIONES	- 102 -
	RECOMENDACIONES.....	- 104 -
	RESUMEN	- 105 -
	SUMMARY	- 107 -
	BIBLIOGRAFÍA	- 109 -
	ANEXOS	- 114 -

ÍNDICE DE CUADROS

- CUADRO N° 1.-** CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA DE *Drosophila melanogaster* - 48 -
- CUADRO N° 2.-** INSECTO PLAGA, LUGAR DE PROCEDENCIA Y CULTIVO AL CUAL ESTA AFECTA - 59 -
- CUADRO N° 3.-** TRATAMIENTOS REALIZADOS CON SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS FRENTE A *Drosophila melanogaster*. ... - 80 -
- CUADRO N° 4.-** CONTROL FÍSICO QUÍMICO DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA OCTUBRE 2009. - 82 -
- CUADRO N° 5.** CANTIDAD DE NITRÓGENO Y PH DEL AGUA DE LAVADO DE QUINUA..... - 83 -
- CUADRO N° 6.** CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LAS SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE QUINUA..... - 84 -
- CUADRO N° 7.** TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA - 85 -
- CUADRO N° 8.** PORCENTAJE MEDIO DE MORTALIDAD DE *Drosophila melanogaster* A LOS 25 DÍAS DE ANÁLISIS, FRENTE SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010 - 88 -
- CUADRO N° 9.** ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA REPRODUCCIÓN DE INSECTOS FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010..... - 89 -

CUADRO N° 10. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA MUERTE DE INSECTOS FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010..... - 90 -

CUADRO N° 11. PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS DE LA REPRODUCCIÓN Y MUERTE DE LOS INSECTOS FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010..... - 91 -

CUADRO N° 12. ANÁLISIS ANOVA DE LA REPRODUCCIÓN Y MUERTE DE LOS INSECTOS FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010 - 91 -

CUADRO N° 13. PRUEBA DE TUKEY AL 5%: COMPARACIÓN ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS CON RELACIÓN A LA REPRODUCCIÓN DE LOS INSECTOS, FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. - 93 -

CUADRO N° 14. PRUEBA DE TUKEY AL 5%: COMPARACIÓN ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS CON RELACIÓN A LA MUERTE DE LOS INSECTOS, FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. - 94 -

CUADRO N° 15. COMPARACIÓN DE INSECTOS MUERTOS APLICANDO LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS POR SEMANA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010 - 97 -

CUADRO N° 16. TABULACIÓN DE DATOS DE LA HEMÓLISIS PRODUCIDA POR EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA - 116 -

CUADRO N° 17. TABULACIÓN DE DATOS DE LA HEMÓLISIS PRODUCIDA POR EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA - 118 -

CUADRO N° 18. TABULACIÓN DE DATOS DE LA HEMÓLISIS PRODUCIDA POR EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA - 120 -

ÍNDICE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1. ANATOMÍA DEL GRANO DE QUINUA	- 42 -
GRÁFICO N° 2. CROMATOGRAMA OBTENIDO PARA EL CRUDO DE SAPONINAS Y EL HIDROLIZADO.....	- 87 -
GRÁFICO N° 3. MEDIA DE INSECTOS REPRODUCIDOS VS TRATAMIENTOS CON SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010	- 95 -
GRÁFICO N° 4. MEDIA DE INSECTOS MUERTOS VS TRATAMIENTOS CON SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010.....	- 96 -
GRÁFICO N° 5. COMPARACIÓN DE INSECTOS MUERTOS APLICANDO LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS POR SEMANA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010	- 98 -
GRÁFICO N° 6. PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE <i>Drosophila melanogaster</i> FRENTE A LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SAPONINAS HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.....	- 99 -
GRÁFICO N° 7. PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE <i>Drosophila melanogaster</i> FRENTE A LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SAPONINAS NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.....	- 100 -
GRÁFICO N° 8. % HEMÓLISIS VS CONCENTRACIÓN DE LAS DILUCIONES (TABLA 1)	- 117 -
GRÁFICO N° 9. % HEMÓLISIS VS MUESTRA (TABLA 1)	- 117 -

GRÁFICO N° 10. % HEMÓLISIS VS CONCENTRACIÓN DE LAS DILUCIONES (TABLA 2)	- 119 -
GRÁFICO N° 11. % HEMÓLISIS VS MUESTRA (TABLA 2)	- 119 -
GRÁFICO N° 12. % HEMÓLISIS VS CONCENTRACIÓN DE LAS DILUCIONES (TABLA 3)	- 121 -
GRÁFICO N° 13. % HEMÓLISIS VS MUESTRA (TABLA 3)	- 121 -

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N° 1. SAPONINAS NO HIDROLIZADAS	- 64 -
FOTOGRAFÍA N° 2. CONCENTRACIÓN DE SAPONINAS HIDROLIZADAS POR MEDIO DE UN ROTAVAPOR	- 65 -
FOTOGRAFÍA N° 3. AUTOCLAVE: ESTERILIZACIÓN DE MATERIALES	- 75 -
FOTOGRAFÍA N° 4. LICUADORA: MADURO Y EL GUINEO	- 76 -
FOTOGRAFÍA N° 5. OLLA: COCCIÓN DEL ALIMENTO	- 76 -
FOTOGRAFÍA N° 6. FRASCOS DE VIDRIO ESTÉRILES	- 77 -
FOTOGRAFÍA N° 7. ALIMENTO PARA <i>Drosophila melanogaster</i>	- 78 -

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1. PRUEBA DE TUKEY AL 5%: COMPARACIONES MÚLTIPLES DE MEDIAS ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS CON RELACIÓN A LA REPRODUCCIÓN DE LOS INSECTOS, FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.
..... - 114 -

ANEXO N° 2. PRUEBA DE TUKEY AL 5%: COMPARACIONES MÚLTIPLES DE MEDIAS ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS CON RELACIÓN A LA MUERTE DE LOS INSECTOS FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA...... - 115 -

ANEXO N° 3. CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE SAPONINAS PRESENTES EN EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA (HEMÓLISIS)..... - 116 -

ANEXO N° 4. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO METANÓLICO - 122 -

ANEXO N° 5. CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE SAPONINAS DE QUINUA - 122 -

ANEXO N° 6. CROMATOGRAFÍA DE PLACA PREPARATIVA..... - 124 -

INTRODUCCIÓN

Las plantas han evolucionado por más de 400 millones de años y para contrarrestar el ataque de los insectos han desarrollado mecanismos de protección, como la repelencia y la acción insecticida. El método de control de plagas más antiguo son los sacrificios humanos, pero dada su baja efectividad, o tal vez la falta de voluntarios, se comenzaron a utilizar polvos y extractos vegetales, de lo cual hay antecedentes incluso en la Biblia.

Con la aparición en la década de los cuarenta de estos insecticidas sintéticos se pensó que los insecticidas vegetales desaparecerían para siempre pero problemas como la contaminación del ambiente, los residuos en los alimentos y la resistencia por parte de los insectos han hecho que hoy en día vuelvan a ser tomados en cuenta.

Sin lugar a dudas los fitoinsecticidas constituyen una muy interesante alternativa de control de insectos además de que sólo se han evaluado muy pocas plantas de las 250.000 que existen en el planeta por lo que las perspectivas futuras son aun insospechadas.

De hecho existen plantas como el neem (*Azadirachta indica* J. ; Meliaceae), que han mostrado tener excelentes resultados encontrándose ya en el mercado formulaciones comerciales.

Pero no se debe caer en triunfalismos y pensar que van a reemplazar a los insecticidas sintéticos sino que estos constituyen una alternativa dentro de un programa de Manejo Integrado de Plagas que debe ser complementada con todas las otras medidas de control que existen.(23)

El hombre depende del consumo directo de las plantas tanto vegetales, cultivos, cereales como de la obtención de sus productos. Anualmente, una tercera parte de la producción de alimentos se ve destruida por pestes de cultivos y productos almacenados (Ahmed, 1984), por lo cual se hace imprescindible el estudio de nuevas vías de control de plagas.

Es por esto que la presente tesis se enfocará al estudio de un importante componente de la quinua, como es las saponinas la cual desde la antigüedad ha sido utilizada por sus propiedades alimenticias pero no por sus atributos farmacológicos principalmente su actividad insecticida, convirtiéndose en el principal tema de estudio en la presente investigación.

Cabe indicar que en el país hay muchas empresas e instituciones como por ejemplo “ERPE” que producen y exportan quinua, para su comercialización esta necesita ser lavada, esta agua de lavado en muchas ocasiones es eliminada como desecho sin valor alguno descartando también las ventajosas propiedades específicas que deben ser identificadas y explotadas, siendo conveniente desarrollar tecnologías que permitan la utilización de tales propiedades, para que los sub productos de la quinua en este caso las saponinas puedan

adquirir un valor agregado cuando actúa como insecticida natural, con otras materias primas que generalmente son baratas, fácilmente disponibles pero en algunos casos dañinas para la salud.

Debido a la toxicidad diferencial de la saponina en varios organismos, se ha investigado sobre su utilización como potente pesticida natural que no genera efectos adversos en el hombre o en animales grandes, son de fácil degradación sin dejar residuales, destacando su potencial para el uso en programas integrados de control de plagas de esta manera contribuir al mejoramiento de la salud de los agricultores y sus familias que utilizan insecticidas químicos siendo este proyecto altamente eficiente y efectivo para el control de insectos.(24)

En nuestro país uno de los cultivos amenazados por plagas es el de frutas ya que es de suma importancia en cuanto a la producción agrícola, anualmente se siembran 50.000 Ha de diferentes variedades de frutas. *Drosophyla melanogaster* es la plaga que evita la producción normal de estos cultivos.

De esta manera el daño que causa esta plaga, fue la base para poder seleccionarla de entre un grupo, como fuentes de estudio y por ser especies adaptables a métodos de crianza en el laboratorio, para así poder erradicarlas de los cultivos y de esta forma se llegue a obtener cultivos de calidad.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. ORIGEN DE LOS PESTICIDAS NATURALES

Los productos sintéticos destinados a controlar plagas y enfermedades en los vegetales han tenido un rol muy marcado en el incremento de la producción agrícola.

Sin embargo el uso continuo e indiscriminado de estas sustancias, no sólo ha causado enfermedades y muertes por envenenamiento a corto y largo plazo, sino también ha afectado al medio ambiente, acumulándose por bioconcentración en los distintos eslabones de la cadena alimenticia, en el suelo y en el agua. Son responsables además de la resistencia a insecticidas por parte de los insectos, sin por ello restar importancia a la destrucción de parásitos, predadores naturales y polinizadores, entre los otros tantos integrantes del ecosistema, que han visto alterado su ciclo de vida a causa de estos productos.(8)

El hombre depende del consumo directo de las plantas tanto vegetales, cultivos, cereales como de la obtención de sus productos.

Anualmente, una tercera parte de la producción de alimentos se ve destruida por plagas de cultivos y productos almacenados, por lo cual se hace imprescindible el estudio de nuevas vías de control de plagas.

Las plantas, en conjunto, producen más de 100.000 sustancias de bajo peso molecular conocidas también como metabolitos secundarios. Estos son, normalmente, no-esenciales para el proceso metabólico básico de la planta.

Entre ellos se encuentran terpenos, lignanos, alcaloides, azúcares, esteroides, ácidos grasos, etc. Semejante diversidad química es consecuencia del proceso evolutivo que ha llevado a la selección de especies con mejores defensas contra el ataque microbiano, o la predación de insectos y animales.

Hoy en día se sabe que estos metabolitos secundarios tienen un rol importante en el mecanismo defensivo de las plantas. Por lo tanto en los últimos años se está retornando al uso de las plantas como fuente de pesticidas más seguros para el medio ambiente y la salud humana. Los pesticidas pueden ser clasificados de acuerdo con el tipo de organismo frente a los cuales son eficaces: fungicidas, herbicidas, insecticidas, moluscicidas, nematocidas, rodenticidas.

Sin lugar a dudas los insecticidas naturales a partir de extractos vegetales constituyen una muy interesante alternativa de control de insectos además de que sólo

se han evaluado muy pocas plantas en relación a la fuente natural que ofrece el planeta, por lo que las perspectivas futuras en cuanto a investigación, son aún mayores. (19)

1.2. INSECTICIDAS NATURALES A PARTIR DE EXTRACTOS VEGETALES

A partir de la necesidad por encontrar una nueva alternativa natural para el control de insectos plagas y reemplazar así los pesticidas sintéticos aparecen los insecticidas botánicos ofreciendo seguridad para el medio ambiente y una eficiente opción agronómica.

Muchas plantas son capaces de sintetizar metabolitos secundarios que poseen propiedades biológicas con importancia contra insectos plagas. La selección de plantas que contengan metabolitos secundarios capaces de ser utilizados como insecticidas naturales deben ser de fácil cultivo y con principios activos potentes, con alta estabilidad química y de óptima producción.

1.2.1. NATURALEZA DE LOS COMPUESTOS

Las plantas son laboratorios naturales en donde se biosintetizan una gran cantidad de sustancias químicas y de hecho se les considera como la fuente de compuestos químicos más importante que existe.

El metabolismo primario de las plantas sintetiza compuestos esenciales y de presencia universal en todas las especies vegetales. Por el contrario, los productos finales del metabolismo secundario no son ni esenciales ni de presencia universal en las plantas. Entre estos metabolitos son comunes aquellos con funciones defensivas contra insectos, tales como alcaloides, aminoácidos no proteicos, esteroides, fenoles, flavonoides, glicósidos, glucosinolatos, quinonas, taninos y terpenoides.

Hay quienes sostienen que estos compuestos no tienen un papel definido, e incluso se les llega a catalogar como “basura metabólica”. Sin embargo otros autores indican que constituyen señales químicas importantes del ecosistema. Existe gran variación en cuanto a la concentración de compuestos secundarios que los individuos de una población expresan. Además, no hay un patrón de máxima producción, ni órganos especiales de almacenaje de metabolitos secundarios, sin embargo lo común es que las mayores concentraciones de este tipo de compuestos se encuentren en flores y semillas. (23)

1.3. ¿CÓMO ACTÚAN LOS INSECTICIDAS?

Por definición, un insecticida es aquella sustancia que ejerce su acción biocida debido a la naturaleza de su estructura química. Por ejemplo, si matamos un insecto para nuestra colección entomológica usando frascos con cianuro de potasio podemos decir que esta sustancia tiene efecto insecticida. Sin embargo no podemos decir lo mismo del agua cuando

las gotas de lluvia matan pulgones, ya que su mortalidad no se atribuye a las características de la estructura química del agua. La mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal, exhiben un efecto insectistático más que insecticida. Es decir, inhiben el desarrollo normal de los insectos. Esto lo pueden hacer de varias maneras que a continuación se describen brevemente:

1.3.1. REGULADORES DE CRECIMIENTO

Este efecto se puede manifestar de varias maneras. La primera es aquella molécula que inhiben la metamorfosis, es decir evitan que esta se produzca en el momento y tiempo preciso. Otros compuestos hacen que el insecto tenga una metamorfosis precoz, desarrollándose en una época que no le es favorable. Por último, también se ha visto que determinadas moléculas pueden alterar la función de las hormonas que regulan estos mecanismos de modo que se producen insectos con malformaciones, estériles o muertos.

De hecho una de las anécdotas más comunes de la entomología señala que mientras se realizaba un experimento en forma paralela en Estados Unidos y Hungría, en este último país los insectos pasaban por un estado inmaduro extra antes de convertirse en adulto.

Se revisaron los métodos sin encontrar diferencia alguna hasta que se analizaron las toallas de papel que se usaban para darles agua y se descubrió que en ambos países se hacían de diferentes árboles siendo las europeas de *Abies balsamea*, una conífera muy común en ese país, la cual tenía una hormona vegetal que les inducía una muda supernumeraria.

Un ejemplo más práctico lo constituye la albahaca (*Ocimum basilicum*) de donde se extrajo el compuesto juvocineme II del cual posteriormente se derivaron las copias sintéticas piriproxifen y fenoxicarb.(23)

1.3.2. INHIBIDORES DE LA ALIMENTACIÓN

La inhibición de la alimentación es quizás el modo de acción más estudiado de los compuestos vegetales como insecticidas. En rigor un inhibidor de la alimentación es aquel compuesto, que luego de una pequeña prueba, el insecto se deja de alimentar y muere por inanición. Muchos de los compuestos que muestran esta actividad pertenecen al grupo de los terpenos y se han aislado principalmente de plantas medicinales originarias de África y la India. (23)

1.3.3. REPELENTES

El uso de plantas como repelentes es muy antiguo pero no se le ha brindado toda la atención necesaria para su desarrollo. Esta práctica se realiza básicamente con compuestos que tienen mal olor o efectos irritantes como son entre otros el ají y el ajo. Un claro ejemplo lo podemos observar en las prácticas realizadas por los indígenas de Guatemala y Costa Rica que suelen "pintar" o espolvorear con ají los recipientes en los que almacenan maíz y frejol para que no se "agorroje" y además espantar a los roedores. Por último no resulta raro escuchar recetas caseras que hablan del uso de hinojo (*Foniculum vulgare*),

ruda (*Ruta graveolens*) y eucalipto (*Eucaliptus globulus*) entre otras plantas aromáticas para repeler a las polillas de la ropa. (23)

1.3.4. CONFUSORES

Los compuestos químicos de una determinada planta constituyen una señal inequívoca para el insecto para poder encontrar su fuente de alimento. De hecho se dan casos como el de la mariposa monarca, que se alimenta de una planta altamente venenosa, para otros organismos, la cual identifica por la presencia de esta sustancia tóxica. Una forma de usar esta propiedad en el Manejo Integrado de Plagas ha sido poniendo trampas ya sea con aspersiones de infusiones de plantas que le son más atractivas al insecto o de la misma planta pero en otras zonas de modo que el insecto tenga muchas fuentes de estímulo y no sea capaz de reconocer la planta que nos interesa proteger.

Otra opción es colocar trampas de recipientes que contengan extractos en agua de la planta de modo que los insectos "atterizen" en las trampas y no en el cultivo.

Por lo tanto, tomando en cuenta lo antes mencionado debemos considerar a todos aquellos compuestos que sabemos que su efecto es principalmente insectistático como preventivos más que como curativos. (23)

1.4. INSECTICIDAS NATURALES DE USO POPULAR

La búsqueda de métodos para la protección natural de cultivos sigue vigente a pesar de que el mercado ofrece una variedad de productos muy amplia. La naturaleza nos proporciona medios para la protección de cultivos que merecen nuestra atención. Estos se originan en la riqueza intrínseca de las especies y que surgen de su lucha por la supervivencia. La protección natural de cultivos reduce el riesgo de la resistencia en los insectos, tiene menos consecuencias letales para los enemigos naturales, reduce la aparición de plagas secundarias, es menos nocivo para el hombre, y no ocasiona daños en el medio ambiente.

