

# Estudio farmacognóstico de la semilla de *Phalaris canariensis* L. “alpiste” y su cuantificación de esteroides

*Pharmacognostic study of Phalaris canariensis L. "birdseed" seed and its quantification of sterols*

Villarreal-La Torre Víctor E.<sup>1</sup>; Reyes-Caicedo Jeissy M. <sup>1</sup>; Ruiz-Reyes Segundo G.<sup>2</sup>; Venegas-Casanova Edmundo A.<sup>2</sup>

## RESUMEN

Se realizó el estudio farmacognóstico de la semilla de *Phalaris canariensis* L., procedente del distrito de Simbal, determinándose las características macromorfológicas, parámetros físico-químicos del control de calidad de la droga según la Norma Ramal para drogas crudas del MINSAP, tales como: porcentaje de humedad residual, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido, cenizas solubles en agua, materia extraña; cuyos valores promedios obtenidos, se encontraron dentro del rango permisible. Además, se realizó la huella dactilar del extracto hidroalcohólico al 70%<sup>v/v</sup>; y el tamizaje fitoquímico – según la prueba de la gota, evidenciándose la presencia de esteroides. Se identificó y cuantificó los esteroides mediante espectrofotometría UV/Visible a 236nm; donde, según las reglas de Woodward-Fieser, el esqueleto base de los esteroides es la 3 – hidroxiandrosta – 5,7 – dieno, y se encuentran en una cantidad de 3,2471 ±0,0119%.

**Palabras Clave:** *Phalaris canariensis* L., estudio farmacognóstico, esteroides, cuantificación, espectrofotometría UV/Visible.

## ABSTRACT

It was realized the pharmacognostic study of the seed of *Phalaris canariensis* L., from Simbal district, where was determined macromorphologic characteristics, and parameters physical-chemist of the control of quality of the drug according to the Norma Ramal for raw drugs, of the MINSAP, fell like: percentage of moisture, total ashes, foreign matter; where values obtained averages, were inside the permissible range. Moreover, it was performed the fingerprint of the hydroalcoholic extract 70%<sup>v/v</sup>; and the phytochemical screening - as the "Prueba de la Gota" of evidenced the presence of sterols. It also identified and quantified the sterols by UV/Visible spectrophotometry to 236nm, where, according to Woodward-Fieser rules, the skeleton of the sterols is 3 – hidroxiandrosta – 5, 7 – diene, and they are in an amount of 3, 2471 ±0, 0119%.

**Key words:** *Phalaris canariensis* L., pharmacognostic study, sterols, quantification, UV/Visible spectrophotometry.

**Presentado el 16 de diciembre de 2010, Aceptado el 5 de Julio de 2011.**

<sup>1</sup> Estudiante de Farmacia y Bioquímica de la UNT.

<sup>2</sup> Profesor del Departamento Académico de Farmacognosia de la UNT-Perú.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido desde la antigüedad un recurso al alcance del ser humano para su alimentación y curaciones de sus enfermedades, estas últimas llamadas plantas medicinales, eran veneradas por las virtudes que se les había reconocido, transmitiéndose estos conocimientos de generación en generación; nadie buscaba el saber porque o como actuaban, pero era un hecho incontestable que parecía mágico<sup>1</sup>.

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso que disponían los médicos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y ampliar su experiencia en el empleo de los productos que de ellas se extraen<sup>2,3</sup>.

Aún en la actualidad cientos de plantas son utilizadas en la medicina, pero la ciencia moderna, analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, con el fin de aumentar la confianza en la naturaleza<sup>1,3</sup>.

Nuestro país, es mundialmente reconocido por la variedad de especies vegetales que posee y que son utilizadas desde tiempos inmemoriales con fines terapéuticos, alimenticios, ornamentales, entre otros. Las variadas condiciones climáticas y geográficas que nuestro país ofrece han permitido que se desarrolle una gran diversidad de flora y fauna, lo que constituye una gran riqueza para el Perú<sup>1</sup>.

Una de las plantas de uso convencional por sus propiedades medicinales es *Phalaris canariensis* L. (Alpiste), que crece en los departamentos de La Libertad, Lima y Arequipa a unos 50 m.s.n.m.<sup>4</sup>.

La semilla del alpiste de España, contiene los siguientes principios activos: almidón, lípidos, resinas, ácidos salicílicos y oxálicos, y sustancias nitrogenadas<sup>5</sup>.

Es de uso popular el decocto de la semilla de *Phalaris canariensis* L. como hipolipemiente, utilizando una a dos cucharadas soperas por vaso, haciéndolo hervir durante 5 minutos y dejándolo en reposo por 6 a 8 horas, consumiéndose

desde 1 a 3 tazas al día. También se le atribuye efectos como: demulcente y diurético.

