

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA



“OBTENCIÓN DE SAPONINA DE LA CORTEZA DE
QUINUA (CHENOPODIUM QUINOA) MEDIANTE
EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO QUÍMICO

HEIDY KARELY HUAMAN VIERA

SHEYLA GABRIELA SHUAN HUANCA

Callao, enero, 2018

PERÚ

PRÓLOGO DEL JURADO

La presente tesis fue expuesta por los bachilleres **HUAMAN VIERA, HEIDY KARELY** y **SHUAN HUANCA SHEYLA GABRIELA** ante el JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS conformado por los siguientes docentes:

Ing. Dr. RODRÍGUEZ TARANCO OSCAR JUAN	Presidente
Ing. Mg. RODRÍGUEZ VILCHEZ RICARDO	Secretario
Ing. Mg. IPANAQUE MAZA CALIXTO	Vocal
Lic. Mg. REYNA SEGURA ANA MARÍA	Miembro Suplente
Ing. ROBERTO LAZO CAMPOSANO	Asesor

Tal como está asentado en el Libro N°1 Folio N°026 Acta N°025 de la Sustentación por la Modalidad de Tesis con Ciclo de Tesis, de fecha **25 DE ENERO DEL 2018**, para optar el título profesional de Ingeniero Químico en la modalidad de Tesis con Ciclo de Tesis, de conformidad establecido por el Reglamento de Grados y Títulos aprobado por Resolución N°309-2017-CU de fecha 24 de octubre del 2017 y la Directiva N°012-2013-R aprobada mediante la Resolución N°777-2013-R de la fecha 29 de agosto del 2013.

DEDICATORIA

A nuestros padres quienes nos enseñaron a luchar por nuestros propósitos en la vida.

ÍNDICE

TABLA DE CONTENIDO	4
RESUMEN.....	8
ABSTRACT.....	9
I.PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	10
1.1 Identificación del problema	10
1.2 Formulación del problema	11
1.3 Objetivos de la investigación	11
1.4 Justificación	12
1.5 Importancia	13
II.MARCO TEÓRICO	14
2.1 Antecedentes del estudio.....	14
2.2 Principio de extracción.....	16
2.3 Quinoa (Chenopodium Quinoa)	19
2.4 Taxonomía de la corteza de la Quinoa	20
2.5 Producción y comercio de Quinoa en el Perú.....	23
2.6 Saponinas.....	27
2.7 Clasificación de Saponina.....	28
2.8 Saponina de Quinoa	30
2.9 Aplicaciones comerciales de la saponina	32
2.10 Industrialización de la Saponina	34
2.11 Saponina en el Perú	41
2.12 Proceso de desaponificación	43

2.13	Extracción de saponinas.....	45
2.14	Factores que afectan la velocidad de extracción	51
2.15	Definición de términos utilizados	51
III.	VARIABLES E HIPÓTESIS.....	53
3.1.	Variables de la investigación	53
3.2.	Operacionalización de las variables	54
3.3.	Hipótesis general e hipótesis específicas	55
IV.	METODOLOGÍA.....	56
4.1	Tipo de investigación	56
4.2	Diseño de la investigación.....	57
4.3	Población y muestra	58
4.4	Técnicas e instrumentos de recolección de información.....	58
4.5	Procedimiento de recolección de datos	62
4.6	Procedimiento estadístico y análisis de datos	80
V.	RESULTADOS.....	83
5.1.	Resultado Parciales.....	83
5.2.	Resultados Finales.....	90
VI.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	92
6.1.	Contrastación de hipótesis con los resultados.....	92
6.2.	Contrastación de resultados con otros estudios similares	92
VII.	CONCLUSIONES.....	94
VIII.	RECOMENDACIONES	95
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96

ANEXOS.....	101
Anexo 1 Matriz de consistencia.....	101
Anexo 2 Informe de ensayo N° 1-12532/17 CERPER.....	102
Anexo 3 Informe de ensayo analítico preliminar N° 0012-17 Biotransversal.....	103

TABLA DE CONTENIDO

FIGURAS

2.1 Esquema de extracción sólido-líquido	18
2.2 Inflorescencia de la Quinoa.....	21
2.3 Cultivo de Quinoa	22
2.4 Producción de Quinoa nacional y regional.....	23
2.5 Evolución de exportaciones de Quinoa.....	25
2.6 Exportaciones a países de la Unión Europea	26
2.7 Estructura molecular generalizada de saponina	27
2.8 Estructura de una saponina triterpénica	29
2.9 Estructura de saponina esteroidal - espirostánica	30
2.10 Estructura de saponina esteroidal - furostánica	30
2.11 Agliconas de saponina triterpénicas de Chenopodium Quinoa.....	31
2.12 Comparación de precios de surfactantes y saponinas naturales	35
2.13 Partida arancelaria de la Quinoa.....	41
2.14 % CIF de importaciones de saponina	43
2.15 Extracción con Soxhlet	47
2.16 Principio de extracción asistido con microondas.....	48
2.17 Unidad de Baño Ultrasonido	49
2.18 Reactor para extracción con alta presión.....	50
3.1 Definición de las variables de investigación.....	53
4.1 Diseño de la investigación	57
4.2 Cosecha de Quinoa	62

4.3 Quinoa sesgada.....	63
4.4 Trillado de Quinoa.....	63
4.5 Escarificadora	64
4.6 Mojuelo de Quinoa	65
4.7 Altura de la espuma	66
4.8 Tamices	67
4.9 Muestras tamizadas de 200 y 500	67
4.10 Determinación de grado de alcohol	68
4.11 Extracción Soxhlet	69
4.12 Extracción al 50% etanol – agua.....	69
4.13 Extracción al 75% etanol – agua.....	70
4.14 Concentración de saponina	70
4.15 Extracto de saponina	71
4.16 Prueba de Salkowski	72
4.17 Identificación de saponina.....	73
4.18 Estabilidad de la espuma.....	74
4.19 Hidrólisis de saponina	75
4.20 Extracción de sapogenina.....	76
4.21 Extractos Clorofórmicos	76
4.22 Sapogenina.....	77
4.23 Espectrofotómetro.....	80
5.1 Diseño de Taguchi	89
5.2 Gráfica de efectos principales.....	89

TABLAS

2.1 Taxonomía de la Quinoa.....	20
2.2 Pesos netos importados de saponina en Kg (2012-2016)	42
2.3 Valor CIF y % CIF de importaciones de saponina (2012-2016).....	42
3.1 Operacionalización de las variables.....	54
4.1 Tamizado de la muestra.....	67
4.2 Peso del extracto	71
4.3 Resultados de la curva de calibración de las saponinas patrón.....	78
4.4 Niveles de los factores	81
4.5 Diseño factorial	82
5.1 Composición del mojuelo de Quinoa	83
5.2 Test afrosimétrico	85
5.3 Concentración de saponinas de la cáscara de Chenopodium Quinoa Pasankalla (Quinoa)	86
5.4 Porcentaje de Saponina.....	87
5.5 Porcentaje de Rendimiento.....	88
5.6 Parámetros óptimos para la obtención de saponina	91

GRÁFICOS

4.1 Curva de calibración para la cuantificación de saponinas triterpénicas pentacíclicas.....	79
--	----

RESUMEN

En la presente tesis desarrollamos un método de extracción de saponina en residuos de escarificado de Quinoa de la variedad Pasankalla con mezclas etanol y agua utilizando el equipo Soxhlet, para determinar las condiciones de extracción se aplicó un diseño experimental factorial, en donde se evaluó la concentración del solvente, tamaño de partícula y relación sólido/líquido. El contenido de saponina se determinó utilizando los métodos de espuma y espectrofotométrico UV en el mojuelo y los extractos respectivamente. La variable respuesta nos permitió identificar que las condiciones óptimas de extracción de saponina en la corteza de la Quinoa son a menor tamaño de partícula (diámetro medio menor a 200 μm), con una relación de 20 mL de solvente por cada gramo de mojuelo y utilizando una mezcla de etanol/agua al 50% obteniendo un rendimiento de extracción de 75.75%. Además, concluimos que el factor que ejerce un mayor efecto sobre el rendimiento de la extracción es el porcentaje de alcohol del solvente.

Palabras clave: Saponinas, equipo Soxhlet, extracción sólido-líquido, método afrosimétrico.

ABSTRACT

In this thesis we developed a method of extraction of saponin in the Pasankalla variety of quinoa scarifier residues with ethanol and water mixtures using the Soxhlet equipment, to determine the extraction conditions we used a factorial experimental design, where the concentration of the solvent, particle size and solid/liquid ratio was assessed. The content of Saponin was determined using the methods of foam and UV spectrophotometric in the Mojuelo and extracts respectively. The variable response allowed us to identify that the optimal conditions of extraction of saponin in the crust of quinoa are smaller particle size (average diameter smaller than 200 micrometers), with a ratio of 20 milliliters of solvent per gram of mojuelo and using a mixture of ethanol/ Water at 50% obtaining an extraction yield of 75.75%. We also conclude that the factor that exerts a greater effect on the yield of the extraction is the percentage of alcohol in the solvent.

Keywords: saponins, Soxhlet equipment, solid-liquid extraction, afrosimetric method.

I. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Identificación del problema

En los últimos años hemos vivido en nuestro país el boom de la Quinoa, ya que se ha promovido su consumo y ha sido bien aceptada por la población tanto por sus bondades nutricionales como por la gran variedad de formas que ésta se puede consumir. Sin embargo, el aumento de la producción de Quinoa vino acompañada de una acumulación de residuo o “merma” de la cascarilla que son nocivas para el consumo humano pero que contienen un componente muy útil, la saponina que en si es el protector natural de la quinua ante posibles plagas.

Esta saponina que inicialmente sólo se usaba como insecticida natural de algunas hortalizas y como suplemento alimenticio para animales, no era bien aprovechada económicamente, pero debido a recientes estudios ya se están conociendo sus diferentes aplicaciones, por ejemplo, se utiliza como combustible en hornos industriales, en la industria cosmética y en la fabricación de jabones, detergentes y en un futuro en farmacia. Es por ello que en esta investigación estudiamos el procedimiento de obtención de la saponina a partir de los residuos de la cosecha de la Quinoa, para que ésta pueda ser utilizada como materia prima en la fabricación de otros productos.

1.2 Formulación del problema

Problema General

¿Cuáles serán los parámetros óptimos para la obtención de saponina de la corteza de la Quinoa extracción hidroalcohólica?

Problemas específicos

- a. ¿Cuáles son las características generales de la corteza de la Quinoa?
- b. ¿Cuáles son las características de la saponina que se demanda extraer?

1.3 Objetivos de la investigación

Objetivo General

Determinar los parámetros óptimos para la obtención de saponina de la corteza de Quinoa mediante extracción hidroalcohólica.

Objetivos Específicos

- a. Identificar las características generales de la corteza de la Quinoa.
- b. Identificar las características de la saponina que se demanda extraer.

1.4 Justificación

Las razones que justifican la presente investigación son las siguientes:

a. Económica:

La obtención de saponina es un procedimiento rentable debido a que la materia prima que se utiliza es un residuo en la cosecha de la Quinoa y en la extracción usamos alcohol comercial.

b. Social:

La investigación nos permite, concientizar a las comunidades productoras de quinoa para el desarrollo sostenible de sus cosechas recolectando y comercializando la corteza de la quinoa.

c. Ambiental:

Utilizamos residuos sólidos como materia prima para aprovechar la merma producida en el escarificado de la Quinoa, además reducimos la acumulación de saponina que generalmente es depositada en fosas, canteras o bien son arrojada a los ríos, poniendo en riesgo la vida de la fauna y los peces en los ecosistemas acuáticos.

1.5 Importancia

Esta investigación es relevante porque nos permite conocer los parámetros con los que obtenemos el mejor rendimiento de extracción de saponina del mojuelo de la Quinoa con el equipo Soxhlet, de manera que se le pueda dar un uso más beneficioso.

En nuestro país aún no es muy conocida la saponina, pero en Estados Unidos, Brasil y países europeos tiene gran aplicación en la industria cosmética por ser un surfactante natural, además de ser los principales productores de Quinoa, por ende, acumulamos también más cantidad de este subproducto.