Como alternativa, los productos naturales provenientes de una gran variedad de plantas, actúan inhibiendo, repeliendo, disuadiendo o eliminando insectos plagas de distinto tipo (rastreros, voladores, chupadores, defoliadores, etc.) como así también estimulando procesos vitales de los cultivos para fortalecerlos y así protegerse de los ataques de las distintas pestes. Algunas de estas plantas han sido estudiadas científicamente y otras siguen vigentes por leyenda popular. (19)

La siguiente lista ofrece una variedad de especies utilizadas desde hace mucho tiempo por distintas culturas y los conocimientos que se tienen de las propiedades de estas plantas se difunden de boca en boca.

- ✚ Equinácea (*Equinácea angustifolia*): las raíces de esta planta contienen un componente tóxico para las larvas del mosquito Aedes, la mosca doméstica y es un inhibidor del crecimiento y desarrollo de los insectos de la harina.
- ✚ Hisopo (*Hisopus officinalis*). Al igual que otras plantas aromáticas, el hisopo actúa eficazmente ahuyentando, orugas, pulgones y caracoles.
- ✚ Lavanda (*Lavandula officinalis*). Sus flores ahuyentan la polilla del armario y es una planta melífera y que atrae insectos beneficiosos como la crisopa.
- ✚ Poleo (*Mentha pulegium*). Las hojas trituradas y secas son uno de los remedios más efectivos que existen contra las garrapatas de los animales domésticos. Se aplica espolvoreando la piel del animal y las zonas donde descansa, también es efectivo lavar al animal con una infusión bien concentrada de la planta. Ahuyenta también a las hormigas.
- ✚ Albahaca (*Ocimum basilicum*). Principios activos: linalol, estregol, leneol. Se asocia al cultivo de tomates para repeler a la mosca blanca. Es insecticida ya que controla polillas, áfidos, moscas, etc. También Acaricida.
- ✚ Artemisa (*Artemisia vulgar, Ambrosia cumanensis*) Principio activo: Cíñelo. Esta planta es tóxica para los animales por lo que no se le debe sembrar sobre pastizales, pero sí al borde de los lotes de cultivo para impedir o restringir el paso de insectos rastreros.
- ✚ Salvia (*Salvia officinalis*). Planta melífera. Principios activos: boreol, cineol, tuyona. Rechaza la mosca blanca en diferentes cultivos y pulgas y otros insectos voladores.

- ✚ Falsa acacia (*Robinia pseudoacacia*). Árbol de flores tremendamente melíferas. Las hojas machacadas, mezcladas con azúcar atraen y matan a las moscas.
- ✚ Romero (*Rosmarinus officinalis*). Planta melífera y que atrae insectos beneficiosos. Las hojas trituradas se usan como repelente de pulgas y garrapatas.
- ✚ Tagetes (*Tagetes patula*). Planta tóxica para las larvas de diferentes mosquitos. Sus secreciones radiculares son una barrera eficaz contra los nemátodos, por lo que se cultivan en proximidad plantas susceptibles como tomates, perejil.
- ✚ Toronjil (*Melissa officinalis*). Principio activo: linalol. Repele pulgas, polillas y áfidos.
- ✚ Ortiga (*Urtica sp*). Principios activos: serotonina, histamina, filosterina. Acelera la descomposición de la materia orgánica para la formación del compost con el cual se estimula el crecimiento de las plantas y controla orugas y pulgones.
- ✚ Mezcla de maíz y fríjol con ají (*Capsicum frutescens*; Fam. Solanaceae) son usados desde los tiempos aborígenes y sirven actualmente para repeler distintas plagas de insectos.
- ✚ Ruda (*Ruta graveolens*, Fam. Rutaceae) Principios activos: Rutina, inulina. Su fuerte olor atrae moscas y polillas negras disminuyendo daños sobre los cultivos cercanos.
- ✚ Ajo (*Allium cepa*; Alliaceae) Se aisló al agente activo básico del ajo, la allina, que cuando es liberada interactúa con una enzima llamada allinasa y de esta forma se genera la allicina, la sustancia que contiene el olor característico y penetrante del ajo. Es usado contra piojos.

- ✚ Frijol (*Canavalia ensiformis*). Principio activo: canavalina. Controla las hormigas y actúa como fungicida.
- ✚ Citronella (*Cymbopogon nardus*, Fam. Gramíneas) esta especie se produce a partir de dos variedades: var. *lana batu*, la cual suministra un aceite relativamente pobre en geraniol (55-65 %); y otra conocida con el nombre de *varmaha pangiri*, de mejor calidad por su alto contenido en geraniol, de hasta el 90 %. Los principales compuestos son el citronelal y el geraniol, l-limoneno, canfeno, dipenteno, citronelol, borneol, nerol, metileugenol, los cuales son utilizados en la preparación de insecticidas a base de aceites esenciales, o como aromatizante de algunos insecticidas.
- ✚ Menta (*Mentha spicata*). Principios activos: mentol, felandreno, menteno, Se le utiliza para controlar hormigas.
- ✚ Ajenjo (*Artemisia absinthium*). Principio activo: cineol, tuyona, etc. El té de hojas de esta planta controla babosas en los cultivos, y pulgas en los animales.
- ✚ Albahaca (*Ocimum basilicum*) Principio activo: linalol, estregol, leneol, etc. Repelente, insecticida, acaricida controla polillas, áfidos, moscas.
- ✚ Artemisa (*Artemisia vulgaris*, *Ambrosia cumanensis*) Principio activo: Cineol: Esta planta es tóxica para los animales por lo que no se le debe sembrar sobre pastizales, pero sí al borde de los lotes de cultivo para impedir o restringir el paso de insectos rastreros.

✚ Caléndula (*Caléndula officinalis*). Principio activo: caléndulina: Comúnmente se le denomina botón de oro de madera y se caracteriza por ser excelente para controlar nemátodos y moscas blancas si se la siembra intercalada con yerbabuena.

✚ Frijol (*Canavalia ensiformis*). Principio activo: canavalina. Controla hormigas.

✚ Muña o Peperina (*Minthostachys mollis*). Principios activos: Mentol, mentola, Tienen propiedades repelentes de insectos cuando la papa está en almacenamiento. Dentro de las plagas que repele, se encuentran el gusano blanco de la papa, el gusano cortador (*Copitarsia curvata*), el gorgojo de la papa (*Premmnotrypes suni*) y el gusano alambre (*Ladius sp*). Los sahumerios con muña también controlan polillas. Durante el cultivo, se suele colocar plantas frescas de muña para prevenir el ataque de insectos o espolvorear cenizas de la planta en los campos atacados por pulgones.

✚ Yerbabuena (*Mentha piperita*). Principio activo: mentol, cíñelo. Es una planta excelente para el control de insectos chupadores como piojos, pulgones, áfidos en frutales.

✚ Quassia (*Quassia amara*). Principio activo concentrado en la madera, hojas y raíces. Es insecticida, actuando por contacto o ingestión. Se usa contra insectos chupadores, minadores, barrenadores, áfidos y algunos coleopteros.

1.5. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS INSECTICIDAS VEGETALES

1.5.1. VENTAJAS

- 1.- Son conocidos por el agricultor ya que generalmente se encuentran en su mismo medio.
- 2.- Muchas veces poseen otros usos como medicinales o repelentes de insectos caseros.
- 3.- Su rápida degradación puede ser favorable pues disminuye el riesgo de residuos en los alimentos.
- 4.- Algunos pueden ser usados poco tiempo antes de la cosecha
- 5.- Varios actúan rápidamente inhibiendo la alimentación del insecto aunque a la larga no causen la muerte del insecto.
- 6.- Debido a su acción estomacal y rápida degradación pueden ser más selectivos con insectos plaga y menos agresivos con los enemigos naturales
- 7.- Muchos de estos compuestos no causan fitotoxicidad.
- 8.- Desarrollan resistencia más lentamente que los insecticidas sintéticos.

1.5.2. DESVENTAJAS

- 1.- No todos son insecticidas sino que muchos son insectistáticos lo que los hace tener una acción más lenta

- 2.- Se degradan rápidamente por los rayos ultravioleta por lo que su efecto residual es bajo.
- 3.- No todos los insecticidas vegetales son menos tóxicos que los sintéticos.
- 4.- No se encuentran disponibles durante toda la temporada.
- 5.- Los límites máximos de residuos no están establecidos
- 6.- No hay registros oficiales que regulen su uso.
- 7.- No todas las recomendaciones que manejan los agricultores han sido validadas con rigor científico.

1.6. ¿CUÁLES PLANTAS UTILIZAR?

Son muchas las publicaciones que hacen listados de plantas con propiedades insecticidas. Por ejemplo, ya en 1950, Heal *et al.* Reportan aproximadamente 2.500 plantas de 247 familias con alguna propiedad insecticida o tóxica para insectos. Pero para usarlas, no basta con que una planta sea considerada como prometedora o con probadas propiedades insecticidas. Además se deben hacer análisis de riesgos al medio ambiente y a la salud.

Por ejemplo, no es conveniente recomendar el uso de plantas que estén en vías de extinción, que sean difíciles de encontrar o que su utilización implique alteraciones importantes a la densidad en que se encuentran en la naturaleza.

Si el día de mañana se descubre que la madera del baoba mata insectos esto no quiere decir que los vamos a cortar. De esta forma y con la finalidad de obtener el máximo provecho de

una planta con propiedades insecticidas, sin que ello implique un deterioro al ecosistema, se han enlistado las características que debe tener la planta insecticida ideal. (23)

- 1.- Ser perenne.
- 2.- Estar ampliamente distribuida y en grandes cantidades en la naturaleza, o bien que se pueda cultivar.
- 3.- Usar órganos de la planta renovables como hojas, flores o frutos.
- 4.- No ser destruida cada vez que se necesite recolectar material (evitar el uso de raíces y cortezas).
- 5.- Requerir poco espacio, manejo, agua y fertilización.
- 6.- Tener usos complementarios (como medicinales).
- 7.- No tener un alto valor económico.
- 8.- Ser efectiva a bajas dosis. (19)

1.7. PLAGAS

Las plagas y pestes son el conjunto de anomalías que ocurren durante el crecimiento y funcionamiento del cultivo causadas por agentes bióticos y abióticos.

Esta definición incluye además de insectos a las enfermedades causadas por hongos, bacterias, virus y aquellas causadas por factores como deficiencias nutricionales, salinidad y granizos. Actualmente, la mayoría de los técnicos y extensionistas están familiarizados

con el término “manejo integrado”. Sin embargo, la comprensión y las consecuencias prácticas de este concepto están lejos de ser implementadas en el país. De hecho, el Ecuador no ha sido inmune a los desarrollos en los campos del agronegocio, el mercadeo y la manufactura a escala comercial. Esto, en el mejor de los casos, ha reducido el concepto Manejo Integrado de Plagas (MIP) en papas a un “manejo integrado de pesticidas” y la utilización de variedades resistentes. (24)

La idea de cambiar radicalmente la forma enteramente química de proteger al cultivo surgió inmediatamente después de la Segunda Guerra Mundial. Sin embargo, no fue hasta los años 70, con el auge de la revolución verde y las preocupaciones por los daños a la salud humana y al medio ambiente causados por el uso de plaguicidas, que el MIP se consolidaba como movimiento. (24)

Otro factor decisivo que puso fin al “quimismo” fue el desarrollo de resistencias a los plaguicidas modernos por una gran cantidad de parásitos, ocasionando enormes pérdidas económicas al productor y a la industria. Un buen ejemplo muy presente en el país es el caso de resistencia al metalaxyl en *Phytophthora infestans*.

También existen varios casos de resistencia en insectos. Los ejemplos más relevantes son en el cultivo de algodón en México, Nicaragua y Perú, donde se llegó hasta 26 aplicaciones por cultivo.

Las consecuencias negativas del uso de carbofuran para la salud (desórdenes neurológicos y psicomotores) entre los productores del Carchi fueron documentados detalladamente en los años 90.

El surgimiento de nuevas plagas al tratar de eliminar otras ha sido también recurrente. Recientemente, la explosión de la mosca minadora en las papas, ocurrida en el Carchi, probablemente se debió en conjunción con un clima conducivo y al uso masivo de insecticidas por parte de los productores para combatir a la Polilla Guatemalteca *Tecia solanivora*, entre otros insectos.

En términos generales, el MIP es simplemente el manejo del agroecosistema a favor del agricultor. El MIP propone una estrategia de manejo que, tomando en cuenta la socioeconomía y ecología de la finca, utiliza todos los métodos y técnicas apropiadas y disponibles para promover la salud y productividad del cultivo.

La prevención, el uso de umbrales y sistemas de apoyo a decisiones son elementos claves en el MIP. Un productor de papas que practique MIP necesita evaluar diversos balances agroecológicos en el cultivo, por ejemplo:

- Si existe un nivel de plagas en el cultivo que justifique el control
- Si existe mecanismos naturales de control que limiten el efecto o la densidad de las poblaciones y
- Si el efecto del daño real es considerable como para afectar los rendimientos.

Al desarrollar una estrategia de manejo integrado, el agricultor necesita tomar en cuenta la complejidad biológica del cultivo y entender que la manipulación de una parte tiene efectos en todo el sistema.

Necesita saber cuáles son los requerimientos específicos del cultivo y las limitaciones del sitio de cultivo antes de examinar las opciones de manejo que minimicen los riegos y el estrés durante el ciclo de cultivo.

Así, el MIP no se centra simplemente en promover tecnologías de control de plagas y enfermedades, sino el desarrollo de los conocimientos del agricultor y su capacidad de toma de decisiones. Requiere conocimientos básicos sobre el cultivo y la agroecología y habilidades prácticas. (24)

1.7.1. CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS

El control de plagas con productos químicos es cada vez más complicado. La exigencia por los consumidores en la reducción de la aplicación de estos productos es cada vez más notable. Los productos agroquímicos no siempre dan buenos resultados, por lo que, se presta hoy día, mucha importancia a una agricultura más biológica. Para iniciar una lucha biológica, se debe reducir las aplicaciones de pesticidas durante un tiempo determinado y estando el agricultor obligado a aceptar la no venta de sus productos hasta alcanzar una producción controlada biológicamente. (1)

En el control integrado de plagas se trabaja de diferente forma. Se recomienda dejar de curar contra plagas y actuar de forma preventiva.

El control biológico es el empleo de otros insectos depredadores para combatir las plagas, de forma que, así se evita o reduce el empleo de plaguicidas que dejan residuos tóxicos en los frutos y plantas y son puros venenos para la salud humana. (1)

1.8. INCONVENIENTES DE LOS PRODUCTOS QUÍMICOS

Dentro de los productos químicos existen varios tipos todos ellos muy utilizados en agricultura, tanto para combatir plagas, enfermedades, malas hierbas, etc.

Estos productos son:

Insecticidas: Combaten a los insectos

Acaricidas: Contra los ácaros, araña roja....

Avicidas: Repelentes de aves.

Fungicidas: Control contra enfermedades ocasionadas por hongos.

Herbicidas: Eliminan las malas hierbas.

La contaminación del medio ambiente es un problema por la utilización de estos productos químicos que dejan unas sustancias químicas residuales que suelen ser tóxicas.

Tras el uso prolongado de los productos químicos se producen resistencias en las plagas las cuales es difícil de eliminarlas con un producto químico o con otros que tengan la misma materia activa.

Estos productos afectan al desarrollo vegetativo de la planta, tanto su crecimiento como su porte que se aprecia totalmente dañado. Perjudican la salud humana de una forma directa, ya que estos productos crean unas sustancias residuales que quedan en los frutos y se transforman en el organismo cuando es ingerido ese alimento.

También perjudica la salud cuando se efectúan las curas directas, puesto que los productos químicos penetran en la ropa o por el contacto directo con la piel y por el gas que desprende algunos de ellos, afectando también al aparato respiratorio.

Son contaminantes. Contaminan las aguas naturales debido a lluvias o riegos que arrastran estos productos acaban en los ríos, lagos, aguas subterráneas y mares contaminándolos. (1)

1.8.1. ESTRATEGIAS DE CONTROL

En general hay diversas estrategias de control una de ellas es el Control Biológico. Por ejemplo en Honduras la avispa parasitoide *Diadegma insularis* (Hymenoptera: Chalcididae) puede controlar hasta un 40 % de los gusanos cuando se hace uso limitado de insecticidas químicos. (18)

1.9. QUINUA (*Chenopodium quinoa*) COMO MATERIA PRIMA PARA LA ELABORACIÓN DE UN INSECTICIDA NATURAL

La quinua es un grano alimenticio que se cultiva ampliamente en la región andina, desde Colombia hasta el norte de la Argentina para las condiciones de montañas de altura, aunque un ecotipo que se cultiva en Chile, se produce a nivel del mar. Domesticada por las culturas prehispánicas, se la utiliza en la alimentación desde por lo menos unos 3000 años.

1.9.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Es una planta anual de tamaño muy variable, puede medir desde 1 m a 3,5 m de altura, según los ecotipos, las razas y el medio ecológico donde se cultiven.

La raíz es fasciculada, llegando a tener una profundidad de 0,50 a 2,80 m según el ecotipo, la profundidad del suelo y la altura de la planta

El tallo es de sección circular cerca de la raíz, transformándose en angular a la altura donde nacen las ramas y hojas. La corteza del tallo está endurecida, mientras la médula es suave cuando las plantas son tiernas, y seca con textura esponjosa cuando maduran.

Según el desarrollo de la ramificación se pueden encontrar plantas con un solo tallo principal y ramas laterales muy cortas en los ecotipos del altiplano, o plantas con todas las ramas de igual tamaño en los ecotipos de valle, dándose todos los tipos intermedios. Este desarrollo de la arquitectura de la planta puede modificarse parcialmente, según la densidad de siembra que tenga el cultivo.

En condiciones de producción intensiva de quinua en Ecuador, se han logrado cultivares con menos de 1 m de altura y un alto rendimiento de granos. (24)

Las hojas son de carácter polimorfo en una sola planta; las hojas basales son romboides, mientras las hojas superiores, generalmente alrededor de la inflorescencia, son lanceoladas.

La lámina de las hojas tiernas está cubierta de una pubescencia granulosa vesiculosa en el envés y algunas veces en el haz. Esta cobertura varía del blanco al color rojo-púrpura.

