



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA DE QUÍMICA**

**“OBTENCIÓN DE EMULSIONANTES A PARTIR DE SAPONINA  
DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*) POR REACCIONES DE  
ESTERIFICACIÓN PARA USO COSMÉTICO”**

**Trabajo de titulación**

**Tipo:** Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

**QUÍMICO**

**AUTORA:** ERICA JHOANA SANI CUJILEMA

**DIRECTORA:** Dra. SUSANA DEL PILAR ABDO LOPEZ

Riobamba – Ecuador

2019

**©2019, Erica Jhoana Sani Cujilema**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca.

Yo, ERICA JHOANA SANI CUJILEMA, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Riobamba, 13 de Diciembre 2019

A rectangular box containing a handwritten signature in blue ink. The signature is cursive and reads "Erica Sani Cujilema".

Erica Jhoana Sani Cujilema

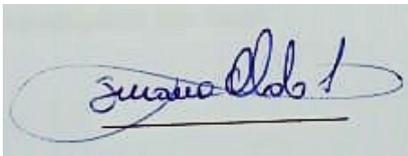
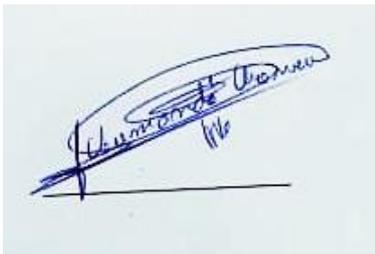
CI: 060426305-3

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA DE QUÍMICA**

EL Tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de investigación: Tipo Investigativo “**OBTENCIÓN DE EMULSIONANTES A PARTIR DE SAPONINA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*) POR REACCIONES DE ESTERIFICACIÓN PARA USO COSMÉTICO**”, de responsabilidad de la señorita ERICA JHOANA SANI CUJILEMA, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Dra. Susana del Pilar Abdo López <b>DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>		2019-12-13
Dra. Cumandá Carrera Beltran <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>		2019-12-13

## DEDICATORIA

El presente trabajo de titulación y toda mi vida académica lo dedico a Dios, por permitirme cumplir mi sueño y por darme esta oportunidad. También lo dedico con mucho amor y cariño a mis padres: Eduardo Sani y Laura Cujilema, por ser mi apoyo incondicional y por encaminarme a cumplir este sueño que no es solo mío, es de toda mi familia, quienes además me educaron con su íntegro ejemplo de lucha, constancia, sacrificio y esfuerzo; valores que me han permitido salir siempre adelante. ¡Gracias Familia!

“Mira que te mando que te esfuerces y seas valiente; no temas ni desmayes, porque Dios estará contigo en dondequiera que vayas”

— Josué 1:9 —

*Erica Sani*

## AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme ese amor incondicional, la valentía y fortaleza para continuar con mis metas y todas las oportunidades que me brinda día a día, a mis padres Eduardo y Laura, por siempre confiar en mí y ser mi aliento en momentos de angustia. En especial a mi madre que con cada sonrisa aliviaba un día desastroso, por ser amiga, confidente y cómplice en cada etapa de mi vida. Gracias a mi padre por todo el sacrificio que ha hecho por mí, por los concejos, velando así lo mejor para mi vida, pero sobre todo por ser el principal promotor para alcanzar este anhelo, que desde niña hemos soñado juntos.

Igualmente agradezco a mis hermanos Henry y Ronny, por todo su apoyo moral, por soportarme en días difíciles y por alegrar mis días con sus ocurrencias, espero algún día verlos triunfar.

A Jesús Guzmán por ser parte desde el comienzo de este sueño, por siempre motivarme a ser mejor y alcanzar esta meta, por ser mi cómplice perfecto en las horas de estudios, por estar siempre en los momentos y situaciones más tormentosas de mi vida académica, siempre ayudándome hasta donde le era posible, incluso más que eso, gracias por tanto mi Negrito.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por su excelencia académica la cual me ha permitido ampliar mi mente y conocimientos, formando una profesional con ética y valores. Agradezco a todos mis docentes y a cada miembro de mi amada ESPOCH, especialmente a la Dra. Susana Abdo que es una de las mejores personas que he conocido a lo largo de mi vida politécnica, pero sobre todo por ser un gran ser humano, que me acompañó en el desarrollo de mi tesis, espero el futuro la compense por ello.

Sin embargo el desarrollo de trabajo de titulación no fue nada fácil, aunque lo disfrute mucho y aprendí nuevas cosas, no lo hubiera podido lograr gracias al apoyo de mis amigos Patty, Adri y Jorgito, pero sobre todo de Verónica Guilcapi quien es la hermana que Dios me dio, gracias por tu infinito apoyo y por los años de sincera amistad. ¡Cumplimos nuestro sueño, Colega!

## TABLA DE CONTENIDO

RESÚMEN .....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPITULO I</b>	
<b>1. MARCO TEORICO REFERENCIAL.....</b>	<b>5</b>
<b>1.1 Antecedentes de la investigación.....</b>	<b>5</b>
<b>1.2 La Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd).....</b>	<b>6</b>
<i>1.2.1 Definición .....</i>	<i>6</i>
<i>1.2.2 Taxonomía de la Quinoa .....</i>	<i>7</i>
<i>1.2.3 La <i>Chenopodium quinoa</i> Willd en el Ecuador .....</i>	<i>8</i>
<i>1.2.4 Características de la Quinoa .....</i>	<i>8</i>
<i>1.2.5 Usos de la <i>Chenopodium quinoa</i>.....</i>	<i>9</i>
<b>1.3 Saponinas de Quinoa .....</b>	<b>9</b>
<i>1.3.1 Estructura de Saponina .....</i>	<i>10</i>
<i>1.3.2 Propiedades y usos de las saponinas.....</i>	<i>11</i>
<i>1.3.3 Saponinas de la Quinoa en la Industria Cosmética.....</i>	<i>11</i>
<b>1.4 Métodos de Extracción de Saponinas.....</b>	<b>12</b>
<i>1.4.1 Extracción de Saponinas Sólido – Líquido .....</i>	<i>12</i>
<b>1.5 Sapogenina de Quinoa .....</b>	<b>12</b>
<i>1.5.1 Métodos de Extracción de Sapogenina .....</i>	<i>13</i>
<b>1.6 Caracterización.....</b>	<b>18</b>
<i>1.6.1 Espectroscopia IR.....</i>	<i>18</i>
<b>1.6.2 Métodos gravimétricos mediante cristalización.....</b>	<b>18</b>
<b>1.6.3 Cromatografía de capa fina TCL. ....</b>	<b>19</b>
<b>1.6.4 Cromatografía por hemólisis, usando glóbulos rojos humanos.....</b>	<b>19</b>
<b>1.7 Separación y Purificación .....</b>	<b>20</b>

1.7.1 Cromatografía de Capa Fina Preparativa .....	20
1.8 Tamizaje Fitoquímico .....	20
1.9 Fitocosmética Natural .....	20
1.10 Emulsiones.....	21
1.10.1 Emulsionante Natural .....	21
1.11 Obtención de Emulsiones.....	22
1.11.1 Emulsiones Pickering .....	22
1.12 Tipos de Emulsión .....	22
1.13 Floculación .....	23
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>2. MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>25</b>
2.1 Población de estudio .....	25
2.2 Tamaño de la muestra .....	25
2.3 Lugar de Recolección de la muestra.....	25
2.4 Lugar de la Investigación.....	25
2.5 Equipos, Materiales y Reactivos .....	26
2.5.1 Equipos.....	26
2.5.2 Reactivos.....	26
2.5.3 Materiales .....	27
2.6 Diseño Experimental.....	28
2.7 Esquema del Procedimiento.....	30
2.8 Tratamiento de la materia prima .....	30
2.9 Obtención de Saponina Cruda .....	30
2.10 Obtención de Sapogeninas .....	31
2.10.1 Hidrólisis y Esterificación de Saponinas .....	31
2.11 Cristalización de saponinas esterificadas e hidrolizadas.....	31
2.12 Identificación de Sapogeninas .....	32
2.12.1 Cromatografía en Capa Fina TLC .....	32
2.12.2 Espectroscopia Infrarrojo (IR).....	32

2.13 Tamizaje Fitoquímico .....	33
2.13.1 Ensayo de Sudan .....	33
2.13.2 Ensayo de Fehling .....	33
2.13.3 Ensayo de Lugol .....	33
2.13.4 Ensayo de Espuma .....	33
2.13.5 Ensayo de Lieberman-Buchard .....	34
2.14 Análisis Químicos de Muestras .....	34
2.14.1 Índice de Acidez .....	34
2.14.2 Índice de Yodo .....	35
2.15 Purificación de Saponinas y Sapogeninas .....	36
2.15.1 Cromatografía Preparativa TCL .....	36
2.16 Obtención de Emulsiones .....	37
2.17 Propiedad Emulsionante .....	38
2.17.1 Estabilidad de la emulsión .....	38
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>3. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS</b> .....	<b>40</b>
3.1 Selección de la Materia Prima .....	40
3.2 Obtención de Saponinas .....	40
3.3 Análisis de obtención de Sapogeninas .....	41
3.3.1 Esterificación de Saponinas crudas .....	41
3.3.2 Hidrolisis de Saponinas .....	47
3.4 Identificación de saponinas y sapogeninas .....	50
3.4.1 Cromatografía en capa fina TLC .....	50
3.4.2 Cromatografía TCL por hemólisis .....	51
3.4.3 Análisis de espectroscopia IR .....	52
3.5 Tamizaje fitoquímico del crudo de saponina .....	56
3.6 Análisis Químico de muestras .....	58
3.6.1 Índice de Yodo .....	58
3.6.2 Índice de Acidez .....	58

<b>3.7 Análisis Descriptivo de las Emulsiones</b> .....	59
<i>3.7.1 Emulsiones obtenidas con Metanol</i> .....	60
<i>3.7.2 Emulsiones con obtenidas con Etanol</i> .....	62
<i>3.7.3 Emulsiones obtenidas por Hidrólisis</i> .....	64
<i>3.7.4 Emulsiones con Crudo de Saponina</i> .....	66
<b>CONCLUSIONES</b> .....	69
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	70
<b>GLOSARIO</b>	
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1.</b> Taxonomía de la Quinoa. (Continúa).....	7
<b>Tabla 1-2.</b> Tipos de Emulsión .....	22
<b>Tabla 2-1.</b> Equipos de Laboratorio .....	26
<b>Tabla 2-2.</b> Reactivos empleados.....	26
<b>Tabla 2-3.</b> Materiales de Laboratorio (Continúa) .....	27
<b>Tabla 2-4.</b> Ensayo M. Obtención de Sapogenina con Metanol.....	28
<b>Tabla 2-5.</b> Ensayo E. Obtención de Sapogenina con Etanol.....	29
<b>Tabla 2-6.</b> Ensayo A. Obtención de Sapogenina por hidrolisis.....	29
<b>Tabla 2-7.</b> Ensayos experimentales para la obtención de emulsiones. (Continúa).....	37
<b>Tabla 3-1.</b> Rendimiento de crudo de saponinas.....	40
<b>Tabla 3-2.</b> Resultados del rendimiento en la obtención de Sapogenina con Metanol.....	42
<b>Tabla 3-3.</b> ANOVA del rendimiento en la obtención de Sapogenina con Metanol.....	43
<b>Tabla 3-4.</b> Test Tukey para el método la obtención de Sapogenina con Metanol.....	44
<b>Tabla 3-5.</b> Ensayo E. Obtención de Sapogenina con Etanol (Continua).....	44
<b>Tabla 3-6.</b> ANOVA del rendimiento en la obtención de Sapogenina con Etanol .....	46
<b>Tabla 3-7.</b> Test Tukey para el método la obtención de Sapogenina con Etanol.....	46
<b>Tabla 3-8.</b> Obtención de Sapogenina con Agua.....	47
<b>Tabla 3-9.</b> ANOVA en la obtención de saponinas en agua.....	48
<b>Tabla 3-10.</b> Test Tukey para el método la obtención de Sapogenina con agua. ....	49
<b>Tabla 3-11.</b> Resultados del tamizaje fitoquímico de Sapogenina y crudo de Saponina .....	56
<b>Tabla 3-12:</b> Resultados de Índice de Yodo en las muestras. ....	58
<b>Tabla 3-13:</b> Resultados de Índice de Acidez en las muestras. (Continúa) .....	58
<b>Tabla 3-14:</b> Resultados de Emulsión en EM. (Continúa).....	60
<b>Tabla 3-15.</b> Resultados de frecuencias.....	61
<b>Tabla 3-16.</b> Resultados de Emulsión en EE.....	62
<b>Tabla 3-17.</b> Resultados de valores con frecuencia Cero.....	63
<b>Tabla 3-18.</b> Resultados de Emulsión en Hidrolisis.....	64
<b>Tabla 3-19.</b> Resultados de frecuencias.....	65
<b>Tabla 3-20.</b> Resultados de Emulsión en Crudo de saponina.....	66
<b>Tabla 3-21.</b> Resultados de frecuencias. (Continúa) .....	66

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b> Planta de <i>Chenopodium quinoa</i> .....	7
<b>Figura 1-2.</b> Enlace glucosídico entre la aglicona y un glucósido. ....	10
<b>Figura 1-3.</b> Propiedad espumante de la Saponina de Quínoa. ....	11
<b>Figura 1-4.</b> Proceso de Cristalización .....	19
<b>Figura 1-5.</b> Emulsionantes O/W y W/O.....	23
<b>Figura 1-6.</b> La floculación tiende un puente entre las partículas coloidales aglomeradas para formar flóculos más grandes fácilmente Sedimentables. ....	24
<b>Figura 2-1.</b> Esquema Experimental .....	30
<b>Figura 3-1.</b> TLC de muestras de saponinas .....	50
<b>Figura 3-2.</b> Cromatografía TLC por hemólisis .....	51

## ÍNDICE DE ECUACIONES

<b>Ecuación 2-1.</b> Cálculo índice de acidez.....	34
<b>Ecuación 2-2.</b> Cálculo índice de yodo.....	35
<b>Ecuación 3-1.</b> Rendimiento de Sapogenina .....	41

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-1.</b> Esterificación de saponina en Etanol .....	15
<b>Gráfico 1-2.</b> Esterificación de saponina en Metanol.....	16
<b>Gráfico 1-3.</b> Hidrólisis de la saponina.....	17
<b>Gráfico 2-1.</b> Rango Descriptivo para la formación de emulsiones.....	38
<b>Gráfico 3-1.</b> Obtención de Sapogeninas con Metanol .....	43
<b>Gráfico 3-2.</b> Obtención de Sapogeninas con Etanol .....	45
<b>Gráfico 3-3.</b> Obtención de Sapogeninas por hidrólisis .....	48
<b>Gráfico 3-4.</b> Espectro IR de EM y EE.....	53
<b>Gráfico 3-5.</b> Estructura química de sapogeninas.....	54
<b>Gráfico 3-6.</b> Espectro IR de la hidrólisis .....	54
<b>Gráfico 3-7.</b> Espectro IR de EA (hidrólisis) .....	55
<b>Gráfico 3-8.</b> Estructura química de la Saponina Cruda.....	56
<b>Gráfico 3-9.</b> Rango de formación de emulsiones. ....	60

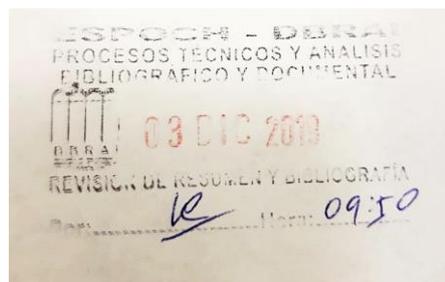
## INDICE DE ANEXOS

<b>Anexo A.</b> Evidencia de extraccion de Saponinas.....	84
<b>Anexo B.</b> Evidencia de extraccion de Sapogeninas .....	85
<b>Anexo C.</b> Evidencia de cromatografias TCL revelados con Vainillna y Ac Sulfurico 5% .....	86
<b>Anexo D.</b> Evidencia de cromatografias TCL revelados con Sangre 1% .....	86
<b>Anexo E.</b> Evidencia del Tamizaje Fitoquimica. ....	87
<b>Anexo F.</b> Análisis Qumicos – indice de Yodo .....	88
<b>Anexo G.</b> Análisis Qumicos – indice de Acidez.....	89
<b>Anexo H.</b> Evidencia de la formacion de emulsiones.....	90
<b>Anexo I.</b> Espectros IR.....	91
<b>Anexo J.</b> Calculos de ANOVA y TUKEY en excel.....	92
<b>Anexo K.</b> Tablas de frecuencias. ....	93

## RESÚMEN

El objetivo fue producir emulsionantes a partir de saponina de quinua (*Chenopodium quinoa*) por reacciones de esterificación para uso cosmético, con el propósito de utilizar la gran cantidad de desechos que se originan en el proceso de escarificado que separa el epispermo amargo del grano, generándose un residuo rico en saponinas denominado “mojuelo”, estas saponinas poseen una parte apolar o llamada sapogeninas, de naturaleza triterpénica, como lo es el ácido oleanólico, al cual se le atribuye propiedades farmacológicas y cosméticas. Se extrajo la saponina el mismo que se hidrolizó y esterificó en medio ácido por reflujo para obtener la sapogenina. La esterificación se hizo con etanol y metanol y la hidrólisis con agua, el reflujo se hizo por 6 horas luego se determinó el tiempo de floculación y rendimiento de sapogeninas. Con la sapogenina extraída se realizaron 72 ensayos siguiendo la metodología de emulsiones Pickering con ciertas modificaciones como: el tiempo de agitación de 2 minutos, una temperatura de 85°C y con dos concentraciones de sapogenina de 4% y 7,5%; de este modo determinar el mejor emulsionante tomando en cuenta un rango establecido de 1 a 4 donde señala si la emisión fue nula, baja, media, media alta y alta. Para identificar los diferentes compuestos se realizó cromatografía en capa fina con placas de Silica Gel utilizando reveladores de vainillina-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5% y sangre 1%, espectrofotometría infrarrojo (IR) y tamizaje fitoquímico. El mejor rendimiento en la extracción de sapogenina fue la esterificación con metanol a 15 horas de reposo teniendo un 79%. El factor de retención (R<sub>f</sub>) de la cromatografía de capa fina (TCL) fue de 0,68; 0,60 y 0,22 que según literatura corresponden a sapogeninas. Finalmente se concluyó que el mejor emulsionante fue con la sapogenina extraídas con metanol, donde se tuvo un nivel de emulsión 4, que equivale a una alta formación de emulsión se recomienda identificar la estructura de la sapogenina esterificada e hidrolizada con Resonancia Magnética Nuclear (NMR) y Espectrofotometría de Masas (MS).

**Palabras Clave:** <QUÍMICA>, <QUINUA (*Chenopodium quinoa*)>, <SAPONINA>, <SAPOGENINA>, <ESTERIFICACIÓN>, <MOJUELO>, <REFLUJO>, <EMULSION>, <PICKERING (MÉTODO)>, <TAMIZAJE FITOQUÍMICO> <FLOCULACIÓN>, <TIEMPO DE REPOSO>



## ABSTRACT

The objective was to produce emulsifiers from quinoa saponin (*Chenopodium quinoa*) by esterification reactions for cosmetic use, with the purpose of using the large amount of waste that originated in the scarification process that separates the bitter episperm from the grain, generating a residue rich in saponins called “mojuelo”, these saponins have an apolar part or called sapogenins, of triterpenic nature, such as oleanolic acid, to which pharmacological and cosmetic properties are attributed. Saponin was extracted, which was hydrolyzed and esterified in acidic medium by reflux to obtain sapogenin. The esterification was done for 6 hours, then the flocculation time and sapogenin yield were determined. With the sapogenin extracted, 72 trials were carried out following the emulsion methodology such as: the stirring time of 2 minutes, a temperature of 85 °C and with two components of 4% and 7.5% sapogenin; in this way determine the best emulsifier taking into account an established range of 1 to 4 where it indicates whether emission was zero, low, medium, medium high and high. To identify the different compounds, thin layer chromatography was performed with Silica gel plates using vanillin-5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> developers and 1% blood, infrared spectrophotometry (IR) and phytochemical screening. The best performance in sapogenin extraction was methanol esterification at 15 hours of rest having 79%. The frequency ranges (Rf) of thin layer chromatography (TLC) were 0,68; 0,60 and 0.22 which according to literature corresponds to sapogenins. Finally, it was concluded that the best emulsifier was with sapogenin extracted with methanol, where it had an emulsion level 4, which is equivalent to a high emulsion formation, it is recommended to identify the structure of the esterified and hydrolyzed sapogenin with Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and Mass spectrophotometry (MS).

**Keywords:** <CHEMISTRY>, <QUINUA (*Chenopodium quinoa*)>, <SAPONINA>, <SAPOGENINE>, <ESTERIFICATION>, <MOJUELO>, <REFLUJO>, <EMULSIÓN>, <COLLECTION (METHOD)>, <PHYTOCHEMICAL SIZE>, <FLOCCULATION>, <TIME REST>.



