

Evaluación de las condiciones de desamargado en húmedo de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)

Evaluation of wet de-bittering conditions of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)

Bergesse, Antonella Estefanía^{1,2}; Miranda-Villa, Patricia^{2,3}; Mufari, Jesica Romina^{2,3}; Albrecht, Claudia¹; Cervilla, Natalia Soledad^{1,2}

1 Escuela de Nutrición, FCM, UNC. Córdoba, Argentina.

2 Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, FCEfyN, UNC. Córdoba, Argentina.

3 Instituto de Ciencias y Tecnología de los Alimentos Córdoba (ICYTAC) – CONICET. Córdoba, Argentina.

Recibido: 17/diciembre/2018. Aceptado: 22/febrero/2019.

RESUMEN

Introducción: los granos de quinoa presentan en su episperma saponinas, compuestos con actividad antinutricional y que le otorgan sabor amargo al grano, por lo que deben desamargarse previo a su consumo. La falta de precisión acerca de las condiciones más adecuadas para realizarlo por método húmedo, evidencia la necesidad de contar con información que aporte claridad.

Objetivo: el objetivo del trabajo fue evaluar las condiciones de desamargado vía húmeda en granos de quinoa, con el fin de comparar su efectividad con un método cuantitativo.

Materiales y métodos: se evaluaron como variables el tiempo, relación agua/granos y temperatura. Para determinar el contenido de saponinas residuales, se utilizó el método de la espuma (estimación afrosimétrica) y se compararon los resultados con espectrofotometría.

Resultados y discusión: todas las variables ejercieron un efecto significativo y una correlación negativa sobre el contenido de saponinas. La interacción de las variables permitió establecer las condiciones de extracción que tuvieron mayor eficiencia: 6 minutos, relación masa granos/solvente 10 mL/g,

independientemente de la temperatura. Por espectrofotometría, se observó la misma tendencia.

Conclusiones: la conjugación de estas condiciones permite realizar lavados en tiempos breves, con una cantidad de agua determinada y sin la necesidad de aplicar temperatura. El método demostró ser sencillo, práctico y eficiente para la remoción de las saponinas.

PALABRAS CLAVE

Quinoa – saponinas – desamargado – método húmedo – estimación afrosimétrica.

ABSTRACT

Introduction: quinoa grains present in its episperm saponins, compounds with antinutritional activity that give bitter flavor to the grain. Therefore, they must be previously removed for their consumption. The lack of precision about the most appropriate conditions to perform it by wet method, demonstrates the need to have information that provides clarity.

Aim: the aim of this work was to evaluate the conditions of wet de-bittering in grains of quinoa, in order to compare its effectiveness with a quantitative method.

Materials and methods: Time, water/grain mass ratio and temperature were evaluated as variables. To determine the content of saponins, foam method (afrosimetric estimation) was used and the data obtained by spectrophotometric method was used to compare.

Correspondencia:
Antonella Estefanía Bergesse
anto_bergesse@hotmail.com

Results and discussion: All the variables presented a significant effect and a negative correlation on the saponin content. The interaction between the variables allowed establishing the conditions of extraction that had greater efficiency: 6 minutes, solvent/grain mass ratio 10:1, independently of the temperature. The same tendency was observed by spectrophotometry.

Conclusions: the conjugation of these conditions enables to carry out washes in short periods of time, with a certain amount of water and without the need to apply temperature. The method proved to be simple, practical and efficient for the removal of saponins.

KEYWORDS

Quinoa – saponins – de-bittering – wet method – afrosimetric estimation.

ABREVIATURAS

ANAVA: análisis de varianza.

EAM: extracción asistida por microondas.

Test LSD Fisher: Test Least significant difference Fisher.

INTRODUCCIÓN

La quinoa es un grano andino con características nutricionales sobresalientes, entre las cuales se destaca la calidad de su proteína, que además de no poseer gluten, presenta un alto valor nutricional, pues posee todos los aminoácidos esenciales y en elevada proporción¹. Presenta tres partes bien definidas: episperma, embrión y perisperma. En la capa más superficial del episperma se ubican las saponinas, sustancias polares y principal factor antinutricional en quinoa, que afectan la absorción de zinc y hierro a nivel intestinal², poseen actividad hemolítica³ y le otorgan sabor amargo al grano⁴. Este sabor constituye uno de los principales limitantes en la expansión del consumo de quinoa. En Argentina las únicas especies que se producen son amargas (variedades Faro, Baer y Regalona)⁵, por tanto, es necesario realizar un buen proceso de desamargado para evitar todos esos problemas asociados (nutricionales y el retrogusto amargo).