El alpiste, es utilizado cuando se requiere un aumento de la diuresis, en afecciones genitourinarias (cistitis), hiperazotemia, hiperuricemia, gota, hipertensión arterial, edemas, sobrepeso acompañado de retención de líquidos y para el tratamiento de eczemas como uso externo. Además de ello, es una planta utilizada para el tratamiento en hipercolesterolemia y prevención de la aterosclerosis, lo cual puede deberse a una posible presencia de esteroides, debido a su similitud estructural al colesterol, los esteroides de origen vegetal reducen la absorción de colesterol y por lo tanto los niveles circulantes del mismo. Se conoce que el consumo de alimentos que contienen esteroides de plantas reduce el colesterol en las lipoproteínas de baja densidad (LDL), con el grado ajustado de reducción en un rango de 5 a 15%. Además, muchos expertos; "National Cholesterol Education Panel" (USA), "American Heart Association", y la "International Atherosclerosis Society"; han sugerido el consumo de aproximadamente 2g/día de esteroides de plantas como una forma para controlar los niveles de circulación del colesterol LDL<sup>5,6</sup>.

El *Phalaris canariensis* L. (alpiste) es originario del Mediterráneo, pero se cultiva comercialmente en varias partes del mundo usando la semilla como alimento de aves domésticas.

Pertenece al Reino Plantae, División Magnoliophytas, Clase Liliopsita, Orden Poales, Familia Poáceas, Género Phalaris y Especie *Phalaris canariensis*<sup>4</sup>.

Si en España, se le atribuye a ésta planta propiedades hipolipemiantes, nos preguntamos si el alpiste que crece en el Perú también las posee. Para ello, debemos conocer primero que metabolitos secundarios contiene, estos dan la mayoría de las acciones farmacológicas a las plantas; además, debemos saber si esta planta es apta para el consumo humano. Es por ello, que nos planteamos las siguientes interrogantes:

- ¿Qué características farmacognósticas presenta la semilla de *Phalaris canariensis* L. que se cultiva en el distrito de Simbal de la provincia de Trujillo, del departamento de La Libertad?

- ¿Cuál es la concentración de esteroides presentes en la semilla de *Phalaris canariensis* L. que se cultiva en el distrito de Simbal de la provincia de Trujillo, del departamento de La Libertad?

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material biológico:

250g de semilla de *P. canariensis* L., recolectadas del borde del río de Simbal (distrito de Simbal – provincia de Trujillo – departamento de La Libertad).

### Diseño de experiencia:

#### Métodos y técnicas:

##### 1. Estudio farmacognóstico:

###### A. Selección de especie vegetal:

Se recolectó la especie procedente del distrito de Simbal, provincia de Trujillo, departamento de La Libertad; lugar situado a los 7°58'0"S, 78°49'0"O y a 669 m.s.n.m..

###### B. Identificación botánica

La semilla de *P. canariensis* L. "Alpiste" se llevó al Herbario Truxillensis de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación taxonómica.

###### C. Caracterización macromorfológica:<sup>7,8,9</sup>

Se determinaron los siguientes caracteres macro – morfológicos: aspecto, superficie, olor, color, tamaño, peso y materia extraña<sup>7</sup>.

- **Tamaño:** Se determinó el diámetro de 100 semillas de alpiste, utilizando un calibrador Vernier. Posteriormente se halló el tamaño promedio y su desviación estándar.
- **Peso:** Se determinó utilizando diez muestras de 100 semillas de alpiste cada una. Posteriormente se halló el peso promedio de una semilla y su desviación estándar.
- **Materias Extrañas:** 100g de muestra fue esparcido sobre un papel y se separó la materia extraña manualmente. Pesándose el material separado en una balanza triple brazo y se determinó su porcentaje en base al peso de la muestra ensayo, con ayuda de una lupa. Los límites para las materias extrañas, para la semilla de alpiste es de 1%<sup>8,9</sup>.

###### D. Determinación de humedad:

Este análisis se realizó por triplicado. Una cápsula fue colocada durante 1 hora en la estufa a la temperatura de secado del

producto. Empleando pinzas, se trasladó la cápsula al desecador y se dejó enfriar durante 30min. Pesándose la cápsula en una balanza analítica con una aproximación de 0,1mg<sup>10,11,12</sup>. 2g de muestra previamente homogeneizada fue colocada, con cápsula, en la estufa a 105°C durante 5 horas. Posteriormente, cápsula con la muestra de la estufa, se dejó enfriar en un desecador durante 30 minutos. El procedimiento de secado es repetido por una hora adicional, hasta que las variaciones entre dos pesadas sucesivas no excedan de 5mg<sup>11,12</sup>.

###### E. Determinación de cenizas totales:

Se determinó la masa de no menos de 2,0g ni más de 3,0g de la porción de ensayo pulverizada y tamizada con una desviación permisible de 0,5mg en un crisol de porcelana previamente tarada. Calentándose suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incineró en un horno mufla a temperatura de 700 a 750°C durante 2h. El crisol fue enfriado en una desecadora a temperatura ambiente y posteriormente pesado, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0,5mg por gramo (masa constante)<sup>11,14,15</sup>. Para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 minutos. Al enfriar el crisol, el residuo debe ser de color blanco o casi blanco<sup>15</sup>.