## INTRODUCCIÓN

En la historia la quinua ha sido un producto de uso frecuente en la alimentación, por tener características altamente nutritivas, sobre todo por ser un pseudocereal que se produce en mayor cantidad en la Cordillera de los Andes, en Perú siendo éste el mayor productor de este grano desde el año 2015, con una producción de 130 000 t. seguido de Bolivia con 92.000 t. y Ecuador con 16.000 t. (FAO 2019, p. 6)

Así mismo la producción de este grano que se genera, es proporcional a los residuos o desechos que puede contener, teniendo como un dato aproximado 10.000 t. en desechos denominados mojuelo (cascarilla), los mismos que al no recibir un tratamiento pueden ser contaminantes ambientales, debido a que presentan saponinas que le da un sabor amargo siendo un veneno para animales de sangre fría, biotóxicos para los microorganismos presentes en el suelo y de este modo puede modificar el comportamiento de ciertos ecosistemas. (Meyhuay 2019, p. 15)

En las últimas décadas se creó la industria química cosmética, para poder mejorar ciertos compuestos que interfieren en las diferentes reacciones que pueden tener efectos sobre la piel, el cabello o el cuerpo, sin embargo esta práctica se la hizo desde el siglo pasado en la cual se determinó y se comprobó que una gran cantidad de químicos que poseen algunos cosméticos son perjudiciales. (Tejada Romero 2016, p. 9)

La sociedad ha tenido que regresar a las prácticas ancestrales es decir, utilizar productos de origen natural o también denominados orgánicos, inocuos y no dañinos para la salud; lo cuales ayudan a generar una conciencia ecológica para las futuras generaciones ya que se podrán aprovechar los residuos naturales que previamente tratados serán beneficiosos para ciertas industrias. (Tejada Romero 2016, p. 9)

Según ECOCERT denomina como cosmético ecológico y natural a cierto producto que contenga un mínimo del 10% de ingredientes ecológicos certificados, los cuales deben representar un mínimo del 95% de los ingredientes vegetales y un máximo del 5% de ingredientes de síntesis. Una alternativa para aprovechar el mojuelo de quinua es la obtención de emulsiones debido a la

elevada cantidad de saponinas y sapogeninas, y por su principal característica espumosa que este residuo presenta sería un excelente emulsificador. (ECOCERT 2014, p. 7-9)

Según Mia Ríos, especialista en terapias bioenergéticas, con especialidad en Fitocosmética, menciona que el uso de emulsionantes procesados por la industria química, a más de partir de la unión de sustancias no miscibles suelen ser tóxicos y más aun los que son derivados del petróleo, aunque existen emulsionantes que se sintetizan a partir de componentes naturales, como el Lauret Sulfato de Sodio (SLES), pero este está lejos de ser natural, ya que para su fabricación (etoxilación) se obtiene un subproducto cancerígeno denominado 1,4 dioxano y otros etoxilados; a partir del 2005 se modificó el organismo regulador de cosméticos, el cual incluyó los cosméticos ecológicos o naturales que son amigables con el medio. (Mia Ríos 2017, p. 32)

El emulsionante en la cosmética, es el compuesto químico que permite la formación y conservación de una mezcla homogénea entre una fase oleosa y otra acuosa, el mal funcionamiento de la misma proporcionará una apariencia de inestabilidad al producto cosmético y he aquí la gran importancia de su uso en esta área. (Carrasco 2009, p. 26)

Para la formulación de cremas y shampoo es primordial la presencia de emulsiones los cuales ayuden a estabilizar la fórmula y mucho mejor si estas son no iónicas, ya que ayudan a no cargar iónicamente la piel o el cabello, sin embargo para poder obtener este tipo de emulsión es necesario pasar por un proceso de refinación de saponinas que mediante hidrolisis se lo puede lograr. Es así que la presente investigación tiene como objetivo producir emulsionantes a partir de saponina de quinua (*Chenopodium quinoa*) por reacciones de esterificación para uso cosmético.

Para lograrlo, se extrajo la materia prima mediante un proceso químico denominado hidrólisis, en donde se tuvo como variante el tiempo de reposo de las soluciones, debido a que es un factor que incide en el rendimiento de sapogeninas extraídas. Para la formación de emulsiones se toma en cuenta la concentración de sapogenina, el tiempo de agitación y la variación de volumen agua aceite. La interrogante principal en relación con el tema se centran en ¿Las emulsiones obtenidas a partir de saponina de quinua por esterificación con alcoholes e hidrolisis, son eficaces para uso cosmético?

El proyecto beneficiará a la empresa COPROBICH que trabajan en un diseño e implementación de un proyecto de producción, transformación, comercialización y promoción de consumo de quinuas y sus derivados, junto al grupo de Investigación de Productos Naturales y Farmacia GIPRONAF de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

- Producir emulsionantes a partir de saponina de quinua (*Chenopodium quinoa*) por reacciones de esterificación para uso cosmético.

### **Objetivos Específicos**

- Extraer la saponina del mojuelo de quinua e hidrólisis de la misma (*Chenopodium quinoa*).
- Producir ésteres de sapogenina de quinua mediante solventes de diferente peso molecular de acuerdo al tiempo de reflujo y de reposo.
- Determinar la capacidad emulsionante de las diferentes emulsiones obtenidas.

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEORICO REFERENCIAL

### 1.1 Antecedentes de la investigación

La quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) es una planta propia de la región andina, principalmente en Perú, Bolivia y Ecuador, su cultivo puede soportar condiciones extremas como las heladas, viento y sequía, tiene un gran valor nutricional y puede ser utilizado de diversas maneras como por ejemplo antimicrobianas y antioxidantes. Debido a la gran cantidad de cultivos de esta planta en la región, se ha visto la necesidad de darle un uso a sus residuos.

Ciertos detergentes que poseen composiciones químicas alquílicas altamente ramificadas, son resistentes al ataque microbiano, por lo que son muy poco biodegradables, los mismos que al entrar en contacto con el agua de ríos o lagunas dan la formación de espumas, provocando así pérdidas de flora y fauna. Pero con la ayuda de ciertos componentes como la saponina presente en el mojuelo de la quinua se ha podido modificar estas características.

Para la extracción de este metabolito secundario (la saponina) se puede utilizar como solventes, alcoholes como el etanol al 96% de pureza, que luego de pasar por el proceso de filtrado para garantizar así que no exista partículas sólidas que puedan alterar las propiedades del mismo. (Saldaña Manuel 2018, p. 53)

La utilización de productos ecológicos ha sido un boom en los últimos años, debido a que la gran mayoría de personas prefieren utilizar este tipo de productos por diferentes beneficios, y entre ellas el precio ya que resulta más económico y así ayudan a conservar el planeta, es por ello que la reutilización del mojuelo de la quinua es una alternativa que trae ingreso económico y descontaminación de ecosistemas. Las bondades que la quinua presenta son varias y entre ellas está en la utilización comercial en la industria cosmética, así también para jabones detergente y, en un futuro hasta uso farmacológico. (Andina Noticias 2018, p. 5-8)

Según Rosario Pajuelo, consultora internacional de la Unión Europea y experta en biodiversidad peruana, menciona que “El boom de la quinua y su mayor producción vino acompañada de una acumulación de residuos o ‘mermas’ de la cascarilla que son nocivas para el consumo humano y que no son aprovechadas, solo son desechos. Sin embargo pueden servir para la industria de cosméticos. (Gestión, 2016)

Es así que se inició la investigación del mojuelo de la quinua, obteniendo inicialmente la saponina, las ventajas y desventajas que presentan, iniciamos con la investigación experimental para la formación de emulsionantes que por reacciones de esterificación de ácido oleanólico los cuales se pueden formar con alcoholes de bajo moleculares.

Existen diversas empresas que se encargan de innovar en los avances cosméticos ya que desarrollan ingredientes basados en fuentes naturales, y así asegura su suministro de forma sostenible y ecológica. (Mia Ríos 2017, p. 3-6)

## **1.2 La Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd)**

### ***1.2.1 Definición***

La quinua, *quínoa o kinwa* (*Chenopodium quinoa* Willd) es un pseudocereal la cual pertenece a la subfamilia Chenopodioideae de las amarantáceas. Este cultivo se produce en la Cordillera de los Andes, en Perú siendo éste el mayor productor de este grano desde el año 2015, con una producción de 130 000 t. seguido de Bolivia con 92.000 t. y Ecuador con 16.000 t. (FAO 2019, p. 4-9)

Según la (FAO 2019) la quinua, es una planta que alcanza un tamaño de 0,5 a 2m de altura, posee un tallo recto o ramificado y su color es variable; las semillas, que constituyen la parte de mayor valor alimenticio, son pequeños gránulos con diámetros de entre 1,8 y 2,2 mm, de color variado: los hay de color blanco, café, amarillas, rosadas, grises, rojas y negras. Los rendimientos promedios obtenidos están entre los 1,500 a 2,000 kg./ha.



Quinoa

**Figura 1-1.** Planta de *Chenopodium quinoa*

**Fuente:** (Thomson 2017, p. 4)

### 1.2.2 Taxonomía de la Quinoa

**Tabla 1-1.** Taxonomía de la Quinoa. (Continúa)

<b>Reino:</b>	<i>Plantae</i>
<b>División:</b>	Fenerógamas
<b>Clase:</b>	Dicotiledoneas
<b>Orden:</b>	Centrospermales
<b>Familia:</b>	Chenopodiáceas
<b>Sub Familia:</b>	Chenopodioideae
<b>Género:</b>	<i>Chenopodium</i>
<b>Especie:</b>	<i>C. quinoa</i>

**Nombre científico:** | *Chenopodium quinoa* Willd.

**Fuente:** (Meyhuay, 2019) QUINUA: Operaciones de Poscosecha

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

### **1.2.3 La *Chenopodium quinoa* Willd en el Ecuador**

La producción de *Chenopodium quinoa* Willd en el Ecuador se encuentra en cuarto lugar a nivel regional, ya que cuenta con 740 accesiones y posee dos bancos de genes. A nivel mundial existen 16.263 accesiones, siendo Bolivia el principal productor coleccionador de este grano, seguido de Perú, Argentina, Ecuador, Chile y Colombia. (Guzmán-Bautista 2013, p. 2)

Según (Julio et al. 2012, p. 8) en las provincias de Imbabura, Chimborazo, Pichincha, Carchi, Cotopaxi y Tungurahua, están ordenadas jerárquicamente de acuerdo con el nivel de producción de *Chenopodium quinoa* Willd en el país, esto se basa en estudios realizados por INIAP (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias).

Durante el año 2015 la producción de *Chenopodium quinoa* Willd fue de 1,20 toneladas, las mismas que fueron recolectadas en 7 148 hectáreas. Para el año 2016 se estimó una producción de 1,36 toneladas por hectárea (Olarde-Calsina, Olarte-Daza y Schultz 2016) y para el año 2017 se calculó una producción de 1,28 toneladas.

### **1.2.4 Características de la Quinua**

La quinua es una planta que se puede producir cada año, de hojas anchas, dicotiledónea y usualmente alcanza una altura de 1 a 2 m. El tallo central comprende hojas lobuladas y quebradizas. El tallo puede tener o no ramas, dependiendo de la variedad y/o densidad del sembrado. La raíz principal normalmente mide de 20 a 25 cm. de longitud, formando una densa trama de radículas, las cuales penetran en la tierra tan profundamente como la altura de la planta. Las panículas o panojas crecen generalmente en la punta de la planta y algunas veces debajo del tallo.

Las flores son pequeñas y carecen de pétalos. Generalmente son bisexuales y se autofertilizan. El fruto es seco y mide aproximadamente 2 mm de diámetro (de 250 a 500 semillas por grano), circundando al cáliz, el cual es del mismo color que el de la planta. La semilla es usualmente lisa y de color blanco, rosado, naranja como también rojo, marrón y negro), el peso del embrión constituye el 60% del peso de la semilla, formando una especie de anillo alrededor del endospermo que se desprende cuando la semilla es cocida. (FAO, 2019)

### **1.2.5 Usos de la *Chenopodium quinoa*.**

Según (Hirich et al. 2012) los principales usos de la *Chenopodium quinoa Willd* son:

- Utilizadas en la industria alimentaria, aunque sus precios son exorbitantes y es un grano que no es tan accesible para todos, es por ello que este grano se combina con otras leguminosas o añadido en otros productos para el consumo infantil.
- El grano es tan versátil que se puede usar y combinar con diferentes alimentos, e incluso procesar nuevos productos, como harinas, pastas, hojuelas, hasta postres.
- Este alimento tiene una gran cantidad de proteína y otros componentes altamente nutritivos, es por ello que este producto es de gran aporte para el desarrollo de todo ser humano.
- Los residuos de las cosechas de la *Chenopodium quinoa Willd* son utilizados en diferentes industrias, como la farmacéutica y cosmética, debido a que este residuo tiene grandes características para estas industrias.
- Se emplean para, curar cicatrices, analgésico, desinfectante de las vías urinarias, en fracturas, hemorragias y como repelente.
- El almidón que posee la *Chenopodium quinoa* puede ser usado para la producción de papel, aerosoles, postres, talcos, plásticos etc
- Es usado en la industria harinera, caracterizando su producto libre de gluten, utilizan entre el 10 al 40% de harina de *Chenopodium quinoa* para hacer pan, 60% para hacer bizcochos, 40% para hacer pasta y 70% para hacer galletas

### **1.3 Saponinas de Quinoa**

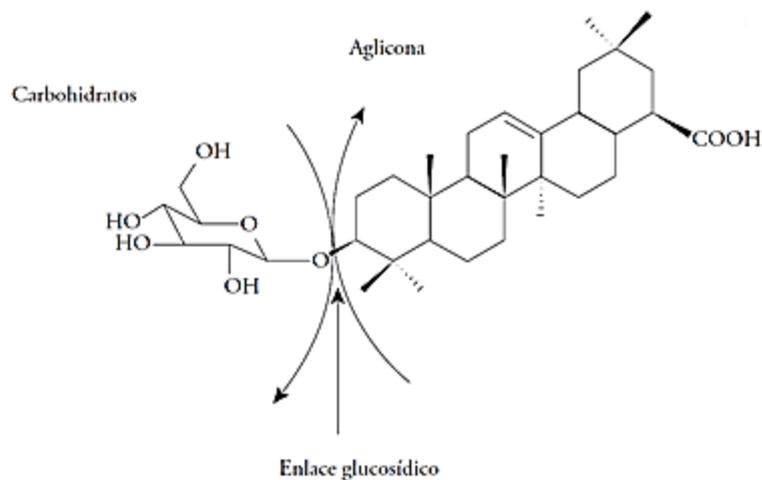
Las saponinas son metabolitos secundarios, que están presentes en las plantas pertenecientes al género *Chenopodiaceae*, siendo estas un anti-nutrientes que poseen las plantas de *Chenopodium quinoa*, dichas saponinas son una mezcla compleja de glucósidos triterpénicos que constan de un

oligosacárido hidrofílico unido a una aglicona hidrofóbica que proviene del ácido oleanólico, hederagenina, ácido fitolacagénico, ácido serjanico o ácido 3 $\beta$ ,23,30- trihidroxi olean-12-en-28-oico. (Ahumada et al. 2016, p. 5-6)

Dentro de las propiedades biológicas de las saponinas se encuentra la capacidad antibacteriana, así como su uso para tratamientos del colesterol y del cáncer; por otro lado se han hecho investigaciones encaminadas a la sanidad vegetal, donde se le ha reconocido la capacidad del control de plagas y enfermedades principalmente de origen fúngico. También entre las propiedades que se pueden encontrar están la de emulsionante la cual es de mucho uso en la industria cosmética. (Delatorre-Herrera et al. 2013, p. 3)

### 1.3.1 Estructura de Saponina

Las saponinas son glucósidos las cuales poseen varias unidades de monosacáridos, las que se enlazan mediante un enlace glicosídico a un resto llamado aglicón. El aglicón puede ser triterpénico o esteroide y debido a esto es que las saponinas pueden ser triterpénicas o esteroidales.



**Figura 1-2.** Enlace glicosídico entre la aglicona y un glucósido.

Realizado por: (Ahumada et al. 2016)

### ***1.3.2 Propiedades y usos de las saponinas***

Las saponinas tienen diferentes propiedades de las cuales se pueden procesar para obtener subproductos para áreas como, farmacéutica, cosmética y alimentaria. En la industria farmacéutica pueden servir para obtener medicamentos y antibióticos; en la industria cosmética este metabolito posee propiedades tensioactivos naturales, debido a que pueden bajar la tensión superficial formando espumas en el momento de la agitación y de este modo formando soluciones coloidales se pueden usar para obtener jabones, cremas y champús e inclusive es usada como insecticida para el control de plagas. (Allauca 2013, p. 46)

Las saponinas poseen propiedades bioquímicas, ya que presentan actividades hemolíticas, fungicida, alelopática, insecticida y antimicrobial. (Rosas 2011, p. 3) Rubén Daza, Elsa Pereyra, Ana Inés Heras. y Burin David (2015) realizaron investigaciones donde se verificó que las saponinas son buenos fungicidas, debido a que pueden controlar plagas de hongos Fitopatógenos mediante su utilización.



**Figura 1-3.** Propiedad espumante de la Saponina de Quínoa.

**Fuente:** (Ramos 2017)

### ***1.3.3 Saponinas de la Quinoa en la Industria Cosmética***

La quinua es conocida a nivel mundial por sus propiedades nutricionales, sin embargo en las últimas investigaciones realizadas se han descubierto que la cascarilla (mojuelo) que envuelve el grano (saponina) aporta grandes beneficios a la industria cosmética. (Carmen, 2015, p. 5) Además de estos resultados también a esta planta se le han atribuido otras propiedades como el de proteger a

la quinua de las pagas, además de ello sirve para la fabricación de jabones, champús y detergentes, esto debido a la capacidad que posee de formar espuma.

## **1.4 Métodos de Extracción de Saponinas**

Según (Galarza 2015, p. 9) la obtención de saponinas se define como una fracción específica de una muestra que se aísla, para ellos se utiliza un solvente el cual sea soluble en la muestra. Existen 3 tipos de extracción: extracción gas-líquido, extracción líquido-líquido y extracción sólido-líquido; éste último es el método más común que se utiliza para la obtención de las saponinas.

### **1.4.1 Extracción de Saponinas Sólido – Líquido**

La extracción es una operación basada en la disolución de varios o un componente de una mezcla en un solvente selectivo. Para esto se aprovecha las características de solubilidad de las muestras con el solvente seleccionado.

En la bibliografía se encuentran varios trabajos en los que se describe métodos de extracción de saponinas, en donde todos tienen factores comunes en sus metodologías utilizadas, a continuación se describe una de ellas.

#### **➤ OBTENCIÓN DE SAPONINA CRUDA:**

Según (Sullca y Erika 2016, p. 33) La extracción se puede realizar mediante fundas de telas, lavados de mojuelo de quinua, proceso semejante al hacer un té. La funda de tela llena de mojuelo, se lava varias veces hasta obtener líquidos cremosos, los cuales son llevados a una temperatura máxima de 80°C, por varias horas hasta sequedad.

## **1.5 Sapogenina de Quinua**

Las sapogeninas son las agliconas que quedan después de pasar por un proceso de hidrólisis, es decir la ruptura del azúcar que posee la saponina. Familia de productos naturales denominado saponinas. Las sapogeninas contienen esteroides u otro triterpenos, además existen otras formas

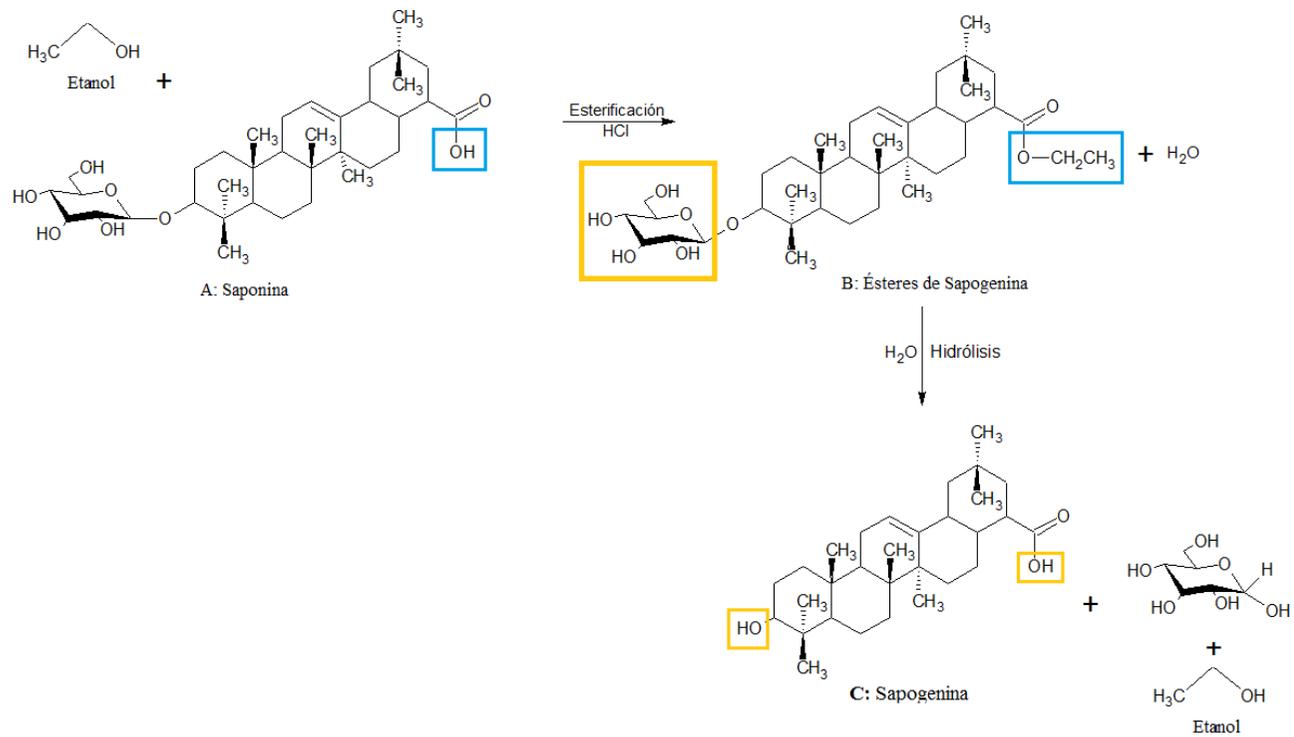
de extraer este metabolito como por ejemplo hidrolisis acida, esterificaciones, etc. Además este producto puede ser utilizado para usos en varias industrias. (Torres 2011, p. 67)

Las sapogeninas se pueden extraer generalmente por vías químicas donde la hidrólisis de saponinas es un método eficaz, donde se utiliza ácidos concentrados como catalizador y agua. Este proceso ayuda a romper el enlace glucosídico, separando el azúcar del aglicón y así teniendo agliconas denominadas sapogeninas (Rodríguez y Leyva 1989)