Esta tesis puede ser utilizada como guía para alguna empresa que esté interesada en procesar y comercializar la saponina al extranjero o comenzar a fabricar productos a base de ésta, que es un insumo que nuestro país recién está conociendo, además se puede evaluar otras especies de Quinoa más comerciales y también se puede estudiar el aprovechamiento integral del grano a fin de disminuir la cantidad de residuos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del estudio.

Para el presente trabajo de investigación se ha considerado los siguientes antecedentes de estudios:

Vicente (2013) en su investigación **“Extracción, Cuantificación y Purificación de Saponinas de semillas de Chenopodium Quinoa Willd provenientes del Noroeste Argentino”**, desarrolló las condiciones óptimas de extracción de las saponinas de semillas de quinua por métodos no clásicos para luego cuantificar la misma por un método analítico. Mediante los siguientes métodos de extracción: microondas, alta presión, Soxhlet y reflujo. Determinando que los métodos de extracción no clásicos presentan ventajas frente a los métodos clásicos.

Lozano (2012) en su investigación **“Cuantificación de Saponinas en Residuos de Quinoa Real Chenopodium Quinoa Willd”**, determino la cuantificación del rendimiento de extractos y de saponinas en residuos de escarificado. Utilizando los métodos de Espuma, Espectrofotométrico UV y por cromatografía HPLC. Por lo que el rendimiento de extracción varían desde 36,0 % hasta 39,4 % p/p, el porcentaje de saponinas en el extracto varía desde 47,3 % hasta 56,2 % y de saponinas en el mojuelo desde 17,3 % hasta 22,1 %.

Paredes et al. (2007) en su investigación **“Identificación y Cuantificación de las Saponinas contenidas en el fruto de la especie**

Cucumis Dipsacens por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)", identifiqué el tipo de saponina mediante reacciones cualitativas y por cromatografía líquida de alta resolución (HLPC) cuantifiqué la concentración de saponina. Determinando que la saponina del Cucumis Dipsacens es triterpénica pentacíclica con una concentración de un 67%.

Hernández et al. (2005) en su investigación **"Extracción Y Cuantificación Indirecta de las Saponinas de Agave Lechuguilla Torrey"**. Determino las condiciones de extracción y cuantificación de la saponina. Mediante un diseño experimental factorial, en donde se evaluó el efecto de tipo de solvente, relación: sólido/líquido, temperatura y número de lote, determinando indirectamente el contenido de saponinas como variable de respuesta utilizando el método de Hiai. Donde comprobó que la temperatura y número de lote son los factores que influyen en la extracción.

Con el objetivo de determinar si el hongo *Agaricus bisporus* contiene saponina. Foy et al. (2005), en su investigación **"Extracción, Identificación y Evaluación de Saponinas en *Agaricus bisporus*"**, comprobó mediante reacciones de coloración, índice Afrosimétrico e índice hemolítico la presencia de saponina. Sus hallazgos reportaron la presencia de saponina pero sin acción tóxica sobre los eritrocitos, es decir no tienen acción hemolítica tanto in vitro como in vivo.

2.2 Principio de extracción

La extracción sólido-líquido es una operación unitaria mediante el cual se separa uno o más componentes de una fase sólida, mediante la utilización de una fase líquida o disolvente. El componente o componentes que se transfieren de la fase sólida a la líquida reciben el nombre de soluto, mientras que el sólido insoluble se denomina inerte. Los componentes de este sistema son los siguientes:

- Soluto.- Son los componentes que se transfieren desde el sólido hasta en líquido extractor.
- Sólido Inerte.- Parte del sistema que es insoluble en el solvente.
- Solvente.- Es la parte líquida que entra en contacto con la parte sólida con el fin de retirar todo compuesto soluble en ella.

Existen tres fenómenos consecutivos en la extracción sólido – líquido, desde que se inicia el contacto con el disolvente hasta que alcanza el equilibrio:

1. Cambio de fase del soluto. Es el paso del soluto desde la fase sólida al líquido. La disolución del soluto se realiza a través de una interfase sólido – líquido. Se suele considerar que este fenómeno de disolución es instantáneo, por lo que no influye en la velocidad de la extracción.
2. Difusión del soluto a través del disolvente contenido en los poros del sólido. El soluto se encuentra en el interior de las partículas sólidas,

siendo preciso que el disolvente se ponga en contacto con él por lo que debe llenar los poros del sólido inerte. La transferencia del soluto desde el interior de la partícula sólida hasta la superficie, se realiza a la gradiente de concentración existente entre la interfase sólido – líquido y la superficie exterior del sólido. Se considera que el disolvente en el interior de los poros permanece prácticamente estacionario, por lo que la transferencia de soluto desde zonas de mayor concentración al exterior. En esta etapa la velocidad de transferencia de materia en esta etapa vendrá dada por:

$$N_s = -D_L * \frac{dC}{dz}$$

Donde:

N_s = Densidad de flujo de materia en $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

D_L = Difusividad del soluto a través del disolvente en $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$

C = Concentración de la disolución en $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$

Z = Distancia en el interior del poro en m.

3. Transferencia del soluto desde la superficie de las partículas hasta el seno de la disolución. Una vez que el soluto ha alcanzado la superficie de la partícula, se transfiere desde este punto hasta el seno de la disolución gracias a un gradiente de concentración, realizándose esta transferencia de materia por transporte molecular y turbulento, de forma simultánea. En esta etapa la velocidad de transferencia de materia viene dada por la expresión. (Ibarz et al. ,2011)

$$N_S = K_L * (C_S - C)$$

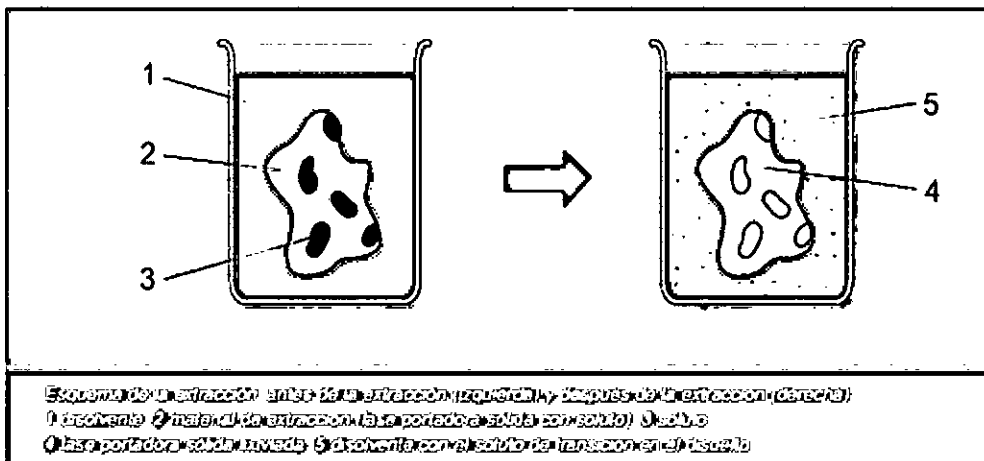
Donde:

K_L = Coeficiente de transferencia de materia en $m \cdot s^{-1}$

C_S = Concentración del soluto en la superficie del sólido en $kg \cdot m^{-3}$

C = Concentración del soluto en el seno de la disolución en un instante determinado en $kg \cdot m^{-3}$

FIGURA 2.1
ESQUEMA DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO



Fuente: (Gunt Hamburg, 2017)

La figura 2.1 muestra gráficamente como se realiza la extracción sólido-líquido para su mayor comprensión.

2.3 Quinoa (*Chenopodium Quinoa*)

La Quinoa es una planta dicotiledónea de cultivo sudamericano cuya semilla ha incrementado su popularidad en los últimos años, en Europa y América del Norte, pero también en la región andina. Este cereal andino tiene una amplia variedad de genotipos en nuestro país, la mayor diversidad de éstos podemos encontrarlos en la región andina, y específicamente a orillas del lago Titicaca. Su diversificación múltiple y sobretodo su variación genética hace que la podamos considerar como una especie oligocéntrica.

La historia tiene pocas evidencias arqueológicas, lingüísticas y etnográficas, sobre la quinoa. Las evidencias arqueológicas del norte chileno, señalan que la quinoa fue utilizada 3000 a.C., mientras que hallazgos en la zona de Ayacucho indicarían que la domesticación de la quinoa ocurrió hace 5000 a.C. "Existen también hallazgos arqueológicos de quinoa en tumbas de Tarapacá, Calama, Arica y diferentes regiones del Perú"¹, consistentes en semillas e inflorescencias, encontrándose abundante cantidad de semillas en sepulturas indígenas de los Tiltil y Quillagua (Chile). Una evidencia del uso de la quinoa se encuentra en la cerámica de la cultura Tiahuanaco, que representa a la planta de quinoa, con varias panojas distribuidas a lo largo del tallo, lo que mostraría a una de las razas más primitivas. (Mujica et al., 2001)

¹Citado por Food and Agriculture Organization en <http://www.fao.org/quinoa-2013/faqs/es/>

2.4 Taxonomía de la corteza de la Quinua

“La quinua es una planta, herbácea de ciclo anual y su tamaño varía desde 1 m a 3.5 m. según las diferentes variedades y ecotipos”². Sus características botánicas la sitúan como una planta de tallo erguido, y según su tipo de ramificaciones pueden presentarse con un tallo principal y varias ramas laterales cortas características de la zona de altiplano o de ramas de igual tamaño, característico en los ecotipos que se cultivan en los valles interandinos. (Cacchi, 2009)

En la siguiente tabla mostramos la posición taxonómica de la Quinua³:

TABLA 2.1
TAXONOMÍA DE LA QUINUA

Reino	Vegetal
División	Fanerógamas
Clase	Dicotiledóneas
Orden	Angiospermas
Familia	Chenopodiáceas
Género	Chenopodium
Sección	Chenopodia
Sub sección	Cellulata
Especie	Chenopodium quinoa, Pasankalla

Fuente: (Mujica, 1993)

² Además César L. Ayala lo cita en <http://esmiperu.blogspot.com/2007/05/la-quinua-chenopodium-quinoa.html>

³ Esta descripción también la encontramos en el link <http://www.laquinuagranodeoro.blogspot.com/2010/11/la-quinua-chenopodium-quinoala-quinua.html>

La forma de sus hojas es muy variada y sus bordes son dentados pudiendo ser pronunciados o leves según las variedades. La coloración de estas varía de verde claro a verde oscuro, las que a su vez van transformando en amarillas, rojas o púrpuras según su estado de maduración, lo cual se puede apreciar en la figura 2.3. Posee una inflorescencia denominada panícula mostrada en la figura 2.2, de forma glomerulada, y pueden tener un aspecto laxo y compacto. "Esta inflorescencia puede alcanzar hasta 0.70 m. de su tamaño y densidad depende en gran parte su rendimiento. Las flores son pequeñas y pueden ser hermafrodita y femenino, lo que le permite una gran variación sexual según los diferentes ecotipos y variedades"⁴. (Cacchi, 2009)

FIGURA 2.2
INFLORESCENCIA DE LA QUINUA



⁴ Es citado por César L. Ayala en <http://esmiperu.blogspot.com/2007/05/la-quinua-chenopodium-quinoa.html>

FIGURA 2.3
CULTIVO DE QUINUA



Fuente: (Agricultureros, 2017)

“Los granos de quinua tienen formas diferentes: cónicos, cilíndricos y elipsoidales, tamaños por debajo de 2,6 mm de diámetro. En este pseudocereal se puede identificar el endosperma (cotiledones y radícula), el perisperma (granos de almidón) y el episperma (capas externas que recubren la semilla)”⁵.