###### F. Determinación de cenizas solubles en agua:

Aproximadamente 0,5g de cenizas, fueron colocados en un Erlenmeyer, junto con 25mL de agua destilada, y calentado hasta alcanzar el punto de ebullición. Se filtró a través de un papel "libre de cenizas". Lavando el residuo con agua caliente hasta obtener aproximadamente un volumen de filtrado de 60mL. Posteriormente, fue colocado el papel de filtro y su contenido en un crisol previamente tarado e incinerado cuidadosamente. Finalmente, fue dejado en un desecador por 30 minutos y pesado en una balanza analítica<sup>11,15</sup>.

###### G. Determinación de cenizas insolubles en ácido:

Se hirvió una muestra de cenizas de 0,5g aproximadamente, con 25mL de solución de HCl al 10% durante 5 minutos. Luego, filtrado a través de papel de filtro sin

cenizas. Lavando cuidadosamente con agua caliente y colocando el papel de filtro con las cenizas insolubles en ácido en el crisol. Fue calcinado, enfriado y pesado según el método ya explicado en la determinación de cenizas solubles en agua. Este procedimiento se repitió hasta obtener peso constante<sup>11,15</sup>.

#### H. Huella dactilar de la sustancia extraída:

Se maceró, por una semana, 10g de muestra triturada en 100mL de solución hidroalcohólica al 70%<sup>v/v</sup>, y midió, 20mL del extracto en una probeta de 500mL de aproximadamente 5cm de diámetro y 45cm de altura<sup>11,16</sup>.

Se colocó una tira de papel de filtro (Whatman #1) de 4cm de anchura por 15cm de longitud verticalmente de manera que su borde superior esté fijado a una varilla metálica que permita la suspensión de la tira de papel y su extremo inferior esté sumergido dentro de la muestra de ensayo pero sin tocar el fondo ni las paredes del recipiente. Se cerró la cámara y dejó transcurrir 2h; finalizada ésta, se retiró el papel filtro y dejó secar. Una vez seco, se procedió a su inspección visual y caracterización<sup>11,16</sup>.

**Examen e interpretación de la imagen:** se consideró lo establecido en la Normal Ramal para extractos fluidos y tinturas<sup>11</sup>.

2. **Tamizaje fitoquímico:** Se empleó el método de la "Prueba de la Gota", preparándose 4 extractos de la siguiente manera: se pesó 1g del material de estudio, y agregó 10mL del solvente (para los extractos diclorometánico, etanólico, acuoso ácido y acuoso). Manteniéndose a reflujo controlado por 10 minutos en Baño María. Luego se dejó enfriar y posteriormente filtró. Finalmente se realizó los ensayos correspondientes para cada extracto<sup>17</sup>.

A. **Extracto Diclorometánico:** Nos permite identificar metabolitos de muy baja polaridad como: Esteroles, Quinonas realizando los siguientes ensayos:<sup>17</sup>

- **Reacción de Liebermann-Burchard:** Se midió X gotas del extracto, y agregó X gotas de anhídrido acético, XX gotas de ácido acético y I gota de ácido sulfúrico concentrado. La reacción es positiva si aparece coloración verde, violeta, roja o azul<sup>3</sup>.
- **Reacción de Bortranger:** Se midió X gotas del extracto, llevándose a sequedad

y agregando XX gotas de tolueno y XX gotas de NaOH 10%. La reacción es positiva si se observa una coloración roja en la fase acuosa<sup>3</sup>.

B. **Extracto Etanólico:** Nos permite identificar metabolitos de polaridad variada como: Esteroides, Alcaloides, Flavonoides y Taninos; realizando los siguientes ensayos:<sup>17</sup>

- **Reacción de Liebermann-Burchard:** Se midió X gotas del extracto, llevándose a sequedad y agregando X gotas de anhídrido acético, XX gotas de ácido acético y I gota de ácido sulfúrico concentrado. La reacción es positiva si aparece coloración verde, violeta, roja o azul<sup>3</sup>.
- **Reacción de Cianidina:** A la muestra problema se agregó limadura de magnesio seguido por gotas de ácido clorhídrico concentrado, las coloraciones roja nos indica preliminarmente la presencia de flavonas, la coloración roja a crimson, la presencia de flavonoles, y crimson a magenta, flavanonas; algunas veces azul o verde, también son consideradas positivas<sup>3</sup>.
- **Reacción de FeCl<sub>3</sub>:** Se midió X gotas del extracto y se añadió II gotas de Cloruro Férrico 1%, la aparición de un color azul-negro, nos indica la presencia de tanino derivados del ácido gálico y la aparición de un color verde indica la presencia de taninos derivados del catecol<sup>18</sup>.
- **Reacción de Gelatina:** Se midió XX gotas de extracto, secándose y solubilizándose en agua, luego se añadió II gota de solución de gelatina 1% en solución salina. El precipitado blanco, nos indica la presencia de Taninos<sup>18</sup>.
- **Reactivo de Dragendorff:** Se midió XX gotas del extracto, secándose y solubilizándose en una solución diluida de HCl; posteriormente se añadió II gotas del reactivo de Dragendorff. La presencia de alcaloides forma precipitados característicos de color rojo o anaranjado<sup>3,19</sup>.
- **Reactivo de Mayer:** Se midió XX gotas del extracto, secándose y solubilizándose en una solución diluida de HCl; posteriormente se añadió II gotas del reactivo de Mayer. La presencia de alcaloides forma precipitados de color blanco, blanco amarillento o amarillo limón claro<sup>3,19</sup>.