### ***1.5.1 Métodos de Extracción de Sapogenina***

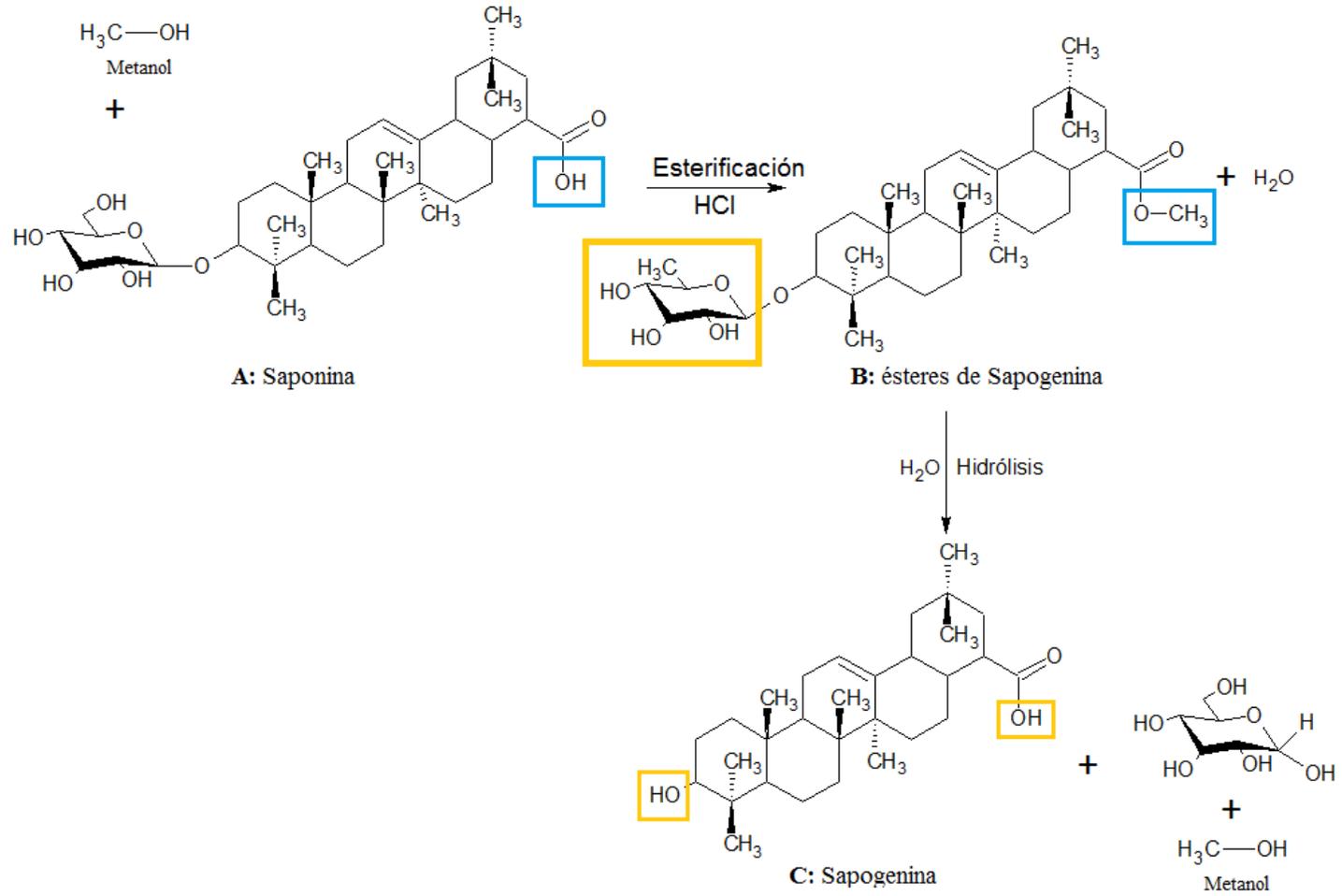
#### ***1.5.1.1 Por esterificación de Saponinas***

Las sapogeninas pueden presentarse en sus fuentes naturales en forma libre: formando ésteres, o como parte de un glicósido (saponina). Es por ello que la esterificación es un procedimiento en el cual podemos llegar a obtener ésteres de sapogenina, que pueden ser pentacíclicas como la estallogenina, etc. (Hernández Royero 1997a, p. 3)



**Gráfico 1-1.** Esterificación de saponina en Etanol

Realizado por: Sani Erica, 2019

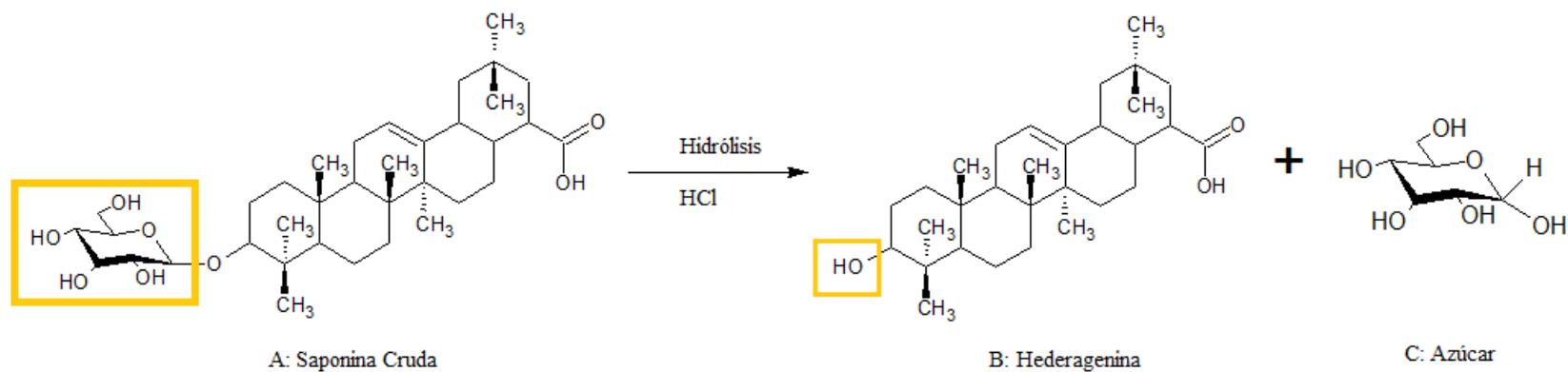


**Gráfico 1-2.** Esterificación de saponina en Metanol

Realizado por: Sani Erica, 2019

### 1.5.1.2 Por hidrólisis de Saponina

Es el método más común para la extracción de saponina, ya que es un tipo de reacción ácida, donde se obtiene hidratos de carbono y un aglicón llamado genéricamente saponina, la cual puede ser de tipo triterpénicos pentacíclicos, como: el ácido oleanólico, Hederagenina, ácido firolacagénico, Oleanato de metilo, ácido serjanico o ácido 3 $\beta$ ,23,30- trihidroxi olean-12-en-28-oico. A continuación se describe la reacción química producida. (Orestes Guerra et al. 2008, p. 4)



**Gráfico 1-3.** Hidrólisis de la saponina

Realizado por: Sani Erica, 2019

## **1.6 Caracterización**

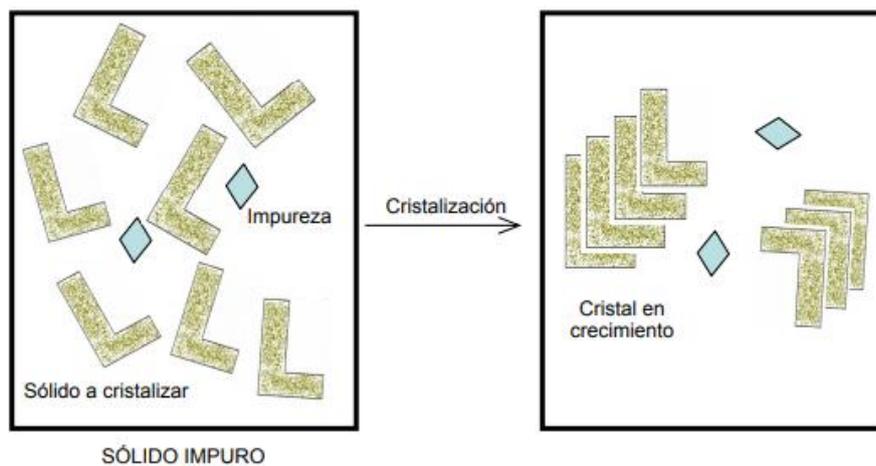
Los métodos de análisis de saponinas nos permiten determinar resultados confiables y para ello se han desarrollado diversos métodos como: (Jiménez 1988, p. 120)

### **1.6.1 Espectroscopia IR**

La espectroscopia infrarroja o espectroscopia vibracional es un tipo de espectrometría de absorción, la cual utiliza la región del infrarrojo del espectro electromagnético. Sirve para identificar un compuesto a investigar la composición de la muestra, y se basa principalmente en el hecho que los enlaces químicos de los compuestos tienen frecuencias vibracionales específicas, las cuales corresponden a los niveles de energía de la molécula. Para la preparación de la muestra se debe pulverizar y es una mínima cantidad que se utiliza para el análisis. En fin, los espectros IR son utilizados para identificar y caracterizar muestras orgánicas de acuerdo a los grupos funcionales que contenga entre un rango de número de onda. (Pérez 2015, p. 5-8)

### **1.6.2 Métodos gravimétricos mediante cristalización.**

Este método es adecuado para purificar compuestos sólidos, se basa primordialmente en que los sólidos orgánicos son más solubles en un solvente caliente que en frío. Para esto se debe disolver la muestra sólida en una mínima cantidad de solvente apropiado en caliente, con lo que se forma una solución saturada. Al enfriarse la solución se sobresatura con la muestra sólida, y se empiezan a formar pequeños cristales en las paredes de vidrio o permanecen en la superficie del líquido, de este modo permaneciendo en el líquido todas las impurezas. (Alarcón Guevara 2016, p. 7-8)



**Figura 1-4.** Proceso de Cristalización

Fuente: (Mora Aznar 2002, p. 8-13)

### 1.6.3 Cromatografía de capa fina TCL.

La cromatografía en capa fina TCL (en inglés “thin layer chromatography”) es una técnica analítica sencilla y rápida, es muy utilizada en muestras orgánicas, ya que permite determinar el grado de pureza de un compuesto, comparar muestras de acuerdo a la distancia recorrida en la placa, y realizan un seguimiento a la reacción. Para ello igualmente se puede determinar los compuestos mediante un cálculo de Rf, que es la relación entre la distancia recorrida por el soluto y por el solvente desde el punto de origen de la muestra y se debe determinar el tipo de compuesto de acuerdo al número Rf que se encuentra en bibliografía. (Oriols Pladevall, 2007)

### 1.6.4 Cromatografía por hemólisis, usando glóbulos rojos humanos.

Este tipo de cromatografía es muy similar a la comuna TCL, se siembra la muestra de la misma manera, igualmente la fase móvil y estacionaria son las mismas, solventes polares o apolares de acuerdo a la muestra en Silica gel. A excepción del revelado, que en este tipo de cromatografía se usa la sangre de animales o seres humanos, este tipo de revelado es instantáneo y no necesita ser sometido a calor la placa para poder ver los componentes separados de la solución.

## **1.7 Separación y Purificación**

Para el aislamiento y purificación de las muestras se han desarrollado métodos cromatográfico eficaces. Entre algunas tenemos:

### **1.7.1 Cromatografía de Capa Fina Preparativa**

Esta técnica es muy utilizada para la separación y purificación de muestras que varían en cantidad, puede separarse de miligramos hasta gramos. Para sembrar la muestra simplemente se aplican de forma lineal a lo ancho de la placa de vidrio y se analizan mediante detección UV o reveladores dependiendo la fase móvil que se haya utilizado. Para aislar la sustancia de extracción, simplemente se raspa la placa con una espátula y se filtra. (Lamas et al. 1981, p. 6)

## **1.8 Tamizaje Fitoquímico**

Este conjunto de análisis consiste en la extracción y determinación de ciertos metabolitos secundarios que una planta o residuo vegetal puedan tener, para ello se usa solventes polares y aplicación de reacciones sensibles, reproducibles y que tengan un bajo costo. Los resultados de estos análisis son únicamente orientaciones y deben representarse como resultados del “screening”, es decir solo determinará la presencia de metabolitos, pero solo serán de forma cualitativa (Yara Varón y Suescun Ospina, 2007, p. 8)

## **1.9 Fitocosmética Natural**

En una gran mayoría de productos cosméticos contienen ingredientes perjudiciales para la salud estética, como lo es la piel, el cabello y cuerpo. Estos agentes intervienen directamente en los efectos nocivos que puedan causar a nuestra salud integral, es por ello que una alternativa para seguir embelleciendo nuestra piel es la Fitocosmética la cual sería una buena opción para hacerlo de una manera responsable y fuera de peligros, pues su principales componentes son principios activos naturales. (IDMA 2019, p. 8)

Agentes emulsificantes pueden también provenir de ciertos metabolitos, que pueden ayudar en la formulación de cremas, ungüentos, etc. Sería una manera económica de producir productos a gran escala. (Indunn Nature, 2013, p. 8)

Es más, las saponina de quinua presenta actividad superficial debido a que en su estructura tiene un grupo polar (azúcar) y un no polar (esteroide), esta propiedad permite a que se le pueda dar un uso de detergente natural, agente estabilizante y emulsificador en ciertos producto de limpieza y cosméticos. (Ahumada et al. 2016, p. 445)

## **1.10 Emulsiones**

Las emulsiones tienen una gran importancia en áreas como la cosmética por ser un tipo de sistema heterogéneo, ya que su formación consiste en la mezcla de 2 fases, una fase oleosa y otra acuosa, en donde el uno estará disperso en el medio del otro, es decir en la fase externa. Estas fases deben ser estabilizadas mediante un emulsionante para prevenir coalescencia, es decir, que se vuelvan a unir las partículas en suspensión coloidal en forma de gotas de gran tamaño en la emulsión, es por ello que para su formación, la agitación es un factor esencial, ya que si ésta es mayor, menor será el tamaño de las partículas de la fase dispersa y así se mejorará la estabilidad. (Dobarganes 2000, p. 11)

Para asegurar la estabilidad de la emulsión se agrega un emulsificante, que puede ser de origen sintético, natural o natural modificado; ayudando así a disminuir la tensión superficial entre las fases y aumentando la repulsión electrostática ente las gotas.

### ***1.10.1 Emulsionante Natural***

Los emulsionantes naturales es una alternativa para la formulación de nuevos productos, pero sobre todo es una alternativa para ayudar al medio ambiente, debido a que en una gran mayoría de emulsionantes sintéticos son tóxicos, tanto para la piel como para su producción y mucho más para su uso. Es por ello que los emulsionantes naturales a partir de ciertos residuos, son más económicos, fácil de obtenerlos, eco amigables y muy sencillos en producirlos, con estos se formulan nuevos productos más accesibles para el consumo humano, anulamos así la toxicidad

del residuo e incrementamos su valor monetario. Pero sobre todo aseguramos un producto cosmético fiable, libre de tóxicos y daños en contra del aspecto integral de los consumidores.

### 1.11 Obtención de Emulsiones

Para la formulación de emulsiones existe una gran variedad de metodologías, y todas se basan en el emulsificante usado. Entre una de ellas tenemos, la emulsión de tipo “Pickering”, que a continuación se describe:

#### 1.11.1 Emulsiones Pickering

Este tipo de emulsión tiene una estabilidad homogénea, esto se debe gracias a los emulsificantes, que en este caso se usan partículas sólidas. Las emulsiones Pickering tienen grandes ventajas en la formulación de emulsiones en comparación con otras emulsiones convencionales, como por ejemplo tienen una alta estabilidad en contra de la coalescencia lo que permite que exista altas contracciones de las fase dispersa en presencia de sales; otra ventaja que posee es que las partículas sólidas del emulsificante forman una barrera contra la transferencia de masa, efecto que los emulsificadores líquidos no lo hacen, de igual forma este tipo de emulsiones podrían utilizarse como encapsulador de principios activos que tal vez podrían afectar la emulsión. (Páez Álvarez et al. 2018, p. 132)

### 1.12 Tipos de Emulsión

En el diccionario cosmetológico y de acuerdo a las características de las fases existen varios tipos:

**Tabla 1-2.** Tipos de Emulsión

<b>Emulsiones</b>	<b>Fase Interna (dispersa o discontinua)</b>	<b>Fase Externa (dispersante o continua)</b>
<b>O/W</b>	Oleosa	Acuosa
<b>W/O</b>	Acuosa	Oleosa

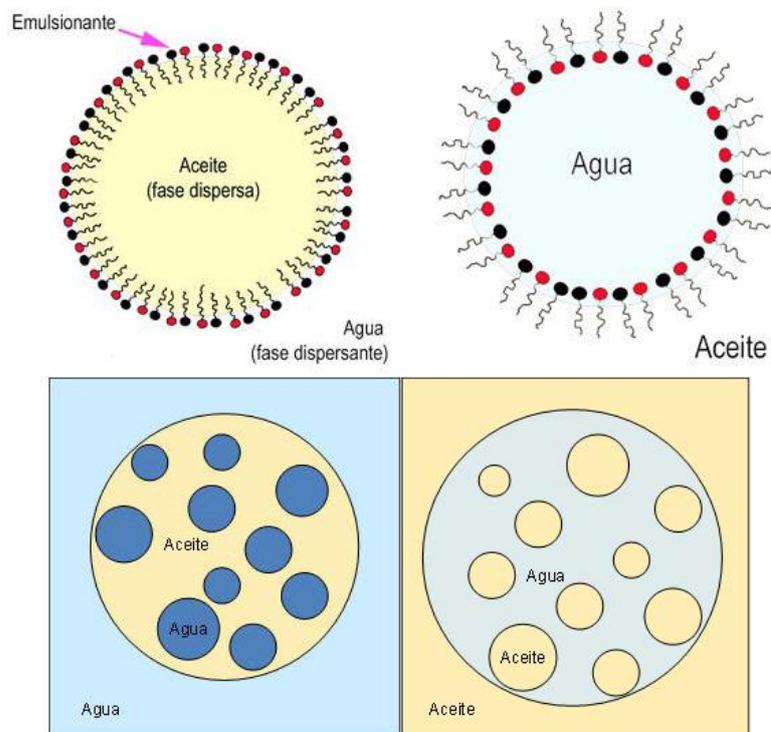
S/W	Silicona	Acuosa
W/S	Acuosa	Silicona

### Emulsiones Múltiples

O/W/O	Tipo aceite/agua/aceite: gotas de agua (W) de la fase interna contienen pequeñas gotas de aceite (o)
W/O/W	Tipo agua/aceite/agua: las gotas de aceite (O) de la fase interna contienen pequeñas gotas de agua (W)

Fuente: (Carrasco 2009, p. 58)

Realizado por: Erica Sani, 2019



**Figura 1-5.** Emulsionantes O/W y W/O

Fuente: (Navarro Marcos 2016, p. 23)

### 1.13 Floculación

Es la aglomeración de partículas desestabilizadas en microflóculos y después en los flóculos más grandes que tienden a depositarse en el fondo de los recipientes construidos para este fin, facilitando de esta forma su decantación y posterior filtrado. Los factores que pueden promover

la floculación son el tiempo y el pH. El tiempo es importante al aumentar la probabilidad de que las partículas se unan y da más tiempo para que las partículas descendan, por efecto de la gravedad, y así se acumulen en el fondo.(Cárdenas 2000, p. 37)



**Figura 1-6.** La floculación tiende un puente entre las partículas coloidales aglomeradas para formar flóculos más grandes fácilmente Sedimentables.

**Fuente:** (Navarro Marcos 2016, p. 23)

## CAPITULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1 Población de estudio

- Mojuelo de *Chenopodium quinoa*
- Saponinas
- Sapogeninas

#### 2.2 Tamaño de la muestra

Se utilizó 600 gramos de mojuelo de quinua (*Chenopodium quinoa*), donde se hizo 3 lavados con agua destilada en 2,5 litros, para obtener la saponina.

#### 2.3 Lugar de Recolección de la muestra

El mojuelo fue suministrado por “MAQUITA CUSHUNCHIC” planta procesadora de quinua que pertenece a la Asociación de producción y comercialización de productos alimenticios emprendedores Nutriandina.

#### 2.4 Lugar de la Investigación

La investigación de tipo experimental se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, localizada en la ciudad de Riobamba, provincia de Chimborazo.

- Laboratorio de Productos Naturales
- Laboratorio de Química Analítica

- Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias

## 2.5 Equipos, Materiales y Reactivos

Los diferentes equipos, materiales y reactivos utilizados en el presente trabajo se encuentran descritos en las siguientes tablas.

### 2.5.1 Equipos

**Tabla 2-1.** Equipos de Laboratorio

Balanza analítica RADWAG modelo AS 220.R2	Estufa Memert SNB 400
Reberbero	Agitador magnético con imán CIMAREC
Baño maría Thermo Scientific™ TSGP02	Baño de circulación Thermo Scientific™ TSCIR35
Extractor de gases	Refrigeradora LG-4983
Jasco FT/IR-4100 espectrofotometría IR	Centrifuga
Vortex Gallenkamm Spinmix SI.100	

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

### 2.5.2 Reactivos

**Tabla 2-2.** Reactivos empleados

Agua destilada	Vainillina
Etil acetato	Tolueno
Etanol 96%	Metanol
Etil éter	Isopropanol
Ácido sulfúrico concentrado	Ácido clorhídrico concentrado

Reactivo Sudan III	Reactivo lugol
Reactivo de Fehling A y B	Reactivo de Liebermann Burchard
Hidróxido de potasio 0.5 N	Fenolftaleína
Reactivo de Biuret	Acetona
Sangre 1%	Reactivo de Hanus

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

### 2.5.3 *Materiales*

**Tabla 2-3.** Materiales de Laboratorio (Continúa)

Vasos de precipitación de 250 ml	Probetas de 100 ml
Vidrios reloj Espátula	Vidrios reloj Espátula
Pipetas graduadas de 10 ml Pera de succión	Pipetas graduadas de 1 ml Pera de succión
Balones de aforo de 25 ml	Varilla de agitación
Caja de guantes estériles	Papel aluminio
Mascarilla	Gafas protectoras
Pera de succión	Espátula
Pinza de bureta	Papel filtro
Bureta de 25 ml	Tubos de ensayo
Probetas de 100 ml	Probeta de 25 ml
Erlenmeyer de 250 ml	Balones de aforo de 250
Refrigerante	Mangueras de plástico
Termómetro	Utensilios de oficina
Vasos de precipitación de 25 ml	Embudo de vidrio
Pisetas	Balón de destilación 500 ml.
Pinzas para refrigerante	Placa metálica

Campana de refrigerante	Vasos de precipitación de 1000 ml
Papel plástico de cocina	Vidrio reloj
Gradillas	Cámara de vidrio con tapa para TCL
Pipetas Pasteur de 1 ml	Papel toalla
Algodón	tijera
Gel de sílice en TLC lamina de aluminio 254nm	Capilares

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

## 2.6 Diseño Experimental

El diseño de investigación para la obtención de Sapogeninas es un diseño experimental de tipo DCA (Diseño Completamente Aleatorio), en donde se tomó como variables el solvente de hidrolisis y esterificación, y el tiempo de reposo al terminar el reflujo.