El episperma tiene una primera capa externa rugosa, quebradiza, seca. Esta capa puede ser parcialmente removida por métodos abrasivos y lavado con agua fría. Las saponinas se encuentran localizadas solamente en la primera capa del episperma; una segunda capa lisa, lustrosa, sin poros, con algunas huellas de la rugosidad vista en la primera membrana; una tercera capa delgada ligeramente amarillenta y

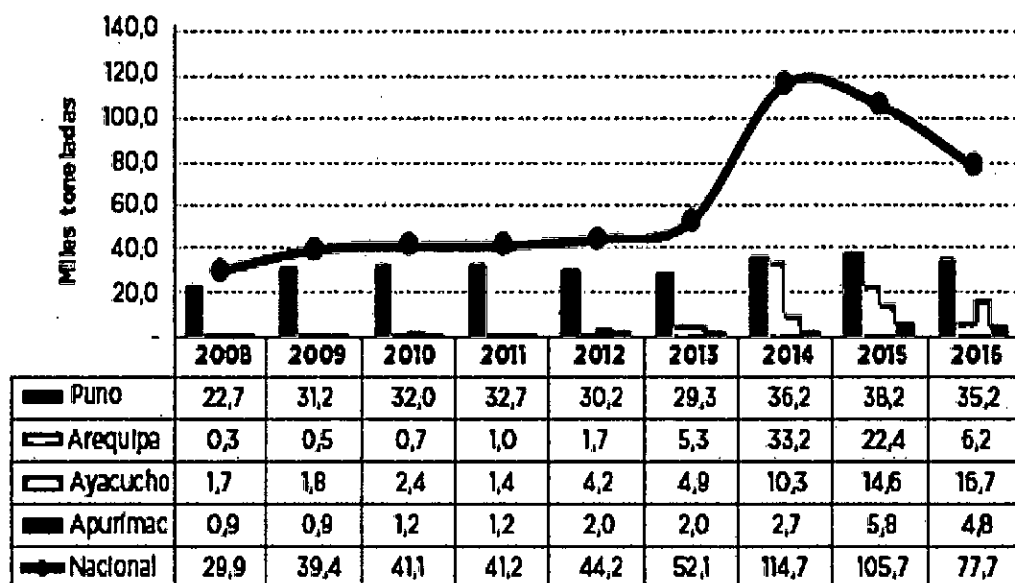
⁵ Este fragmento también se puede encontrar en TESIS 3ra Reunión.doc

opaca; una cuarta capa delgada, translúcida que cubre el embrión, formada por una sola hilera de células de pared gruesa y sin núcleo. (Quiroga et al., 2010)

2.5 Producción y comercio de Quinua en el Perú

El cultivo de la quinua, después de la conquista española, disminuyó notablemente debido entre muchas causas a la introducción de cultivos de importancia alimenticia para los españoles como la cebada, trigo, avena, habas y arvejas. Estos cultivos prosperan sobre los 3000 m de altitud, con sistemas de cultivo simples y de bajo costo y forman ya parte de la dieta alimentaria del poblador peruano desde entonces hasta la actualidad. (DGPA-MINAGRI, 2017)

FIGURA 2.4
PRODUCCIÓN DE QUINUA NACIONAL Y REGIONAL



Fuente: (MINAGRI, 2017)

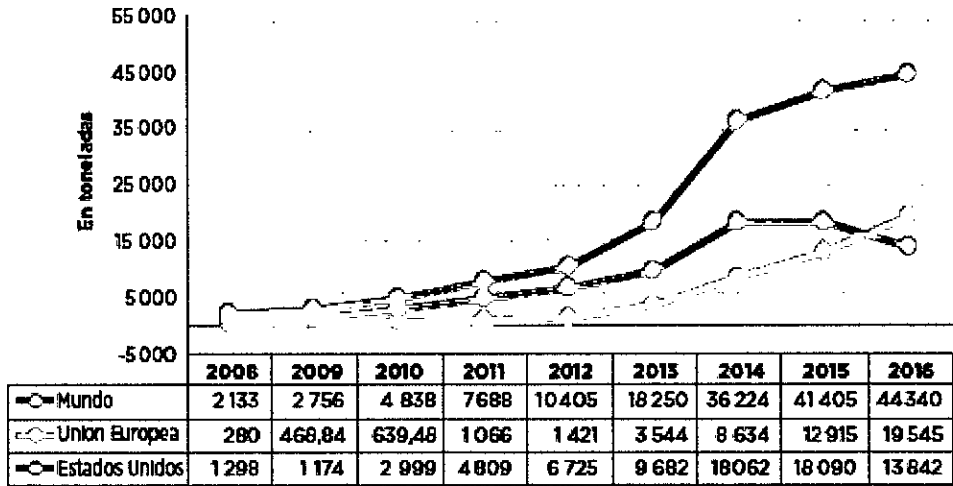
En la figura 2.4 observamos la producción nacional por región en los 9 años más recientes.

Las exportaciones de quinua en el Perú son recientes, a partir del 2006 se observa volúmenes de exportación superiores a las mil toneladas, antes de ello era Bolivia el país que abastecía mayormente en el mercado internacional.

En diciembre de 2011 las Naciones Unidas anuncian a nivel mundial que el 2013 se denominará el “Año Internacional de la Quinua” y se inician los preparativos a fin de desarrollar actividades orientadas a dar a conocer al mundo las bondades de la quinua andina, tanto en el país como en el exterior. Como resultado de las expectativas generadas por esta nominación, las exportaciones se consolidan y amplían, lo cual se puede observar en la Figura 2.5, siendo el año 2014 el momento más importante para las exportaciones de quinua, pues se llega a alcanzar los mayores precios y el valor de exportación jamás alcanzado (US\$ 196,4 millones). Esta tendencia de incremento en las exportaciones se mantiene aún en los siguientes años a pesar de la caída de los precios en estos dos últimos años.

Entre el 2008 y 2016, los mercados de Estados Unidos y la Unión Europea han representado en promedio el 73% del total exportado por Perú al mundo, de ahí la importancia que tienen.

FIGURA 2.5
EVOLUCIÓN DE EXPORTACIONES DE QUINUA



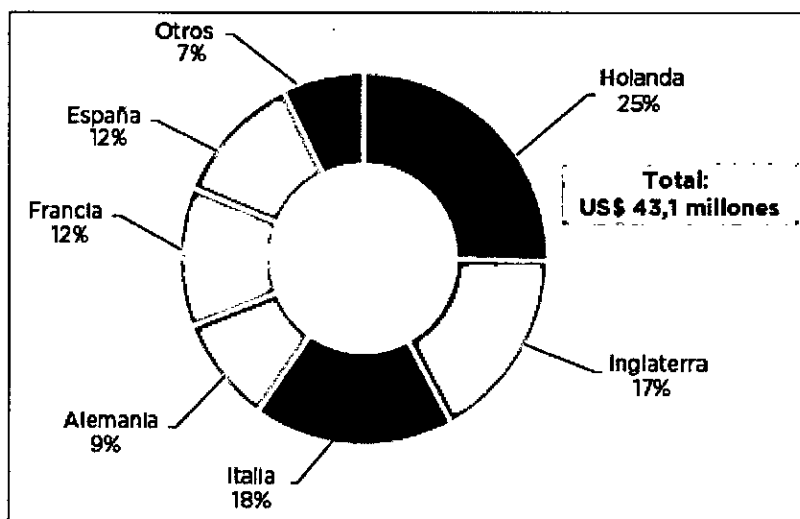
Fuente: (MINAGRI, 2017)

Como podemos observar en la figura N° 2.4, las exportaciones peruanas han ido aumentando anualmente en forma global, sin embargo, para el caso del mercado de los Estados Unidos desde el 2015 comenzó a declinar su participación debido a que los órganos oficiales (FDA-USDA) aún no han determinado a la fecha los contenidos máximos de residuos de plaguicidas permisibles para su consumo, esto hace que no pueda ingresar quinua con alguna traza aunque sea marginal de residuos de plaguicidas, lo cual sí se permite en otros mercados como Canadá, Brasil, Israel, o la Unión Europea, de ahí que a los Estados Unidos solo ingresan embarques de quinua convencional libre de plaguicidas (0%) o solo quinua orgánica. Por otro lado, observamos la importancia del mercado europeo que ha llegado a representar el 44% de las exportaciones totales en el 2016, superando en importancia a los Estados Unidos. Haber reorientado las

exportaciones hacia un mercado de 28 países desarrollados, con una elevada capacidad adquisitiva, es una medida muy estratégica de los exportadores peruanos, debido a que este bloque económico tiene bien definido los contenidos máximos de residuos químicos o plaguicidas que puede contener un embarque de quinua, de ahí que Perú se encuentra en la capacidad de seguir exportando quinua, sea convencional u orgánica de la costa y la sierra peruana, siempre y cuando se respete sus contenidos máximos de plaguicidas. Entre los países miembros de la Unión Europea que destacan por su mayor participación tenemos a Holanda hacia donde se dirige el 25% de lo que se coloca a la Unión Europea, seguido de Inglaterra, Italia, Alemania, Francia, España como lo indica la Figura 2.6. Los seis países en conjunto representan el 93% del total exportado hacia la Unión Europea. (DGPA-MINAGRI, 2017)

FIGURA 2.6

EXPORTACIONES A PAÍSES DE LA UNION EUROPEA



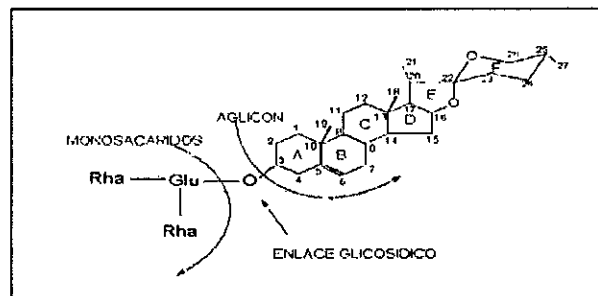
Fuente: (MINAGRI, 2017)

2.6 Saponinas

Las saponinas son compuestos que se encuentran en diversas plantas, que al agitarse en agua producen abundante espuma. Debido a esta propiedad desde épocas prehispanicas esta plantas fueron usadas como jabón (del latín sapo=jabón). (Romo A., 2006) En 1960 KOBERT indica que la composición de la saponina corresponde a la formula general $C_nH_{2n-8}O_{10}$. (Tapia, 1979) En la figura N° 2.7 se puede observar su estructura molecular.

Las saponinas son glicósidos que estructuralmente contienen uno o varios azúcares. En la cual estos azúcares se enlazan mediante un enlace glicosídico a un resto denominado aglicón o sapogenina(Quiroga et al.,2010). Se clasifica como triterpénicos o esteroidales, dependiendo de la naturaleza del aglicón. (Romo, 2006). Los azúcares más frecuentes constituyentes de los dos tipos de saponósidos son la glucosa, arabinosa, ramnosa, galactosa y xilosa, y en los saponósidos triterpénicos también es frecuente el ácido glucurónico. (López, 2001)

FIGURA 2.7
ESTRUCTURA MOLECULAR GENERALIZADA DE SAPONINA



Fuente:(Pérez, 2009)

2.7 Clasificación de Saponina

La saponina se subdivide en saponinas triterpénicas y esteroidales.

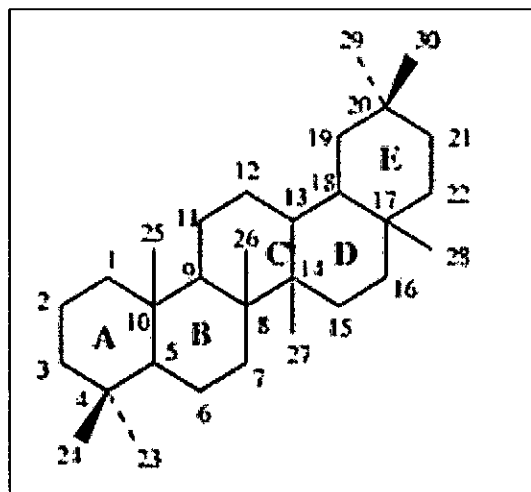
Las saponinas triterpénicas son de reacción ligeramente ácida. Abundan en la familia de las dicotiledonias y algunas de estas presentan actividad biológica, cardíaca y hemolítica, se usan como veneno de peces, reducen el colesterol, otras tienen actividades espermatocidas, antiinflamatorias, etc.