C. **Extracto acuoso ácido:** Nos permite identificar alcaloides en su forma de sal, por lo cual se empleó los siguientes reactivos:<sup>18</sup>

- **Reactivo de Dragendorff:** Se midió XX gotas del extracto y añadió II gotas del reactivo de Dragendorff. La presencia de alcaloides forma precipitados característicos de color rojo o anaranjado<sup>3,19</sup>.

- **Reactivo de Mayer:** Se midió XX gotas del extracto y añadió II gotas del reactivo de Mayer. La presencia de alcaloides forma precipitados característicos de color blanco, blanco amarillento o amarillo limón claro<sup>3,19</sup>.

- **Reactivo de Wagner:** Se midió XX gotas del extracto y añadió II gotas del reactivo de Wagner. La presencia de alcaloides forma precipitados floculentos que varían del color café claro al rojo o pardo oscuro<sup>3,19</sup>.

D. **Extracto acuoso:** Nos permite identificar metabolitos de alta polaridad, como: Flavonoides, Leucoantocianidinas, Saponinas, Taninos<sup>18</sup>.

- **Reacción de Cianidina:** Se midió y secó gotas del extracto y solubilizó en etanol 96°GL, se agregó limadura de magnesio seguido por gotas de ácido clorhídrico concentrado, las coloraciones roja nos indica preliminarmente la presencia de flavonas, la coloración roja a crimson, la presencia de flavonoles, y crimson a magenta, flavanonas; algunas veces azul o verde, también son consideradas positivas<sup>3</sup>.

- **Reacción de Rosenheim:** Se midió XX gotas de la muestra se le agregó X gotas del reactivo (HCl 2N en 1-propanol), se mezcla y calienta por 10 minutos a 100°C. La reacción es positiva si se observa color rojo intenso o rosado débil para leucoantocianidinas y marrón para catequinas<sup>3</sup>.

- **Espuma:** Se midió XX gotas del extracto, se agitó por 5 minutos y dejó en reposo por 1 minuto. La formación de espuma nos indica la presencia de saponinas. Esta prueba se contrasta con la reacción de Rosell<sup>9</sup>.

- **Reacción de Gelatina:** Se midió X gotas de extracto y añadió II gota de solución de gelatina 1% en solución salina. El precipitado blanco, nos indica la presencia de taninos<sup>18</sup>.

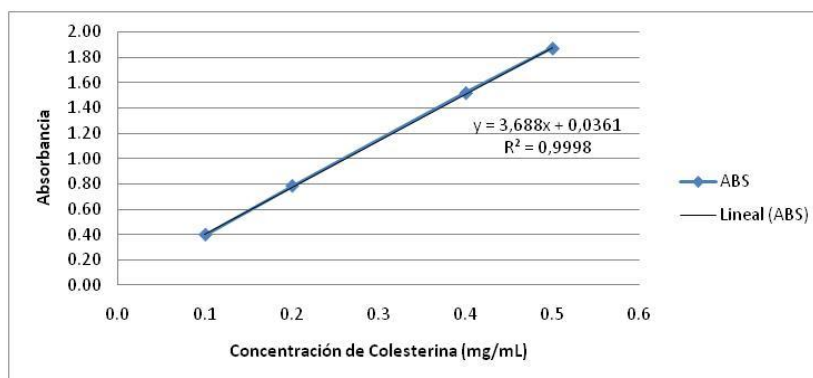
### 3. Cuantificación de esteroides:

La cuantificación de los esteroides se realizó por espectrofotometría UV/Visible<sup>20</sup>.

A. **Extracción:** 10g de muestra de semilla de alpiste molido, se dejó macerar a temperatura ambiente por 24 horas, en 100mL de mezcla Cloroformo: Metanol 2:1. Se filtró, y al filtrado, se agregó un volumen adecuado de agua para realizar una partición. La fase clorofórmica contiene compuestos liposolubles como Esteroides, Triglicéridos, ácidos grasos, entre otros. Posteriormente a 20mL de esta fase, se llevó a sequedad en Baño María, y seguidamente solubilizado en 20mL de alcohol metílico y filtrado<sup>20</sup>.

B. **Identificación de Esteroides:** Se realizó por espectrofotometría UV (200–360nm), hallando la longitud de onda de máxima absorbancia ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) utilizando como solvente metanol. Así, mediante la regla de Woodward-Fieser y la  $\lambda_{\text{máx}}$  obtenida, se pudo inferir el tipo de esqueleto base que contienen los esteroides presentes<sup>20</sup>.

C. **Curva de Calibración:** Fue empleada solución stock de Colesterina en metanol a concentración de 1mg/mL. A partir de ella, se midió alícuotas de 1, 2, 4 y 5mL y aforó a 10mL con metanol, obteniendo concentraciones de 0,1; 0,2; 0,4 y 0,5mg/mL respectivamente. Estas, fueron llevadas al espectrofotómetro y leídas su absorbancia a 236nm<sup>20</sup>. Posteriormente se graficó la absorbancia vs la concentración, obteniendo finalmente la ecuación de la recta mediante regresión lineal<sup>20</sup>.