El fruto de la quinua es un aquenio; el perigonio cubre una sola semilla y se desprende con facilidad al frotarlo. A su vez, la semilla está envuelta por un episperma casi adherido.

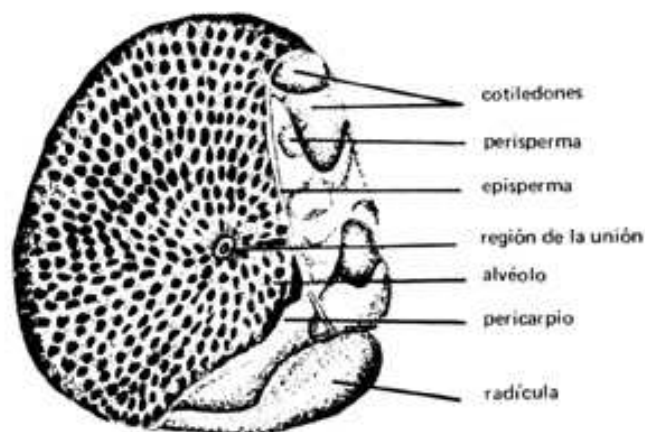


GRÁFICO N° 1. Anatomía del grano de quinua

El episperma ha sido estudiado por Villacorta y Talavera (1976) quienes describen la presencia de cuatro capas:

- Una capa externa que determina el color de la semilla y que es de superficie rugosa, quebradiza y seca que se desprende fácilmente con el vapor.

- El color de la segunda capa difiere de la primera y se observa sólo cuando la primera capa es translúcida.
- La tercera capa es una membrana delgada, opaca, de color amarillo.
- La cuarta capa es translúcida y está formada por una sola hilera de células que cubre el embrión.

La saponina se ubica en la primera membrana. Su contenido y adherencia en los granos es muy variable y ha sido el motivo de diferentes estudios y técnicas para eliminarla, por el sabor amargo que confiere al grano.

Gandarillas (1979) afirma que el carácter amargo o contenido de saponina estaría determinado por un simple gen dominante. Sin embargo, la presencia de una escala gradual de contenido de saponina indicaría más bien su carácter poligénico (24).

1.10. LAS SAPONINAS COMO OBSTÁCULO Y POTENCIALIDAD

En términos generales se puede afirmar que los granos de quinua, tal como salen de la trilladora, no deben ser utilizados directamente en la elaboración de alimentos por las impurezas asociadas (pajas, piedras, tierra, etc.) y por tener generalmente un sabor amargo notorio.

De allí que estos granos tienen que pasar por un proceso de limpieza y desamargado, es decir de eliminación de compuestos químicos.

No cabe duda, por ello, que es totalmente necesario que el grano de quinua que va a servir para la producción de alimentos humanos tenga un contenido muy bajo de saponinas, ojalá muy inferior al nivel que puede ser detectado por la lengua humana.

Dentro de los compuestos amargos destacan las saponinas, moléculas orgánicas pertenecientes ya sea al grupo de los esteroides o de los triterpenoides y que tienen alta solubilidad en agua, soluciones de NaCl, NaOH o etanol.

Al tratar de definir los procedimientos para eliminar la saponina se ha estudiado su localización en el grano y se ha encontrado que se sitúa en las coberturas externas. De las cuatro capas que recubren el grano y componen en conjunto el episperma la primera capa externa se presenta bajo el microscopio como una membrana rugosa, formada por células sin núcleos, quebradiza, seca y fácilmente desprendible de las otras. Estas rugosidades, que asemejan las celdas de un panal, albergan una sustancia blanca, opaca y amarga que se asume sea la saponina.

Esta capa se puede extraer con agua fría o caliente. Sus paredes contienen además una serie de inclusiones en forma de cristales.

Una buena proporción de los granos de quinua que se comercializan tienen algún grado de amargor. Por ello, no sería de extrañar que este sabor amargo haya sido por sí solo el factor más importante que ha frenado el desarrollo agroindustrial y consumo de la quinua. (24)

Hay dos caminos que pueden conducir a la disminución del contenido de saponinas en el grano de quinua para consumo humano:

– El genético (por mejoramiento genético tradicional o por ingeniería genética). La variedad Sajama de quinua es un ejemplo de lo que se puede lograr en cuanto a producción de quinuas de muy bajo contenido de saponinas.

– El procesamiento agroindustrial. La opción agroindustrial debe ser priorizada por las siguientes razones:

a) Las saponinas parecen ser factores protectores de las plantas y del grano de quinua.

b) Normalmente es difícil evitar el cruzamiento entre quinuas y por ende mantener la total pureza de las variaciones de quinua de bajo contenido de saponina.

c) Son mayores los daños que causan los pájaros al momento de la cosecha, al preferir alimentarse con los granos de quinua de menor contenido de saponinas.

d) en todo cultivo es cada vez más conveniente reducir al máximo la utilización de plaguicidas artificiales, por motivos sanitarios. Por ello parecería pertinente trasladar gran parte del problema de la eliminación de la saponina al sector agroindustrial, en donde puede ser relativamente sencillo extraerla o transformarla.

Por todas estas razones resulta evidente que mediante la agroindustria se deben eliminar económicamente las saponinas y mejorar la aceptabilidad del grano, sin alterar su excelente valor nutritivo.

Se han planteado algunas opciones para el aprovechamiento de esta sustancia, que dadas sus propiedades, puede ser empleada como ingrediente para la fabricación de cervezas y detergentes, como componente para la fabricación de extinguidores de incendios, en la industria fotográfica y en la industria farmacéutica (en la fabricación de hormonas sintéticas) como fungicida, etc. (24)

1.11. PROCESOS DE DESAMARGADO DE LA QUINUA

Básicamente se han estudiado hasta el momento cuatro tipos de procesos de desamargado: el seco a temperatura ambiente; el seco en caliente; el húmedo; y el combinado que usa la vía seca y la vía húmeda.

1.12. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SAPONINA

Un aspecto que tiene mucho significado es contar con un método oficial de análisis de saponina que permita obtener resultados comparables. Actualmente, los resultados sobre contenidos de saponinas luego del desamargado tienen diferencias demasiado amplias cuando se comparan similares procesos de desamargado.

El problema es determinar qué niveles de saponina pueden ser aceptados en los alimentos sin que su sabor amargo interfiera.

En algunos alimentos se aceptan niveles de saponina hasta 5% (garbanzo), pero no es válido suponer el mismo caso para la quinua, debido a que las saponinas con sus estructuras diferentes pueden producir sensaciones diferentes de amargor y toxicidad.

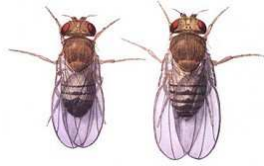
El sabor amargo es muy difícil de cuantificar debido a las diferentes sensibilidades de las personas. En las mezclas de harinas de quinua dulces con amargas se encontró que una mezcla que contenía sólo 0,6% de harina amarga fue considerada amarga por los catadores (equivalente a 0,13% de saponinas).

Por ello es indispensable contar con un método de análisis de quinua de referencia ampliamente conocido entre los investigadores; y por otro lado se requiere crear un comité técnico a nivel internacional para seleccionar y revisar periódicamente los métodos analíticos de referencia que sean más apropiados para las determinaciones de saponinas.

(24)

1.13. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS MOSCA DE LA FRUTA

(*Drosophila melanogaster*)

<i>Drosophila melanogaster</i>	
	
Clasificación científica	
Reino:	<u>Animalia</u>
Filo:	<u>Artrópodo</u>
Clase:	<u>Insecto</u>
Orden:	<u>Diptero</u>
Familia:	<u>Drosophilidae</u>
Género:	<u>Drosophila</u>
Especie:	melanogaster

CUADRO N° 1. Clasificación científica de *Drosophila melanogaster*

Es un insecto que pertenece al orden Díptera que agrupa a aquellos organismos en el que solo el primer par de alas es funcional y el segundo se ha transformado en órganos del equilibrio, los llamados halterios o balancines. Es un organismo representativo de la familia *Drosophiloidae* la que incluye a las mosquitas pequeñas, con algunas cerdas y venación de las alas, el género *Drosophila* comprende varias especies de moscas con la vena subcostal degenerada, incompleta o ausente, las pertenecientes a la especie *melanogaster* tienen 2 interrupciones en la vena costal.

Son utilizadas para los trabajos experimentales ya que es considerado un material adecuado debido a su fácil manejo, su corto ciclo de vida y la gran cantidad de mutaciones que esta puede presentar. (8)

1.13.1. HABITAD

Son Cosmopolitas, es decir, están ampliamente distribuidas, por lo que se les encuentran en todo tipo de clima, altitud y latitud. Se localizan especialmente en las frutas suaves donde la fermentación se ha iniciado y en general en alimentos con alto contenido de ácido acético. (8)

1.13.2. CICLO DE VIDA

El ciclo comienza cuando las hembras (son un poco más grandes que los machos) ponen los huevos en la papilla alimenticia.

De los huevecillos salen unas pequeñas larvas que viven en la papilla alimentándose rápidamente. Días después, estas larvas comienzan a reptar por las paredes del recipiente y a un tercio de su altura, más o menos, se paran y se fijan.

Aquí se transforman en pupas, que tienen forma de pequeñísimas capsulitas. De las pupas nacerán los ejemplares adultos que volarán para aparearse y comenzar de nuevo el ciclo.

La metamorfosis de las larvas dura sobre unos 15 días, y el período de vida del adulto viene a ser de 15 a 20 días. (8)

1.13.3. MORFOLOGÍA EXTERNA DEL ADULTO

En la gran mayoría de los trabajos con estas moscas, se utilizan sus características morfológicas como el tipo, la forma y/o la disposición de sus estructuras. En particular, en los estudios genéticos resulta indispensable conocer de una manera general la morfología externa del adulto, para poder distinguir las características que presentan las moscas de ambos sexos o las que han sido afectadas por mutaciones.

1.13.3.1. CABEZA

En la estructura de los insectos la cabeza se forma por seis segmentos:

- Labrum
- Clipeus
- Antenal-ocular
- Mandibular
- Maxilar
- Labial

En la cabeza se encuentra sobre todo los órganos de los sentidos. La parte frontal está completamente formada por el tercer segmento antenal-ocular.

Los ojos compuestos son relativamente grandes, están separados con amplitud y son del mismo tamaño y forma en los dos sexos, presentan setas pequeñas y rígidas que surgen de cada ángulo de unión de las aproximadamente 800 omatidias que los conforman.

Entre los ojos están las antenas, que se encuentran muy cercanas entre sí, y está formada por seis segmentos: los tres primeros son muy pequeños, en el segundo aparecen cerdas alargadas de varios tamaños y en el tercero constituye una estructura bulbosa. (8)

En la región ventral de la cabeza se encuentran las partes bucales: el labrum y el clipeus, que estas altamente modificadas con respecto al plan general de los insectos ya que forman un aparato chupador o proboscis. No presentan mandíbulas.

En la cabeza también se encuentran numerosas cerdas muy grandes, designadas por términos derivados de sus posiciones.

1.13.3.2. TÓRAX

El concepto convencional del tórax asume que las paredes de cada segmento involucran transversalmente una placa dorsal, una lateral en cada lado entre las alas y la base de las patas, y en una placa ventral entre las bases de las patas. Todos los segmentos del tórax se encuentran casi fusionados formando una caja casi sólida.

El prototorax por sí mismo es muy reducido y sólo sirve de soporte para el primer par de patas. La posición dorsal o notum es exclusivamente un collar estrecho que se extiende a través del tórax, está fusionando posteriormente con el mesonotum y lateralmente con los elementos pleurales de su propio segmento, separados por un pliegue. (8)

Los esternitos dos pequeñas placas ventrales que separan las coxas de las patas.

Los grandes pelos del tórax ocupan una posición casi definitiva y fija, están formados por dos tipos de células, tricogénitas y termogénitas con función nutricional y sensorial respectivamente. Las setas dorsocentrales, los postalares y los estructurales son importantes fenotípicamente. Los segmentos desde donde aparecen las alas están estrechamente unidos y son llamados pterotórax. Se presentan un marcado alargamiento del mesotórax y una reducción del metatórax, por lo que las alas mesotorácicas tienen la función total del vuelo, mientras que las alas metatorácicas se han reducido a los halterios que funcionan como órganos de equilibrio. Estos se dividen en tres partes: una porción basal, una porción media y una porción apical.

1.13.3.3. ABDOMEN

En ambos sexos la segmentación ha sido modificada por desarrollos secundarios, de manera que el número primitivo de segmentos es difícil de encontrar, sin embargo, situados en la membrana pleural y cercana al margen ventral de los terguitos. En ambos sexos falta el esternito del primer segmento abdominal. (8)

La hembra muestra ser más generalizada; el 8° segmento no tiene espiráculos ni esternito definido. Después de este solo se encuentra un pequeño segmento donde aparece el ano, la abertura genital se encuentra entre los segmentos 8° y 9°.

En el macho la situación es complicada. El 7° segmento desaparece aparentemente y queda representado sólo por el espiráculo y el 8° sólo por una placa pequeña en cada lado, el 9° está fuertemente modificado, muestra un terguito muy grande y un eternito muy pequeño y el 10° se encuentra representado por un par de placas situadas al lado del ano. (8)

1.14. CONTROL FÍSICO – QUÍMICO DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

Análisis total de las características del agua de lavado de la quinua y su aptitud frente a su aplicación insecticida, análisis de Cenizas, Sólidos Totales, Nitrógeno Total.

1.14.1. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS

El Tamizaje Fitoquímico consiste en la extracción de los metabolitos secundarios de la planta con un solvente polar y la aplicación de reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo. Los resultados del Tamizaje Fitoquímico constituyen únicamente una orientación y deben interpretarse en conjunto con los resultados del “screening” farmacológico, para el presente caso con la actividad insecticida y los grupos fitoquímicos presentes en el vegetal.
(24)

Se realizaran las pruebas de: SUDAN, LIEBERMANN-BURCHARD, FEHLING, y ESPUMA

1.14.2. CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE SAPONINAS PRESENTES EN EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

El control de calidad de los productos naturales puede desarrollarse a través de la presencia de algunos de sus metabolitos en particular.

La Espectrofotometría permite, de forma general la cuantificación de algunos grupos de metabolitos a partir de algunas reacciones que permiten la determinación sin interferencia de algunos grupos. Este el caso en el cual se determinan las saponinas totales presentes en el agua de lavado de la quinua.

1.14.3. ESTUDIOS CROMATOGRÁFICOS DE LAS SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

Grupo de técnicas utilizadas en la determinación de la identidad de sustancias, en la separación de componentes de las mezclas y en la purificación de compuestos. Esta técnica es muy efectiva y por lo tanto se utiliza tanto a nivel de investigación como a nivel industrial.

Este método puede variar de técnica en técnica, pero siempre se basa en el mismo principio: Todos los sistemas de cromatografía contienen una fase estacionaria y una fase móvil.

La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido que se queda fijo en la misma posición.

La fase móvil puede ser un líquido o un gas que corre a través de una superficie y de la fase estacionaria. Las sustancias que están en un sistema de cromatografía interactúan tanto con la fase estacionaria como con la fase móvil. La naturaleza de estas interacciones depende de las propiedades de las sustancias así como también de la composición de la fase estacionaria.

La rapidez con que viaja una sustancia a través del sistema de cromatografía depende directamente de la interacción relativa entre las sustancias y las fases móvil y estacionaria.

En el caso de una mezcla, si cada componente interactúa diferente con la fase móvil y la fase estacionaria, cada uno de ellos se moverá diferente.

1.14.4. DETERMINACIÓN DE LA DL_{50}

La DL_{50} de un insecticida es la dosis de saponinas que provoca la muerte del 50% de individuos tratados o experimentados.

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR Y PRUEBAS DE ENSAYO

La presente investigación se desarrolló en:

- Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Departamento de Control Biológico de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

2.2. RECURSOS MATERIALES

2.2.1. MATERIA PRIMA

Agua de lavado de quinua (*Chenopodium quinoa*)

- Saponinas de quinua no hidrolizadas
- Saponinas de quinua hidrolizadas

Especie de insecto plaga:

- *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta)

2.2.2. EQUIPOS

Nº	DESCRIPCIÓN
1	Autoclave
2	Balanza analítica
3	Refrigeradora
4	Rotavapor
5	Mufla
6	Estufa
7	Reverbero
8	Desecador
9	Equipo de filtración al vacío
10	Cámara Digital
11	Computadora

2.2.3. MATERIALES DE LABORATORIO

Nº	MATERIAL
1	Caja de guantes estériles
2	Caja de mascarillas
3	Caja de Parafilm
4	Mechero
5	Pipetas de 1 mL
6	Pipetas de 5 mL
7	Pipetas de 10 mL
8	Probetas de 250 mL
9	Probetas de 500 mL
10	Reverbero eléctrico
11	Paquete de algodón

12	Rollo de papel aluminio
13	Papel filtro
14	Vasos de precipitación 250 mL
15	Matraz erlenmeyer 250mL
16	Vasos de precipitación 500 mL
17	Olla
18	Frascos de vidrio
19	Tarrinas desechables
20	Papel toalla
21	Cemento de contacto
22	Pinceles N° 0
23	Refrigerante
24	Trípodes
25	Embudos
26	Varilla de agitación
27	Crisoles
28	Cápsulas de porcelana
29	Pinzas para cápsula

2.2.4. REACTIVOS

N°	MATERIAL
1	Agua destilada
2	Alcohol Antiséptico
3	Ácido clorhídrico 2N
4	Etanol 95%
5	Eter etílico
6	Cloruro de sodio
7	Cloroformo
8	Ácido clorhídrico (C)
9	Reactivo de Liebermann- Burchard
10	Reactivo de Fehling
11	Reactivo de Sudan
12	Vainillina al 1% en Etanol
13	Gelatina sin sabor
14	Maduro
15	Guineo

2.3. FACTORES DE ESTUDIO

Los factores de estudio de esta investigación fueron

- Saponinas hidrolizadas y no hidrolizadas provenientes del agua de lavado de la quinua (*Chenopodium quinoa*).
- Larvas de *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta) y el comportamiento que esta tiene frente a la saponina de la quinua.

2.4. UNIDAD EXPERIMENTAL O DE ANÁLISIS

Se utilizaron una plaga que afecta a los cultivos en nuestro país.

CUADRO N° 2. INSECTO PLAGA, LUGAR DE PROCEDENCIA Y CULTIVO AL CUAL ESTA AFECTA

INSECTO PLAGA	LUGAR DE PROCEDENCIA	CULTIVO AL QUE AFECTAN
<i>Drosophila melanogaster</i>	Donado por el Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH	Cultivo de frutas en general (mosca)

Fuente: Luis Bonifaz Paredes

2.5. OBTENCIÓN DEL MATERIAL PRIMA

Se consiguió quinua recién cultivada y sin lavar de la Casa Indígena de Chimborazo, a partir del lavado artesanal que se le dio en el laboratorio, se pudo obtener las saponinas.