Los métodos tradicionales de desamargado se pueden clasificar en húmedos (solubilización de las saponinas con agua), secos (abrasión del episperma) y combinados (abrasión y lavado). El lavado reduce en mayor proporción el contenido de saponinas que el método abrasivo, siendo los valores remanentes de estos compuestos de 0,32% y 1,05% respectivamente⁶. Además de remover el sabor amargo, el empleo de agua puede generar mayor o menor pérdida de elementos nutritivos solubles según el tiempo de exposición de los granos al proceso. Otras condiciones de proceso, tales como la relación agua/granos, también pueden influir en la pérdida de sustancias de interés nutricional.

Por otro lado, existen diversos métodos para determinar el contenido de saponinas de los granos. El método de la espuma o estimación afrosimétrica⁷ constituye una técnica sencilla, económica y aplicable sin necesidad de energía eléctrica, desarrollada específicamente para granos de quinoa, que podría ser utilizada para comprobar rápidamente la eliminación mayoritaria de las saponinas.

A partir de lo expuesto, el objetivo del presente trabajo consistió en evaluar el tiempo, la temperatura de lavado y la relación agua/grano para el desamargado de los granos de quinoa por vía húmeda, a fin de comparar su efectividad con un método cuantitativo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Los granos de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) utilizados provinieron del departamento La Poma, provincia de Salta, Argentina, cosecha 2011. Para limpiarlos de residuos como tallos, palos o piedras, fueron tamizados en un tamiz vibratorio (Zonytest, Argentina) con mallas de 3360, 1680, 1190 μm y ciego, recuperando aquellos retenidos en la última.

Desamargado de granos

El solvente utilizado para realizar el lavado fue agua destilada. Se pesaron 5 g ($\pm 0,01$) de granos de quinoa en una balanza de plato (OHAUS Traveler, EE.UU.), y se colocaron en canastas de aluminio, para ser sumergidos en el agua de lavado. Una vez alcanzado el tiempo de lavado establecido, se enjuagó la canasta con 10 mL de agua destilada y se escurrió sobre papel absorbente, para quitar excedente de espuma. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Las condiciones óptimas se definieron a partir de aquellas que produjeron un menor contenido de saponinas residual en el grano.

Tiempo de lavado. Se establecieron cuatro tiempos: 2, 4, 6 y 8 minutos.

Relación solvente/masa de granos. Se definieron dos relaciones de solvente/masa de granos: 5 y 10 mL/g.

Temperatura de lavado. Para los distintos tiempos de lavado y relación solvente/masa de granos, se aplicaron tres temperaturas: 25 °C, 40 °C y 60 °C. Antes de iniciar el proceso, se calentó agua en un baño termostático (Vicking, Argentina) hasta lograr las temperaturas de trabajo. Una vez alcanzadas, se colocó el beaker dentro del baño y se cronometró el tiempo correspondiente, controlando que la temperatura se mantuviera estable.

Secado de granos

Una vez lavados los granos, se secaron en una estufa (O.R.L, Argentina) a 90 °C durante 24 horas.

Determinación del contenido de saponinas residual

Para determinar el porcentaje de saponinas residual, se aplicaron dos métodos sobre los granos lavados bajo las condiciones óptimas definidas.

Método de la espuma: se aplicó la técnica de estimación afrosimétrica⁷. Se pesaron 0,5 g de granos de quinoa ($\pm 0,0001$ g) en un tubo de 16 cm de largo por 16 mm de diámetro, se agregaron 5 mL de agua destilada y se agitó vigorosamente durante 30 segundos. Se dejaron reposar los tubos de 5 a 10 segundos y se leyó la altura de la espuma, utilizando una regla con precisión de 0,1 cm.

Método espectrofotométrico: se realizó una extracción asistida por microondas (EAM). Los extractos de saponinas obtenidos se derivatizaron mediante la reacción de Libermann–Burchard. Las absorbancias fueron medidas a 528 nm con un espectrofotómetro (Perkin Elmer Lambda 25, EE.UU.). Las curvas de calibración fueron realizadas con ácido oleanólico⁸.