**Fig. 1:** Curva de Calibración de Colesterina a 236nm

**D. Cuantificación de Esteroles:** Se realizó por espectrofotometría UV/Visible, leyendo la absorbancia a 236nm.

Se empleó el programa Microsoft Excel ® 2007 para realizar el respectivo análisis estadístico: media aritmética y desviación estándar.

#### 4. Análisis Estadístico:

## RESULTADOS

**Tabla 1.** Identificación taxonómica del *P. canariensis* L.

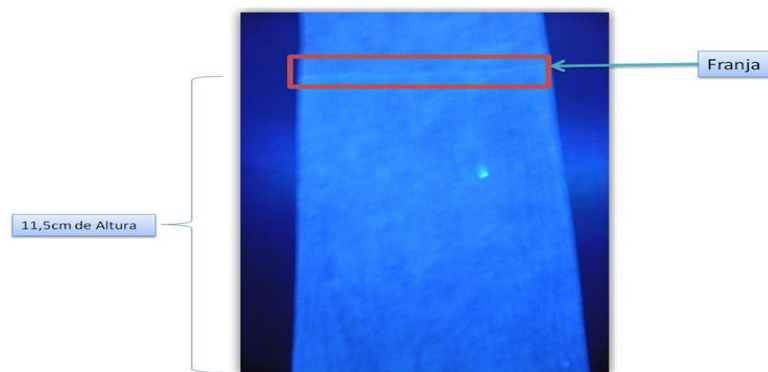
Clasificación Científica	
<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Oryzoideae
<b>Clase</b>	Monocotyledoneae
<b>Orden</b>	Poales
<b>Familia</b>	Poaceae
<b>Género</b>	Phalaris
<b>Especie</b>	<i>Phalaris canariensis</i> L.

**Tabla 2.** Estudio macromorfológico de la semilla de *P. canariensis* L.

Caracteres Macromorfológicos	Descripción
Aspecto	Granos ovalados de terminaciones puntiagudas, envueltos en una pequeña cáscara.
Superficie	Lustrosa.
Olor	Olor a Cereales.
Color	Marrón brillante.
Tamaño	3,3831mm ( $\pm$ 0,2323)
Peso	0,0077g ( $\pm$ 0,0001)
Impurezas visibles	1% de materia extraña presente

**Tabla 3.** Resultados de la caracterización de la semilla de *P. canariensis* L.

Nombre del Ensayo	Porcentaje Promedio (%)	Desviación Estándar
Porcentaje de Humedad (droga cruda)	10,0383	$\pm$ 0,3450
Cenizas totales	7,0600	$\pm$ 0,0085
Cenizas solubles en agua	5,6367	$\pm$ 0,3338
Cenizas insolubles en ácido	0,6900	$\pm$ 0,5406



**Fig. 2.** Huella dactilar de la sustancia extraída

**Leyenda:**

**Franja:** límite superior de ascensión del líquido.

**Tabla 4.** Tamizaje fitoquímico de semilla de *Phalaris canariensis* L.

Ensayo Realizado	Extracto Diclorometánico	Extracto Alcohólico	Extracto Acuoso Ácido	Extracto Acuoso
Liebermann-Burchard	+	+	--	--
Bortranger	--	--	--	--
Cianidina	--	--	--	--
FeCl <sub>3</sub>	--	--	--	--
Gelatina	--	--	--	--
Dragendorff	--	--	--	--
Mayer	--	--	--	--
Wagner	--	--	--	--
Rosenhein	--	--	--	--
Espuma	--	--	--	--

Leyenda: + = Positivo -- = Negativo

**Tabla 5.** Identificación de esteroides de semilla de *P. canariensis* L.

Ensayo de identificación	Identificación	Núcleo Base
Reacción de Liebermann – Burchard	Coloración Roja	3 – hidroxiandrosta – 5,7 – dieno
Woodward-Fieser	λ <sub>máx</sub> : 236nm	

**Tabla 6.** Pesos de las muestras de *P. canariensis* L. y sus absorbancias

Nombre	Peso (g)	Absorbancias obtenidas	Absorbancia Promedio
<b>Muestra 1</b>	10,0057	0,519	0,518
		0,518	
		0,517	
<b>Muestra 2</b>	10,0046	0,516	0,516
		0,516	
		0,517	
<b>Muestra 3</b>	10,0045	0,514	0,515
		0,514	
		0,516	
<b>Muestra 4</b>	10,0038	0,513	0,513
		0,513	
		0,512	
<b>Muestra 5</b>	10,0042	0,514	0,514
		0,514	
		0,514	
<b>Muestra 6</b>	10,0047	0,514	0,516
		0,517	
		0,516	