2.6. CONTROL FÍSICO QUÍMICO DE LA DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

2.6.1. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES

PROCEDIMIENTO	CÁLCULOS
<ul style="list-style-type: none">- Pesar una cápsula (W_i)- Adicionar 20 mL de la muestra en la cápsula (V)- Evaporar sobre una fuente calórica hasta sequedad.- Pesar la cápsula con su contenido (W_f)	<p>Sólidos Totales:</p> $ST = \frac{W_f - W_i}{V_{mL}}$ <p>Donde:</p> <p>ST = Sólidos Totales W_i = peso de la cápsula vacía W_f = peso de la cápsula con los sólidos</p>

2.6.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS (Técnica NTE INEN 401)

PRINCIPIO	PROCEDIMIENTO	CÁLCULOS
<p>Se lleva a cabo por medio de incineración seca y consiste en quemar la sustancia orgánica de la muestra problema en la mufla a una temperatura de $550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$., con esto la sustancia orgánica se combustiona y se forma el CO_2, agua y la sustancia inorgánica (sales minerales) se queda en forma de residuos, la incineración se lleva a cabo hasta obtener una ceniza color gris o gris claro.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Colocar la cápsula en la mufla y calentarla a $550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$; transferirle al desecador para enfriamiento y pesarla (W_i) - Pesarse en la cápsula, 1-10g de muestra con aproximación al 0.1mg y colocar sobre la fuente calórica a $150^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ para evaporación. (W_m) - Adicionar gotas de aceite de oliva y continuar el calentamiento hasta que cese el borboteo. - Colocar la capsula con su contenido en la mufla a $550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$, hasta obtener cenizas blancas las cuales deben humedecerse con gotas de agua destilada. - Evaporar sobre la fuente calórica y proceder a calcinar nuevamente en la mufla a $550^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ por un tiempo de 4 horas como mínimo, hasta obtener cenizas blancas. Después de este tiempo se saca al desecador por 30 minutos. - Pesarse la cápsula con su contenido, con aproximación al 0.1mg. (W_f) 	<p>Porcentaje de Ceniza:</p> $\%C = 100 \times \frac{W_f - W_i}{W_m}$ <p>Donde: $\%C$ = Porcentaje de ceniza W_i = peso de la cápsula vacía W_m = peso de la muestra húmeda W_f = peso de la cápsula con las cenizas</p>

2.6.3. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL

A una muestra de 10 mL del agua de lavado de quinua, añada 1 mL de salicilato de sodio y evapore hasta sequedad en una cápsula de porcelana, añadir y envolver el residuo de la cápsula con 1 mL de ácido sulfúrico concentrado inclinando y rotando la cápsula, agregue 10 mL de tartrato de sodio y potasio y 10 mL de hidróxido de sodio. Mezclar bien la solución. (4)

La lectura de la intensidad de color se la realiza a una longitud de onda de 450 nm (8)

Se construye una curva de calibración, preparando una solución estándar de nitrato de potasio. Si la cantidad de nitratos es elevada, se toma alícuotas del agua en análisis, diluyendo en 10 mL de agua destilada. (4)

2.7. OBTENCIÓN DE SAPONINAS

2.7.1. SAPONINAS NO HIDROLIZADAS

Por lo general para la extracción de las saponinas se llevan a cabo metodologías que difieren poco entre sí. Casi siempre se parte del material vegetal seco, pulverizado y se desengrasa con benceno o éter de petróleo (este paso no es imprescindible) y se macera 48 horas con metanol, etanol o mezcla hidroalcohólica. (22)

Después de extraídas las saponinas, estas se pueden separar por varias técnicas de separación analíticas y preparativas, una técnica muy usada es la cromatografía. (22)

Las saponinas se separan muy bien en cromatografía de papel o cromatografía de capa delgada. (22)

2.7.1.1. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

El agua de lavado de la quinua debe dejarse en decantación por lo menos 24 horas para que se sedimenten los sólidos presentes. (22)

Luego se toma 1000 ml de agua de lavado de quinua y se concentra hasta un volumen de 250 ml por evaporación, este volumen es colocado en un embudo de separación y se añade 50 ml de hexano para desengrasar la muestra, hasta la formación de dos fases.

La fase interior es la que contiene saponina, a esta fase se le añade algunos solventes con el fin de determinar cuál es el que más extrae de mejor manera la saponina presente en el agua de lavado de la quinua (el solvente más adecuado es el metanol).

2.7.1.2. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO METANÓLICO

A la muestra desengrasada se le añade metanol caliente hasta la formación de un precipitado y para asegurarse que ha precipitado toda la saponina se lo deja aproximadamente una hora lo centrifuga a 5000 rpm durante 5 min y se obtiene de este

modo un extracto bruto de saponina impura, este precipitado se diluye con una mezcla de metanol - agua (1:1) para proceder con las pruebas de identificación. (22)



FOTOGRAFÍA N° 1. Saponinas No Hidrolizadas

2.7.1.2.1. SOLUCIONES DE SAPONINA NO HIDROLIZADA

CONCENTRACIÓN 0,1%

Se pesa 0,1 g de la saponina no hidrolizada obtenida mediante la técnica detallada anteriormente se diluye en 50 mL de agua destilada y luego se afora a 100 mL en un balón aforado

CONCENTRACIÓN 0,5%

Se pesa 0,5 g de la saponina no hidrolizada obtenida mediante la técnica detallada anteriormente se diluye en 50 mL de agua destilada y luego se afora a 100 mL en un balón aforado

2.7.2. SAPONINAS HIDROLIZADAS

2.7.2.1. HIDRÓLISIS ÁCIDA DE LA SAPONINA

Se pesó 2 g el residuo del extracto metanólico y se disolvió en 20 ml de etanol, se añadió igual volumen de ácido clorhídrico 2 N y se reflujo durante 3 horas; se dejó refrescar para luego evaporar hasta la tercera parte de su volumen inicial y se vertió sobre igual volumen de agua fría. La solución acuosa obtenida se extrajo con acetato de etilo y se concentró a sequedad en un rotavapor (21)



FOTOGRAFÍA N° 2. Concentración de Saponinas Hidrolizadas por medio de un Rotavapor

2.7.2.2. SOLUCIONES DE SAPONINA HIDROLIZADA

CONCENTRACIÓN 0,1%

Con la ayuda de una pipeta de 1 mL graduada se toma 0,1 mL del concentrado de saponina hidrolizada obtenida mediante la técnica detallada anteriormente se diluye en 50 mL de agua destilada y luego se afora a 100 mL en un balón aforado

CONCENTRACIÓN 0,5%

Con la ayuda de una pipeta de 1 mL graduada se toma 0,5 mL del concentrado de saponina hidrolizada obtenida mediante la técnica detallada anteriormente se diluye en 50 mL de agua destilada y luego se afora a 100 mL en un balón aforado

2.8. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS

Para la adecuada identificación se tomaron muestras provenientes de las fracciones de interés obtenidas mediante la obtención del crudo de saponinas y su posterior hidrólisis, a las cuales se le realizaron los ensayos correspondientes para identificación cualitativa de los siguientes metabolitos de interés:

- Ácidos grasos
- Tripterpenoides y esteroides
- Saponinas
- Azucares
- Sapogenina

2.8.1. ENSAYO DE SUDAN

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos. (5)

A una alícuota de la fracción en el solvente de extracción, se le añade 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente.

La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos respectivamente.

2.8.2. ENSAYO DE LIEBERMANN-BURCHARD

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por ambos tipos de productos poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. (5)

Para este ensayo, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado *sin agitar*.

Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- 1- Rosado-azul muy rápido.
- 2- Verde intenso-visible aunque rápido.
- 3- Verde oscuro-negro-final de la reacción.

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos.

IMPORTANTE : Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente

La reacción de Liebermann-Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes.

2.8.3. ENSAYO DE FEHLING

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. (5)

Para este ensayo, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL de agua. Se adicionan 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. El reactivo se prepara de la siguiente forma:

Solución A: Se pesan 35 g de sulfato cúprico hidratado cristalizado y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Solución B: Se pesan 150 g de tartrato de sodio y potasio y 40 g de hidróxido de sodio y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar.

2.8.4. ENSAYO DE LA ESPUMA

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. (5)

Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.

2.9. CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE SAPONINAS PRESENTES EN EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA (HEMÓLISIS)

Las saponinas, además de su sabor amargo, se caracterizan por producir espuma y causar hemólisis en la sangre de los animales inferiores. (20)

1. Homogenizar la muestra (agua de lavado de la quinua)
2. Filtrar en un lienzo
3. Tomar una alícuota de 100 mL, llevarlo a 250 mL con agua destilada
4. Concentrar la dilución a la mitad de su contenido es decir 125 mL
5. Filtrar la dilución con doble papel
6. Llevar este concentrado a 250 mL con citrato trisódico al 6%
7. Marcar tres series de diez tubos
8. Marcar seis tubos para los controles de 0 y 100% de hemólisis
9. Realizar las siguientes diluciones 0.15, 0.30, 0.40, 0.45, 0.50, 0.55, 0.60, 0.65, 0.70, 0.75 de agua preparada
10. Llevar cada tubo hasta 5 mL con citrato trisódico cada uno y homogenizar

11. Colocar 20 μL de una solución de glóbulos rojos preparada el día de la prueba, en cada tubo y homogenizar
12. Llevar a todos los tubos a un Baño María a 37°C por 30 min
13. Centrifugar los tubos por 10 min
14. Leer la absorbancia de cada tubo a 415 nm en un espectrofotómetro, sacando el sobrenadante con una pipeta Pasteur
15. Anotar los resultados en una tabla de datos
16. Hacer una grafica y calcular por interpolación el volumen de la dilución que permita el 50 % de la hemólisis
17. Calcular la concentración del extracto preparado usando la constante de calibración K (0.13×10^{-3} g/mL), el % de la hemólisis y la concentración de cada dilución

2.9.1. CUIDADOS PARA PIPETEAR LOS GLÓBULOS ROJOS

1. Homogenizar el tubo con solución de glóbulos rojos una vez antes de colocar en cada tubo de dilución o siempre homogenizar el mismo número de veces
2. Pipetear los glóbulos rojos con cuidado y siempre a la misma profundidad del tubo y al mismo tiempo
3. Secar exteriormente la pipeta antes y después de colocar los glóbulos rojos en cada tubo de dilución
4. No interrumpir la sesión mientras se coloca los glóbulos rojos ya que pueden acumularse en las paredes de la pipeta ocasionando fallos en el ensayo

5. Realizar el trabajo con glóbulos rojos lavados el día de las pruebas, no utilizar glóbulos guardados
6. Cuidar el momento de extraer el sobrenadante para que no se muevan los glóbulos rojos asentados en el fondo del tubo y se de una mala lectura

NOTA:

Constante de calibración: $K = 0.13 \times 10^{-3} \text{ g/mL}$ (quinua blanca) esta concentración es la que existirá en el volumen del extracto diluido a 5 mL con CTS 3% que dará 50% de hemólisis. Particular que servirá para calcular las concentraciones de las diluciones y a su vez permitirá calcular la concentración del extracto problema (20)

2.9.2. LAVADO DE LOS GLÓBULOS ROJOS

Para el lavado se uso glóbulos rojos de sangre humana tipo “O” factor Rh positivo. Se desfibrina 6 mL de sangre, inmediatamente luego de ser extraída sin anticoagulante, por diez minutos con esferas de cristal. Una vez desfibrinada la sangre se centrifuga en un tubo, para eliminar el sobrenadante e inmediatamente lavar el paquete globular con suero fisiológico, se repite el lavado cuatro veces hasta que el sobrenadante quede claro. Después del último lavado se centrifuga para proceder a tomar 1 mL de paquete globular y suspenderlo en citrato trisódico al 3%, hasta alcanzar una dilución 1:20 la preparación debe hacerse el día de la prueba. (20)

2.10. ESTUDIOS CROMATOGRÁFICOS

2.10.1. CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA DE SAPONINAS NO HIDROLIZADAS

A partir del agua de lavado de la quinua se obtuvo las saponinas, las cuales con el fin de identificar que compuestos son se realiza una cromatografía, se emplea como fase móvil la mezcla de: cloroformo: Hexano: Acetato de etilo (1:1) y como revelador una solución de vainillina en ácido fosfórico al 1 % y se calentó en una estufa a 105⁰C o en un reverbero eléctrico a baja temperatura durante 5 min. (22)

2.10.2. CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA DE SAPONINAS HIDROLIZADAS

Luego de la extracción de saponinas, se analizaron por el método de cromatografía en capa delgada (CCD) sobre sílica gel – 60, con el fin de separar las sustancias contenidas en el crudo de saponinas e identificar las sapogeninas presentes en los extractos hidrolizados.

Se empleó como fase móvil la mezcla hexano: acetato de etilo (1:1) y como revelador una solución de vainillina en ácido fosfórico al 1 % y se calentó en una estufa a 105⁰C durante 5 min. (22)

2.11. METODOLOGÍA

2.11.1. FASE DE CAMPO

En esta fase se adquiere quinua en la Casa Indígena de Riobamba, para luego ser lavada artesanalmente y recolectar el agua de lavado de esta, para posteriormente obtener la Saponina como grupo fitoquímico de interés, adicionalmente a esto se procede a tener un pie de cría de *Drosophila melanogaster* a utilizar a nivel de laboratorio.

2.11.2. FASE DE LABORATORIO

A nivel de laboratorio se estimó que la determinación de la actividad insecticida de la saponina de quinua exige el seguimiento del siguiente esquema:

- Crianza del insecto plaga
- Obtención de larvas de *Drosophila melanogaster*
- Ensayo de la Actividad Insecticida
- Determinación de la DL₅₀

2.12. PROCEDIMIENTO

2.12.1. CRIANZA DE LA MOSCA DE LA FRUTA, *Drosophila melanogaster*

1. Se realizará la captura de los adultos de la mosca, los mismos que serán colocados en frascos de vidrio que contendrán el siguiente medio que servirá para alimentarlas y desarrollar sus crías
2. Para 1 litro de medio se utiliza 250 g de maduro, 250 g guineo ceda, 500 ml de agua destilada y 3 - 4 ml de ácido propiónico o también se puede reemplazar esto con 1 g de Tegosept.
3. **Preparación:** Para preparar el medio los materiales deberán estar esterilizados, se pesa los ingredientes, para luego proceder a licuar el maduro y el guineo con 200 ml de agua y luego añadir el ácido propiónico.



FOTOGRAFÍA N° 3. Autoclave: Esterilización de materiales



FOTOGRAFÍA N° 4. Licuadora: maduro y el guineo

4. Luego en un recipiente mezclar Bacto agar o su similar gelatina sin sabor con 300 ml de agua y llevar esta mezcla a ebullición.
5. Una vez disuelta la gelatina se agregará la mezcla licuada anteriormente, y se batirá constantemente evitando que se queme hasta que adquiera una coloración café.



FOTOGRAFÍA N° 5. Olla: Cocción del alimento

6. Colocar el medio en los frascos esterilizados y esperar que se solidifique.



FOTOGRAFÍA N° 6. Frascos de Vidrio Estériles

7. Aquí ya se puede colocar los adultos de la mosca para que inicien su reproducción, se puede identificar las moscas según su aparato reproductor, para adormecerlos se puede introducir los frascos a un congelador por unos minutos para luego sacarlos sobre una superficie de hielo e identificarlos.

El Departamento de Ciencias Biológicas de la Facultad de Recursos Naturales facilitó un número considerable de moscas, estas se alimentan de un medio preparado a base de guineo y maduro.

Este medio se lo colocó en frascos de vidrio, 7 hembras y 3 machos



FOTOGRAFÍA N° 7. ALIMENTO PARA *Drosophila melanogaster*

Al cabo de 21 días se obtuvo el pie de cría con un número suficiente de moscas para poder instalar el experimento completo incluyendo los controles.

Luego de instalado todo el experimento se contabilizó los insectos muertos para así obtener la tasa de mortalidad con lo que se debe comprobar la actividad insecticida de la saponina de la quinua

2.13. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA

Se procedió a realizar pruebas preliminares en larvas para comprobar la eficacia de las saponinas obtenidas

Drosophila melanogaster

- En este caso se colocó las dos diluciones de las saponinas hidrolizadas y no hidrolizadas de quinua en la dieta de las moscas
- Después se procedió a colorar 10 moscas (7 hembras y 3 machos)
- Se esperó todo es desarrollo de su ciclo de vida
- Se registró la tasa de mortalidad y se comparó con un grupo blanco (agua) y un grupo control con un insecticida comprobado (Karate de Agripac)

2.14. DETERMINACIÓN DE LA DL₅₀

- La Dosis Letal 50 es una medida estadística que determina la capacidad que tienen las Saponinas Hidrolizadas y No Hidrolizadas de matar al 50% de insectos plaga que se calcula por medio de una curva de regresión lineal.
- Para determinar la Dosis Letal 50 de las saponinas en estudio se utilizó las diluciones preparadas tanto de Saponinas Hidrolizadas y No Hidrolizadas al 0,1 y 0,5 %.
- Se determinó el numero de insectos muertos al cabo de 25 días
- Tabulando estos datos y realizando una regresión lineal se determinó la concentración eficaz para matar al 50% del insecto plaga

2.15. DISEÑO EXPERIMENTAL

Diseño completamente al azar (DCA) con 4 Tratamientos de saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa*), con 4 repeticiones en cada tratamiento, y además se realizaran pruebas blanco positivas con un insecticida biológico comprobado (Karate) y pruebas blanco negativas con agua para destacar la crianza normal del insecto con 4 repeticiones

CUADRO N° 3. TRATAMIENTOS REALIZADOS CON SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS FRENTE A *Drosophila melanogaster*.