Análisis estadístico

Los datos fueron expresados como los valores medio y desvío estándar de tres experimentos independientes. El procesamiento de los resultados obtenidos se realizó utilizando el programa informático Infostat v.l.⁹, en el cual se llevó a cabo el análisis de varianza (ANAVA), Test Least significant difference (LSD) Fisher con el propósito de encontrar diferencias significativas entre las medias de los distintos lavados (p -valor $<0,05$) y se determinó el coeficiente de correlación de Pearson (r) entre los tratamientos en el contenido de saponinas.

RESULTADOS

Contenido inicial de saponinas

Los granos empleados tuvieron un porcentaje inicial de saponinas de 0,56%, lo que se corresponde con granos de variedad amarga¹⁰.

Tiempo de lavado

El tiempo mostró un efecto significativo sobre la variable dependiente (p -valor $<0,0001$) y tuvo una correlación negativa (p -valor $<0,0001$) superando a la temperatura y relación solvente/masa de granos, en orden decreciente (Tabla 1).

Como se presenta en la Figura 1, los cuatros tiempos tuvieron diferentes efectos sobre el contenido de saponinas residual de los granos, aunque no se observó una tendencia gradual en la reducción entre los 2 y los 8 minutos. Entre los 2 y 4 minutos, se encontraron los mayores contenidos de saponinas residual en los granos (0,048% y 0,033%, respectivamente). En contraposición, entre los 6 y 8 minutos el contenido de saponinas disminuye, siendo inferior a los 6 minutos (0,023% y 0,028%, respectivamente).

Temperatura de lavado

La temperatura de lavado mostró un efecto significativo (p -valor $<0,0001$) sobre la remoción de saponinas en los granos de quinoa (Tabla 1). Se observó una reducción gradual con el aumento de la temperatura. Así, la mayor temperatura de agua generó una mayor reducción del contenido de saponinas (0,027%), en relación a las temperaturas de 40 °C (0,031%) y 25 °C (0,040%) (Figura 2).

Relación solvente/masa de granos

La relación solvente/masa de granos también presentó un efecto significativo (p -valor $<0,0001$) sobre la variable dependiente (Tabla 1). En la relación 10 mL/g, el contenido de saponinas fue de 0,030% y en la relación 5 mL/g, 0,036%. De esta forma, la remoción es más eficiente cuando la relación es mayor (Figura 3).

Efecto conjunto de las variables

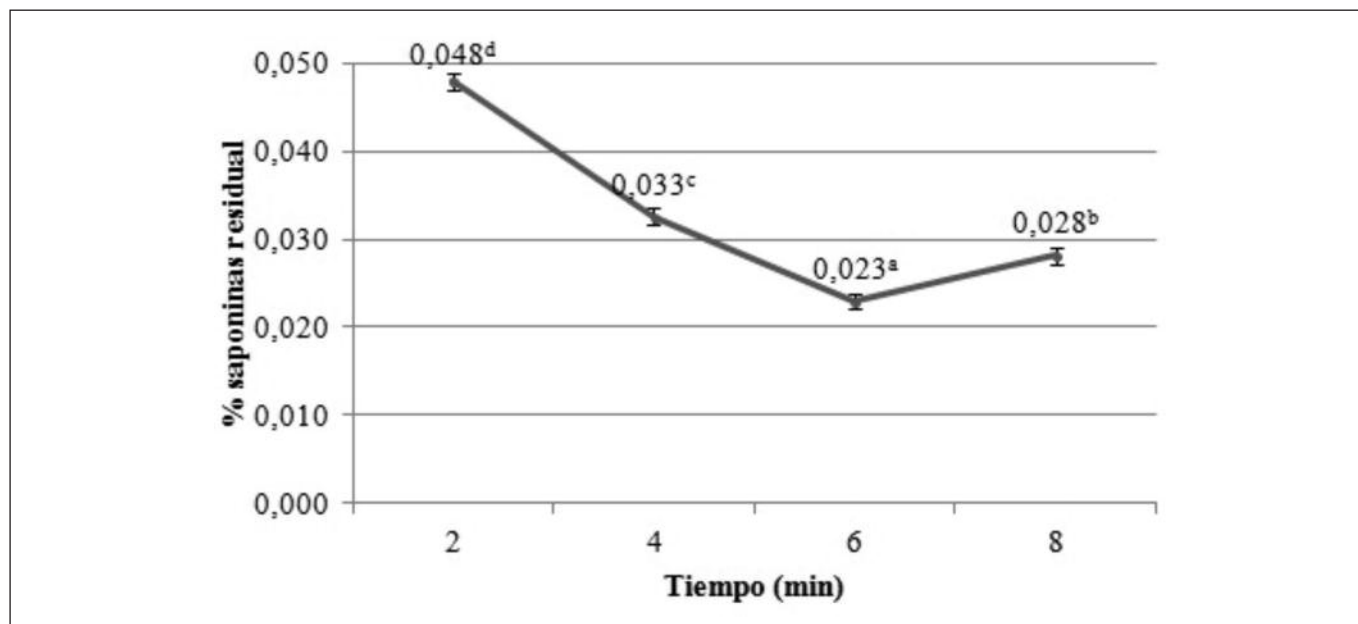
El análisis de la varianza indicó, no sólo que existe un efecto significativo (p -valor $<0,0001$) de las tres variables analizadas, sino también de las interacciones entre ellas sobre el contenido de saponinas de los granos.