La reacción enzimática la presenta la saponina esteroideal y tiene propiedades biológicas similares a las saponinas triterpénicas, pero son menos abundantes en la naturaleza.

a. Saponinas Triterpénicas

Pertenecen a un largo grupo de compuestos que contienen una configuración de cuatro o cinco anillos; o 30 carbonos con varios oxígenos unidos. Los triterpenos son ensamblados a partir del isopreno (C₅) a través de la vía del mevalonato citosólico para formar un compuesto de treinta carbonos. Todas las moléculas triterpénicas se derivan del dammarano y se subdividen en Pentacíclicas y Tetracíclicas. (Siller, 2012) Su estructura podemos apreciarla en la figura N° 2.8.

FIGURA 2.8
ESTRUCTURA DE UNA SAPONINA TRITERPÉNICA



Fuente: (Siller, 2012)

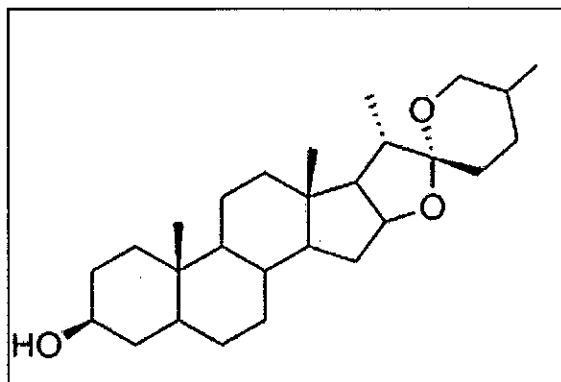
b. Saponinas Esteroidales

Las saponinas esteroidales se subdividen en dos grupos, los derivados del epirostanol y derivados del furostanol. (Siller, 2012)

Los derivados del epirostanol son estructuras hexacíclicas de 27 carbonos. Su estructura deriva del ciclopentanoperhidrofenantreno con dos heterociclos de 5 y 6 miembros y una cadena lateral en la posición 17 como podemos observar en la figura 2.9.

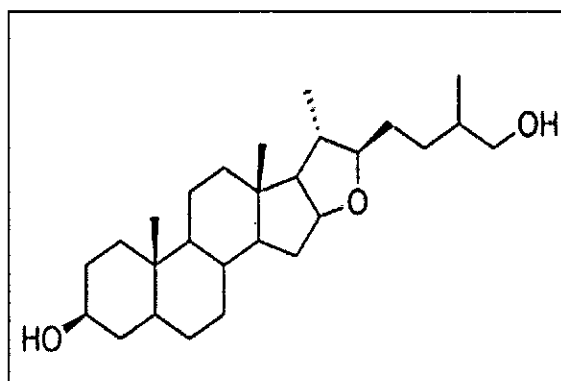
Los derivados del furostanol poseen un ciclo menos del epirostanol, pero también tiene un esqueleto de 27 carbonos. Es decir, son aquellas saponinas en donde F está abierto y se consideran precursores biosintéticos de las saponinas derivadas del epirostanol, esta estructura se muestra en la figura 2.10. (Siller, 2012)

FIGURA 2.9
ESTRUCTURA DE SAPONINA ESTEROIDAL - ESPIROSTÁNICA



Fuente: (Siller, 2012)

FIGURA 2.10
ESTRUCTURA DE SAPONINA ESTEROIDAL - FUROSTÁNICA



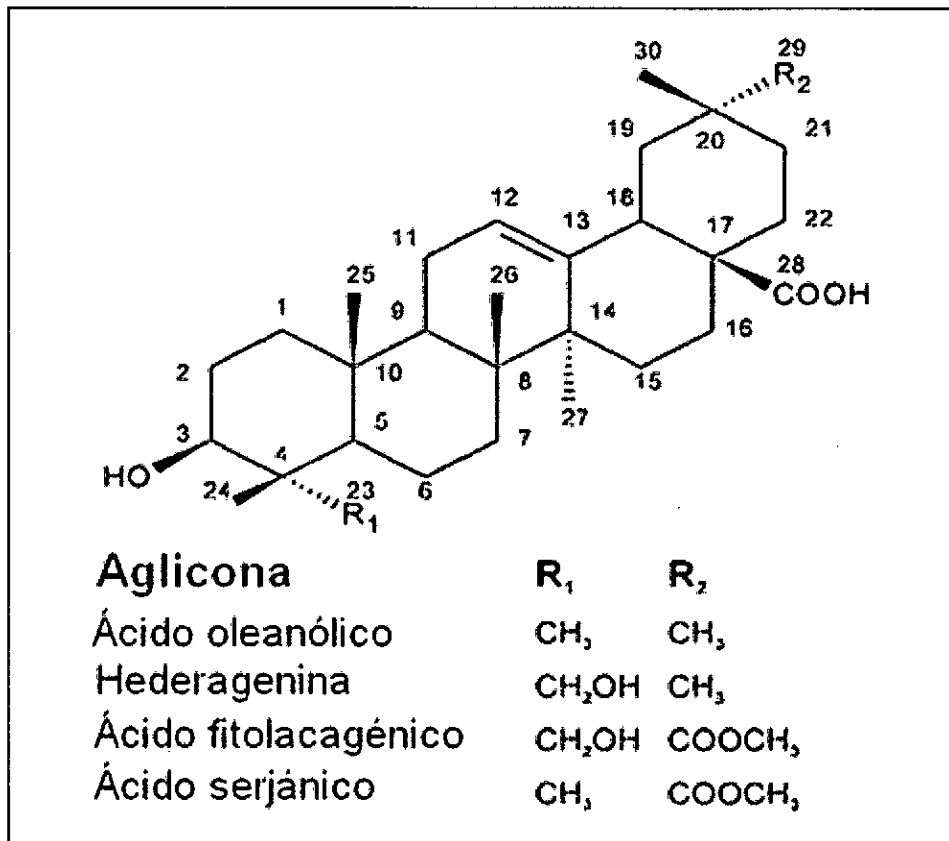
Fuente:(Siller, 2012)

2.8 Saponina de Quinoa

Son de agliconas triterpénicas. Sus cuatro estructuras principales de agliconas que se han identificado en las semillas de quinoa son: ácido oleanólico, hederagenina, ácido fitolacagénico, y ácido serjánico, lo que se puede observar en la figura 2.11. En lo que respecta carbohidratos principales estos son glucosa, arabinosa y galactosa. Además, 20 saponinas triterpénicas se han aislado de diferentes partes de

Chenopodium Quinoa (flores, frutos, cubiertas de las semillas y las semillas). (Vicente, 2013)

FIGURA 2.11
AGLICONAS DE SAPONINA TRITERPENICAS DE CHENOPODIUM
QUINOA



Fuente: (Vicente, 2013)

2.9 Aplicaciones comerciales de la saponina

Las saponinas tienen diferentes actividades bioquímicas, como hemolítica, antimicrobiana, fungicida, alelopática, insecticida, y molusquicida, además de efectos como coadyuvante de vacunas. Es por esto que la saponina es utilizada como aditivo en diferentes campos de la industria.

"Notablemente, las saponinas también pueden activar el sistema inmune mamífero, lo que ha conllevado a un importante interés en su potencial como adyuvantes de vacunas. Su capacidad única para estimular tanto la respuesta inmune Th1 y la producción de linfocitos T citotóxicos (LTCs) frente a antígenos exógenos las hace ideales para su uso en vacunas de subunidades y vacunas dirigidas contra patógenos intracelulares, además de para vacunas terapéuticas contra el cáncer"⁶.

Se cree que las saponinas pueden formar complejos con esteroides de la membrana eritrocitaria, provocando un aumento en su permeabilidad y consiguiente pérdida de hemoglobina. "Los últimos estudios de su actividad biológica in vitro e in vivo han asociado las saponinas con diversos beneficios para la salud"⁷. (Troisi, 2014)

⁶⁷ Estos párrafos también se pueden encontrar citados en Tesis Jessica Arcos.docx

Además la saponina es utilizada como molusquicida natural orgánico sin ningún tipo de daño potencial para humanos, animales y medio ambiente. Se aplica en cultivos de arroz para matar caracoles, sobre todo el caracol manzana. Garantizando la cosecha y la calidad del arroz sin elementos nocivos acumulados. Adicionalmente puede ser utilizado como surfactante para la producción de pesticidas. Como agente humectante para las aplicaciones de plaguicidas en polvo. Puede ser utilizado en el polvo soluble de herbicidas o herbicidas líquidos para mejorar la eficacia y reducir las dosis. (<http://www.xsyagri.com>)

Pero su principal propiedad es como surfactante (agente espumante), por lo que es utilizada para la producción de champú para el lavado de cabello ayuda a eliminar la caspa, como detergente para lavar ropa sin perjudicar el color y el brillo de las prendas, manteniendo el tamaño de la ropa.

Por lo tanto, las saponinas son mayormente utilizadas en el campo de la industria farmacéutica y en la industria cosmética.

2.10 Industrialización de la Saponina

Cada variedad de una molécula de saponina tiene sus propios atributos, su propia influencia específica sobre otras moléculas, su propia influencia en los cuerpos vivos u otras estructuras químicas. En su forma pura la saponina tiene un gran número usos, siendo su efecto espumante el más apreciado, aunque el mayor reto es su extracción. Globalmente hay una creciente demanda para fines industriales, para la elaboración de productos farmacéuticos y cosméticos, también se utiliza en la industria cervecera como agente gelificador, como insecticida en los campos de golf. Es la pureza de esta sustancia y su composición de molécula específica de la saponina, lo que define el campo de uso de la preparación individual, así como su precio.

Actualmente, los precios de la saponina refinada están entre 3.77 Dólares Americanos y aproximadamente 753.311 Dólares Americanos por kilogramo para las formas más caras y más puras. Los principales productores son Chile (quillay) y China (tea tree) con un elevado costo ambiental debido a su impacto en la deforestación, por ejemplo.

Como se puede apreciar en la figura 2.12, la diferencia de precios entre el SLS y las saponinas provenientes de distintas plantas es altamente significativa. Existe ya un precio referencial de la saponina de quinua, que ha sido fijado por la empresa brasilera Quinoa Brasil a 5 \$/kg.

FIGURA 2.12
COMPARACIÓN DE PRECIOS DE SURFACTANTES Y SAPONINAS
NATURALES

Ingrediente Sintético	Ingredientes Naturales	
SLS Sodium Laurel Sulfato - \$1,2/kg	Quillaja Saponaria	entre 20€ y 45€/kg
	Quinua	55€/g
	Madreselva - Lonicera caprifolium extract	19,90€/kg
	Centella Asiatica	14€/kg
	Saponaria Officinalis	13€/kg
	Saponaria officinalis-BIO	20,09€/kg
	Cola de caballo -Equisetum arvense	13€/Kg
	Ziziphus joazeiro (Rhamnaceae)	50€/kg
Castaño de Indias	De 350 a 550€/kg	

Fuente: (EUROECOTRADE, 2016)

La tendencia en la industria cosmética es la utilización de ingredientes naturales y el mercado se anuncia prometedor, un ejemplo de este entusiasmo la adquisición de Chile Botanics (productor de extractos vegetales entre ellos extracto de Quillaja saponaria) por uno de los laboratorios más importantes en Europa, Naturex. Si bien algunas saponinas como la del quillay son utilizadas desde hace mucho de forma artesanal e industrial, la extracción de saponina a partir de la Quinua es aún un campo nuevo en la industria de la cosmética. Solo se han podido identificar dos empresas que están desarrollando proyectos innovadores con este ingrediente natural: Quinoa Brasil y Chimex del gigantesco grupo L'Oreal de Francia. (EUROECOTRADE, 2016)

a. Quinoa Brasil

Quinoa Brasil es una empresa privada con sede en Sao Paulo, zona norte. Fue creada hace 8 años para la producción del grano y desde hace 2 años empezaron con el proyecto de la saponina de quinua. Procesan ellos mismos la quinua, separando el grano blanco del oscuro. La idea de utilizar la saponina de quinua surgió cuando durante el proceso de lavado de la quinua observaron que desprendía espuma, entonces decidieron emprender estudios y lanzaron el proyecto. Actualmente ofrecen varias líneas de productos a base de extracto de quinua: línea de productos capilares (champú, acondicionador y jabones líquidos), para mascotas (champú, acondicionadores), cuidados de la piel (hidratantes, desmaquillantes, espumas para barbas), productos infantiles (champú, acondicionador), productos bucales (crema dental), limpieza (detergentes y jabones). Para la extracción de saponina de quinua, utilizan solamente la quinua que Brasil produce. Esta saponina se vende principalmente en el mercado local a la industria cosmética de Brasil, donde ha tenido una buena acogida. La actual producción de quinua en el Estado de Goias es de 60-70 toneladas al mes. En comparación con la saponina de quillay, el precio de la saponina de quinua es menor. Actualmente la saponina de quinua se vende a 5\$ FOB por Kg. para el mercado externo y 20 reales en Brasil. Según la empresa, la utilización de la saponina de quinua tiene muchas ventajas en relación a otros ingredientes sintéticos ya que es

biodegradable, natural, más hidratante, menos agresivo, no provoca alergias, apto para bebés y niños. (EUROECOTRADE, 2016)

b. L'Oreal - Chimex

Laboratorio creado por el grupo francés L'Oréal, líder mundial de la cosmética. Este trabaja y desarrolla productos casi exclusivamente para L'Oréal, destinándole así el 80% de su actividad. En octubre 2015 L'Oréal anunció una alianza en Bolivia con el fin de permitir un abastecimiento responsable del salvado de quinua para fines cosméticos.