Tratamientos	P1S1C1R1	P1S2C1R1	Blancos	B1R1	Control	C1R1
	P1S1C1R2	P1S2C1R2		B1R2		C1R2
	P1S1C1R3	P1S2C1R3		B1R3		C1R3
	P1S1C1R4	P1S2C1R4		B1R4		C1R4
	P1S1C2R1	P1S2C2R1				
	P1S1C2R2	P1S2C2R2				
	P1S1C2R3	P1S2C2R3				
	P1S1C2R4	P1S2C2R4				

Nomenclatura

1P (Plagas) X 2S (Saponina) X 2C (concentraciones) = N° tratamientos (4) X 4R (repeticiones) = 16 tratamientos

P = *Drosophila melanogaster*

S1 = Saponina Hidrolizada

S2 = Saponina no Hidrolizada

C1 = Concentración 0,1 %

C2 = Concentración 0,5 %

R1 = Repetición 1

R2 = Repetición 2

R3 = Repetición 3

R4 = Repetición 4

Nota: Se realizaran pruebas en blanco y la prueba control (Se utiliza un insecticida comprobado del mercado para comparar la efectividad Karate (Agripac)) en cada tratamiento y de igual manera con 4 repeticiones.

B = Blanco Plaga *Drosophila melanogaster*

C = Control insecticida Karate (Agripac)

2.16. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

2.16.1. TEST DE ANOVA.- Procedimiento estadístico que sirve para medir la variación total de las observaciones a la que se divide para sus componentes quedando el residuo como error experimental.

Este análisis indica la relación entre una variable dependiente (actividad insecticida) y uno o más factores dependientes (Saponina de quinua)

2.16.2. PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS.- La prueba de Tukey al 5% empleada para determinar las diferencias existentes entre las medias de los tratamientos a realizar.

2.16.3. COEFICIENTE DE VARIACIÓN.- Que indica el nivel de confianza que se puede tener en los datos, un valor bajo indica que el ensayo ha sido bien planificado y que ha tenido un buen manejo; en tanto que un valor alto puede ser un indicador en ciertos casos de que ha existido una mala planificación o el experimento ha sido mal manejado.

2.16.4. ANÁLISIS DE REGRESIÓN Y CORRELACIÓN PARA LA DL50.- De la extracción más efectiva frente a la mortalidad de los insectos; *Drosophila melanogaster* (*Mosca de la frutas*)

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de haber realizado el experimento que compete al control de calidad del agua de lavado de la quinua y a las pruebas de actividad insecticida, se obtuvieron los resultados que se detallan a continuación

3.1. CONTROL FÍSICO QUÍMICO DE LA DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

CUADRO N° 4.- CONTROL FÍSICO QUÍMICO DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA OCTUBRE 2009.

SÓLIDOS TOTALES	9720mg/L
CENIZAS	0,373%

Fuente: Luis Enrique Bonifaz

Al obtener los resultados de estandarización del agua de lavado de la quinua (CUADRO N°4), el análisis de sólidos totales se realizó partiendo de un volumen conocido de muestra (agua de lavado de quinua) hasta sequedad en una fuente calórica. Luego se realizó la incineración de la muestra a 550°C para obtener cenizas. Cabe indicar que en la bibliografía no se reportan resultados de este tipo para el agua de lavado de la quinua.

3.2. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL

CUADRO N° 5. CANTIDAD DE NITRÓGENO Y PH DEL AGUA DE LAVADO DE QUINUA

DETERMINACIONES	UNIDADES	LIMITE	RESULTADOS
pH	Und.	6.5-9	6.8
N. TOTAL DE NITRATOS	mg/L	10	10.05

Fuente: Luis Enrique Bonifaz

En el CUADRO N°5 se puede apreciar el resultado del análisis de Nitratos en el agua de lavado de quinua, 10.05 mg/L es un valor bajo sabiendo que este está ligado al contenido de proteína en la muestra, lo que se considerable ya que esta es una agua residual del proceso del lavado de la quinua, pH de 6.8 determinado es neutro.

3.3. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LA SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE QUINUA UTILIZADOS EN EL TAMIZAJE FITOQUÍMICO

CUADRO N° 6. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LAS SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE QUINUA

SAPONINAS	ASPECTO	COLOR	OLOR
NO HIDROLIZADAS	Sólido	Café oscuro	Inoloro
HIDROLIZADAS	Líquido	Café oscuro	Característico

Fuente: Luis Enrique Bonifaz

La saponinas hidrolizadas y no hidrolizadas provenientes del agua de lavado de la quinua tienen diferente aspecto, como se puede ver el CUADRO N°6, los dos tipos de saponina son de color café oscuro, mientras que las saponinas no hidrolizadas son inoloras, las saponinas hidrolizadas son de un olor característico del vegetal.

3.4. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

En el cuadro N°7 se puede observar los resultados de los principales grupos fitoquímicos o metabolitos secundarios investigados en las saponinas provenientes del agua de lavado de la quinua.

Se han analizado cualitativamente mediante pruebas de coloración y precipitación que permiten una identificación rápida con reacciones sensibles y reproducibles.

CUADRO N° 7. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

Saponinas	Liberman-burchard	Espuma	Vainillina 1% ETOH	Fehling	Sudan
No Hidrolizada	+++	+++	+	+	+++
Hidrolizada	++	+	++	-	++

+++ Muy positivo o evidente. ++ Positivo, + Ligeramente positivo. - Negativo.

Fuente: Luis Enrique Bonifaz

La presencia de ácidos grasos, triterpenos, saponinas, azúcares y sapogeninas corroboran con el sustento teórico investigado según Santos, T. 2004 (22).

3.5. CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE SAPONINAS PRESENTES EN EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA (HEMÓLISIS)

Se cuantificó el contenido de saponinas en el agua de lavado de la quinua de acuerdo al método planteado por Procel, en el Informe De Prácticas Laborales, 2001 (20), por ser un metabolito secundario con acción insecticida.

Mediante esta cuantificación espectrofotométrica por hemólisis de una muestra de sangre, la concentración media de saponinas en el agua de lavado de la quinua es de: $C_m = 1.28 \times 10^{-4}$ g/mL o 0.128×10^{-3} g/mL y la valorada por Procel es de 1.15×10^{-4} g/mL (20) lo que indica que son valores muy cercanos a los determinados.

3.6. CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA (TLC) DE SAPONINAS NO HIDROLIZADAS LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA OCTUBRE 2009.

Se realizó una cromatografía en capa delgada para identificar las saponinas hidrolizadas y no hidrolizadas del agua de lavado de quinua de acuerdo en las siguientes condiciones:

Fase Móvil: Hexano: Acetato de Etilo (1:1)

Revelador: Vainillina: H_3PO_4 1%

Soporte: Sílica Gel 60 F 254 (Merck)

Se analizaron las diferentes fracciones obtenidas:

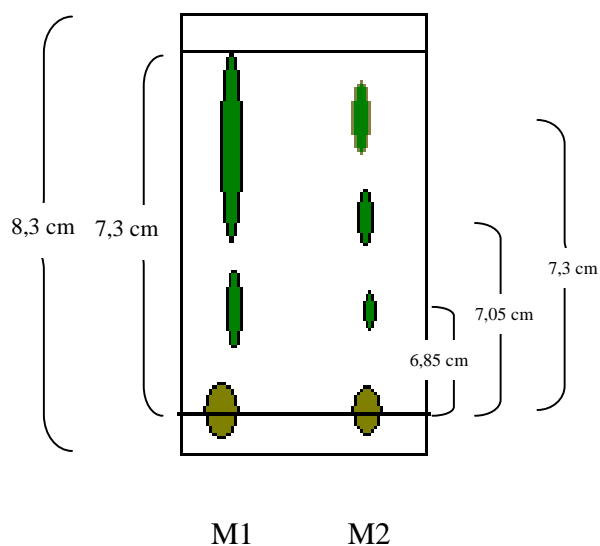


GRÁFICO N° 2. Cromatograma obtenido para el crudo de saponinas y el hidrolizado

M1.- Residuo del extracto metanólico (saponinas No Hidrolizadas)

M2.- Residuo del extracto hidrolizado (sapogeninas).

Como se puede apreciar no hubo una buena separación de los productos obtenidos en el Saponinas no hidrolizadas (M1)

En el caso de las fracciones post – hidrólisis (M2), podemos apreciar con mayor nitidez la aparición de manchas bastante definidas, de coloración verde al revelar con Vainillina:

H₃PO₄ 1%; se determina un RF= 0,85

3.7. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

Para la determinación de la actividad insecticida o de la actividad como inhibidor de la alimentación, se utilizó soluciones de saponinas a las concentraciones de 0,1% y 0,5% según los diferentes tratamientos, y se evaluó la mortalidad y efectos causados.

3.7.1. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA SOBRE *Drosophila melanogaster*

CUADRO N° 8. PORCENTAJE MEDIO DE MORTALIDAD DE *Drosophila melanogaster* A LOS 25 DÍAS DE ANÁLISIS, FRENTE SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010

Tratamientos	Saponinas	N° de Insectos Muertos	N° de Insectos Reproducidos	% de Mortalidad
E1C1	SNH0,1%	18	56	32%
E1C2	SNH0,5%	18	42	43%
E2C1	SH0,1%	20	34	59%
E2C2	SH0,5%	20	22	91%
BLANCO	0	1	59	2%
KARATE	0	10	0	100%

Al determinar el porcentaje de mortalidad de *Drosophila melanogaster* se logró establecer que la saponinas hidrolizadas a una concentración del 0,5% presenta una mayor actividad insecticida, del 91%, en comparación con el extracto de saponinas no hidrolizadas a la misma concentración que presenta una mortalidad del 43%, siendo las saponinas hidrolizadas más efectivas que las no hidrolizadas.

CUADRO N° 9. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA REPRODUCCIÓN DE INSECTOS FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010

	T	N	Media	Desviación típica	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
INSECTOS REPRODUCIDOS	E1C1	4	45,2500	2,21736	41,7217	48,7783
	E1C2	4	32,2500	4,34933	25,3292	39,1708
	E2C1	4	24,0000	1,82574	21,0948	26,9052
	E2C2	4	11,7500	2,06155	8,4696	15,0304
	BLANCO	4	58,5000	3,31662	53,2225	63,7775
	KARATE	4	0,0000	0,00000	0,0000	0,0000
	Total	24	28,6250	20,17060	20,1077	37,1423

Con el CUADRO N°9 se puede ver que la reproducción más alta de insectos se da en el control blanco con un promedio de 58 insectos +/- 3 insectos dependiendo al número de repeticiones en este caso 4, seguido del tratamiento E1C1 con una media de 45 insectos +/- 2 por repetición cabe indicar que el número de repeticiones fueron 4.

CUADRO N° 10. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA MUERTE DE INSECTOS FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010

	T	N	Media	Desviación típica	Intervalo de confianza para la media al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
INSECTOS MUERTOS	E1C1	4	6,5000	0,57735	5,5813	7,4187
	E1C2	4	7,2500	0,50000	6,4544	8,0456
	E2C1	4	8,5000	0,57735	7,5813	9,4187
	E2C2	4	9,2500	1,25831	7,2478	11,2522
	BLANCO	4	0,0000	0,00000	0,0000	0,0000
	KARATE	4	10,0000	0,00000	10,0000	10,0000
	Total	24	6,9167	3,42518	5,4703	8,3630

Se indica que el tratamiento más efectivo con relación a la muerte de los insectos es el control con el insecticida KARATE (Ingrediente activo: Lambdacihalotrina) con un promedio de 10 insectos sin variación es decir es efectivo.

En efectividad el tratamiento que le sigue sería el E2C2 con una media de 9 insectos con una variación de +/- 1 insecto por repetición, se puede decir que con este tratamiento como mínimo morirán 7 insectos y como máximo 11 insectos por cada repetición a un nivel de confianza del 95%, se realizó por cada tratamiento 4 repeticiones.

Cabe indicar que todos los tratamientos incluyen saponinas impuras y proteínas, en relación con el insecticida karate que contiene niveles elevados de principio activo.

CUADRO N° 11. PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS DE LA REPRODUCCIÓN Y MUERTE DE LOS INSECTOS FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
INSECTOS REPRODUCIDOS	2,805	5	18	0,048
INSECTOS MUERTOS	4,320	5	18	0,009

Con el cuadro N°11 se puede observar la variación existente entre la reproducción de insectos y los diferentes tratamientos si este valor es inferior al 0,05 o 5% este es significativamente distinto de igual forma con respecto a los insectos muertos.

3.7.2. ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LAS SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

CUADRO N° 12. ANÁLISIS ANOVA DE LA REPRODUCCIÓN Y MUERTE DE LOS INSECTOS FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	Fisher Calculado	Sig.
Insectos Reproducidos	Inter-grupos	9.230,375	5	1.846,075	261,134	0
	Intra-grupos	127,250	18	7,069		
	Total	9.357,625	23			
Insectos Muertos	Inter-grupos	262,333	5	52,467	125,920	0
	Intra-grupos	7,500	18	0,417		
	Total	269,833	23			

Valor Crítico o Fisher Tabulado	coeficiente de Variación
2,772853153	7,0357%

Realizando el análisis Anova para saber si existe significancia entre los diferentes tratamientos, a un nivel de significancia del 5%. Se puede decir que existe una diferencia significativa debido a que el valor F (Fisher) Tabulado = 2,7728 es menor al F Calculado = 261,134 con lo que podemos concluir que la producción de insectos es diferente en relación a los diferentes tratamientos.

También podríamos decir que existe una diferencia significativa con relación a la muerte de insectos, debido a que el valor F (Fisher) Tabulado = 2,7728 es menor al F Calculado = 125,920 con lo que podemos concluir que la producción de insectos es diferente en relación a los diferentes tratamientos.

El coeficiente de variación es del 7,03 % considerado como admisible al ser un límite tolerable hasta el 30 % y nos da un diagnóstico promisorio de que el experimento está bien realizado.

3.7.3. PRUEBA DE TUKEY AL 5% PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD INSECTICIDA DE LAS SAPONINAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

CUADRO N° 13. PRUEBA DE TUKEY AL 5%: COMPARACIÓN ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS CON RELACIÓN A LA REPRODUCCIÓN DE LOS INSECTOS, FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = .05					
		1	2	3	4	5	6
KARATE	4	,0000					
E2C2	4		11,7500				
E2C1	4			24,0000			
E1C2	4				32,2500		
E1C1	4					45,2500	
BLANCO	4						58,5000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Al aplicar los diferentes tratamientos y realizar una prueba de Tukey para diferenciar si estos son significativamente iguales en relación a la producción de insectos, podemos observar en el Cuadro N° 13, que existe una diferencia significativa de las comparaciones con los diferentes tratamientos, ya que su nivel de significancia es menor al 5%.

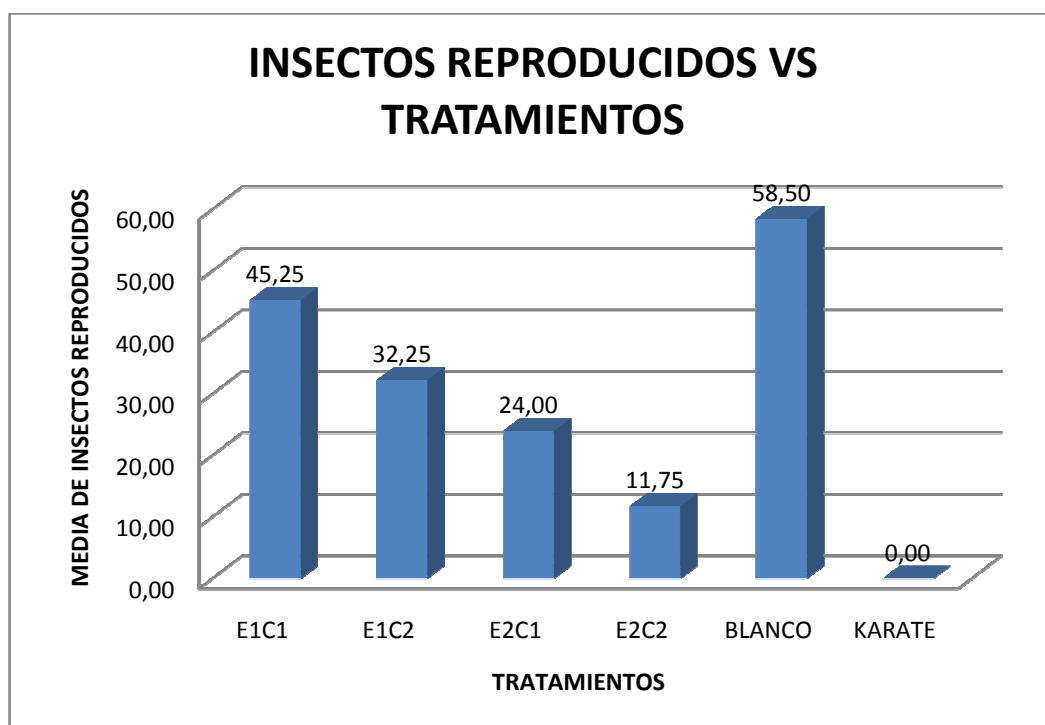
CUADRO N° 14. PRUEBA DE TUKEY AL 5%: COMPARACIÓN ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS CON RELACIÓN A LA MUERTE DE LOS INSECTOS, FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.

TRATAMIENTOS	N	Subconjunto para alfa = .05				
		1	2	3	4	5
BLANCO	4	,0000				
E1C1	4		6,5000			
E1C2	4		7,2500	7,2500		
E2C1	4			8,5000	8,5000	
E2C2	4				9,2500	9,2500
KARATE	4					10,0000
Sig.		1,000	,583	,115	,583	,583

Al aplicar los diferentes tratamientos y realizar una prueba de Tukey para diferenciar si estos son significativamente iguales en relación a la muerte de insectos, podemos observar en el Cuadro N° 14, que existe una diferencia significativa de las comparaciones con los diferentes tratamientos, ya que su nivel de significancia es menor al 5%.