**Tabla 2-4.** Ensayo M. Obtención de Sapogenina con Metanol

Tratamiento	Código	Temperatura (°C)	Reposos (HRS)
100 ml Metanol + 10 g de saponina cruda + 250 ml de HCl al 4N+ 6 horas	EM-1	230	15
100 ml Metanol + 10 g de saponina cruda + 250 ml de HCl al 4N+ 6 horas	EM-2	230	9
100 ml Metanol + 10 g de saponina cruda + 250 ml de HCl al 4N+ 6 horas	EM-3	230	3

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

**Tabla 2-5.** Ensayo E. Obtención de Sapogenina con Etanol

<b>Tratamiento</b>	<b>Código</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Reposos (HRS)</b>
100 ml Etanol + 10 g de saponina cruda + 250 ml de HCl al 4N+ 6 horas	EE-1	230	15
100 ml Etanol + 10 g de saponina cruda + 250 ml de HCl al 4N+ 6 horas	EE-2	230	9
100 ml Etanol + 10 g de saponina cruda + 250 ml de HCl al 4N+ 6 horas	EE-3	230	3

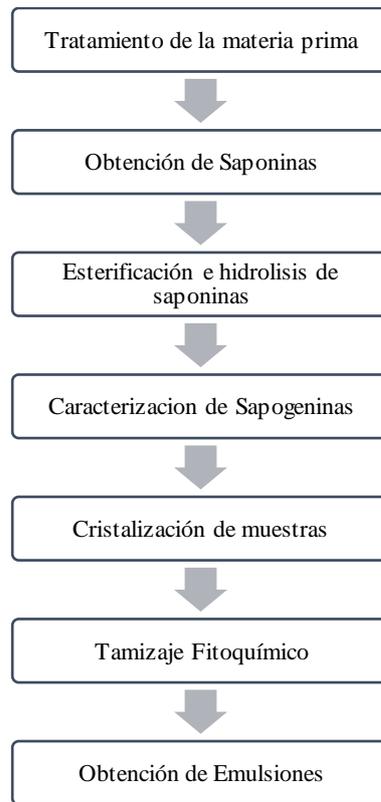
**Realizado por:** Sani Erica, 2019

**Tabla 2-6.** Ensayo A. Obtención de Sapogenina por hidrolisis.

<b>Tratamiento</b>	<b>Código</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Reposos (HRS)</b>
100 ml Agua + 10 g de saponina cruda 250ml de HCl al 4N + 6 horas	EA-1	230	15
100 ml Agua + 10 g de saponina cruda 250ml de HCl al 4N+ 6 horas	EA-2	230	9
100 ml Agua + 10 g de saponina cruda 250ml de HCl al 4N+ 6 horas	EA-3	230	3

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

## 2.7 Esquema del Procedimiento



**Figura 2-1.** Esquema Experimental

Realizado por: Sani Erica, 2019

## 2.8 Tratamiento de la materia prima

La muestra de mojuelo se tamizó sobre un tamiz N°20 para dejarlo libre de piedras, granos de quinua o material indeseado, y así obtener materia prima de calidad.

## 2.9 Obtención de Saponina Cruda

Se pesó 200 gramos de mojuelo de quinua con 3 levados de 2,5 litros de agua destilada cada uno, se obtuvo 7,5 litros de agua de lavado de quinua, se filtra para eliminar residuos, esto fue repetido por 3 veces utilizando un total de 600 g de mojuelo de quinua. Posteriormente se evaporó el agua hasta sequedad a 70° C por 8 horas hasta obtener una masa de aspecto acaramelado color miel (saponina cruda). Con estas muestras se realizaron los análisis para la obtención de emulsiones.

## **2.10 Obtención de Sapogeninas**

Para este proceso se preparó una solución hidro-ácida y una solución alcohólica de etanol y metanol, de HCl al 4 N. En un balón de destilación de 500 ml se pesó 10 gramos de saponina cruda y se disolvió en 100 ml de solvente, a esta disolución se añadió 250 ml de la solución de HCl 4 N.

### **2.10.1 Hidrólisis y Esterificación de Saponinas**

Para la extracción de sapogenina se realizó por reflujo la cual es una técnica experimental que consiste en el calentamiento de reacciones a una temperatura superior a las del medio ambiente y con un volumen constante. Esta técnica igualmente ayuda a que los solventes utilizados no se evaporen. (Hazbón y Junca-Burgos, 2011, p. 2)

Se tomó 10 gramos de saponina cruda y se disolvieron en 100 ml de solvente metanol, etanol para la esterificación y agua para la hidrólisis, la disolución se colocó en un balón de reflujo y se agregó los 250 ml de solución alcohólica HCl 4 N, se sometió a calor por 6 horas. Concluido el proceso de reflujo, se tomó en cuenta el tiempo de reposo a 3, 9 y 15 horas, debido a que al pasar el tiempo las sapogeninas tienden a flocularse.

Así se obtuvo mayor cantidad de sapogeninas, se realizó lavados de agua destilada fría para eliminar la acidez, se filtró con ayuda de un embudo y papel filtro. Se tomó el precipitado formado y se lo colocó en un vidrio reloj para luego secarlo por 5 minutos en una estufa. Así como se describe en el diseño experimental de las tablas 6-2 y 7-2 respectivamente para metanol y etanol.

## **2.11 Cristalización de saponinas esterificadas e hidrolizadas**

La cristalización de muestras es un método de purificación selectivo, ya que es adecuado para purificar compuestos sólidos, el aumento de tamaño del cristal, la forma y tipo de partículas, ayuda a excluir ciertos componentes impuros de las muestras. (Sánchez 2014, p. 1)

Se calentó agua destilada en 3 vasos de precipitación de 100 ml hasta llegar a ebullición, luego se colocó toda la cantidad de las muestras de EM, EE y EA en cada vaso de precipitación hasta formar una disolución saturada. Se dejó enfriar, para filtrar el sobrenadante porque al ser saponinas pierden solubilidad en agua y son liposolubles por lo tanto son menos densos, el precipitado formado se eliminó, de este modo se purificó las muestras.

## **2.12 Identificación de Saponinas**

### **2.12.1 Cromatografía en Capa Fina TLC**

Para identificar los compuestos presentes en las muestras de saponina, se implementó un sistema TLC donde se trabajó con una fase estacionaria de Silica gel y una fase móvil de tolueno y etil acetato 60:40 respectivamente, y para el revelado de la placa se utilizó vainillina-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5%, posteriormente se sometió a calor en una placa metálica a 120 °C por 3 minutos. La placa de Silica gel empieza a aparecer manchas moradas intensas o violetas. Que según (Oriols Pladevall 2007, p. 4-5) menciona que los solventes utilizados debido a su baja polaridad, permiten una mejor separación de los elementos presentes en la muestra.

Otro revelado se realizó utilizando sangre al 1%, esta es una técnica hemolítica que tiene mejor eficiencia con respecto a la anterior. Además el revelador es específico para saponinas y no se somete a calor.

### **2.12.2 Espectroscopia Infrarrojo (IR)**

Se analizó en un equipo IR para determinar los grupos funcionales presentes en las muestras EM, EE, EA y Crudo. Se coloca en la porta muestras del equipo 0,2 gramos de muestras en estado sólido y se dejó correr en el rango de 4000 cm<sup>-1</sup> hasta 600 cm<sup>-1</sup>.

## **2.13 Tamizaje Fitoquímico**

### **2.13.1 Ensayo de Sudan**

Sirve para determinar la presencia de compuestos grasos presentes en las muestras, una fracción de la alícuota en el solvente correspondiente de extracción se añadió 1 ml del colorante Sudan III o IV. El mismo que se calentó en baño de agua hasta la evaporación del solvente, el ensayo se cundiera positivo si aparecen gotas o una película de color rojo por las paredes del tubo de ensayo.

### **2.13.2 Ensayo de Fehling**

Este ensayo ayuda a identificar azúcares reductores presentes en las muestras, el reactivo de Fehling A que es sulfato de cobre (II) pentahidratado y Fehling B solución de tartrato de potasio sódico tetra hidratado, la mezcla de los dos presentó un color azul intenso. Se colocó en un tubo de ensayo 0.1 gramos de muestra y se disolvió en 2 ml de agua destilada, se adicionó 2 ml del reactivo de Fehling A y B, se sometió a baño maría por 5 a 8 minutos, siendo positivo si se observa un precipitado de color rojizo – ladrillo en el fondo del tubo de ensayo. (Núñez, Pérez y Chirinos 2012, p. 5-7)

### **2.13.3 Ensayo de Lugol**

También conocido como ensayo de Yodo, la cual nos permite identificar la presencia de almidones en las muestras, se tomó una pequeña cantidad de muestra y se disolvió en 5 ml de agua, se colocó de 2 a 3 gotas de Lugol, dando como prueba positiva un color violeta oscuro. (Martín-Sánchez, Martín-Sánchez y Pinto, 2013, p. 4)

### **2.13.4 Ensayo de Espuma**

Este consistió en pesar 0.1 gramos de las muestras EM, EE y EA, y se disolvió en 5 ml de agua destilada, se agitó enérgicamente por 30 segundos. Si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persiste durante 2 minutos, el ensayo será positivo. (Mena Valdés et al. 2015)

### 2.13.5 *Ensayo de Lieberman-Buchard*

Este ensayo permite reconocer la presencia de triterpenos o esteroides presentes en las muestras, se tomó una fracción de la muestra y se la disolvió en un 1 ml de cloroformo, seguidamente se añadió 1 ml de anhídrido acético y se mezcló en el vortex durante 30 segundos, se dejó caer por las paredes del tubo de ensayo de 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado (sin agitar). El ensayo se considera positivo si los tubos de ensayo se tornan color rojo, azul o verde. (Mena Valdés et al. 2015)

## 2.14 **Análisis Químicos de Muestras**

### 2.14.1 *Índice de Acidez*

Este análisis químico nos permite determinar la grasa o el contenido de ácidos grasos libres presentes en la muestra, y se expresa como la cantidad de hidróxido de potasio requerido para neutralizar los ácidos grasos libres contenido en un gramo de muestra. Para calcular el índice de acidez nos guiamos de acuerdo a la normativa NTE INEN-38. De igual manera se usó la formula correspondiente: (Arzave 2016)

$$I_A = \frac{(56,1 \times V \times N)}{m}$$

**Ecuación 2-1.** Cálculo índice de acidez.

**Fuente:** (Santana, 2008, p. 4-8)

**Donde:**

$I_A$  = índice de acidez del producto, en mg/g

$V$  = Volumen de la solución alcalina empleada en la titulación, en  $cm^3$

$N$  = Normalidad de la solución alcalina

$m$  = masa de la muestra analizada, en g.

A continuación se describe los valores obtenidos y la interpretación de los mismos.

Para este ensayo, se hizo una mezcla alcohol-éter neutralizada, en un Erlenmeyer de 250 ml se disolvió 10 gramos de muestra en 50 ml de una solución de igual volumen de alcohol y éter (1:1), en una bureta de 25 ml titulamos con NaOH 0,1N con 1 ml de indicador fenolftaleína hasta llegar a un viraje de color, coloración rosa claro.

### 2.14.2 Índice de Yodo

Se realiza el índice de yodo para determinar una medida del número total de dobles enlaces presentes en grasas y aceites, que se expresa como la cantidad de yodo absorbido por cada 100 g de muestra. Para el análisis se tomó muestras de sapogenina obtenidas por metanol, etanol e hidrólisis, pero también se incluyó muestra de crudo para determinar las diferencias significativas en los resultados obtenidos.

Para determinar el valor de índice de yodo, nos basamos en la normativa NTE INEN-3, la misma que nos provee una fórmula general para determinar dicho valor.

$$I_Y = \frac{\{ N (V - V1) \cdot 12,69 \}}{m}$$

**Ecuación 2-2.** Cálculo índice de yodo.

**Fuente:** (Santana, 2008, p. 4-8)

#### **Donde:**

$I_Y$  = índice de yodo de la muestra.

$V$  = media aritmética de los volúmenes de solución de sodio tiosulfato empleados en la titulación de los ensayos en blanco, en ml

$V1$  = volumen de solución de sodio tiosulfato empleado en la titulación de la muestra en ml.

$m$  = masa de la muestra analizada, en g.

Para determinar este índice, se tomó como referencia el método de Hanus, donde se utilizó dos matraces de 250 ml, uno para el blanco y otro para la muestra. Se añadió en cada uno de los matraces 10 ml de cloroformo y 25 ml del reactivo de Hanus. Se colocó papel aluminio alrededor

del matraz para que no ingrese luz al interior de la solución, una vez mezclado se dejó reposar por 45 minutos a temperatura ambiente.

A continuación, se añadió 15 ml de solución IK al 10% p/v y 50 ml de agua destilada. Como titulante se utilizó el tiosulfato sódico 0,1N y como indicador se usó el reactivo de lugol 1 ml. Se agitó vigorosamente cada vez que se añade el titulante, hasta obtener el viraje de color (decoloración).

## **2.15 Purificación de Saponinas y Sapogeninas**

### ***2.15.1 Cromatografía Preparativa TCL***

Esta técnica de purificación de muestras puede aislar desde 1 µg. de muestra en donde se utiliza una placa de 20x20 cm, donde se utilizara unos 5 a 10 ml de solvente, esto dependerá del grosor de la placa de Silica gel. La siembra de la muestra se hará a lo largo de una línea recta, debe hacerse siempre a lo ancho de la placa. (K. Mayolo, Martínez y Palomares 2012, p. 16-19)

Se tomó una placa de Silica gel con una fase móvil de Tolueno y acetato de etilo en una concentración 60:40 respectivamente, y para el revelado de la placa se utilizó una solución de sangre y agua destilada en una concentración de 1:10 respectivamente. No se necesitó someter a calor ya que la revelación fue inmediata. Para preparar las muestras se tomó 1 gramo de saponina esterificadas e hidrolizadas y se disolvió en acetato de etilo, con ayuda de un capilar se sembró en la placa de Silica gel de forma recta, para posteriormente colocarla en un una cámara cromatográfica que contiene la fase móvil.

Una vez secado la placa se roció con un atomizador la solución reveladora y se localizó los compuestos, los mismos que se extraen uno a uno, con la ayuda de una espátula. Se disolvió la muestra en 50 ml de etanol, se filtró varias veces la disolución para separar el compuesto y la fase estacionaria, se evaporó el solvente utilizado para poder secar la muestra purificada. (Záralaga, 2007, p. 8)

## 2.16 Obtención de Emulsiones

Se realizó ensayos experimentales para la obtención de emulsiones de tipo (O/W), W/O y en proporción 1:1 O/W en la cual se tomó dos concentraciones de 4% y 7,5% de sapogenina. Se colocó en un tubo de ensayo las muestras de EM, EE y EA con las proporciones de volumen aceite: agua y las concentraciones de sapogenina. Con un tiempo de agitación de 2 minutos, teniendo un total de 72 ensayos. La metodología se realizó tomando en cuenta los parámetros descritos en el artículo “Emulsiones tipo Pickering” de (Páez Álvarez et al. 2018, p. 6), dichos parámetros fueron modificados, teniendo en cuenta que nuestro emulsionante estaban en estado sólido. Así como se muestra en la siguiente tabla de diseño experimental

**Tabla 2-7.** Ensayos experimentales para la obtención de emulsiones. (Continúa)

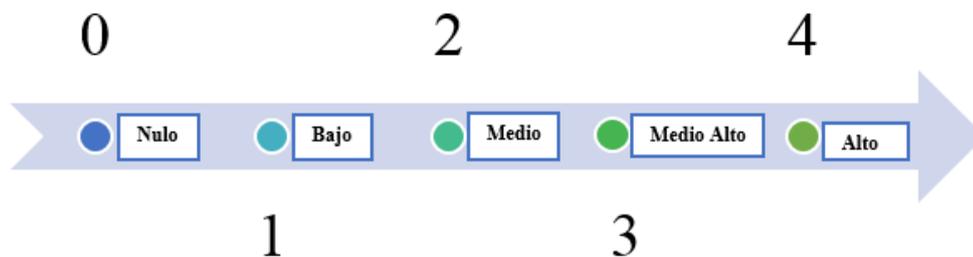
	Concentración de sapogenina [SCg]	Concentración de volumen [O:W]
EM	SC <sub>g1</sub> + 85 °C	A
		B
		C
	SC <sub>g2</sub> + 85 °C	A
		B
		C
EE	SC <sub>g1</sub> + 85 °C	A
		B
		C
	SC <sub>g2</sub> + 85 °C	A
		B
		C
EA	SC <sub>g1</sub> + 85 °C	A
		B
		C
	SC <sub>g2</sub> + 85 °C	A
		B
		C
CrS	SC <sub>g1</sub> + 85 °C	A
		B
		C
	SC <sub>g2</sub> + 85 °C	A
		B
		C

Realizado por: Sani Erica, 2019

**Donde:**

- **EM** = Muestra de saponina esterificada con Metanol
- **EE** = Muestra de saponina esterificada con Etanol
- **EA** = Muestra de saponina hidrolizada (en agua)
- **CrS** = Muestra de saponina cruda (antes del reflujo)
- **SCg<sub>1</sub>** = Concentración de sapogenina al 4%
- **SCg<sub>2</sub>** = Concentración de sapogenina al 7,5 %
- **A** = Proporción aceite/agua (1:1)
- **B** = Proporción aceite/agua (1,5:0,5)
- **C** = Proporción aceite/agua (0,5:1,5)

Para la formación de emulsiones se implementó un diseño de análisis estadístico no paramétrico, para ellos se aplicará tablas de frecuencias, donde se incluyó una rango descriptivo que va de 1 a 4 como se muestra en el grafico 5-4, tomando en cuenta la concentración de sapogenina esterificada e hidrolizada y la variación de volumen O:W para comprobar la formación de la emulsión y determinar la coalescencia de los mismos.



**Gráfico 2-1.** Rango Descriptivo para la formación de emulsiones

Realizado por: Sani Erica, 2019

## 2.17 Propiedad Emulsionante

### 2.17.1 Estabilidad de la emulsión

Para determinar la estabilidad de la emulsión se tomó en cuenta el tiempo que tarde la emulsión en formar coalescencia, es decir que la emulsión no se rompa en sus fases de acuerdo al tiempo que se ha establecido, en este caso se realizó una evolución durante 3 días. (Uvarova, 2005, p. 4)

Las condiciones en las que permanecieron los ensayos son a una temperatura ambiente de 18°C.  
De esta manera determinamos la estabilidad de las 72 emulsiones realizadas.

## CAPÍTULO III

### 3. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

#### 3.1 Selección de la Materia Prima

La muestra fue proporcionada por la planta procesadora de quinua “MAQUITA CUSHUNCHIC” donde se la tamizó para poder eliminar residuos que contenga el mojuelo, ya que se encontraba con granos de quinua, pequeños tallos e incluso hojas secas. El tamiz #20 fue le utilizado para la selección de la muestra, al ser tamizada la coloración fue más blanquecina y con una consistencia más polvosa, lo que permitió seguir con el proceso.

#### 3.2 Obtención de Saponinas

Tabla 3-1. Rendimiento de crudo de saponinas.

Mojuelo de quinua (g)*	Volumen de agua destilada (L)	Temperatura de secado (°C)	Tiempo (HRS)	Crudo de saponinas (g)**	Promedio	Rendimiento
200,01	2,5	70	8	65,3752	65,2360	32,62±0,04
				65,3341		
				64,9989		
200,02	2,5	70	8	65,3431	65,3427	32,67±0,00
				65,3429		
				65,3422		
200,00	2,5	70	8	65,3316	65,2233	32,61±0,04
				64,9891		
				65,3491		

\* representa la desviación estándar del crudo de saponina  $\pm 0,00$

\*\* representa la desviación estándar de saponina  $\pm 0,00$

± Desviación estándar

Realizado por: Sani Erica, 2019

Para los cálculos de rendimiento para la obtención de saponina se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%Rendimiento = \frac{Rendimiento\ real}{Rendimiento\ teórico} \times 100$$

**Ecuación 3-1.** Rendimiento de Saponina

**Fuente:** (Santana, 2008, p. 4-8)

Como se muestra en la tabla 10-3 los rendimientos obtenidos en la obtención de saponina cruda son muy similares, teniendo en cuenta las mismas condiciones para las 3 repeticiones. Según (Hernández Royero 1997b, p. 26) estos datos coinciden con los valores obtenidos en sus estudios para la extracción de saponinas usando solvente como Etanol, Metanol y n-Butanol.

Es decir que se obtuvo un 32% de rendimiento, que es el mismo valor obtenido utilizando solventes como etanol, metanol o n-butanol. Asumiendo que es un método mucho más económico ya que se utilizó agua destilada en vez de otros solventes u otro tipo de métodos que serían más laboriosos y costosos. (Guilcapi 2019, p. 46)

### **3.3 Análisis de obtención de Saponinas**

#### **3.3.1 Esterificación de Saponinas crudas.**

La esterificación de saponina tiene como finalidad de sintetizar ésteres de saponina, para ello se utilizó ácido clorhídrico concentrado con dos alcoholes diferentes, metanol y etanol. Según bibliografía (Sullca y Erika, 2016) para esta reacción química debe haber un exceso de alcohol y de ácido.