Para llevar a cabo este programa, L'Oreal trabaja con 3 socios diferentes, quienes a su vez aportan su experiencia y sus conocimientos: la sociedad Andean Valley, que trabaja directamente con los productores de quinua, la fundación boliviana Proinpa, que promueve la preservación y utilización durable de los recursos naturales en Bolivia, y el importador EcoTerra.

Se tiene conocimiento que L'Oreal ha importado las primeras 20 toneladas de cascarilla de quínoa orgánica de Bolivia a Francia para este proyecto. Según fuentes de L'Oreal, el salvado de quinua contiene saponinas y polifenoles, que le otorgan un gran interés como materia prima renovable para la cosmética. Además los científicos de L'Oréal han demostrado propiedades exfoliantes presentes en el extracto del salvado de quinua, para lo cual Chimex, filial de L'Oreal especializada en el diseño y desarrollo de procesos ecológicos también ha desarrollado un proceso de extracción por química verde. Este proyecto forma parte del programa de

abastecimiento durable de L'Oréal, « Sharing Beauty With All », que tiene como uno de sus ambiciosos objetivos para el 2020 que el 100% de los productos del grupo presenten beneficios ambientales o sociales positivos. (EUROECOTRADE, 2016)

c. Greentech

Este laboratorio francés fundado en 1992 se sitúa en la ciudad de Clermont Ferrand, con filiales en Alemania, EEUU y Brasil. En el Perú es socio de la empresa Agroindustrias Amazónicas que le provee de aceite de sacha inchi para fines cosméticos. Greentech es pionero de la biotecnología vegetal como fuente de la belleza. Desarrolla y produce con tecnología avanzada extractos activos nutracéuticos cosmética, farmacéutica y, a partir plantas, algas, microalgas y microorganismos del mundo entero. En Diciembre 2012, se contactó al fundador de este laboratorio, Jean Yves Berthon, para solicitarle que analice las cascarillas de Quinoa de la zona de Puno a fin de detectar la calidad de las saponinas contenidas en esos residuos. Para ello, se le entregó 3 muestras de cascarillas de quinua de 300 gr cada una de quinua blanca, roja y negra. Afin de poner en evidencia las saponinas, se usó el índice de Espuma de la Farmacofea Francesa que dice que la quinua contiene 1,0-1,2 % de saponinas, localizadas en la cáscara o película externa del grano, retiradas por frotamiento (pulido) y lavado al agua (cascara eliminada para que el grano sea comestible). El test dio como resultado espuma abundante y persistente en el agua (luego de agitación). Greentech desea explorar los

efectos estimulantes para la micro circulación del cuero cabelludo y analizar los efectos anti -arrugas y reafirmantes. (EUROECOTRADE, 2016)

d. Centro Europeo en Innovación de Saponinas (Dinamarca)

Existe un marcado interés por desarrollar la filial de saponinas para la industria cosmética, alimentaria y de higiene en Europa. Prueba de ello es la existencia de la creación en Dinamarca del Centro Europeo en Innovación de Saponinas (SICE Saponin Innovation Centre Europe IVS) que reúne a la Universidad de Copenhague, el Danish Technological Institute y Agro Business Park / Innovation Network for Biomass (INBIOM) y está co-financiado por Borregaard Bioplant ApS, la más antigua y más importante empresa escandinava especializada en la protección y el control biológico y Biovalue SPIR, la plataforma estratégica de innovación e investigación en el valor agregado de los productos de la biomasa. Los socios del proyecto estiman que existe un gran valor económico de investigación y de perspectivas ambientales en cuanto a:

- La colección y aumento de conocimientos sobre la extracción de saponina y la creación de un centro de investigación sobre la saponina.
- El desarrollo de nuevos conocimientos sobre la proteína contenida en la saponina.
- El establecimiento de la primera refinería piloto en Bolivia como una base para una mayor investigación y desarrollo.

- El establecimiento de una refinería en Dinamarca con la vista puesta en la división de la saponina en diferentes tipos precisos y, posiblemente, en la proteína.

- El establecimiento de una refinería en Dinamarca para procesar la saponina, que se producirá en Europa y el norte de África.

- El aumento de la fiabilidad para entregar el conocimiento sobre el uso de saponina y establecimiento de refinerías de saponina.

La colaboración ha reunido un equipo de científicos en tecnología de refinería y diferentes universidades e institutos de tecnología, y cuenta con un equipo de especialistas para cada tipo de biomasa. La investigación sobre la saponina de quinua empezó hace 3 años, los resultados de los estudios realizados en Bolivia por Biovalue y los análisis de los laboratorios del Instituto Tecnológico Danés muestran que potencialmente podría haber grandes intereses para los inversionistas, se prevé un gran potencial y apertura de mercado para los productos de «control biológico» y para muchos otros tipos de empresas. (EUROECOTRADE, 2016)

2.11 Saponina en el Perú

La partida arancelaria de la saponina es 2938.92.20.00 usada para su comercialización a nivel internacional como producto químico orgánico, lo cual se muestra en la figura 2.13.

FIGURA 2.13
PARTIDA ARANCELARIA DE LA QUINUA

SECCIÓN:VI CAPÍTULO:29	PRODUCTOS DE LAS INDUSTRIAS QUIMICAS O DE LAS INDUSTRIAS CONEXA PRODUCTOS QUÍMICOS ORGÁNICOS
29.37	Hormonas, naturales o reproducidas por síntesis; sus derivados utilizados principalmente como hormonas; los demás esteroides utilizados principalmente como hormonas.
29.37	Hormonas, naturales o reproducidas por síntesis; sus derivados utilizados principalmente como hormonas; los demás esteroides utilizados principalmente como hormonas.
<u>2937.11.00.00</u>	-- Somatotropina, sus derivados y análogos estructurales
<u>2937.12.00.00</u>	-- Insulina y sus sales
<u>2937.19.10.00</u>	--- Oxitocina (DCI)
<u>2937.19.90.00</u>	--- Los demás
	- Hormonas corticosuprarrenales y sus derivados:
2937.21	-- Cortisona, hidrocortisona, prednisona (dehidrocortisona) y prednisolona (dehidrohidrocortisona):
<u>2937.21.10.00</u>	--- Hidrocortisona
<u>2937.21.20.00</u>	--- Prednisolona (DCI) (dehidrohidrocortisona)
<u>2937.21.90.10</u>	---- Prednisona (dehidrocortisona)
<u>2937.21.90.20</u>	---- Cortisona
2937.22	-- Derivados halogenados de las hormonas corticosuprarrenales:
<u>2937.22.10.00</u>	--- Betametasona (DCI)
<u>2937.22.20.00</u>	--- Dexametasona (DCI)
<u>2937.22.30.00</u>	--- Triamcinolona (DCI)
<u>2937.22.40.00</u>	--- Flucicnolida (DCI)
<u>2937.22.90.10</u>	---- De la hidrocortisona
<u>2937.22.90.90</u>	---- Los demás
<u>2937.23.10.00</u>	--- Progesterona (DCI) y sus derivados
<u>2937.23.20.00</u>	--- Estríol (hidrato de foliculina)
<u>2937.23.90.00</u>	--- Los demás
2937.29	-- Los demás:
<u>2937.29.10.00</u>	--- Ciproterona (DCI)
<u>2937.29.20.00</u>	--- Finasterida (DCI)
<u>2937.29.90.10</u>	---- Corticosterona y sus ésteres
<u>2937.29.90.20</u>	---- Pregnenolona (DCI) y epoxipregnenolona
<u>2937.29.90.30</u>	---- Ésteres y sales de la hidrocortisona
<u>2937.29.90.40</u>	---- Acetato de desoxicorticosterona (DCIM); acetato de clorprednisona (DCIM)
<u>2937.29.90.90</u>	---- Los demás
<u>2937.50.00.00</u>	- Prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, sus derivados y análogos estructurales
	- Las demás hormonas y sus derivados; los demás esteroides utilizados principalmente como hormonas:
<u>2937.90.00.00</u>	- Los demás
29.38	Heterósidos, naturales o reproducidos por síntesis, sus sales, éteres, ésteres y demás derivados.
<u>2938.10.00.00</u>	- Rutósido (rutina) y sus derivados
2938.90	- Los demás:
<u>2938.90.20.00</u>	-- Saponinas
<u>2938.90.90.00</u>	-- Los demás
29.39	Alcáides vegetales, naturales o reproducidos por síntesis, sus sales, éteres, ésteres y demás derivados.

Fuente: (SUNAT,2017)

De los datos obtenidos en la SUNAT sobre las importaciones de saponina en el Perú en los últimos cinco años, elaboramos la siguiente tabla:

TABLA 2.2
PESOS NETOS IMPORTADOS DE SAPONINA EN KG (2012-2016)

PAÍS DE ORIGEN	2012	2013	2014	2015	2016
US - UNITED STATES	8,68	0,97	1,5	1,06	0,06
DE - GERMANY	0,2	-	-	0,25	-
CN - CHINA	-	-	200	200	-
IN - INDIA	-	-	0,2	0,03	-
CL - CHILE	-	-	-	0,1	0,29
TOTAL	8,88	0,97	201,7	201,44	0,35

Observamos en la tabla 2.2 que nuestro país importa cantidades ínfimas de saponina, generalmente para análisis de laboratorio, excepto en los años 2014 y 2015 que importamos desde China 200 Kg por año.