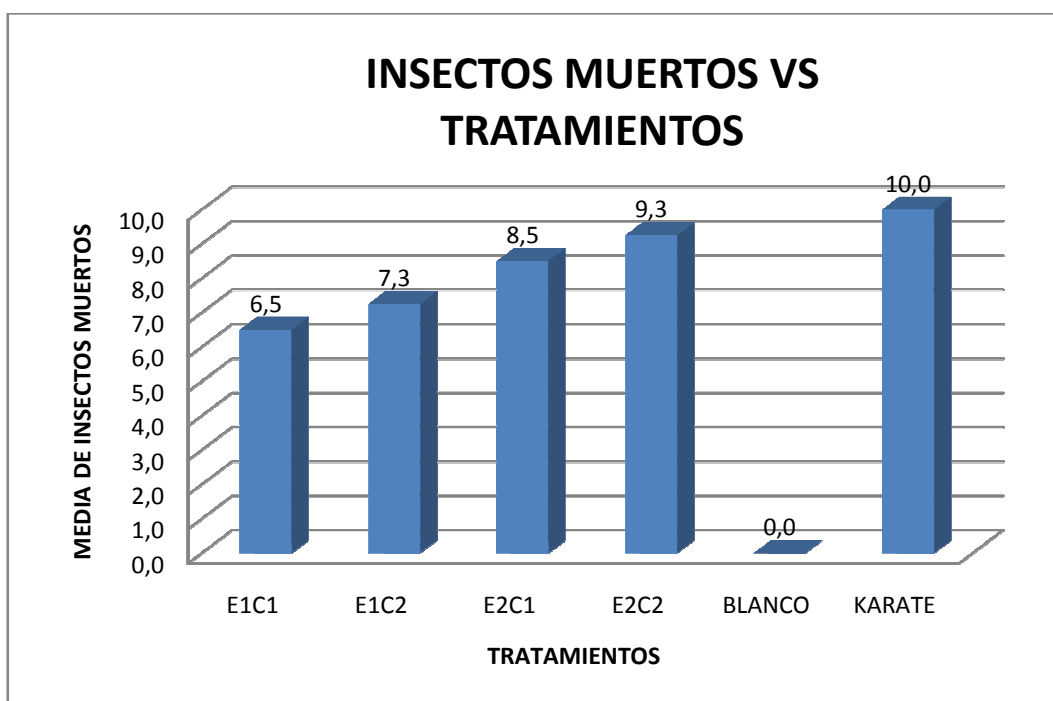
También podemos observar que tanto los tratamientos E1C1 y E1C2 son significativamente iguales ya que la diferencia entre ellos al cabo de 25 días de análisis solo es de 1 insecto lo cual estadísticamente no marca una gran diferencia. Caso parecido hay entre los tratamientos E1C2, E2C1 y E2C1, E2C2

GRÁFICO N° 3. MEDIA DE INSECTOS REPRODUCIDOS VS TRATAMIENTOS CON SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010



Se demuestra el comportamiento de reproducción de los insectos con los diferentes tratamientos, se puede observar que con el insecticida (KARATE) no se reproducen insectos ya que todos los insectos padres mueren al cabo de dos días sin dejar progenitores. En cambio que con el control blanco existe una media de reproducción de 59 insectos seguido del E1C1 con una media de 46 insectos

GRÁFICO N° 4. MEDIA DE INSECTOS MUERTOS VS TRATAMIENTOS CON SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010



Se demuestra el comportamiento de muerte de los insectos con los diferentes tratamientos, se puede observar que con el insecticida (KARATE) los insectos mueren, sin dejar descendencia.

En cambio que con el control blanco muere 1 insecto tal vez por mala manipulación o mala práctica.

En esta grafica se puede tomar en cuenta también que en un rango de 8 a 10 insectos mueren por consecuencia del tratamiento E2C2, seguido del tratamiento E2C1 con un rango de 6 a 7 insectos muertos.

3.7.4. DETERMINACION DE LA DL₅₀

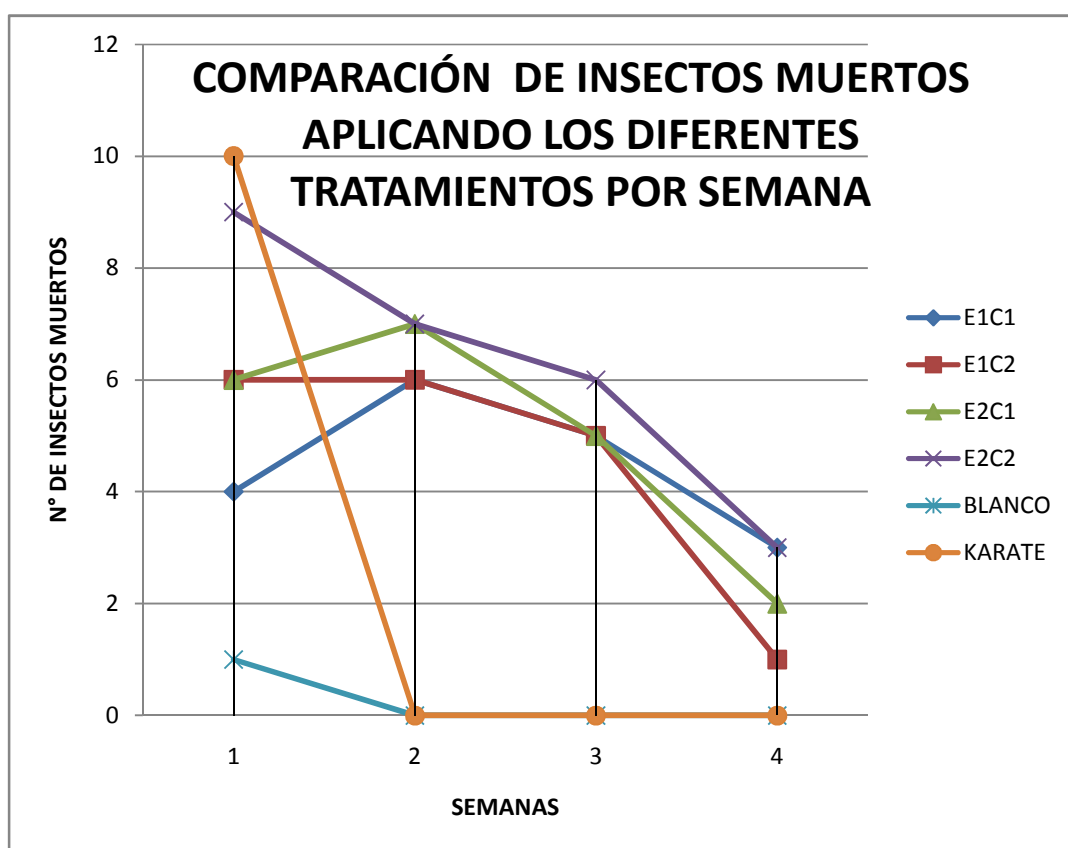
Como ya se ha establecido precedentemente según los resultados obtenidos de la aplicación de las saponinas hidrolizadas sobre *Drosophila melanogaster* por lo que se procedió a indagar para encontrar la concentración idónea de esta saponina que sea capaz de matar al 50 % de esta plaga partiendo de la concentración de 0,1 y 0,5% datos que se encuentran en el cuadro N°8

CUADRO N° 15. COMPARACIÓN DE INSECTOS MUERTOS APLICANDO LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS POR SEMANA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010

SEMANAS	E1C1	E1C2	E2C1	E2C2	BLANCO	KARATE
1	4	6	6	9	1	10
2	6	6	7	7	0	0
3	5	5	5	6	0	0
4	3	1	2	3	0	0

Fuente. Luis Enrique Bonifaz

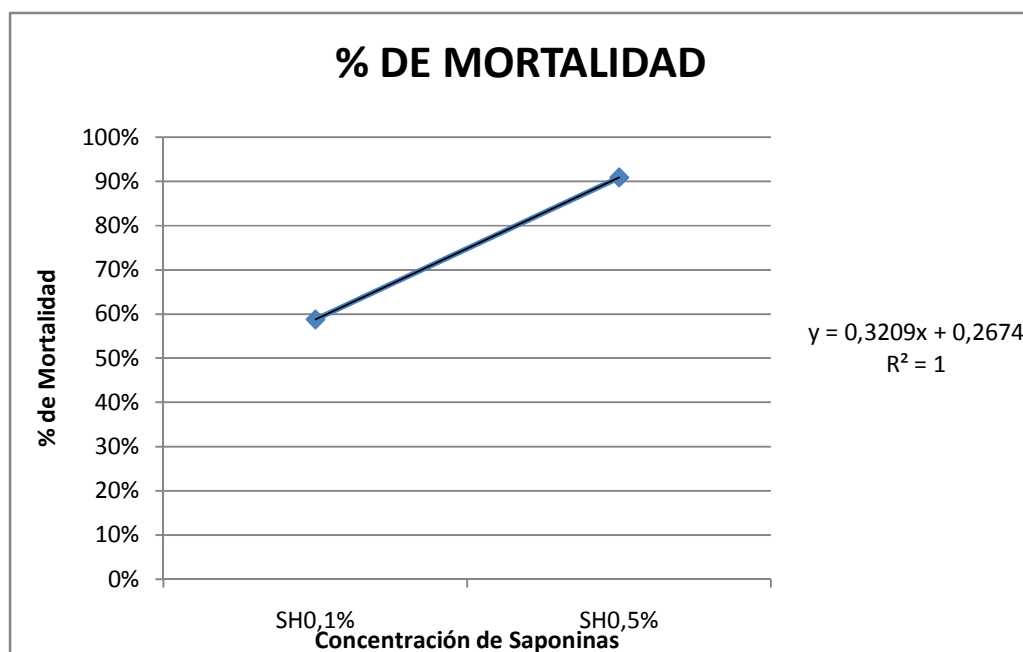
GRÁFICO N° 5. COMPARACIÓN DE INSECTOS MUERTOS APLICANDO LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS POR SEMANA. CENTRO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. FACULTAD DE RECURSOS NATURALES. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2010



Como se puede apreciar en la grafica, el tratamiento más efectivo es la aplicación del insecticida (Karate) ya que en la primera semana mueren todos los insectos sin dejar huevos o larvas para que se reproduzcan, seguidos de los tratamientos E2C2 y E2C1 en el cual mueren al rededor de 8 y 6 insectos por semana respectivamente.

Se podría argumentar que si se demuestra la actividad insecticida de las saponinas de quinua, pero la evidencia más grande es marcada por la poca reproducción de insectos ya que el insecticida natural si bien es cierto no los mata de contado pero si se ve involucrado en la disminución del apetito y la movilidad del insecto, razones por las cuales los insectos cumplen su ciclo de vida pero no se reproducen de forma normal como pasa con el control blanco.

GRÁFICO N° 6. PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE *Drosophila melanogaster* FRENTE A LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SAPONINAS HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.



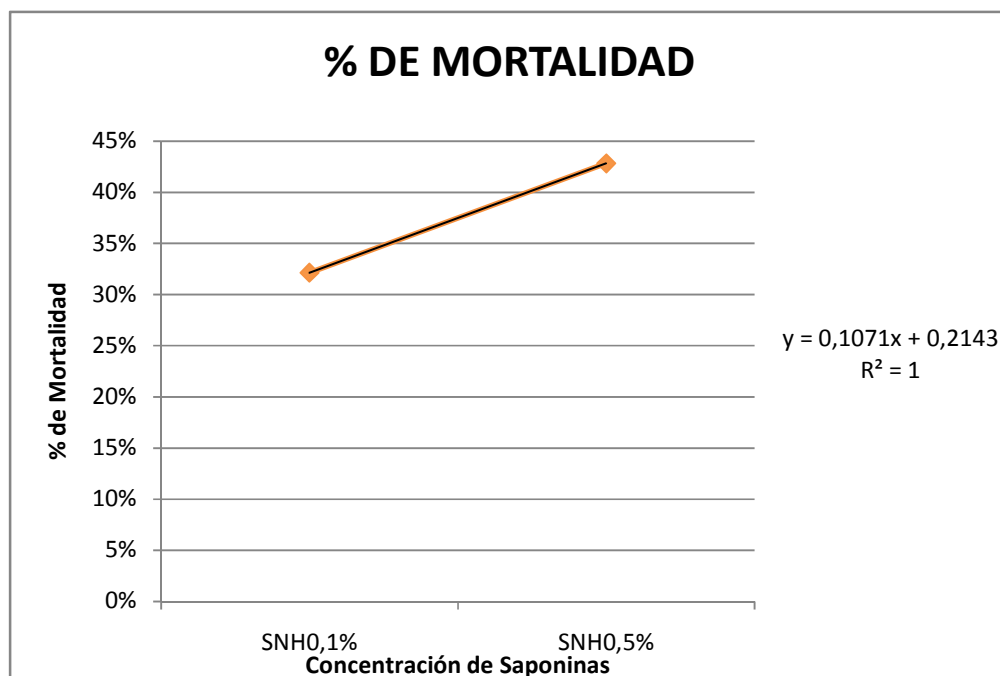
La DL₅₀ descriptivamente se presenta en el Gráfico N°7 a través de la aplicación de la regresión lineal de los datos conseguidos reflejados en una ecuación.

$$Y = 0,3209x + 0,2674$$

$$R^2=1$$

Por el determinado Gráfico N° 7 la DL₅₀ *Drosophila melanogaster* frente a las Saponinas Hidrolizadas a los 25 días de análisis corresponde al 0,08% de estas saponinas es decir 0,08 mL/ 100 mL de agua son necesarios para matar al 50% de insectos.

GRÁFICO N° 7. PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE *Drosophila melanogaster* FRENTE A LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SAPONINAS NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.



La DL_{50} descriptivamente se presenta en el Gráfico N°8 a través de la aplicación de la regresión lineal de los datos conseguidos reflejados en una ecuación.

$$Y = 0,1071x + 0,2143$$

$$R^2=1$$

Por el determinado Gráfico N° 8 la DL_{50} *Drosophila melanogaster* frente a las Saponinas no hidrolizadas a los 25 días de análisis corresponde al 0,58% de estas saponinas es decir 0,58 mL/ 100 mL de agua son necesarios para matar al 50% de insectos.

CONCLUSIONES

1. Al establecer una comparación general entre la eficacia de las saponinas hidrolizadas y no hidrolizadas frente a *Drosophila melanogaster* se determina una diferencia muy significativa entre la capacidad que tienen las saponinas hidrolizadas sobre las no hidrolizadas de matar a un porcentaje de insectos.
2. El agua de lavado de la quinua contiene 0,373 % Cenizas, 9720 mg/L de Sólidos Totales, y Nitrógeno Total (Nitratos) 10 mg/L.
3. A través del Tamizaje fitoquímico de las saponinas de quinua no hidrolizadas se identifica la presencia de: Ácidos grasos, Tripterpenoides y Esteroides, Saponinas, Azúcares, Sapogenina, y de las saponinas hidrolizadas: Ácidos grasos, Tripterpenoides y Esteroides, Saponinas, Sapogenina.
4. Al cuantificar por hemólisis las saponinas presentes en el agua de lavado de la quinua tenemos que: La concentración media es: $C_m = 1.28 \times 10^{-4}$ g/mL.

5. La DL_{50} *Drosophila melanogaster* frente a las saponinas hidrolizadas corresponde al 0,08% de concentración al cabo de 25 días de análisis, La DL_{50} *Drosophila melanogaster* frente a las saponinas no hidrolizadas corresponde al 0,58% de concentración al cabo de 25 días de análisis.

6. Al determinación la actividad insecticida se establece que la saponinas hidrolizadas a las concentraciones de 0.1% y 0.5% son los tratamientos más adecuados ya que matan en un número considerable a la plaga, por lo que puede ser considerada como “Promisorio” y puesto como excelente candidato para el control integrado de la plaga *Drosophila melanogaster*. Por los resultados obtenidos y por el tiempo que tarda la mortalidad, más que un efecto insecticida, se observa un efecto de Inhibición alimentaria.

7. Los tratamientos E1C1, E1C2 si bien es cierto son los menos eficientes con relación al porcentaje de mortalidad, pero son más fácil de obtener, implican menos costo y contaminación ambiental

RECOMENDACIONES

1. Conociendo la actividad insecticida de la saponina de quinua hidrolizada sobre *Drosophila melanogaster* se sugiere que se realicen análisis más específicos sobre los compuestos fitoquímicos que tienen actividad insecticida con lo que se podrá optimizar este proceso de extracción ya que información bibliográfica sobre este tema es casi nula.
2. Difundir los resultados obtenidos en esta investigación acerca de la actividad insecticida de la saponina de quinua a los agricultores por ser métodos naturales de bajo costo y que contribuyen a mantener el equilibrio ecológico sin afectar drásticamente el desarrollo, cambio y evolución de la naturaleza obteniéndose de esta, manera productos con sello verde
3. Efectuar aplicaciones de la saponinas hidrolizadas en concentraciones superiores al 0,5% que son las que presentan actividad insecticida en cultivos que tengan *Drosophila melanogaster* para validar su actividad insecticida in Vivo
4. Realizar estudios de actividad insecticida de las saponinas del agua de lavado de la quinua en otros insectos plaga

RESUMEN

En el país hay muchas empresas e instituciones que producen y exportan quinua, para su comercialización esta necesita ser lavada, esta agua de lavado en muchas ocasiones es eliminada como desecho sin valor alguno descartando también las ventajosas propiedades específicas que deben ser identificadas y explotadas.

El agua de lavado de la quinua es un residuo que por alto contenido de saponinas es nocivo para el medio ambiente, el objetivo de esta tesis ha sido obtener saponinas hidrolizadas y no hidrolizadas para comprobar su actividad insecticida.

Se realizó el análisis físico químico del agua de lavado de la quinua determinándose: 373 % Cenizas, 9720 mg/L de Sólidos Totales, y Nitrógeno Total (Nitratos) 10 mg/L.

Del Tamizaje Fitoquímico se logró determinar la presencia de Ácidos Grasos, Tripterpenoides y Esteroides, Saponinas, Azúcares.

La determinación cuantitativa de saponinas en el agua de lavado utilizando el método de hemólisis es 1.28×10^{-4} g/mL.

La actividad insecticida se determinó incorporando la saponina hidrolizada y no hidrolizada a las concentraciones de 0,1%, 0,5% en la dieta básica de *Drosophila melanogaster*.

La actividad insecticida de las saponinas hidrolizadas y no hidrolizadas sobre *Drosophila melanogaster* analizado a los 25 días, tiene una DL_{50} de 0,08% para saponinas hidrolizadas y de 0,58% para saponinas no hidrolizadas.

A través de los 25 días de análisis se evidencia una actividad de inhibición alimentaria más no una actividad insecticida por parte de las saponinas del agua de lavado de quinua

SUMMARY

In the country there are many enterprises and institutions which produce and export South American pigweed. For its commercialization it has to be washed; this washing water in many occasions needs to be eliminated as a waste without any value discarding also the advantageous specific properties which must be identified and exploited.

The pigweed washing water is a residue which because of its high saponin content is noxious for the environment. The objective of this thesis has been to obtain hydrolyzed and non-hydrolyzed saponins to test its insecticide activity.

The physical and chemical analysis of the pigweed washing water was carried out determining 373% ashes, 9720mg/L total solids and 10mg/L total nitrogen (nitrates).

From the phytochemical sieving it was possible to determine the presence of Fat Acids, Tripterpenoids Steroids, Saponins and Sugars.

The saponin quantitative determination in water of washing using the hemolysis method is 1.2×10^{-4} g/mL.

The insecticide activity was determined incorporating the hydrolyzed and non-hydrolyzed saponin at concentrations of 0.1%, 0.5% in the basic diet of *Drosophila melanogaster*.