En la Tabla 2, se presenta el contenido residual de saponinas producto de la interacción de las tres variables durante el lavado, observándose que 6 minutos, 60 °C y relación 10 mL/g de granos, son las mejores condiciones de lavado (0,0025%); sin embargo, no existen diferencias significativas aplicando temperaturas de 25 °C o 40 °C. Por el contrario, 2 minutos, 5 mL/g y 25 °C, dejan un mayor contenido residual de saponinas en los granos (0,073%). A 8 minutos de lavado, se puede observar cómo el contenido de saponinas residual no presenta diferencias significativas independientemente de la relación solvente/masa de granos y la temperatura aplicada.

Tabla 1. Coeficiente de correlación de Pearson y Coeficiente de Determinación en las variables trabajadas.

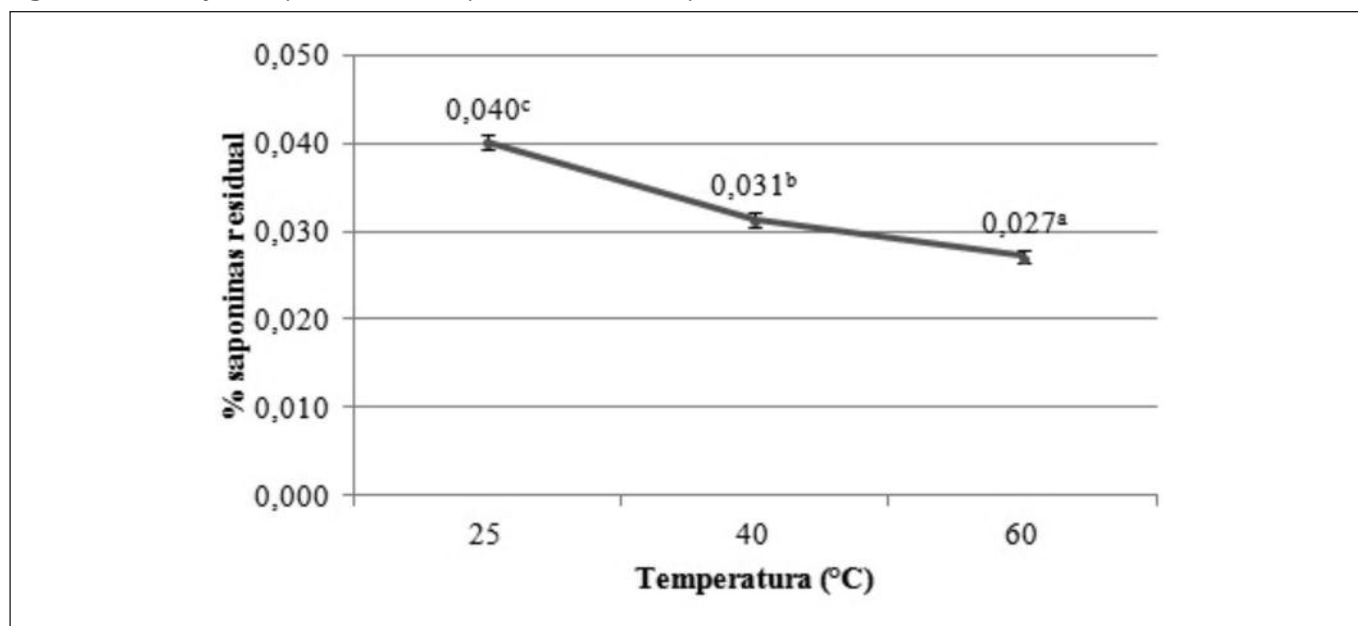
	Tiempo	Temperatura	Relación solvente/masa de granos
Pearson	-0,57	-0,42	-0,20
Coefficiente de Determinación	0,33	0,18	0,04