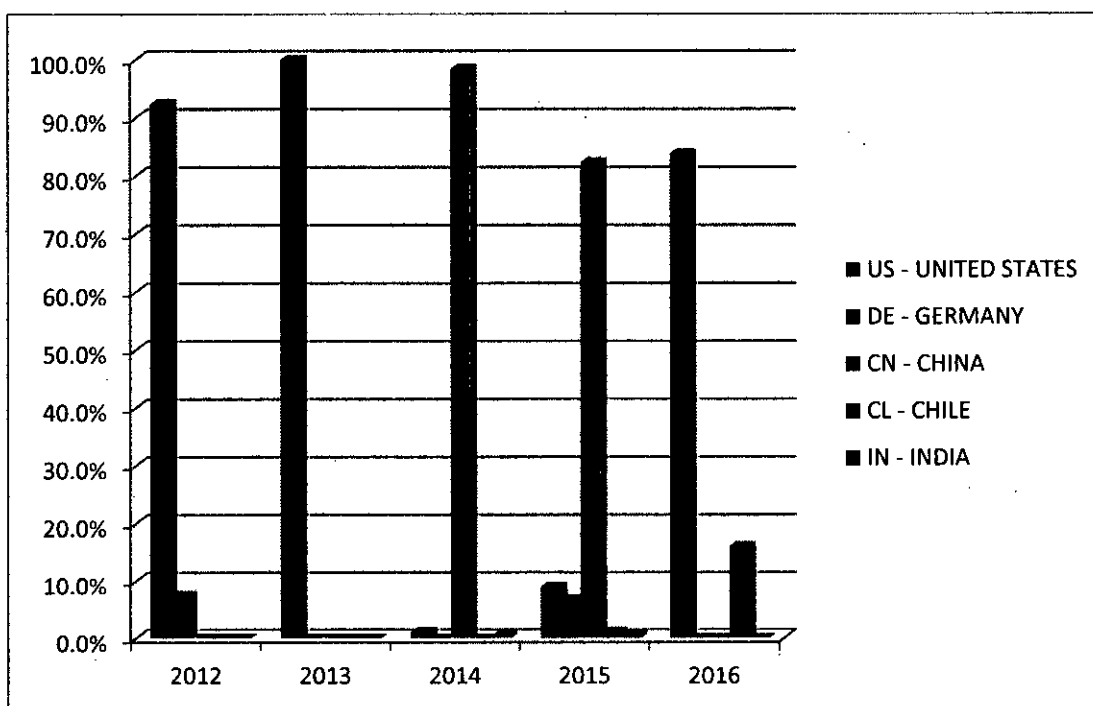
TABLA 2.3
VALOR CIF Y % CIF DE IMPORTACIONES DE SAPONINA (2012-2016)

PAÍS DE ORIGEN	2012		2013		2014		2015		2016	
	CIF (\$)	% CIF	CIF (\$)	% CIF	CIF (\$)	% CIF	CIF (\$)	% CIF	CIF (\$)	% CIF
US - UNITED STATES	2632,17	92,4%	1124,77	100,0%	416,08	1,1%	465,14	9,1%	182,53	83,9%
DE - GERMANY	215,19	7,6%	-	0,0%	-	0,0%	342,86	6,7%	-	0,0%
CN - CHINA	-	0,0%	-	0,0%	36943,95	98,4%	4217,18	82,3%	-	0,0%
IN - INDIA	-	0,0%	-	0,0%	168,29	0,4%	36,92	0,7%	-	0,0%
CL - CHILE	-	0,0%	-	0,0%	-	0,0%	60,31	1,2%	35,04	16,1%
TOTAL	2847,36	100,0%	1124,77	100,0%	37528,32	100,0%	5122,41	100,0%	217,57	100,0%

En la tabla anterior podemos observar que la cantidad de saponina es poca pero los precios son elevados, sin embargo, el año pasado significó una caída en las importaciones. Lo cual es un indicador que el mercado nacional aún no está consumiendo saponina debido a que no se importa en grandes cantidades ni hay en Perú alguna empresa que se dedique a la

extracción y comercialización de la misma por lo que podemos decir que no se encuentra aplicación comercial a diferencia del mercado internacional sobretodo el europeo y brasileño en el que las saponinas están incursionando en la industria cosmética, como lo hemos mencionado anteriormente.

FIGURA 2.14
% CIF DE IMPORTACIONES DE SAPONINA



2.12 Proceso de desaponificación

Por su estructura química, las saponinas pueden ser parcialmente eliminadas por lavado con agua, pero incluso después del lavado algunas saponinas permanecen en la semilla. El sabor amargo puede ser reducido mediante procesos de extrusión y tostado o escarificado. "Por esto, los métodos de eliminación de saponinas pueden ser clasificados en: métodos

húmedos, métodos secos y métodos combinados”⁸. (Bacigalupo et al., 2010)

a. Desaponificado por vía seca

Puede ser de dos maneras, a temperatura ambiente puede realizarse por cepillado, molienda diferencial de granos y por escarificación que elimina el pericarpio de la semilla de quinua mediante fricción, separando el polvillo que contiene las saponinas del aquenio. Otra forma más rústica es someter los granos a papel abrasivo. El inconveniente que puede generar este proceso es que desprende el germen del grano disminuyendo la calidad proteica del mismo.

Otra forma es usando calor seco a una temperatura mayor a la de ambiente, generalmente 60°C - 70°C, posteriormente por medio de una zaranda se separaban la cascarilla tostada de la semilla.

La desventaja de estos procesos es obtener un tostado uniforme sin quemar una parte de los granos, además que se debe estudiar la pérdida de nutrientes como los aminoácidos por el uso de calor.

b. Desaponificado por vía húmeda

Los granos de quinua se someten a remojo, agitación, enjuague y escurrimiento, en agua circulante o fija, donde la saponina se elimina por solubilización con el agua de lavado. Independientemente de las

⁸ Esto además se puede encontrar citado en <http://www.buenastareas.com/ensayos/Saponina-De-Quinua/1565556.html>

condiciones que se utilicen al aplicar exclusivamente la vía húmeda, una sola pasada no sería suficiente para rebajar el contenido de saponinas a un nivel aceptable para el consumidor por lo cual también se deben evaluar los costos de estos procesos.

c. Desaponificado por método combinado

Lo que menor contenido de saponinas deja en la semilla es una combinación del proceso de escarificado y posteriormente de extracción por vía húmeda, dando mejores resultados que por vía húmeda o seca, por otra parte al aplicar el método combinado se produce un significativo ahorro del volumen de agua empleado en el proceso, y una reducción de la ruptura de los granos. Este proceso combinado fue perfeccionado exitosamente en Ecuador y en Oruro, Bolivia (Bacigalupo et al., 2010). Mediante el escarificado se elimina alrededor del 65% de la saponina, luego la quinua pasa al proceso de lavado y a un secado final. Siendo el más efectivo este método entre los tres mencionados logrando finalmente una disminución de saponinas del 75% en promedio. (Corzo, 2009)

2.13 Extracción de saponinas

a. Extracción por maceración

La técnica de extracción, denominada *maceración* (que consiste en poner en contacto en un tanque la fase sólida con el líquido), es la más sencilla y económica y por lo tanto se podría usar ampliamente, pero no

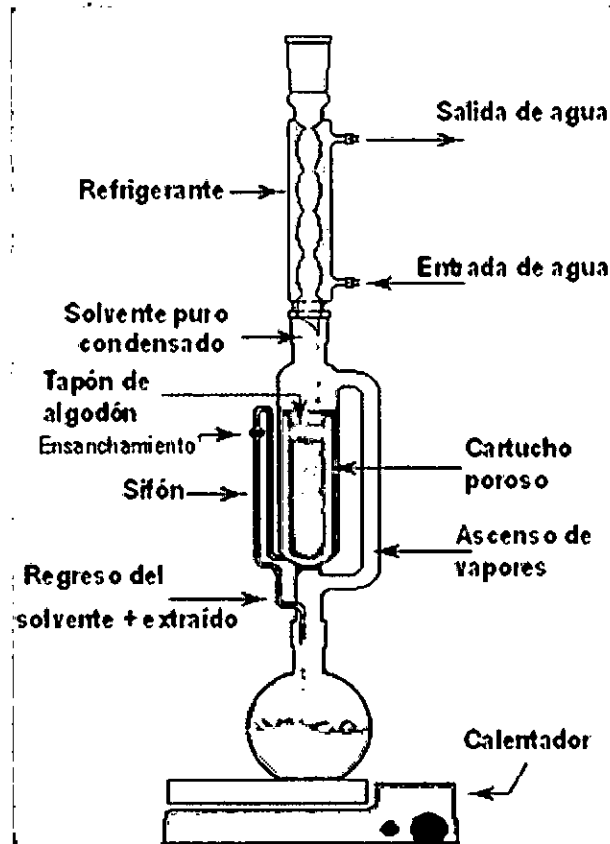
siempre es aplicable debido a que requiere un largo periodo de contacto entre el sólido y el líquido. Muchas veces, debido a procesos de fermentación rápidos o al desarrollo de alguna flora microbiana o de hongos, se produce la alteración del extracto. Una variante es la extracción con agitación en la cual el material sólido y el solvente extractante son agitados de forma permanente. Esto permite que la película del solvente alrededor de las partículas del sólido se renueve permanentemente lo cual produce un aumento en la velocidad de extracción.

b. Extracción Soxhlet

La extracción sólido- líquido es una operación unitaria que se define como la acción de separar con un líquido una fracción específica de una muestra, dejando el resto lo más íntegro posible. (Núñez, 2008)

Es un método de extracción continua. Consiste en colocar el material a extraer, previamente molido y pesado, en un cartucho de celulosa que se introduce en la cámara de extracción, conectada por una parte por un balón y por otra a un refrigerante. El disolvente contenido en el balón se calienta a ebullición, el vapor asciende por el tubo lateral y se condensa en el refrigerante, cayendo sobre el material. Cuando alcanza el nivel conveniente sifona por el tubo regresando al balón. El proceso se repite hasta conseguir el agotamiento del material. (Lamarque et al., 2008). El equipo completo se observa en la figura 2.15.

FIGURA N°2.15
EXTRACCIÓN CON SOXHLET



Fuente: (Núñez, 2008)

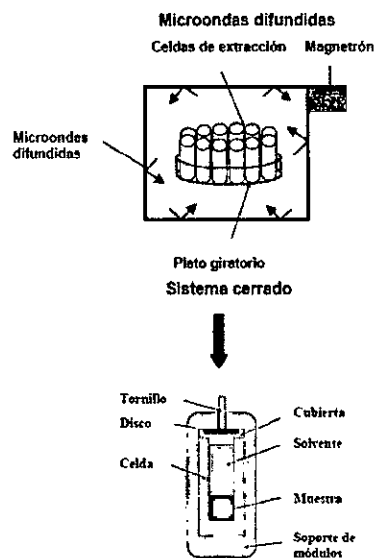
c. Extracción por microondas

La EAM (Extracción asistida con microondas) ha sido utilizada para la extracción de compuestos biológicos activos a partir de diferentes materiales.

Entre las principales ventajas de la extracción asistida por microondas se destacan que los tiempos de extracción por lo general no superan los 20 o 30 minutos, entre otras cosas porque en principio se calienta el solvente extractante y no el recipiente que lo contiene. Además, hace uso de pequeños volúmenes de disolventes orgánicos, entre los 20 y los 50 mL.

En la figura N° 2.16 se puede observar un esquema de extracción con microondas que son producidas por el magnetrón. También se ve una celda cerrada de extracción. (Vicente, 2013)

FIGURA N° 2.16
PRINCIPIO DE EXTRACCIÓN ASISTIDA CON MICROONDAS



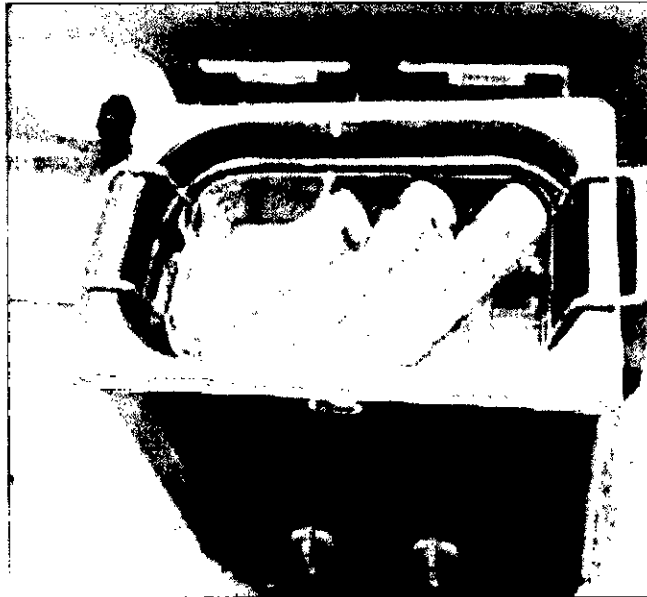
Fuente:(Vicente, 2013)

d. Extracción asistida por ultrasonido

El método de extracción asistido por ultrasonido (EAU) mostrado en la figura 2.17 proporciona una alta eficiencia de contacto en la muestra entre la matriz y el disolvente. Un efecto de cavitación sónica es producido bajo la irradiación del ultrasonido en donde microburbujas son formadas cuando la presión negativa es suficientemente alta. Una vez creadas, estas burbujas crecen y se comprimen cuando las presiones son negativas y positivas respectivamente, la constante expansión y compresión genera el colapso de las burbujas en donde se rompen las paredes celulares y facilitan la penetración de solvente en estas, se aumenta la temperatura

disminuyendo la viscosidad y estos factores hacen que el fenómeno de transferencia de masa sea mejor. (Pérez, 2009)