The insecticide activity of the hydrolyzed and non-hydrolyzed saponins on the *Drosophila melanogaster* analyzed at 25 days, has a D150 of 0.08% for hydrolyzed saponins and 0.58% for the non-hydrolyzed saponins.

Through 25 days analysis an alimentary inhibition activity but not and insecticide activity are evident in the water saponins of the pigweed washing.

BIBLIOGRAFÍA

1. - ABONOS, 2006

http://www.infoagro.com/abonos/control_biologico.htm

200912

2.- APLICACIONES DE LA SAPONINA DE LA QUÍNOA, 2007

<http://www.innovar.com>

200911

3.- BACIGALUPO, A. y TAPIA, M. Quínoa en: Agroindustria, capítulo V, 2006

<http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro10/cap05>

200911

4.- BIANUCCI, G. y RIBALDONE, E. Análisis Químico del Agua Natural y

Contaminada: Determinación de Nitratos en agua. 2a.ed. Italia, 1980. pp 145-

146

5.- BONIFAZ, L. Preparación y Caracterización de Extractos de Mashua: Informe De

Prácticas Laborales, 2007 (Documento)

6.- DIOPTIDAE, 2007

<http://www.mbarne.force9.co.uk/belizemoths/dioptidae.htm>

200912

7.- DOMINGUEZ, X. Métodos de Investigación Fitoquímica: Saponinas – Sapogeninas.

Mexico: Limusa, 1979. pp. 149-159

8. - *Drosophila melanogaster*, 2006

http://www.encyclopedia.us.es/index.php/Drosophila_melanogaster

200912

9.- ECOLOGÍA en: Tipos de Pesticidas, 2006

<http://www.tecnun.es/asignaturas/ecologia/Hipertexto/09ProdQui/112Tipos>

[Pest.htm](#)

200911

10. - EL CULTIVO DE LA PAPA EN ECUADOR, 2006

http://www.esiap.cipotato.org/PSP-ICMTR/Articles/Potato/Spanish/Papa_en

[Ecuador.pdf](#)

200912

11.- FERNÁNDEZ, C. y JUNCOSA, R. Biopesticidas, 2002

<http://www.futureco.com>

200911

12.- INSECTICIDA KARATE, 2008

<http://www.naizenagro.com/naizenagro/imagenes/imagesyngenta/karate.pdf>

201001

13.- KARATE CON TECNOLOGIA ZEON, 2008

http://www.syngenta.cl/prodyserv/fitosanitarios/prod/etiquetas_fitosanitarios

[/Productos_Fitosanitarios/KarateZeon.pdf](#)

201001

14.- KARATE ZEON: La solución que su arroz necesita, 2008

http://www.syngenta.com.bo/viewfile.aspx?ARCHIVO_ID=171

201001

15.- LOCK, O. Investigación Fitoquímica: Tamizaje Fitoquímico. 2a.ed. Perú, 1988. pp

30-42

16.- MAGGI, M. Insecticidas Naturales, 2007

<http://www.monografias.com.mht>

200911

17.- MANEJO ECOLÓGICO DE PLAGAS, 2006

http://www.desal.org.mx/img/pdf/nilda---manejo_ecologico_de_plagas.pdf

200912

18. - PALOMILLA DORSO DE DIAMANTE, 2006

<http://www.nysaes.cornell//.edu/ipmnet/ny>

200912

19. - PESTICIDAS NATURALES, 2008

<http://www.webs.chasque.net/~rapaluy1/organicos/articulos/insecticidasnaturales.pdf>

200912

20.- PROCEL, R. Extracción de la Saponina Presente en el Agua de Lavado de la

Quinoa: Informe De Prácticas Laborales, 2001 (Documento)

21.- QUINOA, 2007

<http://www.univalle.edu/publicaciones/journal/journal2/pag10.htm>. 200911

200911

22.- SANTOS, T. Métodos para la extracción, aislamiento y caracterización de saponinas,

2004

[http://www.monografias.com/trabajos36/portulaca-oleracea/portulaca-](http://www.monografias.com/trabajos36/portulaca-oleracea/portulaca-oleracea2.shtml)

[oleracea2.shtml](http://www.monografias.com/trabajos36/portulaca-oleracea/portulaca-oleracea2.shtml)

200912

23. - SILVA, G. Insecticidas Vegetales, 2002

<http://www.ipmworld.umn.edu/cancelado/spanish.htm>

200912

24. - TAPIA, M. Origen y domesticación de las especies alimenticias en la región andina,

2007

<http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/producdrom/contenido/libro10/cap01.htm>

200912

25. - WAGNER, H. y BLADT, S. Plant Drug Analysis: Saponin Drugs. 2a.ed. Germany:

1996. pp. 305-327

ANEXOS

ANEXO N° 1. PRUEBA DE TUKEY AL 5%: COMPARACIONES MÚLTIPLES DE MEDIAS ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS CON RELACIÓN A LA REPRODUCCIÓN DE LOS INSECTOS, FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.

Variable Dependiente	(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
Insectos Reproducidos	E1C1	E1C2	13,00000(*)	1,88009	0,000	7,0250	18,9750
		E2C1	21,25000(*)	1,88009	0,000	15,2750	27,2250
		E2C2	33,50000(*)	1,88009	0,000	27,5250	39,4750
		BLANCO	-13,25000(*)	1,88009	0,000	-19,2250	-7,2750
		KARATE	45,25000(*)	1,88009	0,000	39,2750	51,2250
	E1C2	E1C1	-13,00000(*)	1,88009	0,000	-18,9750	-7,0250
		E2C1	8,25000(*)	1,88009	0,004	2,2750	14,2250
		E2C2	20,50000(*)	1,88009	0,000	14,5250	26,4750
		BLANCO	-26,25000(*)	1,88009	0,000	-32,2250	-20,2750
		KARATE	32,25000(*)	1,88009	0,000	26,2750	38,2250
	E2C1	E1C1	-21,25000(*)	1,88009	0,000	-27,2250	-15,2750
		E1C2	-8,25000(*)	1,88009	0,004	-14,2250	-2,2750
		E2C2	12,25000(*)	1,88009	0,000	6,2750	18,2250
		BLANCO	-34,50000(*)	1,88009	0,000	-40,4750	-28,5250
		KARATE	24,00000(*)	1,88009	0,000	18,0250	29,9750
	E2C2	E1C1	-33,50000(*)	1,88009	0,000	-39,4750	-27,5250
		E1C2	-20,50000(*)	1,88009	0,000	-26,4750	-14,5250
		E2C1	-12,25000(*)	1,88009	0,000	-18,2250	-6,2750
		BLANCO	-46,75000(*)	1,88009	0,000	-52,7250	-40,7750
		KARATE	11,75000(*)	1,88009	0,000	5,7750	17,7250
	BLANCO	E1C1	13,25000(*)	1,88009	0,000	7,2750	19,2250
		E1C2	26,25000(*)	1,88009	0,000	20,2750	32,2250
		E2C1	34,50000(*)	1,88009	0,000	28,5250	40,4750
		E2C2	46,75000(*)	1,88009	0,000	40,7750	52,7250
		KARATE	58,50000(*)	1,88009	0,000	52,5250	64,4750
	KARATE	E1C1	-45,25000(*)	1,88009	0,000	-51,2250	-39,2750
		E1C2	-32,25000(*)	1,88009	0,000	-38,2250	-26,2750
		E2C1	-24,00000(*)	1,88009	0,000	-29,9750	-18,0250
E2C2		-11,75000(*)	1,88009	0,000	-17,7250	-5,7750	
BLANCO		-58,50000(*)	1,88009	0,000	-64,4750	-52,5250	

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

ANEXO N° 2. PRUEBA DE TUKEY AL 5%: COMPARACIONES MÚLTIPLES DE MEDIAS ENTRE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS CON RELACIÓN A LA MUERTE DE LOS INSECTOS FRENTE A LAS SAPONINAS HIDROLIZADAS Y NO HIDROLIZADAS DEL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA.

Variable dependiente	(I) Tratamientos	(J) Tratamientos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
Insectos Muertos	E1C1	E1C2	-0,75000	0,45644	0,583	-2,2006	0,7006
		E2C1	-2,00000(*)	0,45644	0,004	-3,4506	-0,5494
		E2C2	-2,75000(*)	0,45644	0,000	-4,2006	-1,2994
		BLANCO	6,50000(*)	0,45644	0,000	5,0494	7,9506
		KARATE	-3,50000(*)	0,45644	0,000	-4,9506	-2,0494
	E1C2	E1C1	0,75000	0,45644	0,583	-0,7006	2,2006
		E2C1	-1,25000	0,45644	0,115	-2,7006	0,2006
		E2C2	-2,00000(*)	0,45644	0,004	-3,4506	-0,5494
		BLANCO	7,25000(*)	0,45644	0,000	5,7994	8,7006
		KARATE	-2,75000(*)	0,45644	0,000	-4,2006	-1,2994
	E2C1	E1C1	2,00000(*)	0,45644	0,004	0,5494	3,4506
		E1C2	1,25000	0,45644	0,115	-0,2006	2,7006
		E2C2	-0,75000	0,45644	0,583	-2,2006	0,7006
		BLANCO	8,50000(*)	0,45644	0,000	7,0494	9,9506
		KARATE	-1,50000(*)	0,45644	0,040	-2,9506	-0,0494
	E2C2	E1C1	2,75000(*)	0,45644	0,000	1,2994	4,2006
		E1C2	2,00000(*)	0,45644	0,004	0,5494	3,4506
		E2C1	0,75000	0,45644	0,583	-0,7006	2,2006
		BLANCO	9,25000(*)	0,45644	0,000	7,7994	10,7006
		KARATE	-0,75000	0,45644	0,583	-2,2006	0,7006
	BLANCO	E1C1	-6,50000(*)	0,45644	0,000	-7,9506	-5,0494
		E1C2	-7,25000(*)	0,45644	0,000	-8,7006	-5,7994
		E2C1	-8,50000(*)	0,45644	0,000	-9,9506	-7,0494
		E2C2	-9,25000(*)	0,45644	0,000	-10,7006	-7,7994
		KARATE	-10,00000(*)	0,45644	0,000	-11,4506	-8,5494
KARATE	E1C1	3,50000(*)	0,45644	0,000	2,0494	4,9506	
	E1C2	2,75000(*)	0,45644	0,000	1,2994	4,2006	
	E2C1	1,50000(*)	0,45644	0,040	0,0494	2,9506	
	E2C2	0,75000	0,45644	0,583	-0,7006	2,2006	
	BLANCO	10,00000(*)	0,45644	0,000	8,5494	11,4506	

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

ANEXO N° 3. CUANTIFICACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE SAPONINAS PRESENTES EN EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA (HEMÓLISIS)

CUADRO N° 16. TABULACIÓN DE DATOS DE LA HEMÓLISIS PRODUCIDA POR EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

Absorbancia = 415 nm

Sangre Humana: “O” Rh positivo

Incubación: 5mL de dilución, 30min, 37°C

Control de hemólisis (H)	A ₁	A ₂	A ₃	\bar{A}	$\bar{A}-A_{\%H}$	%H
0% (H); 5mL CTS 3% + 20 μ L sol.GR	0.030	0.029	0.033	0.031	-	0
100% (H); 5mL Agua + 20 μ L sol.GR	0.278	0.299*	0.279	0.278	0.247	100

N°	Muestra (mL)	CTS 3% (mL)	VT (mL)	20 μ L sol.GR	A ₁	A ₂	A ₃	\bar{A}	$\bar{A}-A_{\%H}$	%H	[g/mL]
1	0.15	4.85	5	20	0.047	0.040	0.043	0.043	0.012	5.0	4,12E-05
2	0.30	4.70	5	20	0.062*	0.078	0.082	0.080	0.049	19.8	8,25E-05
3	0.40	4.60	5	20	0.102	0.093	0.112	0.102	0.071	28.8	1,10E-04
4	0.45	4.55	5	20	0.125	0.127	0.142*	0.126	0.095	38.5	1,24E-04
5	0.50	4.50	5	20	0.177	0.188*	0.175	0.180	0.149	60.3	1,38E-04
6	0.55	4.45	5	20	0.248	0.241	0.254	0.247	0.216	87.7	1,51E-04
7	0.60	4.40	5	20	0.297	0.300	0.290	0.295	0.264	106.9	1,65E-04
8	0.65	4.35	5	20	0.307	0.309	0.308	0.308	0.277	112.1	1,79E-04
9	0.70	4.30	5	20	0.113	0.315	0.327	0.314	0.283	114.6	1,93E-04
10	0.75	4.25	5	20	0.322	0.330*	0.320	0.321	0.290	117.4	2,06E-04

*Valores eliminados para efecto de cálculos

Fuente: Luis Enrique Bonifaz

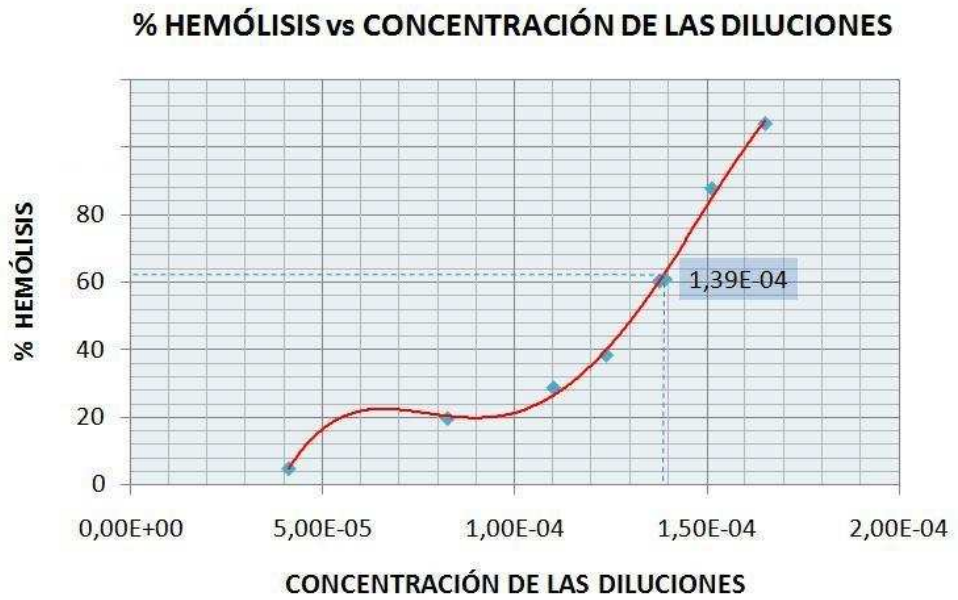


GRÁFICO N° 8. % hemólisis Vs Concentración de las diluciones (Tabla 1)

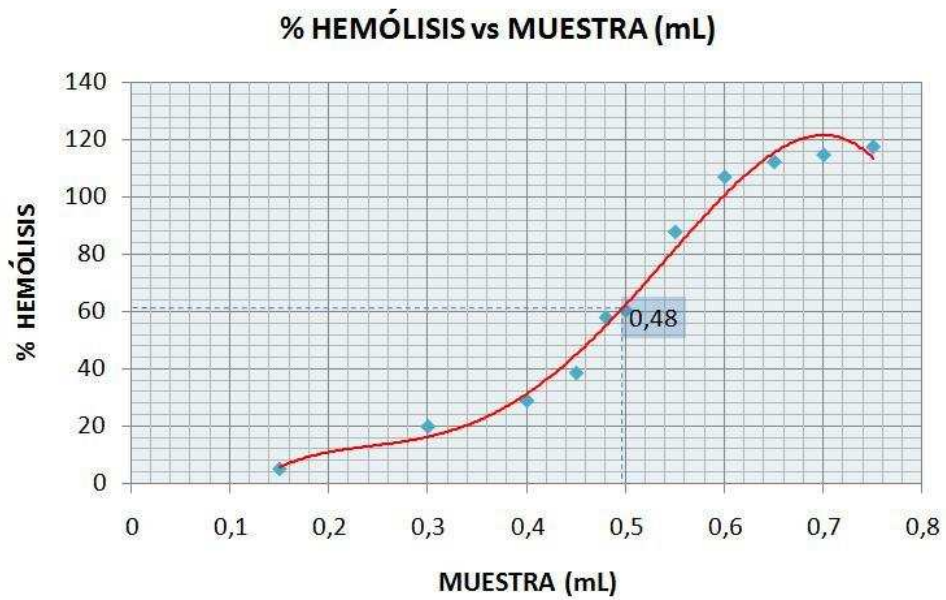


GRÁFICO N° 9. % hemólisis Vs Muestra (Tabla 1)

CUADRO N° 17. TABULACIÓN DE DATOS DE LA HEMÓLISIS PRODUCIDA POR EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

Absorbancia = 415 nm

Sangre Humana: "O" Rh positivo

Incubación: 5mL de dilución, 30min, 37°C

Control de hemólisis (H)		A ₁	A ₂	A ₃	\bar{A}	$\bar{A}-A_{\%H}$	%H
0% (H); 5mL CTS 3% + 20 μ L sol.GR		0.031	0.028	0.033	0.031	-	0
100% (H); 5mL Agua + 20 μ L sol.GR		0.279	0.294	0.278	0.284	0.253	100

N°	Muestra (mL)	CTS 3% (mL)	VT (mL)	20 μ L sol.GR	A ₁	A ₂	A ₃	\bar{A}	$\bar{A}-A_{\%H}$	%H	[g/mL]
1	0.15	4.85	5	20	0.050	0.048	0.041	0.046	0.015	5.9	4,12E-05
2	0.30	4.70	5	20	0.064*	0.079	0.083	0.081	0.050	19.7	8,25E-05
3	0.40	4.60	5	20	0.095*	0.103	0.115	0.109	0.078	30.8	1,10E-04
4	0.45	4.55	5	20	0.128	0.127	0.124	0.126	0.095	37.7	1,24E-04
5	0.50	4.50	5	20	0.176	0.177	0.175	0.176	0.145	57.3	1,38E-04
6	0.55	4.45	5	20	0.246	0.243	0.250*	0.244	0.213	84.4	1,51E-04
7	0.60	4.40	5	20	0.290	0.296	0.301*	0.293	0.262	105.5	1,65E-04
8	0.65	4.35	5	20	0.303	0.308	0.310*	0.305	0.274	108.5	1,79E-04
9	0.70	4.30	5	20	0.310	0.314	0.325*	0.312	0.281	111.1	1,93E-04
10	0.75	4.25	5	20	0.306	0.318	0.314	0.316	0.285	112.6	2,06E-04