**Nota:** Cada muestra fue diluida a la décima parte (0,10) para realizar su lectura a 236nm



**Tabla 7.** Porcentaje de esteroides de semilla de *P. canariensis* L.

Muestra	Absorbancia Promedio	Concentración de esteroides (mg/mL) en la muestra de lectura	Concentración de esteroides (g) en los 100mL de solvente	Porcentaje de Esteroides
Muestra 01	0,518	0,1307	0,3202	3,2651
Muestra 02	0,516	0,1301	0,3189	3,2516
Muestra 03	0,515	0,1299	0,3182	3,2448
Muestra 04	0,513	0,1293	0,3168	3,2313
Muestra 05	0,514	0,1296	0,3175	3,2380
Muestra 06	0,516	0,1301	0,3189	3,2516
<b>Promedio</b>				<b>3,2471</b>
<b>Desviación Estándar</b>				<b>0,0119</b>

### DISCUSIÓN

La determinación de las características macromorfológicas es un medio simple y rápido para establecer la identidad, la pureza y la calidad de la semilla (**Tabla 2**). Es necesario destacar que los resultados se corroboraron con la monografía “Malezas de México” de Francisco Perdomo Roldán y Juana Mondragón Pichardo en la que se describe sobre la planta, y menciona que las semillas de alpiste son granos oval lanceolados de aproximadamente 4mm<sup>5</sup>.

Los valores del peso y tamaño de la semilla se obtuvieron de un conjunto de 100 semillas, el cual era una muestra aleatoria de la población de semillas de alpiste, obteniéndose como valor promedio para el peso de la semilla 0,0077 ±0,0001g y 3,3831 ±0,2323mm de tamaño.

La cantidad de impurezas encontradas, fue del 1%, el cual se encuentra en el límite permitido por la Norma Ramal cubana<sup>11</sup>; sin embargo, la semilla de alpiste se encontró libre de insectos y cualquier contaminación animal, incluyendo excretas. No presentó olores anormales, decoloración o algún signo de deterioro.

Para obtener una menor cantidad de materia extraña en la semilla, durante la cosecha de la droga, deben ser removidas las partículas de polvo, tierra, arena, etc., y después de la recolección, la droga puede ser sometida a lavado y desinfección. El almacenamiento debe realizarse en lugares higiénicos para evitar la contaminación,

tomándose especial cuidado ante la presencia de hongos, ya que ellos pueden ser productores de aflatoxinas<sup>9</sup>.

El porcentaje de humedad (**Tabla 3**) obtenido fue de 10,0383 ± 0,3450% el cual se encuentra dentro del rango permisible establecido por la Norma Ramal (8 – 14%)<sup>11</sup>.

El método usado fue el de la Estufa con Aire (Método Gravimétrico), el cual, a pesar de ser este un método considerado como patrón para la determinación de la humedad, no existe una combinación de tiempo y temperatura de secado, aceptada universalmente<sup>21</sup>.

El contenido de humedad es uno de los factores más importantes que afectan los granos y semillas. El efecto de la humedad sobre el mantenimiento de la calidad de granos y semillas tiene aún mayor importancia. Granos secos y sanos, pueden ser mantenidos bajo almacenamiento apropiado, por muchos años, en tanto, que los granos húmedos se pueden deteriorar en tan solo unos cuantos días<sup>11,21</sup>.

El porcentaje de cenizas totales, fue de 7,06 ± 0,0085%. Este porcentaje es elevado, según la Norma Ramal cubana (**Tabla 3**).

Cuando los valores obtenidos para las cenizas totales son elevados (mayor de 5%), es necesario conocer si las mismas están compuestas por metales pesados, lo cual se determina mediante los ensayos de cenizas insolubles, y, si este residuo es

elevado, hay que someter a la droga a otros análisis antes de aprobar su uso <sup>11,13</sup>.

Por ello mismo, se realizó los ensayos para determinar los porcentajes de cenizas solubles en agua e insolubles en ácido (**Tabla 3**), cuyos resultados fueron de 5,6367% ( $\pm 0,3338$ ) y 0,6900% ( $\pm 0,5406$ ) respectivamente, los cuales son menores a los valores máximos permisibles establecidos en las Normas Ramales <sup>11</sup>.

Al encontrarse una cantidad mayor de cenizas solubles en agua, podemos afirmar que la mayor cantidad de cenizas corresponderían a concentraciones elevadas de algunos iones como calcio, magnesio, hierro, sodio, potasio, etc. porque estos son solubles en agua, y la pequeña concentración de cenizas insolubles en ácido se debe a la presencia de residuos de arena proveniente de la cosecha de la semilla, lo cual se corrobora con la desviación estándar considerablemente alta en estos resultados, pues la arena (por lo general) no se encuentra repartida de forma homogénea <sup>22,23</sup>.

La huella dactilar del extracto (**Fig. 2**), se realizó utilizando como solvente una solución hidroalcohólica al 70%<sup>v/v</sup>. La imagen capilar del extracto, a este grado alcohólico, tiene una altura de 11,5cm; por lo que se encuentra dentro de las imágenes capilares "Altas" (mayor de 8,0cm), según la clasificación dada por la Dra. Migdalia Miranda en su "Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales". Se pudo observar una coloración verdosa en la franja de la imagen capilar ante la exposición a la luz UV a 366nm, la cual no se intensifica al exponerla a los vapores de amoníaco. La coloración en ésta zona nos indica la presencia de aceites fijos y no de aceites esenciales, pues ésta coloración no desaparece luego de exponerla a calor (60°C) por 10 minutos <sup>16</sup>.