Figura 1. Porcentaje de saponinas residual aplicando distintos tiempos de lavado.



Letra distinta indica diferencias significativas ($p > 0,05$).

Figura 2. Porcentaje de saponinas residual aplicando distintas temperaturas de lavado.



Letra distinta indica diferencias significativas ($p > 0,05$).

Método espectrofotométrico

En la Figura 4, se presentan los resultados del porcentaje de saponinas residual obtenidos luego de haber lavado los granos bajo las condiciones óptimas, y medidos por el método de la espuma y espectrofotometría. Si bien se encontraron diferencias significativas en el contenido de saponinas

residual medido por ambos métodos, se observó una tendencia similar, donde el mayor descenso del contenido de saponinas residual se presenta hasta los 2 minutos, luego del cual la curva de descenso comienza a estabilizarse; llegando a los 8 minutos, donde no se encuentran diferencias significativas (0,030% de saponinas residual).

Tabla 2. Porcentaje de saponinas residual aplicando la interacción de las tres variables.

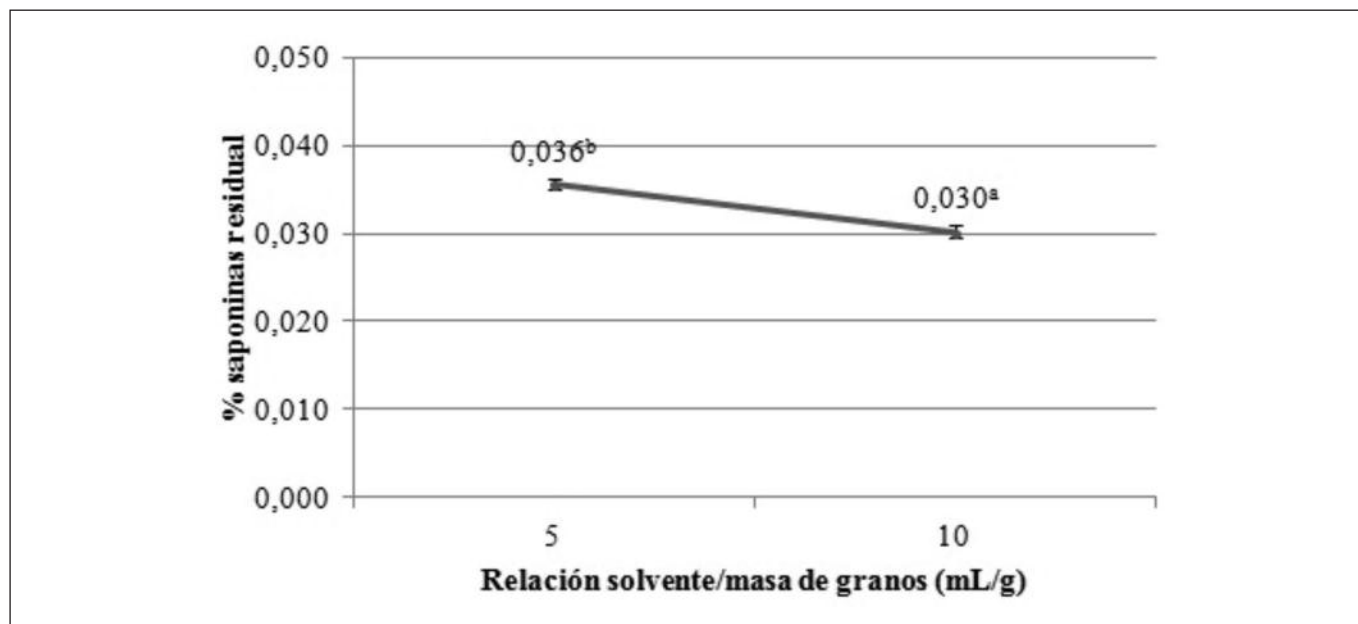
Tiempo (min)	Relación solvente/masa de granos (mL/g)	Temperatura (°C)	% saponinas	DE
2	5	25	0,073 ^a	0,005
		40	0,041 ^d	0,010
		60	0,035 ^e	0,001
	10	25	0,062 ^e	0,005
		40	0,044 ^d	0,006
		60	0,033 ^e	0,005
4	5	25	0,050 ^c	0,005
		40	0,035 ^e	0,005
		60	0,027 ^e	0,003
	10	25	0,030 ^e	0,005
		40	0,027 ^e	0,001
		60	0,027 ^e	0,010
6	5	25	0,027 ^e	0,004
		40	0,027 ^e	0,001
		60	0,025 ^e	0,003
	10	25	0,021 ^f	0,005
		40	0,021 ^f	0,005
		60	0,018 ^f	0,010
8	5	25	0,030 ^e	0,005
		40	0,030 ^e	0,005
		60	0,028 ^e	0,003
	10	25	0,030 ^e	0,005
		40	0,027 ^e	0,001
		60	0,025 ^e	0,003