### 3.3.1.1 Esterificación con Metanol

**Tabla 3-2.** Resultados del rendimiento en la obtención de Sapogenina con Metanol

Tiempo (HRS)	Temperatura (°C)	Crudo Saponina (g)*	Reposo (HRS)	Sapogeninas (g)**	Promedio de Sapogenina (g)	% Rendimiento de Sapogeninas
6	230	10,0001	15 (EM-1)	7,9695	7,9734	79,73 ±0,08
				8,0568		
				7,8938		
			9 (EM-2)	7,7949	7,8789	78,79 ±0,09
				7,9861		
				7,8556		
			3 (EM-3)	6,9882	7,0518	70,52 ±0,06
				7,1080		
				7,0593		

\* representa la desviación estándar del crudo de sapogenina  $\pm 0,00$

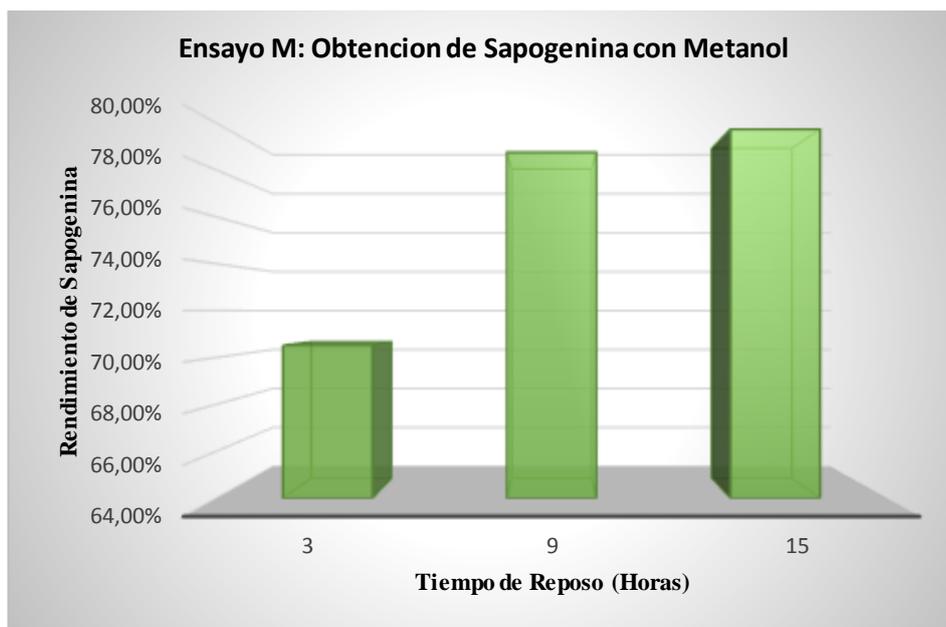
\*\* representa la desviación estándar de sapogenina  $\pm 0,00$

± desviación estándar

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

La esterificación de saponina con solvente Metanol (EM), descrito en la Tabla 11 se trabajó en función del tiempo de reposo que tenía cada extracto después de pasar por el proceso de reflujo que duró 6 horas, es así que se aplicó un diseño de análisis estadístico DCA (Diseño Completamente Aleatorio) donde se aplicó un total de 9 ensayos, teniendo como variables el tiempo de reposo del producto esterificado por 3, 9 y 15 horas.

Se observó que el mejor rendimiento para la obtención de sapogenina fue EM-1 con 77,77% en un tiempo de reposos de 15 horas, se observó que el extracto tiene una mayor floculación, según (Rivas-Romero, Menés-Vuelta y Rómulo-Rodríguez 2017) las partículas después de un proceso químico se pueden aglutinar y/o flocular dependiendo las características que posean, en este caso las sapogeninas poseen esta propiedad, que se floculan de tal modo que ayudan en el filtrado, teniendo una mayor cantidad y consistencia de sapogeninas.



**Gráfico 3-1.** Obtención de Sapogeninas con Metanol

Realizado por: Sani Erica, 2019

Como podemos ver en el grafico 6-3 el tiempo de reposo influye significativamente en la extracción de sapogenina, ya que la saponina expuesta al refluo, tiende a flocularse o aglutinarse, este fenómeno solo se dará si el extracto esta frio y con 15 horas de reposo, ya que sí se filtra antes del tiempo, las sapogeninas no se aglutinan en grandes partículas y no se retiene en el papel filtro.

**Tabla 3-3.** ANOVA del rendimiento en la obtención de Sapogenina con Metanol

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,542138069	2	0,771069034	116,659	1,58E-05	5,14325285
Dentro de los grupos	0,0396573	6	0,00660955			
Total	1,581795369	8				

Realizado por: Sani Erica, 2019

En la tabla 12-3 se describe los valores obtenidos por el test de ANOVA, que demuestra que el valor p es menor que el nivel de significancia es decir, menor de 0,05, entonces se rechaza la hipótesis nula con un valor de confiabilidad de 95%, concluyendo que el tiempo de reposo sí influye en la cantidad de sapogenina extraída. Existiendo diferencias estadísticamente significativas se realiza el test de Tukey.

**Tabla 3-4.** Test Tukey para el método la obtención de Sapogenina con Metanol

<b>Test: Tukey</b>				<b>Alfa= 0.05</b>	
<b>Ensayos</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>E.E</b>	<b>Agrupación</b>	
(EM-1)	3	7,05	0,05	A	
(EM-2)	3	7,88	0,05		B
(EM-3)	3	7,97	0,05		B

Realizado por: Sani Erica, 2019.

Como se muestra en el test de Tukey las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, por lo tanto el tiempo de reposo para que se floculen las soluciones es a partir de 15 horas para este ensayo, ya que las medias de estos ensayos no tiene mayor variabilidad.

### 3.3.1.2 Esterificación con Etanol

**Tabla 3-5.** Ensayo E. Obtención de Sapogenina con Etanol (Continua)

<b>Tiempo (HRS)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Crudo Saponina (g)*</b>	<b>Reposo (HRS)</b>	<b>Sapogeninas (g)**</b>	<b>Promedio de Sapogenina (g)</b>	<b>% Rendimiento de Sapogeninas</b>
6	230	10,0001	15 (EE-1)	7,4396	7,3893	73,89 ±0,13
				7,4928		
				7,2356		
			9 (EE-2)	7,4420	7,4451	74,51 ±0,14
				7,3014		
				7,5920		
3	7,1629	7,0239	70,24 ±0,13			

			(EE-3)	7,0136		
				6,8953		

\* representa la desviación estándar del crudo de saponina  $\pm 0,00$

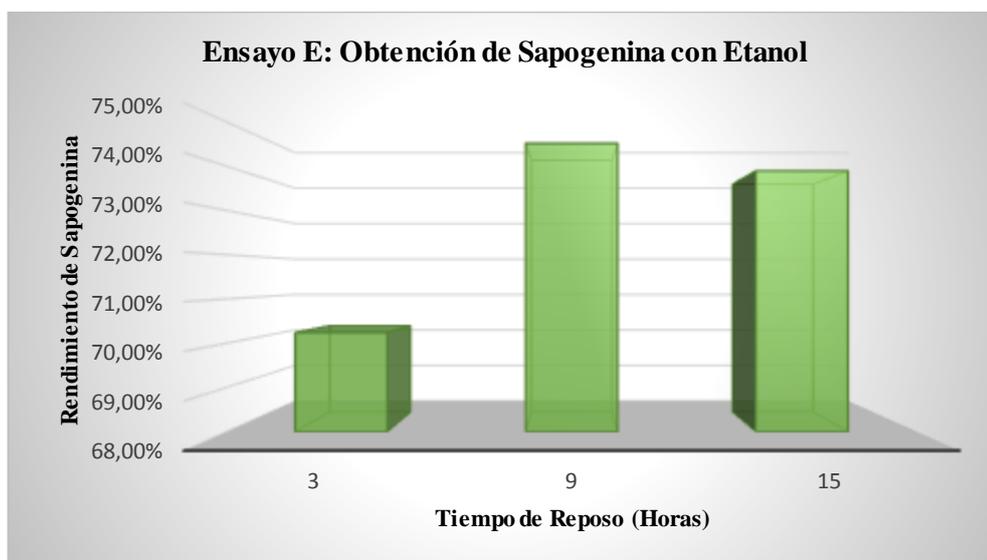
\*\* representa la desviación estándar de sapogenina  $\pm 0,00$

$\pm$  Desviación estándar

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

Para el ensayo de esterificación de saponina con solvente Etanol (EE), descrito en la Tabla 13-3, se trabajó en función del tiempo de reposo que tenía cada extracto después de pasar por el proceso de reflujo que duró 6 horas, es así que se aplicó un diseño de análisis estadístico DCA (Diseño Completamente Aleatorio) donde se aplicó un total de 9 ensayos, teniendo como variable el tiempo de reposo del extracto.

Se observó que el mejor rendimiento para la obtención de sapogenina en este ensayo usando etanol, fue EE-2 con un rendimiento de 74,51% con un tiempo de reposos de 9 horas. En el ensayo con mejor rendimiento se observó que al estar en reposo de 9 horas exactos, el extracto tiene una mayor floculación, pero al pasar más tiempo en la solución acida, la sapogenina aglutinada tiende a disolverse y en el momento de la filtración, la sapogenina no es retenida por el papel filtro debido a que ahora ya forma parte de la solución ácida.



**Gráfico 3-2.** Obtención de Sapogeninas con Etanol

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

Como se observa en el gráfico 7-3 el tiempo de reposo influye significativamente en la extracción de saponina, ya que la saponina expuesta al refluo, tiende a flocularse o aglutinarse, este fenómeno solo se dará si el extracto está frío y con 15 horas de reposo, ya que si se filtra antes del tiempo, las saponinas no se aglutinan en grandes partículas y no se retiene en el papel filtro.

**Tabla 3-6.** ANOVA del rendimiento en la obtención de Saponina con Etanol

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,31404024	2	0,15702012	8,187	0,019	5,14325285
Dentro de los grupos	0,11506998	6	0,01917833			
Total	0,42911022	8				

Realizado por: Sani Erica, 2019

En la tabla 3.6 se describe los valores obtenidos por el test de ANOVA, que demuestra que el valor p es menor que el nivel de significancia es decir, menor de 0,05, entonces se rechaza la hipótesis nula con un valor de confiabilidad de 95%, concluyendo que el tiempo de reposo sí influye en la cantidad de saponina extraída. Y por lo menos algún dato de todo el conjunto de valores, tiene una variación estadísticamente significativa, se realiza el test de Tukey.

**Tabla 3-7.** Test Tukey para el método la obtención de Saponina con Etanol

**Test: Tukey**

**Alfa= 0.05**

Ensayos	N	Medias	E.E	Agrupación	
(EE-2)	3	7,02	0,08	A	
(EE-1)	3	7,39	0,08		B
(EE-3)	3	7,45	0,08		B

Realizado por: Sani Erica, 2019.

Como se muestra en el test de Tukey las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, por lo tanto el tiempo de reposo para que se floculen las soluciones es a partir de 9 horas para este ensayo, ya que las medias de estos ensayos no tiene mayor variabilidad.

### 3.3.2 Hidrolisis de Saponinas

**Tabla 3-8.** Obtención de Sapogenina con Agua.

Tiempo (HRS)	Temperatura (°C)	Crudo Saponina (g)*	Reposo (HRS)	Sapogeninas (g)**	Promedio de Sapogenina (g)	% Rendimiento de Sapogeninas
6	230	10,0001	15 (EA-1)	7,9521	7,9495	79,50 ±0,05
				7,8945		
				8,0019		
			9 (EA-2)	7,6905	7,6657	76,66 ±0,07
				7,5825		
				7,7242		
			3 (EA-3)	7,2453	7,0831	70,83 ±0,14
				6,9934		
				7,0105		

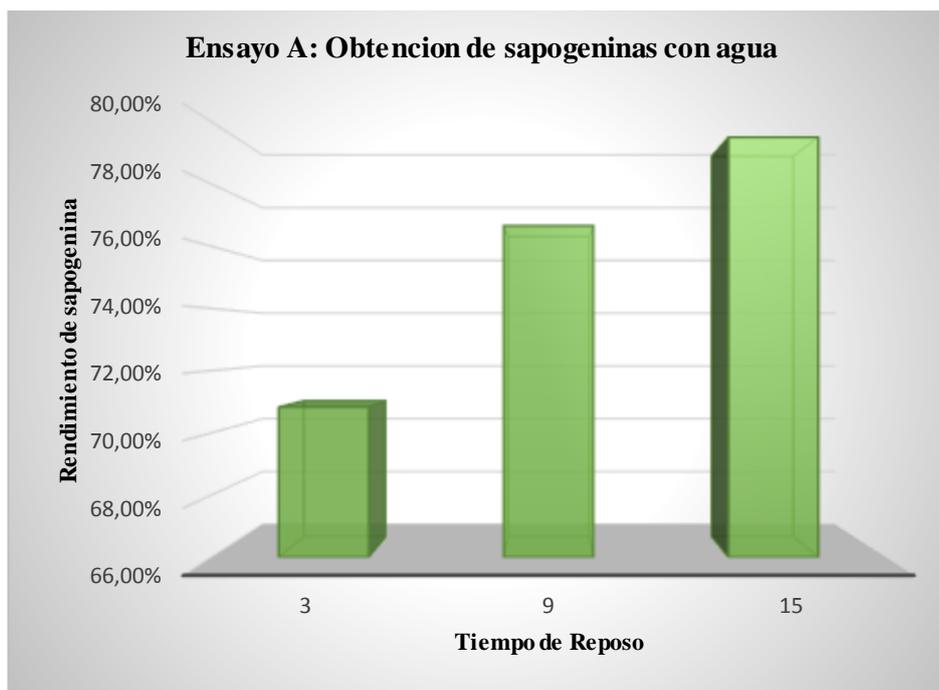
\* representa la desviación estándar del crudo de saponina ± 0,00

\*\* representa la desviación estándar de sapogenina ± 0,00

± desviación estándar

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

Se observó que el mejor rendimiento para la obtención de sapogenina en este ensayo de hidrolisis, fue EA-1 con un 79,50% en un tiempo de reposo de 15 horas. En el ensayo se observó que al estar en reposo a partir de 15 horas en adelante, el extracto tiene una mayor floculación, según (Rivas-Romero, Menés-Vuelta y Rómulo-Rodríguez 2017) las partículas después de un proceso químico se pueden aglutinar y/o flocular dependiendo las características que posean, en este caso las sapogeninas poseen esta propiedad, que se floculan de tal modo que ayudan en el filtrado, teniendo una mayor concentración y consistencia de sapogenina.



**Gráfico 3-3.** Obtención de Sapogeninas por hidrolisis

Realizado por: Sani Erica, 2019

Como se observa en el grafico 2-3 el rendimiento de sapogenina es mayor cuando el tiempo de reposo es de 15 horas, el tiempo de reposo influye significativamente en la extracción de sapogenina, ya que la saponina expuesta al proceso químico denominado reflujo, tiende a flocularse o aglutinarse, este fenómeno solo se dará si el extracto está frío y con 15 horas de reposo, ya que si se filtra antes del tiempo, las sapogeninas están libres en la solución y no se retiene en el papel filtro.

**Tabla 3-9.** ANOVA en la obtención de sapogeninas en agua

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,170730687	2	0,585365343	62,31	9,69E-05	5,14
Dentro de los grupos	0,056362733	6	0,009393789			
Total	1,22709342	8				

Realizado por: Sani Erica, 2019

En la tabla 16-3 se describe los valores obtenidos por el test de ANOVA, que demuestra que el valor p es menor que el nivel de significancia es decir, menor de 0,05, entonces se rechaza la hipótesis nula con un valor de confiabilidad de 95%, concluyendo que el tiempo de reposo sí influye en la cantidad de sapogenina extraída en el ensayo de extracción por hidrolisis. Y por lo menos algún dato de todo el grupo de ensayos, tiene una variación estadísticamente significativa se realiza el test de Tukey.

**Tabla 3-10.** Test Tukey para el método la obtención de Sapogenina con agua.

**Test: Tukey**

**Alfa= 0.05**

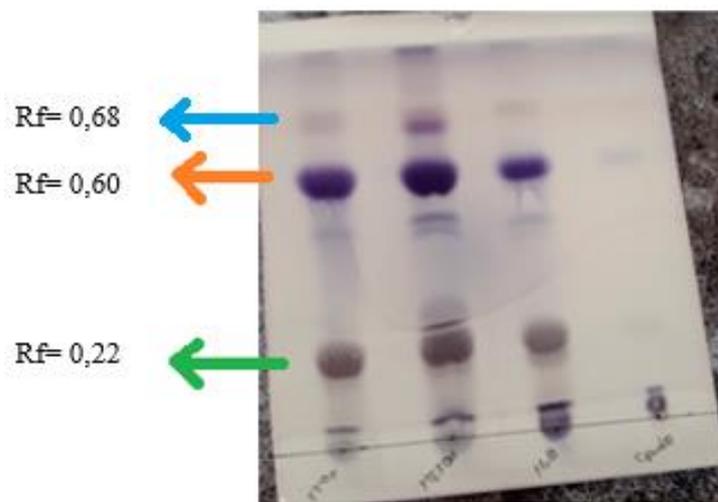
<b>Ensayos</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>E.E</b>	<b>Agrupación</b>		
<b>(EA-3)</b>	3	7,08	0,06	A		
<b>(EA-2)</b>	3	7,67	0,06		B	
<b>(EA-1)</b>	3	7,95	0,06			C

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

Como se muestra en el test de Tukey las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, por lo tanto el tiempo de reposo para que se floculen las soluciones pueden variar por el tiempo de reposo, ya que las medias de estos ensayos tienen variabilidad entre sí.

### 3.4 Identificación de saponinas y sapogeninas

#### 3.4.1 Cromatografía en capa fina TLC



**Figura 3-1.** TLC de muestras de sapogeninas

Fase estacionaria-placa de Silica gel; fase móvil tolueno y Etil acetato 60:40; revelado con vainillina-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5% y en placa a 120°C

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

El revelador utilizado de vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5%, es un revelador general y ayuda en la identificación de triterpenos. En (Velazco 2003, p. 22) menciona que las mejores condiciones de temperatura para la placa cromatográfica al ser sometida a calor es de 110 a 130°C, por un tiempo de 3 a 10 minutos, dependiendo lo que la placa requiera.

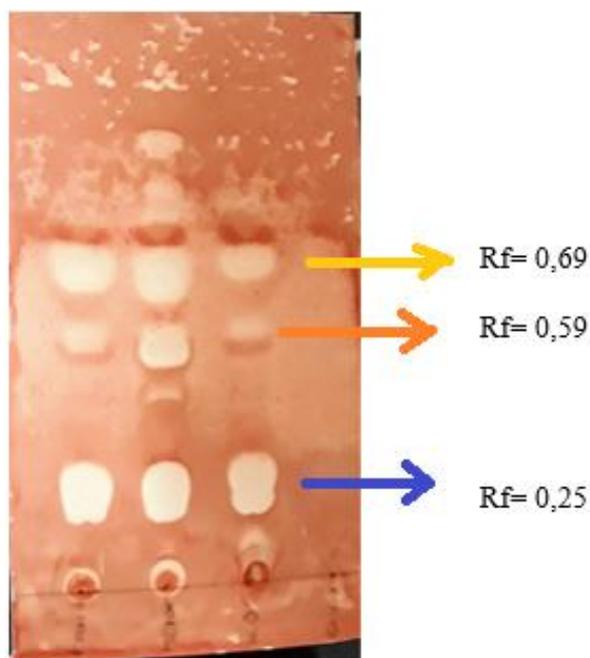
Los compuestos terpénicos tendrán una coloración azulada violácea, indicando así que son sapogeninas y los verificamos calculando los valores Rf, teniendo como resultado una primera mancha violeta con un Rf de 0,22, segunda mancha violeta intensa con una Rf de 0,60 y por último, una tercera mancha violácea casi invisible con un Rf de 0,68 correspondiente según bibliografía, a diferentes tipos de sapogenina o derivados de terpenos pentacíclicos. (Bonilla et al. 2019, p. 17)

En (Bonilla et al. 2019) que el Rf en las sapogeninas tienen un valor entre 0,20 hasta 0,70. Igualmente indica que el factor de retención dependerá también del solvente utilizado como fase móvil, en

este caso, los valores están referidos para TCL con fase estacionaria de Silica gel y fase móvil de Etil acetato, como en nuestro caso.

### 3.4.2 Cromatografía TCL por hemólisis

La sangre es utilizada como revelador debido a que en este tipo de muestras, al estar en contacto con la sapogenina se produce una ruptura o “lisis” de la membrana del eritrocito la cual provoca la liberación de la hemoglobina, de esta manera la placa de Silica gel al pasar 1 minuto después de la atomización, empieza a parecer manchas blancas. Dependerá del azúcar que el Rf esté presente e la CCF. (Guzmán y Carazo 2014, p. 9). Que según (Santos Y Sánchez 2009) son las rupturas de los glóbulos rojos, quedando espacios en blanco. Ésta es específica para saponinas y sapogeninas.



**Figura 3-2.** Cromatografía TLC por hemólisis

Fase estacionaria-placa de Silica gel; fase móvil tolueno y Etil acetato 60:40; revelado con sangre 1.