FIGURA 2.17
UNIDAD DE BAÑO DE ULTRASONIDO



Fuente:(Pérez, 2009)

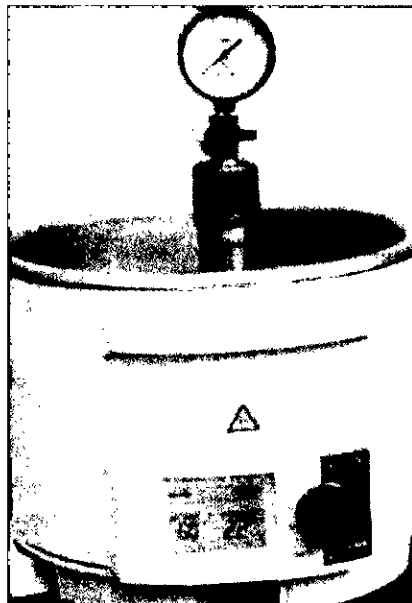
e. Extracción con alta presión

La extracción con líquidos presurizados es una técnica innovadora que ha sido desarrollada como una alternativa a los métodos convencionales de extracción en muchas áreas, tales como el medio ambiente, los alimentos, análisis farmacéutico, extracción de fitoquímicos). Para estas extracciones se utiliza generalmente agua, alcoholes de bajo peso molecular o soluciones tensioactivas no iónicas. Una solución de Triton X-100 en concentraciones del 5 al 10% ha arrojado mejores rendimientos de extracción a 50°C que con metanol o agua. Además, una presión mayor que la atmosférica fuerza al disolvente a penetrar en los poros de la matriz,

ayudando a la extracción de los analitos. Las altas temperaturas disminuyen la viscosidad del disolvente líquido, lo que permite una mejor penetración del mismo en la matriz y el debilitamiento de la interacción soluto / matriz. Además, las temperaturas elevadas mejoran la difusividad del disolvente, resultando en un aumento de la velocidad de extracción. (Vicente, 2013)

Un ejemplo de este tipo de extracción es el reactor mostrado en la figura 2.18.

FIGURA 2.18
REACTOR PARA EXTRACCION CON ALTA PRESIÓN



Fuente: (Vicente, 2013)

2.14 Factores que afectan la velocidad de extracción

Factores que afectan la velocidad de extracción:

a. Tamaño de las partículas sólidas: Evidentemente cuanto más pequeñas sean, mayor es la superficie interfacial y más corta la longitud de los poros. Por tanto mayor es la velocidad de transferencia. Sin embargo, tamaños excesivamente pequeños pueden hacer que las partículas se apelmacen dificultando la extracción.

b. Tipo de disolvente: “El disolvente debe ser lo más selectivo posible y se recomienda de baja viscosidad”⁹.

c. Temperatura: Un aumento de la temperatura favorece la solubilidad y aumentan los coeficientes de transferencia de materia. El límite superior se fija atendiendo a criterios de calidad del producto, criterios económicos y de seguridad con respecto al disolvente.

d. Agitación del disolvente-soluto: “Favorece la transferencia por aumento de coeficientes de transferencia de materia en la interfase sólido - líquido. Además se evita la sedimentación de las partículas sólidas”¹⁰.

(Vicente, 2013)

2.15 Definición de términos utilizados

- **Endosperma:** es un tejido existente en las semillas de la mayoría de las plantas, comúnmente rodea el embrión y sirve como su almacén de nutrientes durante la germinación.

⁹ También citado en Estefania Triana , Mango docx.docx

¹⁰ Además lo podemos encontrar citado en Estefania Triana , Mango docx.docx

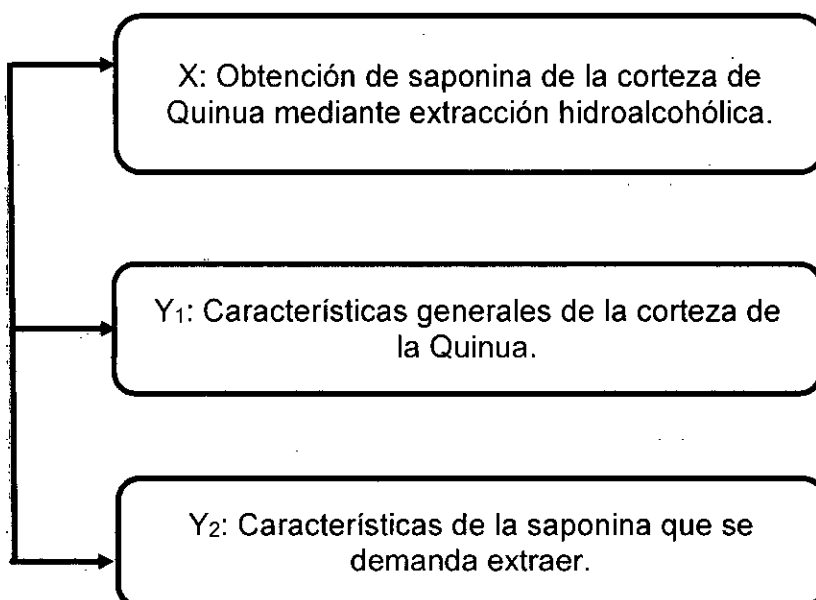
- Perisperma: Tejido de reserva en la semillas procedente de la nucela.
- Episperma: Es la capa que rodea a la semilla de las plantas espermatófitas
- Aglicón: Es el componente que reacciona con el OH anomérico de la glicona y que suele ser responsable de su actividad.
- Monosacáridos: Son los glúcidos más sencillos. Son los que con más propiedad pueden ser llamados azúcares, por sus características: cristalizables, sólidos a temperatura ambiente, muy solubles blancos y dulces.
- MINAG: Ministerio de Agricultura a través de la Dirección General de Políticas Agrarias.
- Glucósidos: sustancias constituidas por un glúcido o azúcar, que generalmente es la glucosa y una sustancia no azucarada llamada genina o aglicón que puede ser un ácido, un alcohol u otro compuesto orgánico.
- Genina o aglicona: Porción de una molécula glicídica que carece de azúcar.
- Ecotipo: Una misma especie que en ambientes diferentes tienen una expresión fenotípica distinta por la interacción de los genes con el medio ambiente.

III. VARIABLES E HIPÓTESIS

3.1. Variables de la investigación

Por su naturaleza, todas las variables identificadas son del tipo cualitativas y cuantitativas. Por su dependencia X es dependiente, y las variables Y₁ y Y₂ son independientes. Es decir: $X=f(Y_1, Y_2)$. La relación entre las variables se muestra en la figura N° 3.1.

FIGURA 3.1
DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES DE INVESTIGACIÓN



3.2. Operacionalización de las variables

En la tabla 3.1 se muestra el dimensionamiento, evaluación de indicadores y método mediante el cual se evaluará cada variable.

TABLA 3.1
OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLE DEP.	DIMENSIONES	INDICADORES	MÉTODO
X: Obtención de saponina de la corteza de Quinoa mediante extracción hidroalcohólica.	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración del solvente • Tamaño de partícula • Relación sólido – líquido 	<ul style="list-style-type: none"> • %V/V • Numero de • Diámetro medio • gr/ml 	<ul style="list-style-type: none"> • Equipo Soxhlet
VARIABLE IND.	DIMENSIONES	INDICADORES	MÉTODO
Y ₁ : Características generales de corteza de la Quinoa.	<ul style="list-style-type: none"> • Especie • Familia • Composición • Altura de espuma 	<ul style="list-style-type: none"> • Triterpenoide/ Esteroidal • Tipo • % • cm 	<ul style="list-style-type: none"> • Colorimetría • Caracterización • Análisis proximal • Prueba afrosimétrica
Y ₂ : Características de la saponina que se demanda extraer.	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación • Estabilidad de la espuma • Concentración 	<ul style="list-style-type: none"> • Presente o no presente • +/++ • %Saponina 	<ul style="list-style-type: none"> • Salkowski • Test Afrosimétrico • Espectrofotometría

3.3. Hipótesis general e hipótesis específicas

Hipótesis General

La extracción de saponina de la corteza de Quinoa mediante la extracción hidroalcohólica será más eficiente a menor tamaño de partícula y a mayor concentración alcohólica.

Hipótesis Específicas

- a. Las características de la corteza de la Quinoa nos permitirán estimar la cantidad de saponina que obtendremos.
- b. Si la cantidad de saponina obtenida es cercana al total de saponina contenida en la Quinoa diremos que el procedimiento es el más adecuado.

IV. METODOLOGÍA

4.1 Tipo de investigación

Los tipos de investigación que se realizarán en el presente trabajo de tesis son:

Por su diseño interpretativo es experimental porque realizaremos diferentes pruebas de laboratorio según nuestro diseño de factores.

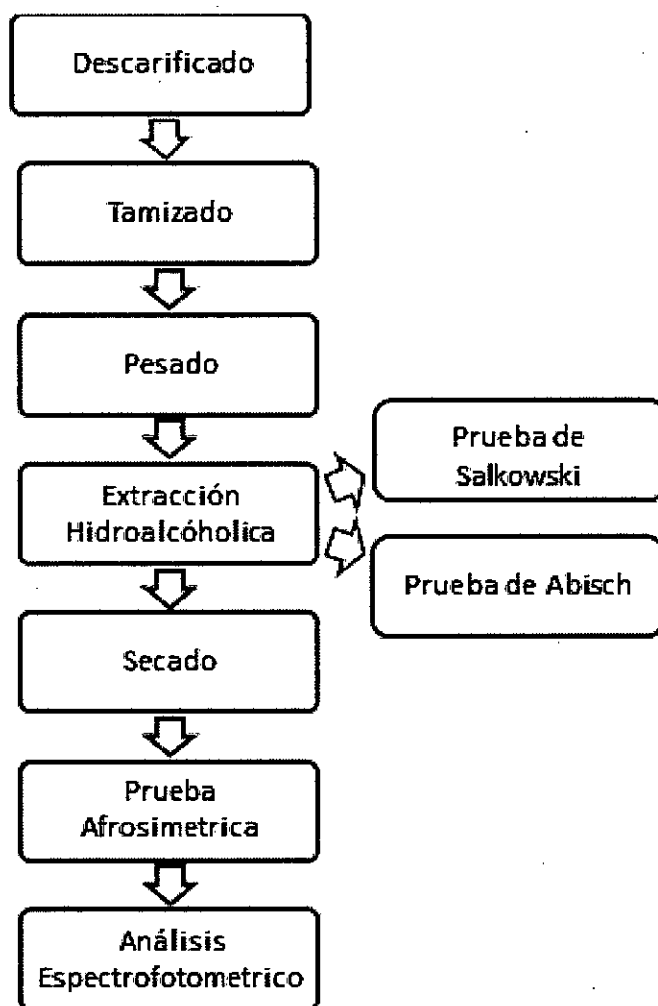
Por el énfasis de la naturaleza de los datos manejados es del tipo mixta porque las variables de la investigación son cuantitativas y cualitativas.

Por el ámbito de desarrollo es de laboratorio puesto que realizaremos nuestra investigación en los ambientes del Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ingeniería Química, Certificaciones del Perú S.A. y Unidad de Gestión Biotransversal S.AC.

4.2 Diseño de la investigación

El diseño de la presente investigación ha considerado el diagrama de bloques mostrado en la siguiente figura.