Se reporta media \pm DE (n=3). Los resultados están expresados en base seca como porcentaje (g de saponinas/100 g de granos). Medias con diferente letra en la misma columna son significativamente diferente ($p < 0,05$).

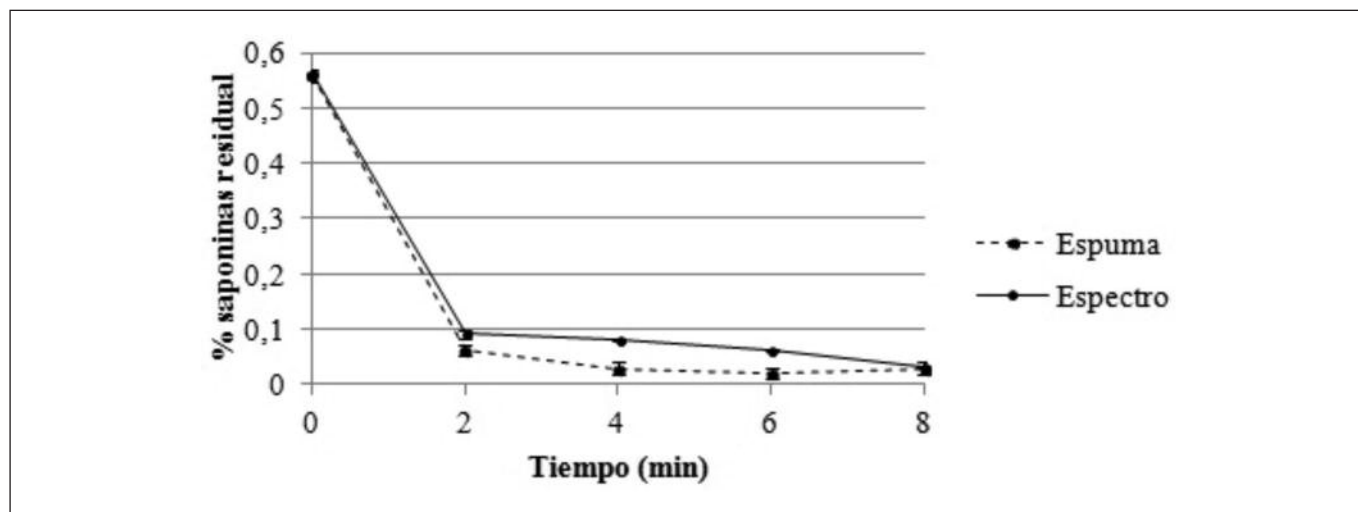
DISCUSIÓN

Diversos trabajos se han ocupado del estudio del contenido de saponinas en distintas variedades de granos de quinoa de origen argentino. El contenido de estos compuestos permite distinguir las variedades como dulces ($< 0,11\%$) o

amargas ($> 0,11\%$)¹⁰. Jiménez de Erramouspe y col¹¹, estudiaron el porcentaje de saponinas en granos quinoa proveniente de Argentina y establecieron que se trataba de granos dulces ya que la concentración de saponinas fue de 0,089%. Sin embargo, en el estudio realizado por Pallaro y col¹², encontraron que el rango del contenido de saponinas

Figura 3. Porcentaje de saponinas residual aplicando diferentes relaciones solvente/masa de granos.