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

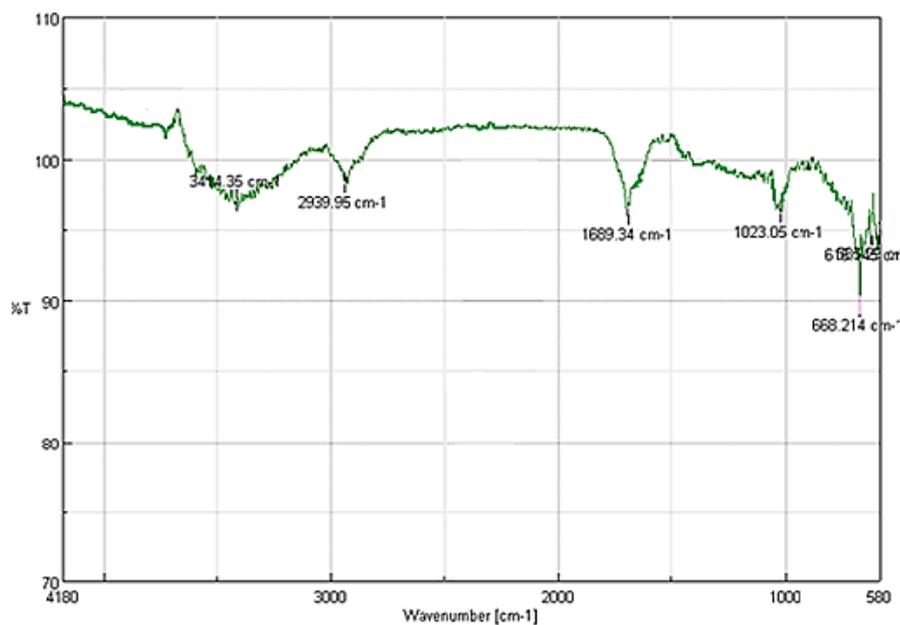
El resultado obtenido se corrobora con el revelado con vainillina-  $H_2SO_4$  5% y se determina el valor Rf, en esta placa se obtuvo 3 marcas significativas, teniendo como resultados un primer Rf de 0,25, el segundo Rf de 0,59 y un tercer Rf de 0,69 correspondiente a los diferentes tipos de sapogenina.

Se concluye que según los resultados obtenidos por cromatografía TCL, existen varios tipos de saponinas, debido a que después de pasar por el proceso químicos reflujó, se evidenciaron varias marcas de color violeta, que según la bibliografía son saponinas, las cuales puede tener un esqueleto como el ácido oleanólico, ácido serjanico o ácido 3 $\beta$ ,23,30- trihidroxi olean-12-en-28-oico, hederagenina y ácido fitolacagénico. Estos compuestos podrían identificarse utilizando un equipo de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) o espectrometría de Masas.

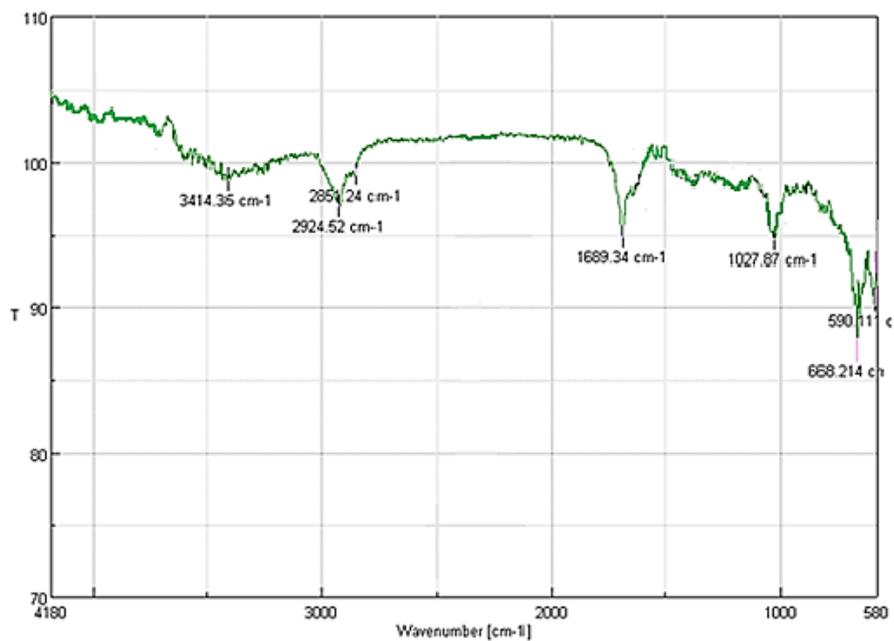
### **3.4.3 Análisis de espectroscopia IR**

Las muestras analizadas por IR no son compuestos aislados, son compuestos obtenidos de la esterificación y la hidrolisis de saponina. Que según TCL y por comparación bibliográfica son saponinas de tipo triterpénicas.

✓ **Espectros de Esterificación de Saponinas**



**A: Espectro IR de EM**



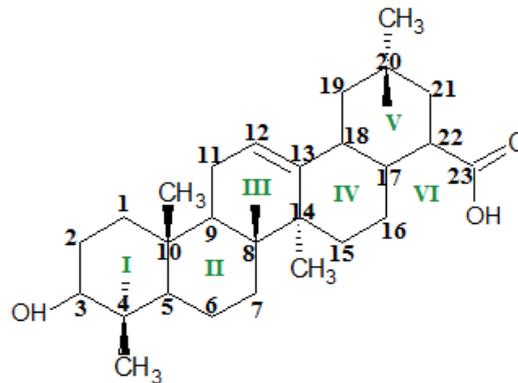
**B: Espectro IR de EE**

**Gráfico 3-4.** Espectro IR de EM y EE

Realizado por: Sani Erica, 2019

Los espectros de la esterificación de saponinas muestran picos de absorción comunes tanto para EM y EE. Estas bandas características corresponden a 3420 – 3250  $\text{cm}^{-1}$  (O – H del Carbohidrato)

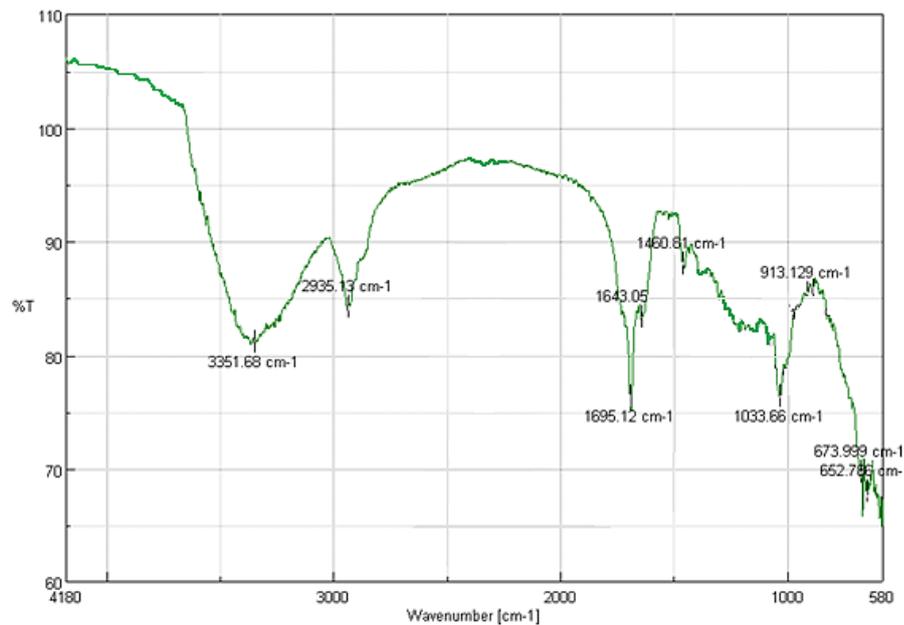
, a  $2990 - 2850 \text{ cm}^{-1}$  (C - H del -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-, -CH- compuestos alifáticos de los anillos 1-4), a  $1670 - 1690 \text{ cm}^{-1}$  (enlace doble: C = C, entre C<sub>12</sub> - C<sub>13</sub> y C<sub>23</sub>), a  $1445 - 1455 \text{ cm}^{-1}$  (flexión C - H de -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-, -CH-), a  $1380 - 1370 \text{ cm}^{-1}$  (flexión CH<sub>3</sub> presente en toda la estructura), a  $1280 - 1150 \text{ cm}^{-1}$  (estiramiento C-O-C del grupo éster: C<sub>22</sub> - O - R<sub>1,6,2</sub>),  $645 - 575 \text{ cm}^{-1}$  (flexión C-O-C del éster del C<sub>23</sub>).



**Gráfico 3-5.** Estructura química de saponinas.

Realizado por: Sani Erica, 2019

### ✓ Espectro de la Hidrolisis de Saponinas



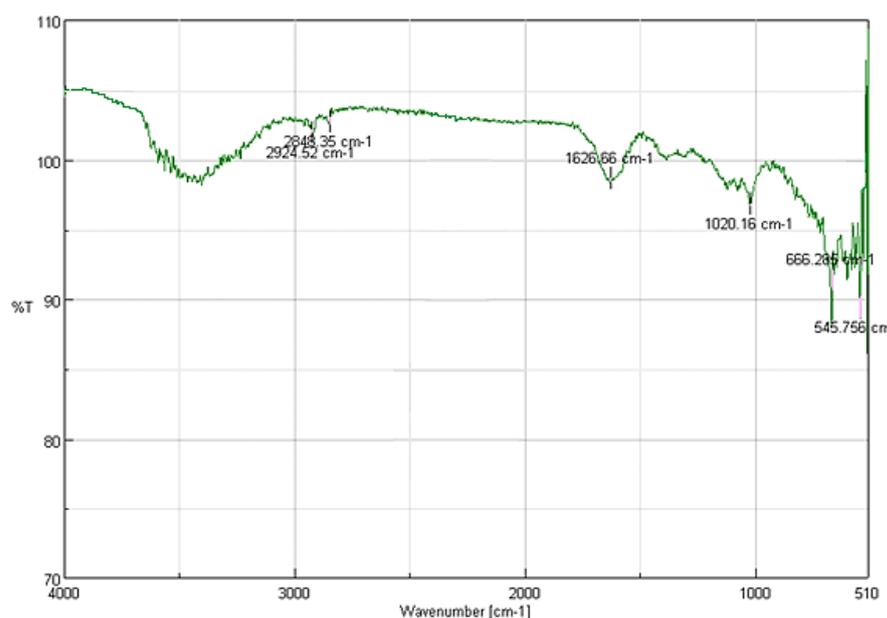
**Gráfico 3-6.** Espectro IR de la hidrolisis

Realizado por: Sani Erica, 2019

Los picos de absorción correspondientes al espectro IR de la hidrolisis poseen las siguientes bandas características: a  $3420 - 3250 \text{ cm}^{-1}$  (estiramiento del O - H del  $C_3$ ), a  $2850 - 2990 \text{ cm}^{-1}$  (estiramientos del C - H del  $C_3 - CH_3$ , -  $CH_3$ , -  $CH_2$ -, -  $CH$  -), a  $1630 \text{ cm}^{-1}$  (enlace doble no conjugado:  $C = C$ , entre  $C_{23}$  y  $C_{12} - C_{13}$ ), a  $1465 - 1440 \text{ cm}^{-1}$  (flexión C - H de - $CH_3$ , compuesto alifático), a  $1033 \text{ cm}^{-1}$  (flexión CH - OH del  $C_3$ ), a  $913 \text{ cm}^{-1}$  ( $CH_2 = CH$  del  $C_{12}$ ), a  $673 - 652 \text{ cm}^{-1}$  ( Flexión de C - OH de  $C_3$  y  $C_{23}$ ).

Se comparó los resultados obtenidos con diferentes bibliografías, para poder verificar la presencia de saponina es así que los datos obtenidos coinciden satisfactoriamente con saponinas extraídas por hidrolisis. (Galarraga 2014, p. 11)

### ✓ Espectro de Crudo de Saponina

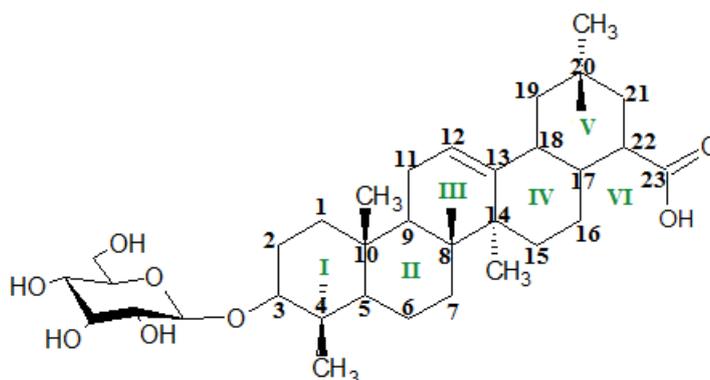


**Gráfico 3-7.** Espectro IR de EA (hidrolisis)

Realizado por: Sani Erica, 2019

El espectro IR de la saponina cruda tiene picos de absorción característicos de las siguientes bandas: a  $2924 \text{ cm}^{-1}$  (estiramientos del C - H del  $C_3 - CH_3$ , -  $CH_3$ , -  $CH_2$ -, -  $CH$  -), a  $1630 \text{ cm}^{-1}$  (enlace doble no conjugado:  $C = C$ , entre  $C_{23}$  y  $C_{12} - C_{13}$ ), a  $1020 \text{ cm}^{-1}$  (flexión CH - OH del  $C_3$ ), a  $1626 \text{ cm}^{-1}$  (flexión de  $C=O$  del  $C_{23}$ ), a  $666 \text{ cm}^{-1}$  (torcedura de  $C=O$  en el  $C_{23}$ ) y a  $545 \text{ cm}^{-1}$  (flexión de  $C-C=O$  en el  $C_{22}$ ).

Finalmente se comparó el espectro IR de saponinas crudas, teniendo una coincidencia en los valores de los picos de absorción, que según varias bibliografías se confirma el resultado obtenido. (Jasso Cantú y Soliz 2017)



**Gráfico 3-8.** Estructura química de la Saponina Cruda

Realizado por: Sani Erica, 2019

De acuerdo a la literatura los picos de absorción del espectro IR, estas bandas resultantes de los cuatro espectros corresponden con la estructura de la hederagenina, según la comparación con el espectro de Maldonado García. (Maldonado García et al. 2012, p. 32)

### 3.5 Tamizaje fitoquímico del crudo de saponina

**Tabla 3-11.** Resultados del tamizaje fitoquímico de Sapogenina y crudo de Saponina

Ensayo	Metabolito	Metanol	Etanol	Agua	Crudo
<i>Liebermann Burchard</i>	Triterpenos y/o esteroides	++	++	++	++
<i>Fehling</i>	Azucares reductores	-	-	+	+++
<i>Espuma</i>	Saponina	+	+	+	+++
<i>Sudan</i>	Compuestos grasos	-	-	-	+++
<i>Lugol</i>	Almidón	-	-	-	+++

Realizado por: Sani Erica, 2019

**Donde:**

(+) Se obtiene una baja intensidad de reacción presente en ese metabolito.

(++) Se obtiene una intensidad moderada de reacción presente en ese metabolito.

(+++) Se obtiene una intensidad alta de reacción presente en ese metabolito.

Para el análisis de tamizaje fitoquímico, se realizó con las muestras de sapogenina extraída por reflujo y la saponina cruda, para tener una referencia de la intensidad de reacción en cada ensayo y ver diferencias significativas en los resultados. Como en la determinación azúcares reductores para sapogeninas la reacción es baja, mientras que en la saponina cruda la reacción de Fehling es muy intensa.

La reacción de Liebermann Burchard se empleó para diferenciar si se tenía una estructura esteroidea o triterpénica de esta manera se observó una coloración que va desde rojo a verde y púrpura cuando la reacción ya ha finalizado, se tiene como resultado un compuesto triterpénico, resultado que es correcto y sustentado en bibliografía que cuya coloración es representativa de sapogeninas triterpénicas. (Arias 2010, p. 4-5)

Se concluye que después del reflujo, las sapogeninas pierden ciertos metabolitos debido a la ruptura del enlace glucósido, Así mismo no se encontró ningún tipo de metabolitos no deseados. Es así que la sapogenina aún conserva estructuras triterpénicas, el nivel de espuma a comparación del crudo de saponina, es casi imperceptible. La presencia de almidón y compuesto grasos no se encuentran presentes en la sapogeninas, mientras que todos estos metabolitos mencionados tiene una gran intensidad en el crudo de saponina.

### 3.6 Análisis Químico de muestras

#### 3.6.1 Índice de Yodo

Tabla 3-12: Resultados de Índice de Yodo en las muestras.

	<b>Índice de Yodo</b>	<b>Interpretación de Resultados</b>
<b>Muestra de sapogenina esterificada en metanol</b>	Nulo	No se pudo calcular, debido a que nunca hubo viraje de color, interpretándose que no existen dobles enlaces en la muestra.
<b>Muestra de sapogenina esterificada en etanol</b>	Nulo	No se pudo calcular, debido a que nunca hubo viraje de color, interpretándose que no existen dobles enlaces en la muestra.
<b>Muestra de sapogenina ext. por hidrolisis</b>	1,01 cg/100g	Se necesitan 1,01 centigramos de yodo absorbidos para saturar la muestra, es decir que existen un número mínimo de dobles enlaces.
<b>Muestra de crudo de saponina.</b>	174,49 cg/100g	Se necesitan 174,49 centigramos de yodo absorbidos para saturar la muestra, es decir que existen un número significativo de dobles enlaces.

Realizado por: Sani Erica, 2019

Se concluye que las muestras de saponinas esterificadas no presentan dobles enlaces, a excepción del crudo de saponina y de la saponina hidrolizada ya que estas necesitan una cantidad de yodo para poder saturar las muestras.

#### 3.6.2 Índice de Acidez

Tabla 3-13: Resultados de Índice de Acidez en las muestras. (Continúa)

	<b>Índice de Acidez</b>	<b>Interpretación de Resultados</b>
<b>Muestra de sapogenina esterificada en metanol</b>	Nulo	No se pudo calcular, debido a que nunca hubo viraje de color, interpretándose que no existen dobles enlaces en la muestra.

<b>Muestra de sapogenina esterificada en etanol</b>	Nulo	No se pudo calcular, debido a que nunca hubo viraje de color, interpretándose que no existen dobles enlaces en la muestra.
<b>Muestra de sapogenina ext. por hidrolisis</b>	0.13 mg/g	Se necesitan 0,13 gramos de K(OH) para neutralizar los ácidos grasos contenidos en la muestra, es decir que existen un número mínimo de ácidos grasos libres.
<b>Muestra de crudo de saponina.</b>	22,44 mg/g	Se necesitan 22,44 gramos de K(OH) para neutralizar los ácidos grasos contenidos en la muestra, es decir que existen un número significativo de ácidos grasos libres.

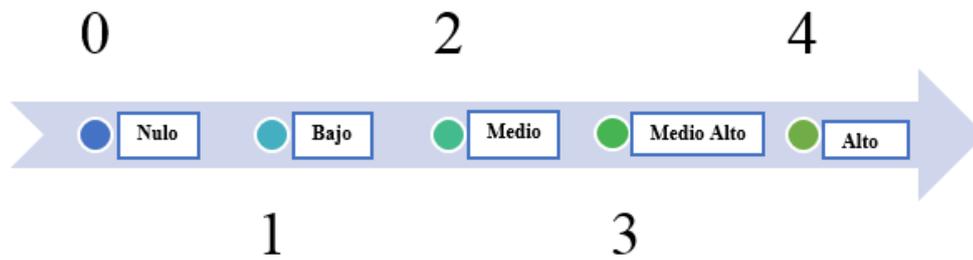
**Realizado por:** Sani Erica, 2019

Se concluye que las muestras de saponinas esterificadas no presentan ácidos grasos libres, lo cual se reafirma el resultado del tamizaje fitoquímico donde el ensayo de Sudan III para determinar dicho metabolito nos da como resultado negativo, a excepción del crudo de saponina y de la saponina hidrolizada que al igual en el ensayo antes mencionado nos dio resultado positivo.

### **3.7 Análisis Descriptivo de las Emulsiones**

Las sapogeninas están constituidas por grandes moléculas orgánicas, como esteroides o triterpenos, unidas a una o varias azúcares, por lo que contienen los elementos necesarios para emulsionar la grasa: una parte lipofílica, que es el esteroide o triterpeno, por medio del cual se unirá a la grasa, y una parte hidrofílica, que es el azúcar, por medio de la cual se unirá al agua. (Santizo 2013, p. 67)

Para la obtención de las emulsiones se tomó en cuenta la metodología de las emulsiones de tipo Pickering, la misma que fue modificada para obtener un mejor resultado. Se aplicó el análisis descriptivo debido a que se describirá la formación de la emulsión en los 72 ensayos realizados, de acuerdo a la concentración de saponina y sapogeninas, y los distintos volúmenes de O:W. Se definirá mediante un rango propuesto a continuación:



**Gráfico 3-9.** Rango de formación de emulsiones.

Realizado por: Sin Erica, 2019

**Donde:**

0= nula formación de emulsión

1= baja formación de emulsión

2= media formación de emulsión

3= media alta formación de emulsión

4= formación alta de emulsión

En las siguientes tablas se indica los resultados obtenidos de cada ensayo realizado, teniendo en cuenta el rango establecido. Además se utilizó tablas de frecuencia para establecer los ensayos con mejores resultado en la formación de emulsiones.

**3.7.1 Emulsiones obtenidas con Metanol**

**Tabla 3-14:** Resultados de Emulsión en EM. (Continúa)

	Concentración de sapogenina [SCg]	Concentración de volumen [O:W]	Código	Resultado
Muestra del Ensayo de esterificación con Metanol	4% (X)	1:1 (A)	EMX-A1	4
			EMX-A2	4
			EMX-A3	4
		1,5:0,5 (B)	EMX-B1	0
			EMX-B2	0
			EMX-B3	0

	7,5% (Y)	0,5:1,5 (C)	EMX-C1	2
			EMX-C2	1
			EMX-C3	2
		1:1 (A)	EMY-A1	4
			EMY-A2	3
			EMY-A3	4
	1,5:0,5 (B)	EMY-B1	0	
		EMY-B2	0	
		EMY-B3	0	
	0,5:1,5 (C)	EMY-C1	3	
		EMY-C2	3	
		EMY-C3	2	

Realizado por: Sani Erica, 2019

Para determinar el mejor resultado en la formación de emulsiones se utilizó las tablas de frecuencia en donde se indica los resultados desde 0 a 4. De acuerdo al rango establecido.