Se identificó la presencia de esteroides en la marcha fitoquímica (**Tabla 4**) pues, la reacción de Liebermann – Burchard, tanto en el extracto diclorometánico como en el etanólico, dio positivo (coloración roja).

La reacción de Liebermann – Burchard es típica de los esteroides que contienen dos dobles enlaces conjugados en un mismo anillo, en dos anillos adyacentes o un doble enlace de un anillo adyacente con un grupo hidroxilo. La reacción debe realizarse en un medio absolutamente anhidro, ya que al existir moléculas de agua estas reaccionarían con el anhídrido acético, anulando de esta manera la reacción con el núcleo esteroide o triterpenoide <sup>20,24</sup>.

Mediante espectrofotometría UV/Visible, se identificó la longitud de onda de máxima absorción ( $\lambda_{\text{máx}}$ ), la cual fue de 236nm. Esto, nos permitió identificar el núcleo base de los esteroides presentes (**Tabla 5**), mediante las reglas de Woodward – Fieser para dienos conjugados, encontrándose que el esqueleto base de los esteroides presentes es la 3 – hidroxiandrosta – 5,7 – dieno (Ergosterol) <sup>20</sup>.

El ergosterol presenta máximos de absorción alrededor de 240, 270, 280 y 290 nm, diferenciándose del 3 - oxandrosta – 4 - eno que presenta un máximo de absorción también a 240nm por la coloración dada con el reactivo de Liebermann – Burchard. El ergosterol presenta una coloración roja y el 3 – oxandrosta – 4 – eno, una coloración verde. Está claro, que esta no es una identificación exacta, pero si una determinación preliminar, la cual puede servir de base para estudios posteriores más profundos de los esteroides que contiene ésta semilla.

## CONCLUSIONES

1. Mediante el tamizaje fitoquímico realizado a la semilla de *Phalaris canariensis*, se pudo identificar preliminarmente la presencia de esteroides, los cuales no habían sido identificados con anterioridad.
2. La semilla de *Phalaris canariensis* L. del distrito de Simbal, cumple con los estándares de calidad establecidos en la Norma Ramal para drogas crudas del MINSAP.
3. La cantidad de esteroides presentes en la semilla de *Phalaris canariensis* L. fue de 3,2471  $\pm$  0,0119%.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lock O. Investigación Fitoquímica – Métodos en el Estudio de Productos Naturales. 2ªed. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial; 1994: 1 – 3.
2. Domínguez C. Fitoterapia. Medicina Natural; 2006 [Citado el 04 Abril 2009]; Disponible en: <http://personal.redestb.es/martin/PFITO.HTM>
3. Ganoza M. Fundamentos químicos de la reacción de coloración y precipitación en la identificación de metabolitos secundarios de plantas medicinales [Tesis para grado de Bachiller en Farmacia y Bioquímica].