*Valores eliminados para efecto de cálculos

Fuente: Luis Enrique Bonifaz

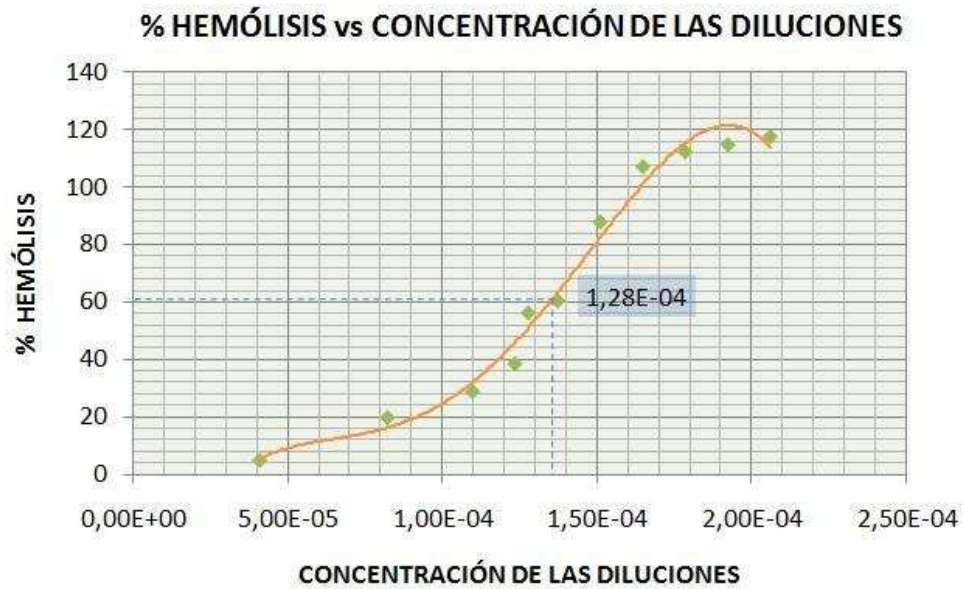


GRÁFICO N° 10. % hemólisis Vs Concentración de las diluciones (Tabla 2)

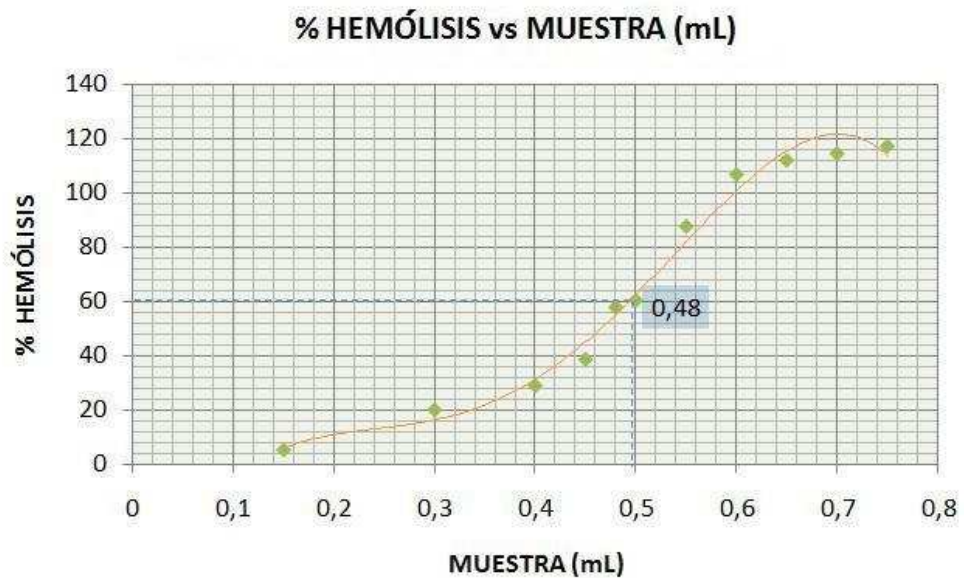


GRÁFICO N° 11. % hemólisis Vs Muestra (Tabla 2)

CUADRO N° 18. TABULACIÓN DE DATOS DE LA HEMÓLISIS PRODUCIDA POR EL AGUA DE LAVADO DE LA QUINUA

Absorbancia = 415 nm

Sangre Humana: "O" Rh positivo

Incubación: 5mL de dilución, 30min, 37°C

Control de hemólisis (H)	A ₁	A ₂	A ₃	\bar{A}	$\bar{A}-A_{\%H}$	%H
0% (H); 5mL CTS 3% + 20 μ L sol.GR	0.034	0.029*	0.035	0.033	-	0
100% (H); 5mL Agua + 20 μ L sol.GR	0.288	0.296	0.277	0.287	0.254	100

N°	Muestra (mL)	CTS 3% (mL)	VT (mL)	20 μ L sol.GR	A ₁	A ₂	A ₃	\bar{A}	$\bar{A}-A_{\%H}$	%H	[g/mL]
1	0.15	4.85	5	20	0.048	0.052	0.040	0.050	0.017	6.7	0.404x10 ⁻⁴
2	0.30	4.70	5	20	0.080	0.078	0.060*	0.079	0.046	18.1	0.808 x10 ⁻⁴
3	0.40	4.60	5	20	0.113	0.105	0.094*	0.109	0.076	29.9	1.077 x10 ⁻⁴
4	0.45	4.55	5	20	0.125	0.130	0.129	0.128	0.095	37.4	1.213 x10 ⁻⁴
5	0.50	4.50	5	20	0.180*	0.174	0.178	0.176	0.143	56.3	1.347 x10 ⁻⁴
6	0.55	4.45	5	20	0.246	0.247	0.251*	0.244	0.211	83.1	1.481 x10 ⁻⁴
7	0.60	4.40	5	20	0.289	0.298	0.295*	0.293	0.260	102.4	1.616 x10 ⁻⁴
8	0.65	4.35	5	20	0.309	0.307	0.305	0.307	0.274	107.8	1.751 x10 ⁻⁴
9	0.70	4.30	5	20	0.322*	0.308	0.312	0.310	0.277	109.1	1.885 x10 ⁻⁴
10	0.75	4.25	5	20	0.309	0.300*	0.314	0.312	0.279	109.8	2.020x10 ⁻⁴

*Valores eliminados para efecto de cálculos

Fuente: Luis Enrique Bonifaz

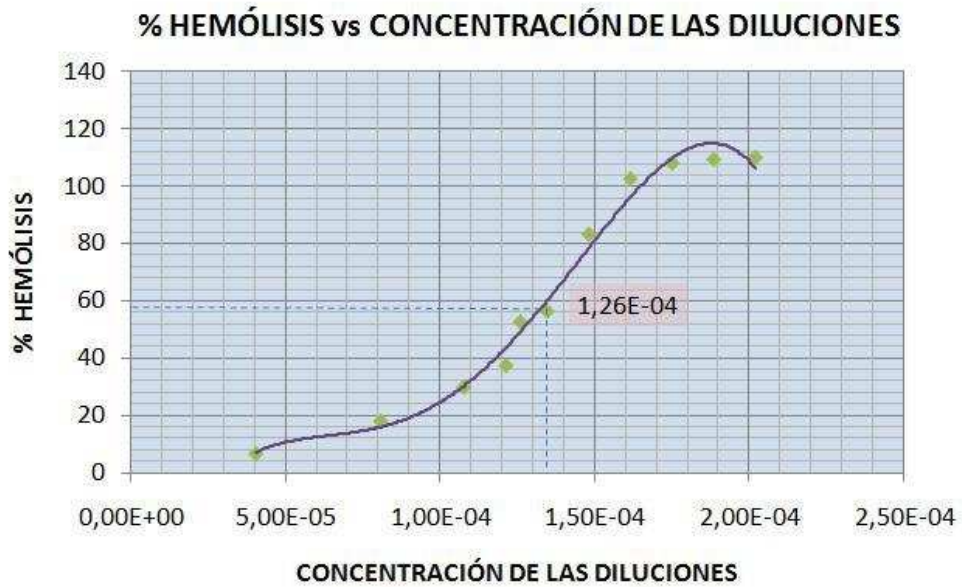


GRÁFICO N° 12. % hemólisis Vs Concentración de las diluciones (Tabla 3)

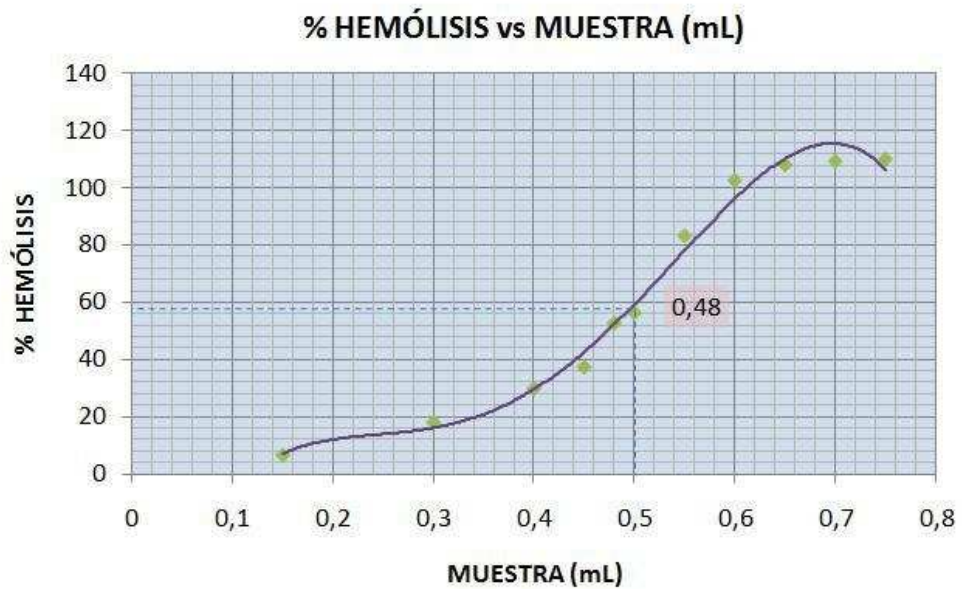


GRÁFICO N° 13. % hemólisis Vs Muestra (Tabla 3)

RESULTADOS

1. En 100mL de agua de lavado de quinua aforados a 250 mL con agua destilada, concentrados hasta 125 mL y aforado luego a 250 mL con CTS 6% permite ver una hemólisis gradual.
2. Se realizo tres determinaciones con el método utilizado, resultados que se pueden ver en las tablas 1,2, y 3 de las cuales se generan las gráficas correspondientes.
3. De las tres determinaciones el volumen medio es: $V_m = 0.48$ mL.
4. De las tres determinaciones la concentración media es: $C_m = 1.28 \times 10^{-4}$ g/mL o 0.128×10^{-3} g/mL (Error en función de la concentración de calibración = 3%)

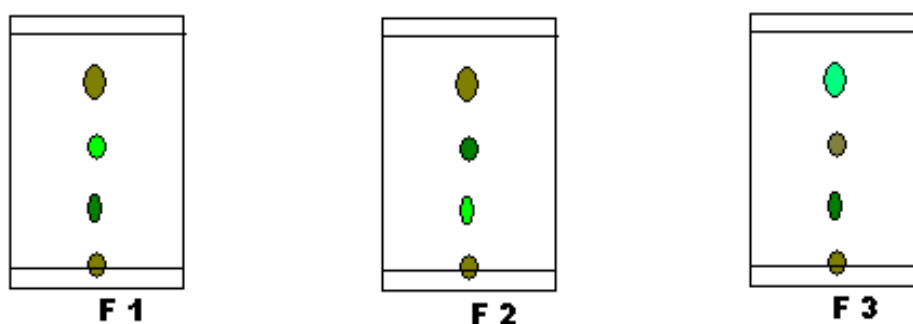
ANEXO N° 4. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO METANÓLICO

Resultados: De los 1000 mL de agua de lavado de la quinua se obtuvo 1.83 g de saponina impura del extracto metanólico. (19)

ANEXO N° 5. CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE SAPONINAS DE QUINUA

Mediante esta técnica cromatográfica se reunieron los hidrolizados obtenidos por ambas metodologías con un peso final de 15.79g, para separar adecuadamente los productos. Cada una de las fracciones eluidas se analizaron por cromatografía en capa delgada,

especialmente las fracciones de acetato de etilo: n-heptano (1:1) que fueron escogidas para continuar la separación debido a la aparición de los productos de interés.(Fig. 2)



F1- Fracción eluida Nro 1

F2- Fracción eluida Nro 2

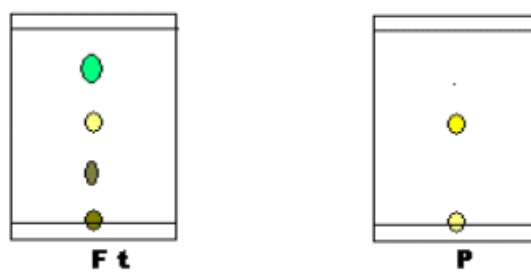
F3- Fracción eluida Nro 3

Fig. 2- Cromatogramas obtenidos para las fracciones de interés, eluidas en la Cromatografía en Columna.

Al analizar el recorrido de las manchas se puede apreciar que hubo una buena separación de los productos, obteniéndose tres manchas bien definidas y nítidas en cada caso, de coloración que varía del verde al amarillo verdoso. (22)

Además se compararon de forma preliminar los R_f para cada una de las manchas con un patrón de diosgenina de valor de $R_f = 0.51$, observándose similitud entre este y el valor de R_f calculado para la mancha intermedia de las tres fracciones escogidas(Fig. 3).

Estas fracciones fueron reunidas en una fracción total de 0.79g con el 5% de la muestra inicial introducida en la columna. (22)



Ft –Fracción total **P** –Patrón de diosgenina

Fig. 3 –Cromatogramas del patrón de diosgenina comparado con el de una fracción total eluída en la mezcla acetato de etilo: n –heptano (1: 1)

Las restantes manchas no pudieron ser analizadas por no contar con disponibilidad de otros patrones

ANEXO N° 6. CROMATOGRAFÍA DE PLACA PREPARATIVA

Con el objetivo de arrastrar la mancha de interés eluida por la columna, para su posterior análisis espectroscópico, desarrollamos la técnica de cromatografía preparativa.

Los resultados de la misma se muestran en la Fig. 4. Como se puede apreciar obtuvimos franja de color amarillo -verdoso luego de ser adecuadamente marcada, se arrastró y tres franjas de colores : verde oscuro, amarillo – verdoso y verde claro respectivamente. La disolvió en la mezcla de acetato de etilo: n-heptano (1:1).

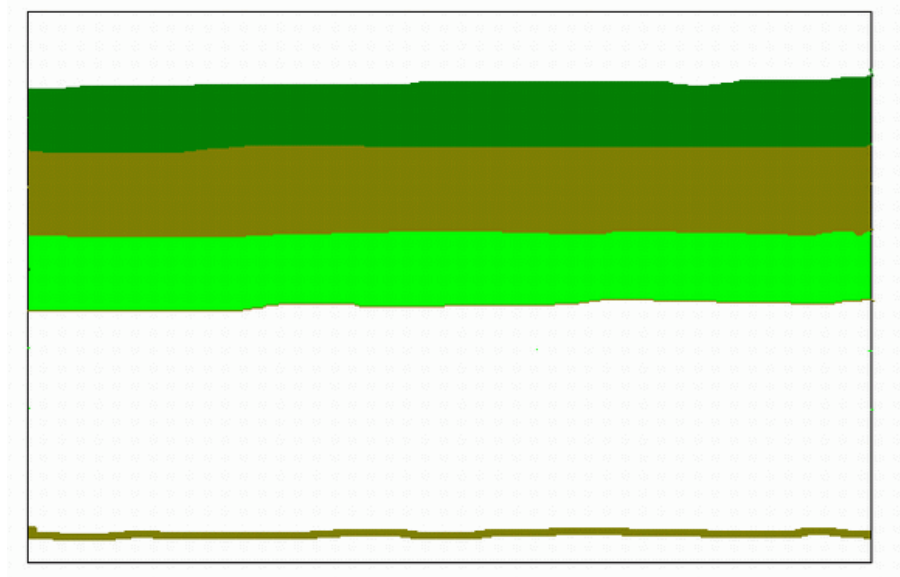
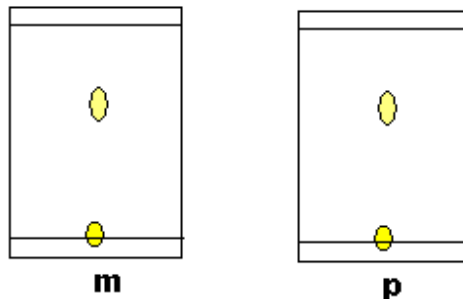


Fig. 4–Cromatograma de la fracción de interés eluida por la columna obtenida mediante una técnica preparativa

Luego de ser decantado y filtrado con papel de filtro, para eliminar los restos de silica, se dejó reposar durante tres días, al cabo de los cuales observamos la aparición de un precipitado blanco amarillento, con un peso de 0.21g .Esto se corresponde con el 1.33% del hidrolizado total introducido en la columna .

Este producto se comparó con el patrón de diosgenina mediante cromatografía de placa delgada, bajo las mismas condiciones cromatográficas empleadas anteriormente .Como muestra la Fig 8, el producto aislado presenta un Rf muy similar al patrón .

Este producto aislado de la fracción post- hidrólisis en acetato de etilo: n- heptano (1:1) se corresponde con el 0.1% de la muestra inicial de 200g de planta seca y molinada que se empleó en el estudio. (22)



m- Producto aislado **p**- Patrón de diosgenina

Fig. 5– Cromatogramas del producto aislado y el patrón de diosgenina.

Se realizó la detección del punto de fusión a la muestra en una microplatina digital (electrothermal 9200) y el rango de valor detectado fue entre 206 y 209°C.

Luego de analizar nuestro producto aislado tanto por métodos cromatográficos como espectroscópicos, le asignamos la estructura química de la diosgenina (Fig. 5) , Sapogenina Esteroidal de interés farmacéutico notable

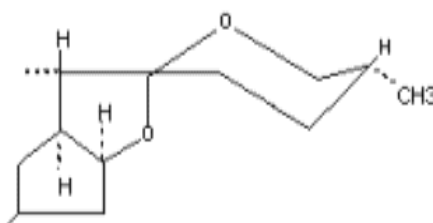


Fig. 5 Estructura química de la diosgenina en la conformación iso .

Usos. En medicina popular se emplea en el tratamiento del estreñimiento, cistitis, uretritis, urolitiasis, edemas, resfriados, bronquitis, gastroenteritis, diabetes, parasitosis intestinales.

(22)