Letra distinta indica diferencias significativas ($p > 0,05$).

Figura 4. Porcentaje de saponinas residual obtenidos a partir del método de la espuma y espectrofotométrico.

en quinoa del Noeoreste Argentino fue de 0,44-3,20%, clasificándose como amargas, en coincidencia con lo hallado en el presente trabajo.

Las saponinas son moléculas de alta solubilidad dada la estructura química que presentan, siendo la fracción glucídica la polar y responsable de esta propiedad¹³. Respecto a esto, el tipo de solvente es uno de los factores que afecta la velocidad de extracción líquido-sólido. Estudios previos, indican que el mejor extractante de saponinas es una mezcla de isopropanol-agua al 20%¹³. Por otra parte, Guzmán y col.¹⁴ deter-

minaron que el rendimiento de extracción de saponinas en medio alcohólico y acuoso es similar, sin embargo, el etanol inhibe el índice de espuma y es capaz de extraer otras moléculas que presentan absorbancia a longitud de onda de 528 nm, interfiriendo de esta manera con las lecturas espectrofotométricas y afrosimétricas del contenido de saponinas. Lo antedicho refuerza la utilización de agua como solvente de extracción, tal como se efectuó en la presente investigación.

Con respecto al tiempo de tratamiento, los resultados hallados coinciden con los de Bacigalupo y Tapia¹⁵, quienes con-

cluyeron que tiempos prolongados de tratamiento con agua no mejoran el rendimiento de la extracción de saponinas de quinoa. Así, 6 minutos de desamargado fueron más eficientes que 8 en la remoción de estos compuestos en las condiciones ensayadas.

Cuando se analizaron las variables de manera independiente, se observó en este estudio que la temperatura influyó positivamente sobre la extracción de saponinas del grano de quinoa, al igual que los resultados abordados por Gianna y col¹⁶. Sin embargo, en el contexto de la evaluación de las variables en conjunto, la eficiencia de la extracción en relación a la temperatura no mostró efectos importantes, siempre y cuando el tiempo de lavado sea 6 minutos y la relación solvente/masa de granos 50 mL/g.

Por otro lado, se ha informado que la relación 20 mL/g producía una extracción más satisfactoria que las relaciones 15, 25 y 30 mL/g¹⁷. Las discrepancias entre los distintos estudios pueden deberse a condiciones de trabajo distintas, e inclusive, a la amplia variedad de saponinas que se han reportado hasta el momento que a su vez, presentan diferente solubilidad.