**Tabla 3-15.** Resultados de frecuencias.

Código de experimento	Resultado de Frecuencias				
	0	1	2	3	4
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EMX-B1</li> <li>• EMX-B2</li> <li>• EMX-B3</li> <li>• EMY-B1</li> <li>• EMY-B2</li> <li>• EMY-B3</li> </ul>	6				
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EMX-C2</li> </ul>		1			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EMX-C1</li> <li>• EMX-C3</li> <li>• EMY-C3</li> </ul>			3		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EMY-A2</li> <li>• EMY-C1</li> <li>• EMY-C2</li> </ul>				3	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EMX-A1</li> <li>• EMX-A2</li> <li>• EMX-A3</li> <li>• EMY-A1</li> <li>• EMY-A3</li> </ul>					5

Realizado por: Sani Erica, 2019

Existen 6 ensayos que tuvieron una formación nula de emulsión, con una concentración de 4% y 7,5% de sapogenina y un volumen de (1,5:0,5) O: W, donde no se logró unir sus fases. Un ensayo donde se formó una baja emulsión, es decir que sus fases se unieron, pero se separaron al dejar de agitarlos, esto ocurrió con 4% de concentración de sapogenina y un volumen de (0,5:1,5) O:W.

Hay 3 ensayos con una formación media de emulsión, es decir que las fases se unieron, pero formaron coalescencia a los 3 minutos de reposo. Tres ensayos con una formación media alta de emulsión, es decir que permanecieron homogenizados pero formaron coalescencia a 10 minutos de reposo.

Se formaron 5 ensayos con una formación de alta de emulsión, es decir que se mantuvieron constantemente homogenizados. Se obtuvieron 3 emulsiones con una concentración de 4% y 2 emulsiones con 7,5% de concentración de sapogenina, en un volumen de 1:1 O:W. Nunca formaron coalescencia.

Sin tomar en cuenta los valores nulos, se concluye, que el ensayo EM se obtuvo 5 emulsiones con la mejor formación de emulsión de acuerdo al rango propuesto. Teniendo como factor esencial el volumen de 1:1 de agua y aceite, con 3 ensayos a una concentración del 4% y 2 ensayos con 7,5% de sapogenina, estos perduraron el tiempo de evaluación de estabilidad y nunca formaron coalescencia.

### 3.7.2 Emulsiones con obtenidas con Etanol

**Tabla 3-16.** Resultados de Emulsión en EE

	Concentración de sapogenina [SCg]	Concentración de volumen [O:W]	Código	Resultado
Muestra del Ensayo de esterificación con Etanol	4% (X)	1:1 (A)	EEX-A1	3
			EEX-A2	3
			EEX-A3	2
		1,5:0,5 (B)	EEX-B1	0
			EEX-B2	0
			EEX-B3	0
		0,5:1,5 (C)	EEX-C1	1
			EEX-C2	1
			EEX-C3	1
	7,5% (Y)	1:1 (A)	EEY-A1	2
			EEY-A2	2
			EEY-A3	1
		1,5:0,5 (B)	EEY-B1	0
			EEY-B2	0
			EEY-B3	0
0,5:1,5 (C)		EEY-C1	2	
		EEY-C2	2	
		EEY-C3	1	

Realizado por: Sani Erica, 2019

Para determinar el mejor resultado en la formación de emulsiones se utilizó las tablas de frecuencia en donde se indica los resultados de acuerdo al rango establecido. (Hazbón y Junca-Burgos 2011)

**Tabla 3-17.** Resultados de valores con frecuencia Cero

Código de experimento	Resultado de Frecuencias				
	0	1	2	3	4
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EEX-B1</li> <li>• EEX-B2</li> <li>• EEX-B3</li> <li>• EEY-B1</li> <li>• EEY-B2</li> <li>• EEY-B3</li> </ul>	6				
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EEX-C1</li> <li>• EEX-C2</li> <li>• EEX-C3</li> <li>• EEY-A3</li> <li>• EEY-C3</li> </ul>		5			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EEX-A3</li> <li>• EEY-A1</li> <li>• EEY-A2</li> <li>• EEY-C1</li> <li>• EEY-C2</li> </ul>			5		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EEX-A1</li> <li>• EEX-A2</li> </ul>				2	
• -----					-----

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

Existen 6 ensayos que tuvieron una formación nula de emulsión, con una concentración de 4% y 7,5% de sapogenina y un volumen de (1,5:0,5) O: W, no se logró unir sus fases. Cinco ensayos donde se formó una baja emulsión, es decir que sus fases se unieron, pero se separaron al dejar de agitarlos, esto ocurrió en 3 ensayos de 4% y 2 ensayos con 7,5% de concentración de sapogenina y un volumen de (0,5:1,5) O:W.

Hay 3 ensayos con una formación media de emulsión, es decir que las fases se unieron, pero formaron coalescencia a los 3 minutos de reposo y dos ensayos con una formación media alta de emulsión, es decir que permanecieron homogenizados pero formaron coalescencia a 10 minutos de reposo.

Se concluye, que el ensayo EE se obtuvo 2 emulsiones con el mejor índice de emulsión de acuerdo al rango propuesto. Sin embargo con mayor incidencia tenemos emulsiones de baja y mediana formación. Dando como conclusión que la sapogenina en etanol no es un buen emulsificante.

### 3.7.3 Emulsiones obtenidas por Hidrólisis

**Tabla 3-18.** Resultados de Emulsión en Hidrolisis.

	Concentración de sapogenina [SCg]	Concentración de volumen [O:W]	Código	Resultado
Muestra de sapogenina extraída por hidrolisis	4% (X)	1:1 (A)	EAX-A1	3
			EAX-A2	3
			EAX-A3	3
		1,5:0,5 (B)	EAX-B1	0
			EAX-B2	0
			EAX-B3	0
		0,5:1,5 (C)	EAX-C1	3
			EAX-C2	2
			EAX-C3	3
	7,5% (Y)	1:1 (A)	EAY-A1	4
			EAY-A2	4
			EAY-A3	3
		1,5:0,5 (B)	EAY-B1	0
			EAY-B2	0
			EAY-B3	0
		0,5:1,5 (C)	EAY-C1	2
			EAY-C2	3
			EAY-C3	2

Realizado por: Sani Erica, 2019

Para determinar el mejor resultado en la formación de emulsiones se utilizó las tablas de frecuencia en donde se indica los resultados de acuerdo al rango establecido.

**Tabla 3-19.** Resultados de frecuencias.

Código de experimento	Resultado de Frecuencias				
	0	1	2	3	4
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EAX-B1</li> <li>• EAX-B2</li> <li>• EAX-B3</li> <li>• EAY-B1</li> <li>• EAY-B2</li> <li>• EAY-B3</li> </ul>	6				
<ul style="list-style-type: none"> <li>• -----</li> </ul>		-----			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EAX-C2</li> <li>• EAY-C1</li> <li>• EAY-C3</li> </ul>			3		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EAX-A1</li> <li>• EAX-A2</li> <li>• EAX-A3</li> <li>• EAX-C1</li> <li>• EAX-C3</li> <li>• EAY-A3</li> <li>• EAY-C2</li> </ul>				7	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• EAY-A1</li> <li>• EAY-A2</li> </ul>					2

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

Existen 6 ensayos que tuvieron una formación nula de emulsión, con una concentración de 4% y 7,5% de sapogenina y un volumen de (1,5:0,5) O: W, no se logró unir sus fases. Tres ensayos con una formación media de emulsión, es decir que las fases se unieron y permanecieron así, pero sus triplicados fueron diferentes, debido a que algunos se separaron y otros se mantuvieron estables, se obtuvieron con concentraciones de 4% y 7,5% de sapogeninas, con un volumen de 0,5:1,5 O/W.

Se obtuvieron 7 ensayos con una formación media alta de emulsión, es decir que permanecieron homogenizados pero formaron coalescencia a 10 minutos de reposo. Dos ensayos con una formación de alta de emulsión, es decir que se mantuvieron constantemente homogenizados. Se obtuvieron 3 emulsiones con una concentración de 4% y 2 emulsiones con 7,5% de concentración de sapogenina, en un volumen de 1:1 O:W. Nunca formaron coalescencia.

Sin tomar en cuenta los valores nulos, se concluye, que el ensayo EA se obtuvo 2 emulsiones con nivel 4 en la formación de emulsión de acuerdo al rango propuesto. Teniendo como factor esencial

el volumen de 1:1 de agua y aceite. Y con una concentración del 7,5% de saponina, estos perduraron el tiempo de evaluación de estabilidad y nunca formaron coalescencia.

### 3.7.4 Emulsiones con Crudo de Saponina

**Tabla 3-20.** Resultados de Emulsión en Crudo de saponina.

	Concentración de saponina [SCg]	Concentración de volumen [O:W]	Código	Resultado
Muestra de Crudo de saponina	4% (X)	1:1 (A)	CrX-A1	2
			CrX-A2	2
			CrX-A3	1
		1,5:0,5 (B)	CrX-B1	0
			CrX-B2	0
			CrX-B3	0
		0,5:1,5 (C)	CrX-C1	2
			CrX-C2	2
			CrX-C3	1
	7,5% (Y)	1:1 (A)	CrY-A1	3
			CrY-A2	2
			CrY-A3	2
		1,5:0,5 (B)	CrY-B1	0
			CrY-B2	0
			CrY-B3	0
		0,5:1,5 (C)	CrY-C1	3
			CrY-C2	3
			CrY-C3	2

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

Para determinar el mejor resultado en la formación de emulsiones se utilizó las tablas de frecuencia en donde se indica los resultados de acuerdo al rango establecido.

**Tabla 3-21.** Resultados de frecuencias. (Continúa)

Código de experimento	Resultado de Frecuencias				
	0	1	2	3	4
<ul style="list-style-type: none"> <li>• CrX-B1</li> <li>• CrX-B2</li> <li>• CrX-B3</li> <li>• CrY-B1</li> <li>• CrY-B2</li> <li>• CrY-B3</li> </ul>	6				
<ul style="list-style-type: none"> <li>• CrX-A3</li> <li>• CrX-C3</li> </ul>		2			

• CrX-A1					
• CrX-A2					
• CrX-C1					
• CrX-C2			7		
• CrY-A2					
• CrY-A3					
• CrY-C3					
• CrY-A1				3	
• CrY-C1					
• CrY-C2					
• -----					-----

**Realizado por:** Sani Erica, 2019

Existen 6 ensayos que tuvieron una formación nula de emulsión, con una concentración de 4% y 7,5% de sapogenina y un volumen de (1,5:0,5) O: W, no se logró unir sus fases. Dos ensayos donde se formó una baja emulsión, es decir que sus fases se unieron, pero se separaron al dejar de agitarlos, esto ocurrió con 4% de concentración de sapogenina.

Hubo 7 ensayos con una formación media de emulsión, es decir que las fases se unieron, pero formaron coalescencia a los 3 minutos de reposo. Tres ensayos con una formación media alta de emulsión, es decir que permanecieron homogenizados pero formaron coalescencia a 10 minutos de reposo.

Sin tomar en cuenta los valores nulos, se concluye, que el ensayo Cr se obtuvo 3 emulsiones con una formación media alta de emulsión de acuerdo al rango propuesto. Teniendo como factor esencial el volumen de 1:1 y 0,5:1,5 de agua y aceite. Y con una concentración del 7,5% de sapogenina.

Finalmente de acuerdo a los resultados obtenidos, las emulsiones formadas con sapogenina esterificada con metanol, ya que se obtuvo 5 ensayos en nivel 4 en la formación de emulsión, donde 3 ensayos se tuvo con concentración del 4% y una proporción 1:1 de O/W y 2 ensayos al 7,5% en proporción 1:1 de O/W.

De igual manera la sapogenina resultante de la hidrólisis, también es una muy buena opción para la formación de emulsión, ya que la sapogenina hidrolizada logró formar 2 emulsiones un nivel

4, las cuales corresponden a concentraciones de 7,5% de sapogenina y una proporción 1:1 de O/W.

De este modo se pudo verificar que las condiciones óptimas para formar emulsiones son: una concentración de 7,5% y una proporción de 1:1 de O/W, tanto para la sapogenina esterificada en metanol como para la sapogenina hidrolizada. Las emulsiones obtenidas por metanol no se van a poder utilizar la sapogenina extraída por este solvente, ya que es muy toxico

## CONCLUSIONES

- En las emulsiones obtenidas EM, EE, EA y Cr se encontró que el ensayo EM es el mejor emulsionante, con un nivel 4 que corresponde a la alta formación considerando el rango implementado en la experimentación, en condiciones de 4% de concentración de sapogenina y en un volumen de 1:1 de agua y aceite.
- De acuerdo a la metodología implementada por la investigación se obtuvo un 32% de rendimiento en la extracción de saponina y un rendimiento de 79,50% en la hidrólisis ácida con HCl al 4 N con un tiempo de reposo de 15 horas.
- Los ésteres de sapogenina fueron obtenidos en metanol, etanol, y agua, con un rendimiento de 79,73%, 74,51 y 79,50% de sapogeninas respectivamente, y un tiempo de reposo 15, 9 y 15 horas de reposo.
- Al comparar la capacidad emulsionante de las diferentes emulsiones, se encontró que la sapogenina esterificada en metanol es el mejor emulsionante por tener un nivel 4 que corresponde a una elevada formación, en condiciones de volumen en proporción 1:1 de agua y aceite, con concentración de 4% y 7,5% de sapogenina, ya que estos perduraron por 3 días de evaluación de estabilidad y no formaron coalescencia.

## RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda realizar formulaciones farmacológicas con las muestras de sapogenina extraídas.
- ✓ Experimentar la extracción de sapogeninas en tiempo elevado a 6 horas de reflujo y mayor tiempo de reposo, superando las 15 horas.
- ✓ Se recomienda la identificación de la estructura de la saponina y sapogeninas por Resonancia Magnética Nuclear (NMR) y Espectrometría de Masas (MS)
- ✓ Análisis toxicidad de los muestras esterificados e hidrolizadas

## **GLOSARIO**

**TCL** Cromatografía en capa fina

**Fc** Distribución de frecuencias

**IR** Infrarrojo

**SC** Suma de cuadrados

**GL** Grados de libertad

**CM** Cuadrados medios

**Rf** factor de retención

**EM** muestras de sapogenina extraída con metanol

**EE** muestras de sapogenina extraída con etanol

**EA** muestras de sapogenina extraída por hidrolisis

**Cr** crudo de saponina

**SC<sub>1</sub>** concentración de sapogenina o saponina [4%]

**SC<sub>2</sub>** concentración de sapogenina o saponina [7,5%]

**REPT** repeticiones

**A** volumen 1:1 de agua y aceite

**B** volumen 1,5:0,5 de agua y aceite

**C** volumen 0,5:1,5 de agua y aceite

**Mojuelo:** residuo sólido que resulta del proceso de escarificación de la quinua, considerado como un desecho para las industrias.

**Quinua:** especie vegetal propia de la zona Andina, caracterizada por poseer grandes propiedades nutricionales, cosméticas y farmacéuticas.

**Saponina:** son azúcares característicos de ciertas especies vegetales, que pueden actuar como defensa de la planta por su sabor amargo.

**Emulsiones Pickering:** es un fenómeno de estabilización de emulsiones, donde se emplean partículas sólidas como agentes emulsificantes.

**Hidrofílica:** aquellas moléculas que tienen la capacidad de disolverse en el agua o en otras sustancias con carácter polar.

**Reflujo:** técnica experimental de laboratorio para el calentamiento de reacciones que transcurren a temperatura superior a la ambiente y en las que conviene mantener un volumen de reacción constante.

**Hidrofóbica:** son todas aquellas moléculas que no se disuelven en agua.

## BIBLIOGRAFIA

**AHUMADA, Andrés; et al.** “Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico”. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas, [en línea], 2016, (Colombia) 45(3), pp. 438-469. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/62043>.

**ALARCON, K.L.**, “Extracción de saponinas del fruto de la *sapindus saponaria* (choloque), y sus aplicaciones”. Rev. Protección Veg. [en línea], 2016, (La Paz, Bolivia) 31(1), pp. 25. ISSN:2224-4697 Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v31n1/rpv09116.pdf>.

**ALLAUCA, L.J.G.**, “Elaboración de un emulsionante cosmético a base de las saponinas del agua de lavado de quinua (*Chenopodium quinoa*) en ERPE. [en línea]. (Tesis). (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2013. p.117 Disponible en: <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/2471/1/56T00352.pdf>.

**ARIAS, A.L.R.**, “Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de hojas y flores de la *Turnera Ulmifolia* L.” Revista Peruana de Química e Ingeniería Química, vol.16, n°2 (2010), (Lima, Perú). pp. 7. DOI 10.1010/j.fbp.2010.07.001.

**ARZAVE, R.**, “Determinación del índice de acidez y acidez total de cinco mayonesas”. , vol. 1, no. 2, (2016), pp. 7. DOI 10.1016/j.foodchem.2017.04.187

**BONILLA, H; et al.** “Determinación de la actividad insecticida de la saponina de la quinua (*Chenopodium quinoa*) en larvas de *Drosophila melanogaster*”. Scientia Agropecuaria, vol. 10, no. 1, (2019) pp. 39-45. ISSN 2077-9917. DOI 10.17268/sci.agropecu.2019.01.04.

**CÁRDENAS, Y.A.**, “Floculación y Coagulación” *Food and Bioproducts Processing* [en línea], 2008,( Brasil) 111(1), pp. 44. ISSN 0960-3085. DOI 10.1008/j.fbp.2018.07.001.

**CARRASCO, F.** “Diccionario de Ingredientes Cosméticos”. (2009), Cuarta edición, pp. 46-48.

**DE LA TORRE-HERRERA, J; et al.** “La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), un tesoro andino para el mundo”, 2016, vol. 31, no. 2, (Arica), pp. 111-114. ISSN 0718-3429. DOI 10.4067/S0718-34292013000200017.

**DOBARGANES, M.C.** “Application of the accelerated test Rancimat to evaluate oxidative stability of dried microencapsulated oils”. *Grasas y Aceites*, 2000, vol. 51, no. 4, pp. 261-267. ISSN 0017-3495, 1988-4214.

**FAO.** “Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura”. Food and Agriculture Organization of the United Nations [en línea], 2019, Disponible en: <http://www.fao.org/home/es/>.

**GALARRAGA, E.,** 2014. “Triterpenos y saponinas triterpénicas de *Phytolacca icosandra* y *Phytolacca rugosa*.”. Revista Ingenium [en línea], 2014, pp. 14. Ciencia. DOI <http://dx.doi.org/10.18259/ing.2014010>

**GALARZA, C.** “Componentes de las emulsiones cosméticas.” Cremas y Jabones [en línea]. 2015, Disponible en: <http://cremasyjabones.com/componentes-de-las-emulsiones-cosmeticas-y-emulsionantes/>.

**GESTIÓN, R.** “Saponina de quinua peruana: un ingrediente de la cosmética”. Gestión [en línea], 2016, pp. 18. Disponible en: <https://gestion.pe/tendencias/saponina-quinua-peruana-ingrediente-cosmetica-125566>.

**GUILCAPI, V.B.** “Evaluación de métodos para la extracción de saponina presente en el mojuelo de quinua amarga (*Chenopodium quinoa*)”. [en línea]. (Tesis). (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. 2019, pp. 117.

**GUZMÁN BAUTISTA, J.H.** “Competitividad de la quinua perlada para exportación: el caso de Puno”. Ingeniería Industrial, 2013, vol. 1, no. 031, pp. 91. ISSN 1025-9929. DOI [10.26439/ing.ind2013.n031.14](https://doi.org/10.26439/ing.ind2013.n031.14).

**HAZBÓN, H.R. y JUNCA-BURGOS, E.G.** “Manejo quirúrgico del reflujo gastroesofágico en la Universidad Nacional de Colombia”, 2011, sede Bogotá. , pp. 11. ISSN:2256-5035. Disponible en: [http://revistas.sena.edu.co/index.php/inf\\_tec/article/view/1451/1918](http://revistas.sena.edu.co/index.php/inf_tec/article/view/1451/1918).

**HERNÁNDEZ ROYERO, R.** “Obtención de crudos de saponinas hipocolesteromizantes del *Chenopodium quinoa Willd*”. Revista Cubana de Medicina Militar, 1997, vol. 26, no. 1, pp. 55-62. ISSN 0138-6557.

**HIRICH, A.; et al.** “Using deficit irrigation with treated wastewater in the production of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) in Morocco”. Revista Científica UDO Agrícola, 2012, vol. 12, no. 3, pp. 570-583. ISSN 1317-9152.

**INDUNN NATURE.** “Tensioactivos No Iónicos” Idun Nature. [en línea], 2013, Disponible en: <https://www.idun-nature.com/blog/archivos/tag/tensioactivos-no-ionicos/>.

**JASSO, CANTÚ y SOLIZ, J.** “*Quinoa para Forraje: Análisis de Concentración y Composición de Saponinas*”. 2017, pp. 8. Oleaginosas. Disponible en [http://revistas.sena.edu.co/index.php/inf\\_tec/article/view/1451/1918](http://revistas.sena.edu.co/index.php/inf_tec/article/view/1451/1918).

**JIMÉNEZ, C.** “*Química de plantas medicinales del Perú: glicósido de mussatia sp. y lignanos de Zanthoxylum*.” [en línea]. <http://purl.org/dc/dcmitype/Text>. S.l.: Universidad de Santiago de Compostela, 1988. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=54638>.

**JULIO, G.; et al.** “*Quinoa de valle (Chenopodium quinoa Willd.): fuente valiosa de resistencia genética al mildiu (Peronospora farinosa Willd)*”, Journal of Food composition and analysis, 2012, vol. 3, pp. 19.

**K, MAYOLO; et al.** “*Técnicas cromatográficas y su aplicación a estudios de cambios conformacionales, estabilidad y replegamiento de proteínas*.” [en línea]. Biotecnología, 2012. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-27382012000300006](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000300006).

**LAMAS, M.L; et al.** “*Aplicación de la cromatografía en capa fina al cribado de fármacos en orina. NACC: Nova acta científica compostelana*.” Biología, 1981, no. 4, pp. 353-372. ISSN 1130-9717.