- Universidad Nacional de Trujillo. Perú, 2001.
4. Mostacero J. Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú, tomo II. Trujillo: Ed. Normas Legales; 2002: 957, 972
  5. Vibrans H. Malezas de México. Conabio.gob; 2006 [Actualizado el 01 Mayo 2009; Citado el 04 de Diciembre 2009]; Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasde/mexico/poaceae/phalaris-canariensis/fichas/ficha.htm#1.%20Nombres>
  6. AbuMweis S y Jones P. Esteroles de Origen Vegetal, Componentes Naturales de las Plantas con Efectos Potenciales de Beneficio para la Salud. Salud y Nutrición; 2007 [Actualizado el 25 Mayo 2009; Citado el 12 de Diciembre 2009]; Disponible en: [http://portal.aniname.com/imp\\_187.shtml](http://portal.aniname.com/imp_187.shtml)
  7. Hernández S; Lazo S; Junod M; Arancibia M; Flores S; Valencia A y Valenzuela V. Características organolépticas y físico-químicas de propóleos de la Provincia de Ñuble, VIII Región-Chile. ALAN-Venezuela. 2005, 55(4) [Citado el 01 Mayo 2009]; Disponible en: [http://www.alanrevista.org/ediciones/2005-4/caracteristicas\\_organolepticas\\_fisico-quimicas\\_propoleos.asp](http://www.alanrevista.org/ediciones/2005-4/caracteristicas_organolepticas_fisico-quimicas_propoleos.asp)
  8. Vidaurre M; Querevalu L; De Los Ríos E. Características Farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. Rev. Med. Vallejiana; 2007, 4(2): 121-131 [citado el 01 Mayo 2009]; Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1817-20752007000200004&lng=es&nrm=iso. ISSN 1817-2075](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-20752007000200004&lng=es&nrm=iso. ISSN 1817-2075).
  9. INASE. Decreto N° 438/004 – Incluye modificación del artículo N°12 de fecha 29 de Febrero 2008. Uruguay. Disponible en: [http://www.inase.org.uy/Decreto\\_nuevo.htm](http://www.inase.org.uy/Decreto_nuevo.htm)
  10. Toledo M. Determinaciones del contenido de humedad. METTLER TOLEDO [citado el 01 Mayo 2009]; Disponible en: [http://es.mt.com/es/es/home/applications/Application\\_Browse\\_Laboratory\\_Analytics/Moisture\\_fam\\_browse\\_main.html?sem=02010323](http://es.mt.com/es/es/home/applications/Application_Browse_Laboratory_Analytics/Moisture_fam_browse_main.html?sem=02010323)
  11. Norma Ramal: Medicamentos de Origen vegetal, Droga Vegetal, Métodos de Ensayo. Cuba. 1992
  12. Bacon R. Determinación de Humedad – Método de la Estufa de Aire. Instituto de Salud Pública de Chile; 2003 [Citado el 01 Mayo 2009]; Disponible en: [www.ispch.cl/lab\\_amb/met\\_analitico/doc/ambiente%20pdf/HUMEDAD\\_en\\_estufa\\_de\\_aire.pdf](http://www.ispch.cl/lab_amb/met_analitico/doc/ambiente%20pdf/HUMEDAD_en_estufa_de_aire.pdf)
  13. Miranda M; Cuellar A. Farmacognosia y Productos Naturales. Ciudad de la Habana: Ed. Félix Valera; 2001: 139 – 140.
  14. Costa Rica. Ministerio de Economía, Industria y Comercio. Oficina Nacional de Normas y Unidades de Medida, Bebidas alcohólicas destiladas: determinación de cenizas [método gravimétrico]; 2001 [citado el 01 Mayo 2009]; Disponible en: <http://www.metabase.net/docs/meic/07389.html>.
  15. Medina M. Análisis de las Cenizas: Alcalinidad y Solubilidad de las Cenizas en Ácido y Agua. Determinación de Calcio, Hierro y Fósforo. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela; 2006: 46 – 50 [Citado el 20 de Diciembre 2009]; Disponible en: <http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/mmedina/archivos/Practica7cenizas.pdf>
  16. Miranda M; Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales. Ciudad Habana: Universidad de la Habana – Instituto de Farmacia y Alimentos; 2000: 68 – 73.
  17. Cruzado L; Gutiérrez D y Ruiz S. Ensayo Químico y Efecto de Antibiosis in vitro de la Miel de Abeja sobre Microorganismos grampositivos y gramnegativos. Rev. Med. Vallejiana; 2007, 4(2): 95-109 [citado el 07 Diciembre 2009]; Disponible en: [http://revistas.concytec.gob.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1817-20752007000200002&lng=es&nrm=iso. ISSN 1817-2075](http://revistas.concytec.gob.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-20752007000200002&lng=es&nrm=iso. ISSN 1817-2075).
  18. Delgado D; Guzmán M. Estudio Fitoquímico de la especie *Schkuhria pinnata* var. *Octuaristata* “Canchalagua” y Ensayo del efecto Antiinflamatorio de su Extracto Seco en muslo de *Oryctolagus cuniculus* [Tesis para grado de Bachiller en Farmacia y Bioquímica]. Universidad Nacional de Trujillo. Perú, 1992.

19. Domínguez X. Métodos de Investigación Fitoquímica. México: Editorial Limusa; 1979: 218
- Disponible en:  
<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esteroles2001.pdf>
21. Luz M. Medidores de Humedad. SEED NEWS La Revista Internacional de las Semillas; 2002 [Citado el 06 Julio 2010]; Disponible en:  
[http://www.seednews.inf.br/espanhol/se-ed61/artigocapa61\\_esp.shtml](http://www.seednews.inf.br/espanhol/se-ed61/artigocapa61_esp.shtml)
22. Castillo N., Minerales y Elementos trazas en los Alimentos. Biblioteca Digital de la Universidad de Chile; 2009 [Citado el 06 Junio 2010]; Disponible en:  
[http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias\\_quimicas\\_y\\_farmaceuticas/schmidt/10.html](http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/schmidt/10.html)
23. Añon M., Análisis de Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de la Plata – Argentina; 2007 [Citado el 07 Junio 2010]; Disponible en:  
[www.biol.unlp.edu.ar/analisisdealimentos/t-p-determinacionesgenerales-08.doc](http://www.biol.unlp.edu.ar/analisisdealimentos/t-p-determinacionesgenerales-08.doc)
24. Clavo L; Ramírez S. Composición Química de Órganos de Cobayo de Altura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Perú; 2002 [Citado el 08 Julio 2010]; Disponible en:  
[http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/ramirez\\_v\\_s/Generalidades.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/ramirez_v_s/Generalidades.htm)
20. Martínez A. Esteroles. Medellín: Universidad de Antioquía – Facultad de Química Farmacéutica; 2002 [Citado el 25 Enero 2010].

**Correspondencia:** Segundo Guillermo Ruiz Reyes.

**Dirección:** Mz. T Lote 5 AA. HH. Esperanza.

**Teléfono:** (044) 414456

**E-mail:** guille\_ruiz2001@hotmail.com