CONCLUSIÓN

El tiempo ejerció una mayor influencia en el contenido de saponinas residual en comparación al resto de las variables, siendo 6 minutos el óptimo. La relación solvente/masa de granos fue más eficiente a medida que la relación fue mayor (10 mL/g). Por otro lado, cuando el lavado se realizó a 6 minutos y con una relación solvente/masa de granos 10 mL/g, no se presentaron diferencias significativas entre las tres temperaturas aplicadas. Entonces, las condiciones que serían óptimas para la realización del lavado de granos de quinoa son 6 minutos, relación solvente/masa de granos 10 mL/g y 25 °C. La conjugación de estas condiciones permite realizar lavados en tiempos breves, con una cantidad de agua determinada y sin la necesidad de aplicar temperatura, lo cual agiliza el proceso permitiendo ahorrar recursos económicos y de tiempo. El método de la espuma demostró ser una técnica sencilla, económica y rápida, para asegurar la completa remoción de saponinas de los granos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su gratitud a Consejo Interuniversitario Nacional (CIN) y Secretaría Ciencia y Tecnología por el financiamiento (SECyT), Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTA), Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba (ICyTAC) y Escuela de Nutrición-FCM-UNC por brindar los lugares de trabajo y ofrecer el equipamiento disponible para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. Velic A., Bun L. y Kra S. Effect of acid hydrolysis time on amino acid determination in casein and processed cheeses with different fat content. *J Food Compost Anal*, 2009; 22: 224–232.
2. Elizalde AdD. y Yamid PP. Chaparro DC. Factores antinutricionales en semillas. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 2009, 7(1).
3. Troisi J., Di Fiore R., Pulvento C., D'Andria R., Vega-Gálvez A., Miranda M., Martínez EA. y Lavini A. (2013). En: Bazile, et al., editores. *Estado del arte de la quinoa en el mundo en 2013*. Santiago de Chile, Chile: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) - Montpellier, Francia: Agricultural Research for Development (CIRAD), 2013, p. 317-330.
4. Mujica A., Jacobsen S., Izquierdo J. y Marathee JP. Quinoa: ancestral cultivo andino, alimento del presente y del futuro. *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)*, Chile, 2001.
5. Rivas J. Avances en el cultivo de quinoa en el sur de Argentina [Internet]. Buenos Aires, Argentina: INTA; 2013 [citado el 10 Noviembre de 2018]. Recuperado a partir de: <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/HomeAlimentos/Cultivos%20Andinos/Quinoa/Bibliografia%20Quinoa/1%20PRODUCCION/EXTRA%20NOA/Quinoa%20en%20el%20Sur%20de%20Buenos%20Aires.pdf>
6. Chauhan GS., Eskin NAM. y Tkachuk R. Nutrients and Antinutrients in Quinoa Seed, *Cereal Chem*, 1991; 69(1): 85-88.
7. Koziol M.J. Afrosimetric estimation of threshold saponin concentration for bitterness in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *J SciFood Agric*, 1991; 54: 211-219.
8. Gianna V., Montes JM., Calandri EL. y Guzmán CA. Impact of several variables on the microwave extraction of *Chenopodium Quinoa* wild saponins. *Int J Food Sci Technol*, 2012; 1-5.
9. Di Rienzo J., Casanoves F., Balzarini M., González L., Tablada M. y Robledo C. InfoStat versión 1 [Internet]. Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba; 2014 [citado en 10 Noviembre de 2018]. Recuperado a partir de: <http://www.infostat.com.ar>.
10. Gómez-Caravaca AM., Iafelice G., Verardo V., Marconi E. y Caboni MF. Influence of pearling process on phenolic and saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Food Chem*, 2009; 157: 174-178.
11. Jiménez de Erramouspe PL., Armada M. y Gómez Molina SE. Propiedades físico-químicas, estructurales y de calidad en semillas de quinoa (*Chenopodium quinoa*) variedad CICA, con evaluación de la eficiencia de un proceso artesanal de escarificación en seco. *Revista Ciencia y Tecnología de los Cultivos Industriales* 2013; 3(5): 71-79.
12. Pallaro A., Gianna V., Cerrillo NS., Calandri EL., Sanahuja MC., Bertero HD., Guzmán CA. y Vidueiros M. Determinación del contenido de saponinas en quinoa de distintas regiones de Argentina. En: III Reunión Interdisciplinaria de Tecnología y Procesos Químicos. Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba; 2014.

13. Gianna V. Extracción, cuantificación y purificación de saponinas de semillas de *Chenopodium quinoa* Willd provenientes del Noroeste argentino [tesis doctoral]. Córdoba: Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, 2013.
14. Guzmán B., Cruz DL., Alvarado JA. y Mollinedo P. Cuantificación de saponinas en muestras de Cañihua *Chenopodium Pallidicaule* Aellen. Revista Boliviana de Química, 2013; 30(2):131-136.
15. Bacigalupo A. y Tapia M. Potencial agroindustrial de los cultivos andinos subexplotados. En: Tapia M, editor. Cultivos Andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. Santiago, Chile: Ediciones Gegra S.A. 1990, p. 136-163.
16. Gianna V., Cervilla NS., Calandri EL. Y Guzmán CA. Extracción de saponinas de quinoa asistida con ultrasonido. En: III Reunión Interdisciplinaria de Tecnología y Procesos Químicos. Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba; 2014.
17. Gianna V. y Guzmán CA. Saponinas. En: Grasso FV, editor. Aprovechamiento integral del grano de quinoa. Aspectos tecnológicos, fisicoquímicos, nutricionales y sensoriales. Córdoba, Argentina: Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Universidad Nacional de Córdoba, 2015, p. 45-68.