**MALDONADO H.J.; et al.** “*Estudio de saponinas esteroidales de especies peruanas del género dioscorea*.” Revista de la Sociedad Química del Perú, 2012, vol. 78, no. 3, pp. 208-218. ISSN 1810-634X.

**MARTÍN, SÁNCHEZ.; et al.** “*Reactivo de Lugol: Historia de su descubrimiento y aplicaciones didácticas*”. Educación Química, 2013, vol. 24, no. 1, pp. 31-36. ISSN 0187893X. DOI 10.1016/S0187-893X(13)73192-6.

**MENA VALDÉS, L.; et al.** “*Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de Sapindus saponaria L. (jaboncillo)*.” Revista Cubana de Plantas Medicinales, 2015, vol. 20, no. 1, pp. 106-116. ISSN 1028-4796.

**MEYHUAY, M.,** 2019. QUINUA: Operaciones de Poscosecha. 2019. S.l.: Instituto de Desarrollo Agroindustrial (INDDA).

**MIA RÍOS, D.G.,** 2017. Saponina de quinua peruana: un ingrediente de la cosmética. EEAS - European Commission [en línea]. [Consulta: 18 junio 2019]. Disponible en: [https://eeas.europa.eu/delegations/peru/18339/node/18339\\_mn](https://eeas.europa.eu/delegations/peru/18339/node/18339_mn).

**MORA AZNAR, T.M.**, 2002. “*Estudio de los mecanismos de cristalización primaria y eutéctica de aleaciones del sistema*”. [en línea]. [Consulta: 14 noviembre 2019]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/handle/10803/3328>.

**NAVARRO, MARCOS.**, “*Emulsiones.*” [en línea]. 2016. Disponible en: [https://navarrof.orgfree.com/Docencia/FQaplicada/UT4/UT4\\_t2.htm](https://navarrof.orgfree.com/Docencia/FQaplicada/UT4/UT4_t2.htm).

**NÚÑEZ, R.Á., PÉREZ, B.R. y CHIRINOS, M.**, 2012. “*Contenido de azúcares totales, reductores y no reductores en Agave cocui Trelease.*” , pp. 8.

**OLARTE, CALSINA; et al.** 2016. “*La quinua en el contexto de la estandarización.*” *Agroalimentaria*, vol. 22, no. 43, pp. 89-102.

**ORESTES, GUERRA; et al.** 2008. “*Saponinas esteroideas de la planta Agave brittoniana (Agavaceae) con actividad contra el parásito Trichomona vaginalis.*” *Revista de Biología Tropical*, vol. 56, no. 4, pp. 1645-1652. ISSN 0034-7744.

**ORIOLES PLADEVALL, N.**, 2007. “*Cromatografía en capa prima (TLC). Una eina útil per al conservador-restaurador.*” *Dialnet* [en línea]. [Consulta: 14 noviembre 2019]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3390230>.

**PÁEZ ÁLVAREZ, A.M; et al.** 2018. “*Emulsiones tipo pickering a base de almidones modificados como agentes emulsificantes.*” Artículo de revisión. *Revista de Investigación*, vol. 11, no. 1, pp. 127-139. ISSN 2590-6062, 2011-639X. DOI 10.29097/2011-639X.185.

**PEREZ, G.**, “*Espectrometría infrarroja*”. [en línea]. 2015. Disponible en: [https://www.espectrometria.com/espectrometra\\_infrarroja](https://www.espectrometria.com/espectrometra_infrarroja), pp 39.

**RAMOS, Y.**, “*¿Qué son las Saponinas?*” Blog de Fitness, Nutrición, Salud y Deporte. Blog HSN [en línea]. 2017. Disponible en: <https://www.hsnstore.com/blog/que-son-las-saponinas/>.

**RIVAS, ROMERO y RODRÍGUEZ, RÓMULO.**, “*Tratamiento por coagulación-floculación a efluente de la Empresa del Níquel Comandante Ernesto Che Guevara.*” *Tecnología Química*, 2017, vol. 37, no. 2, pp. 173-183. ISSN 2224-6185.

**RODRÍGUEZ, I.N. y LEYVA, J.A.M.**, “*Consideraciones sobre la hidrólisis y saponificación de aceites y grasas.*” *Alimentaria: Revista de tecnología e higiene de los alimentos*, 1989, no. 203, pp. 37-43. ISSN 0300-5755.

**ROSAS, J.P.O.**, “*Evaluación de la producción de ácido oleanólico y otros metabolitos secundarios*”. *Journal of Medicinal Plants Studies* [en línea], 2011, (India) 4(5), pp. 171-174.

ISSN: 2320-3862 Disponible en:  
<https://pdfs.semanticscholar.org/d958/51e174eb803dd51ce46a19bfa716c5b61dae.pdf> , pp. 103.

**RUBÉN, DAZA,** “*Quinoa, regalo ancestral: historia, contexto, tecnología, políticas.*” *Scientia Agropecuaria* [en línea], 2015, (España) 6(4), pp. 291-301. DOI 10.17268/sci.agropecu.2015.04.06. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3576/357643270006.pdf>

**SALDAÑA MANUEL,** “*Emulsionantes y gelificantes: Jabonarium.*” [en línea]. 2018. Disponible en: <https://www.jabonariumshop.com/emulsionantes-y-gelificantes>.

**SANCHEZ, J.,** “*Practicas Pre Profesional de Ingenieria Metalurgica Aliaga Renzo*”. Scribd [en línea]. 2014. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/360704768/Practicas-Pre-Profesional-de-Ingenieria-Metalurgica-2017-Aliaga-Renzo-1>.

**SANTANA, J.C.,** “*La curva de rendimientos: una revisión metodológica y nuevas aproximaciones de estimación.*” [en línea]. 2008. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-47722008000100004](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-47722008000100004).

**SANTIZO, D.,** “*Aislamiento y cuantificación gravimétrica de saponinas esteroideas contenidas en yucca elephantipes (izote)*”. Universidad de Guatemala. 2013, pp. 52.

**SANTOS Y SANCHEZ, H.,** “*Purificación y evaluación hemolítica.*” 2009. S.l.: Universidad Autónoma de México. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de ciencias químicas y farmacia, [en línea], 2013, pp 38-47.

**SULLCA, Z. y ERIKA, S.,** “*Evaluación del método de extracción sólido – líquido de la saponina de 5 cultivares de quinua (Chenopodium Quinoa Willd), su encapsulamiento y utilización en la alimentación.*” Universidad Nacional del Altiplano [en línea], 2016. Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/2432>.

**THOMSON, J.R.,** “*¿Cómo crece la quinoa? Así son sus plantas y cultivos.*” HuffPost [en línea]. 2017. Disponible en: [https://www.huffingtonpost.es/2017/06/08/como-crece-la-quinoa-asi-son-sus-plantas-y-cultivos\\_a\\_22122580/](https://www.huffingtonpost.es/2017/06/08/como-crece-la-quinoa-asi-son-sus-plantas-y-cultivos_a_22122580/).

**TORRES, P.,** “*Identificación de las principales saponinas de una fracción apolar obtenida de la hidrólisis de un extracto acuoso de quillaja saponaria mol. y su actividad frente a la enzima glicógeno fosforilasa.*” 2011. S.l.: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, pp 48-27.

**UVAROVA, M.L.**, “Efecto de la lipofilización sobre las propiedades funcionales de la harina de palmiste (*Elaeis guineensis*).” *Grasas y Aceites*, 2005, vol. 56, pp. 8.

**VELAZCO, F.**, “Cromatografía en Capa Fina y Espectrofotometría en luz Ultravioleta:: Validez actual y Aplicabilidad para detectar Cocaína o Benzoilecgonina en Orinas de Pacientes Farmacodependientes En proceso de Rehabilitación”. [en línea]. 2003. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-04692003000100010](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04692003000100010).

**YARA VARÓN, E. Y SUESCUN OSPINA, F.**, “Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante de extractos acuoso y orgánicos de *justicia pectoralis jacq. (amansa toros)* y de volátiles y no volátiles de *lippia alba mil. (Pronto alivio)* cultivadas en diferentes pisos térmicos.” 2007. S.l.: s.n.

**ZÁRALAGA, M.**, Cromatografía preparativa y bidimensional. [en línea]. 2007. Disponible en: <https://www.textoscientificos.com/quimica/cromatografia/bidimensional>.

## ANEXOS

### Anexo A. Evidencia de extracción de Saponinas

Pesar el mojuelo de quinua.



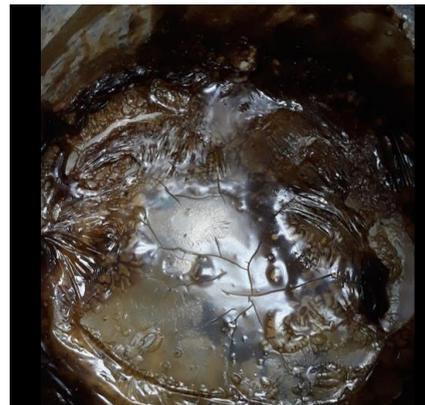
Filtrar el agua de lavado



Calentar el agua de lavado.

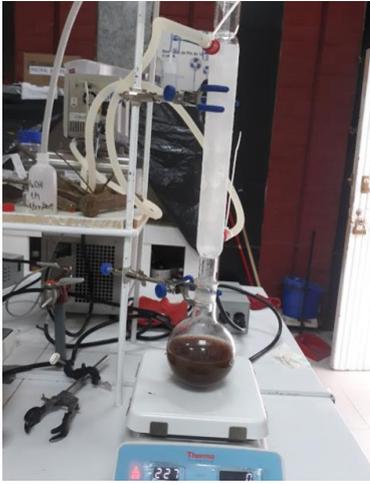


Saponina Cruda.



## Anexo B. Evidencia de extracción de Sapogeninas

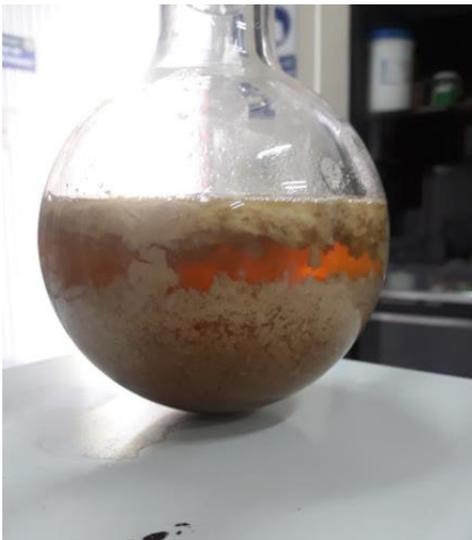
Equipo de Reflujo



Solución de sapogeninas floculada



Después de 9 horas de reposo



Filtración de Sapogeninas



Secado de la sapogenina en estufa

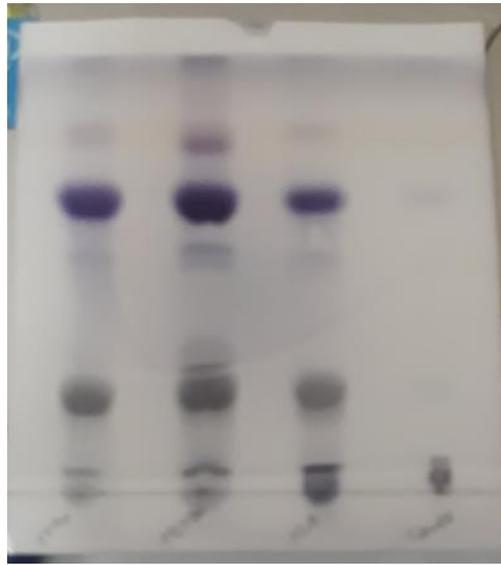


**Anexo C.** Evidencia de cromatografías TCL revelados con Vainillna y Ac Sulfurico 5%

Primera Cromatografía TCL



Compuestos triterpénicas.



**Anexo D:** Evidencia de cromatografías TCL revelados con Sangre 1%

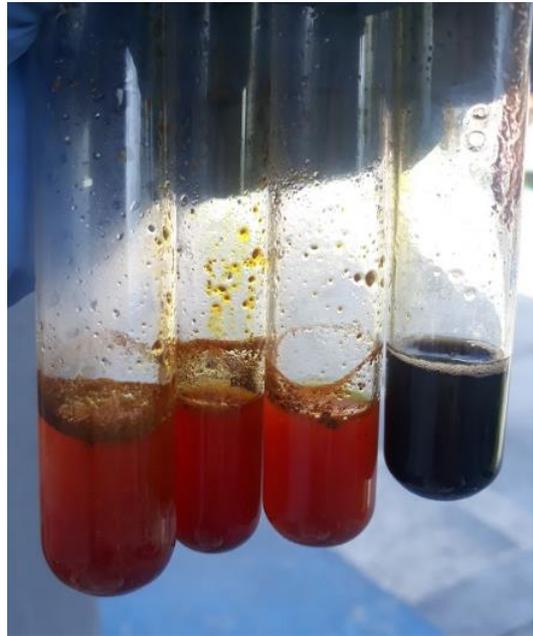


**Anexo E. Evidencia del Tamizaje Fitoquímica.**

Test de Fehling,



Ensayo de Lugol



Nivel de espuma de Saponina



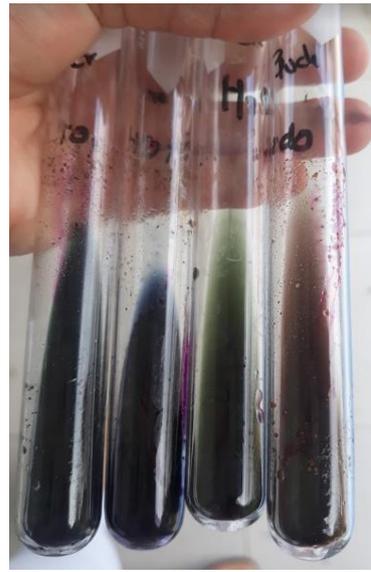
Nivel de espuma de Sapogeninas



Ensayo de Sudan IV

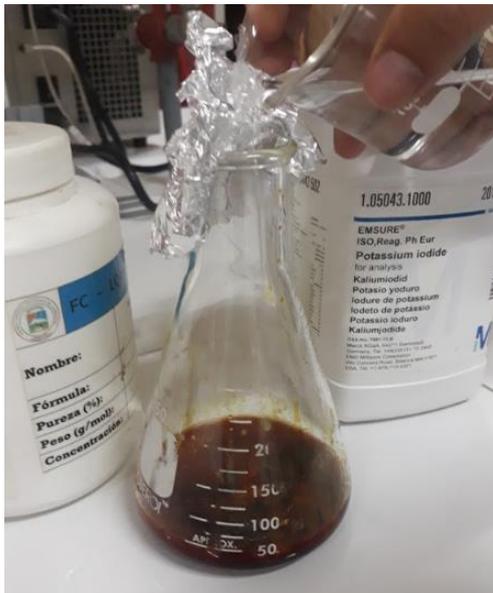


Ensayo Lieberman-Burchard



Anexo F. Análisis Químicos – índice de Yodo

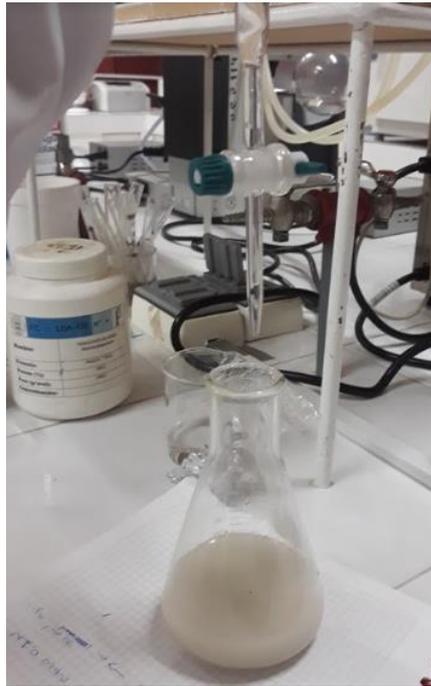
Preparación de la muestra



Primer Viraje de Color



Final del viraje de color.



**Anexo G. Análisis Químicos – índice de Acidez**

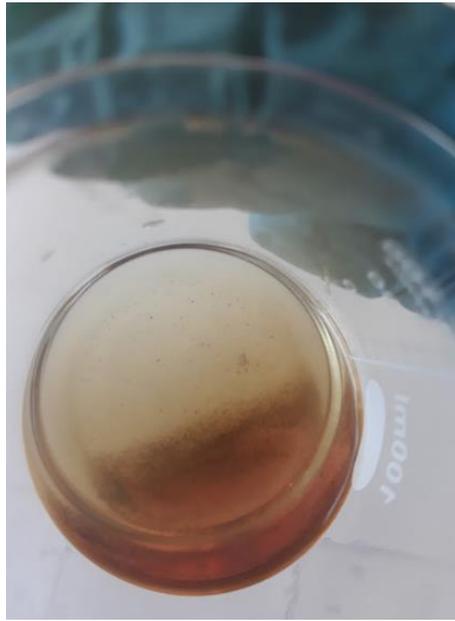
Preparación de la muestra



Primer viraje de color

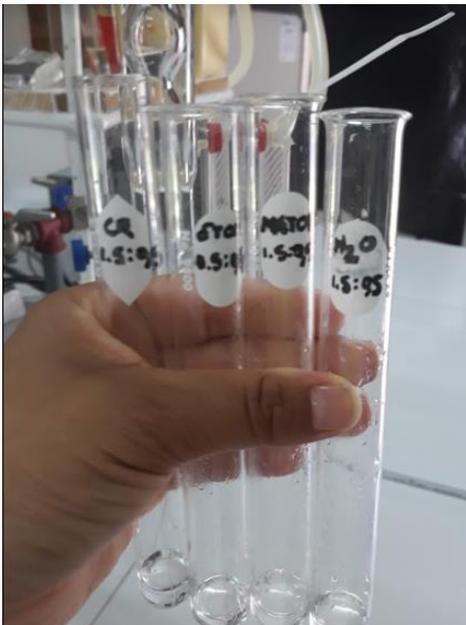


Final del viraje



**Anexo H.** Evidencia de la formacion de emulsiones.

Proporciones O:W



Emulsión con sapogenina hidrolizada



Emulsiones en proporción 1:1 de O:W



Proporción 1,5:0,5 de W/O

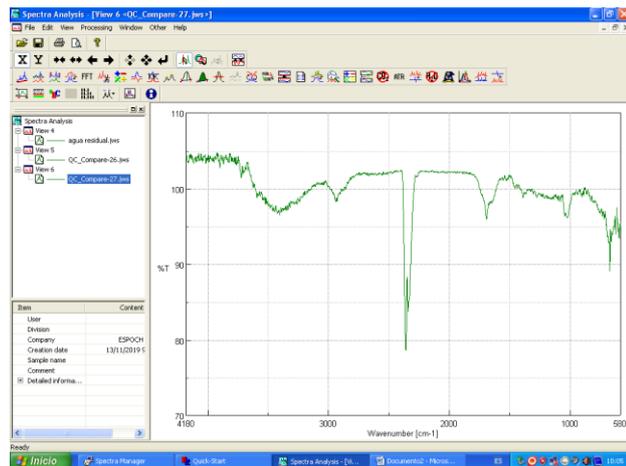


## Anexo I. Espectros IR

Equipo FT-IR

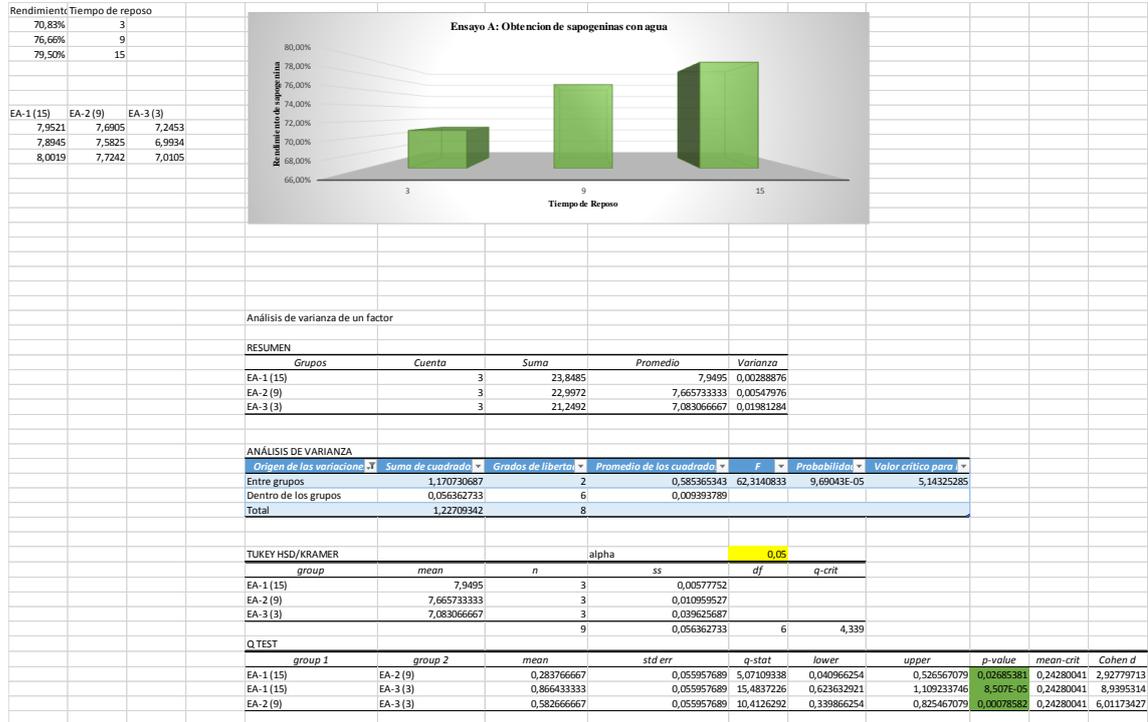


Espectro ir



## Anexo J. Calculos de ANOVA y TUKEY en excel

### ANOVA y TUKEY de la esterificación con Metanol



### ANOVA y TUKEY de la esterificación con Metanol