FIGURA 4.1
DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN



Los parámetros a analizar para la extracción son: Tamaño de partícula (diámetro medio), concentración alcohólica del solvente y relación entre el

mojuelo y la cantidad de solvente a usar (relación sólido-líquido), se determinó con corridas experimentales previas y basándonos en las referencias bibliográficas, qué valores serían los seleccionados. A fin de evaluar la interacción entre los parámetros se utilizó el diseño factorial de Taguchi, se estableció dos niveles y según nuestras variables tenemos tres factores, por lo cual realizamos 8 corridas experimentales, las cuales se detallan más adelante en el procedimiento estadístico.

4.3 Población y muestra

En la presente investigación no se aplica el criterio población y muestra, lo que si se aplicó fue el criterio de muestra experimental.

La muestra experimental estuvo conformada por 750 gr de corteza de quinua de variedad Pasankalla proveniente de la región de Ayacucho (Huanta), que fue escarificado por la empresa QUINUA GOLDEN – Callao.

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de información

4.4.1 Instrumentos

A. Equipos e Instrumentos

- Espectrofotómetro UV/VIS THERMOCIENTIFIC Modelo Orion Aquamate 8000
- Balanza analítica METTLER TOLEDO Modelo AB 204-5

- Balanza digital
- Equipo Soxhlet
- Alcoholímetro
- Termómetro
- Cronómetro
- Tamiz de malla de 500 micrómetros.
- Tamiz de malla 200 micrómetros.

B. Materiales

- Luna de reloj.
- Vasos de precipitado 50 mL, 100 mL y 250 mL.
- Probetas de 10, 25 mL
- Pipetas graduadas 5 y 10 mL
- Fiolas de 25, 50, 100 y 250 mL
- Espátula
- Baguetas

C. Reactivos

- Saponina triterpénica pentacíclica, estándar Sigma.
- Metanol PA
- Etanol PA
- Cloroformo PA
- Ácido clorhídrico concentrado

- Ácido sulfúrico al 95-98%, $\rho=1,84$ g/mL
- Anhídrido acético >97%
- Solución Hidróxido de sodio al 5%
- Agua destilada

4.4.2 Técnicas

A. Identificación de saponina

Salkowski determina la presencia de saponina, la solución clorofórmica que contiene la muestra se pone en contacto ácido sulfúrico si da una coloración anaranjada indica reacción positiva de existencia de saponina.

B. Tipo de saponina

Abisch & Reichstein, puntualizan que los triterpenos dan un color rojo y los esteroides color verde con la mezcla de anhídrido acético y ácido sulfúrico, lo cual permite diferenciar las saponinas triterpénicas de las esteroidales.

C. Test Afro simétrico

Se toma parte del extracto etanólico seco en un tubo de ensayo y se añadió 5 ml de agua destilada, se calienta al baño maría hirviendo por 2 minutos, se agita vigorosamente, la persistencia en minutos de la espuma se califica con cruces: 5 - 20 min. (+); 20 - 25 min. (++)

D. Determinación del contenido de saponina por el Método Afrosimétrico

Tomando como referencia el método de Koziol. Se realizó la curva de calibración con un estándar de quinua obteniendo una recta, en base a la ecuación de la recta de calibración se puede calcular el porcentaje de saponinas aproximado del mojuelo utilizando las siguientes ecuaciones:

$$Y = 2,154X + 0,455$$

$$Z = X/W * 100$$

Dónde:

X = mg de saponina en 5ml de solución acuosa

Y = Altura de espuma en cm;

Z = Porcentaje de saponina en la muestra

W = mg de muestra en 5 ml de solución acuosa.

E. Determinación del contenido de saponina por el Método espectrofotométrico

La espectrofotometría es una técnica que permite conocer la concentración de un compuesto. Se caracteriza por su precisión, sensibilidad y su aplicabilidad a moléculas de distinta naturaleza (contaminantes, biomoléculas, etc) y estado de agregación (sólido, líquido, gas). Se basa en la propiedad que tienen los compuestos de absorber energía a diferentes longitudes de onda del espectro electromagnético de la luz.

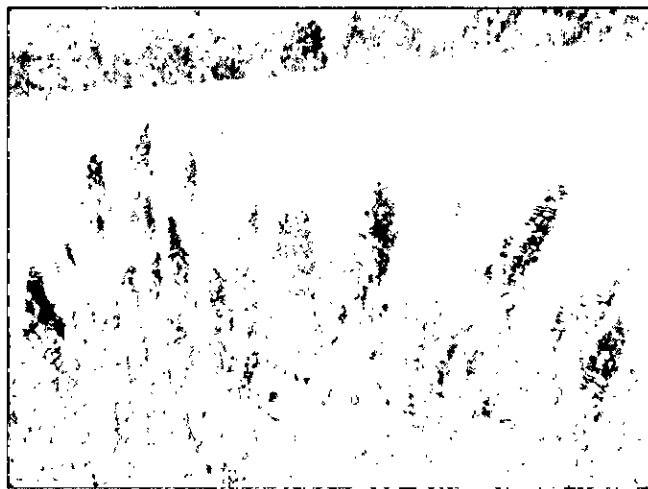
Por tal motivo, en el presente trabajo de investigación se determinó el contenido total de saponinas en el mojuelo de quinua, orientado a fortalecer el método espectrofotométrico, como una técnica válida y sencilla, de bajo costo, que pueda ser aplicada por cualquier laboratorio, como un medio para su identificación y cuantificación.

4.5 Procedimiento de recolección de datos

A. Escarificado

La Quinoa es sesgada (cortada) cuando las plantas llegan a la madurez que se reconoce cuando las hojas inferiores se vuelven amarillentas y empiezan a caerse como se muestra en las figuras 4.2 y 4.3.

FIGURA 4.2
COSECHA DE QUINUA



Fuente: Golden Perú

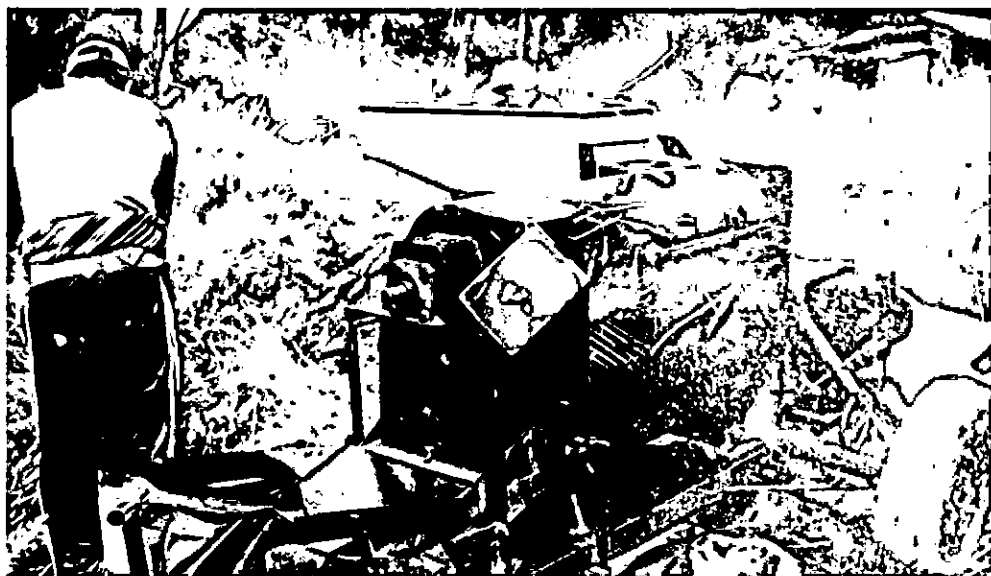
FIGURA 4.3
QUINUA SESGADA



Fuente: Golden Perú

Posteriormente es trillada, figura 4.4, donde se separa las panojas secas de la parva, sus golpes rítmicos permiten desprender el grano de la inflorescencia.

FIGURA 4.4
TRILLADO DE QUINUA



Fuente: Golden Perú

Finalmente es escarificado que consiste en la separación del episperma (descascarado) y segmentos secundarios del grano de quinua, donde se concentra el mayor contenido de saponina; el pulido pretende producir una quinua de superior calidad, cuyo efecto consiste en remover las últimas partículas de cáscara y darle al grano un aspecto más liso y limpio, que viene a ser la quinua perlada. en la figura 4.5 se muestra un escarificador de Quinua.

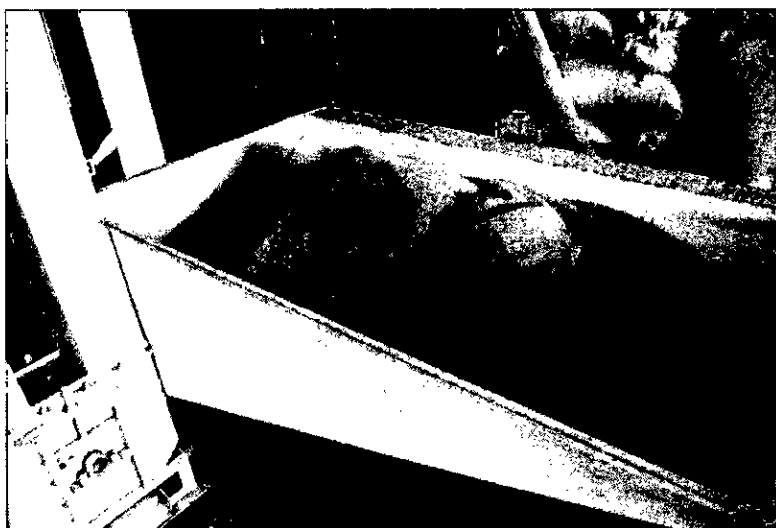
FIGURA 4.5
ESCARIFICADORA



Fuente: Maquinarias Innova

Acción combinada de paletas o tambores giratorios y tamiz estacionario, que permite un constante raspado de los granos de quinua contra las paredes de las mallas. El polvillo desprendido de los granos pasa a través de la malla y es separado por gravedad o mediante uso de succionadores de aire. De esta manera se obtiene el mojuelo de Quinua para su posterior tratamiento, figura 4.6

FIGURA 4.6
MOJUELO DE QUINUA



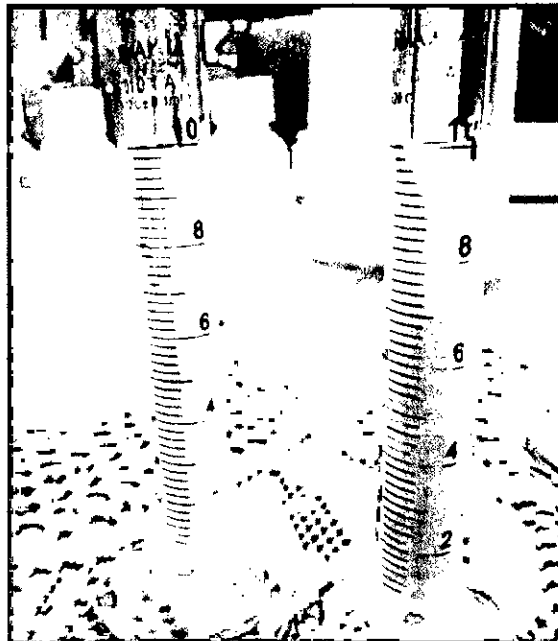
Fuente: Golden Perú

Por lo que cada de Tonelada de quinua procesada se obtiene 50 kg de mojuelo, lo cual nos permite definir que se puede obtener un 5% de mojuelo de Quinua.

B. Cuantificación de Saponina en el mojuelo

Tomamos 50 mg de mojuelo y la colocamos en una probeta de 10ml, añadimos 5ml de agua destilada, agitamos vigorosamente durante 60 segundos, colocamos la probeta en posición vertical y esperamos 1 min hasta que se establezca la altura de la espuma formada. Medimos la altura de la espuma.

FIGURA 4.7
ALTURA DE LA ESPUMA



C. Tamizado del Mojuelo

La muestra de 750 gr de mojuelo de saponina fue clasificada por tamaño de partícula diferente de diámetro medio de 200 y 500 micras. Obteniendo los siguientes pesos como se muestra en la tabla 4.1. Luego fueron separadas por su posterior tratamiento.

TABLA 4.1
TAMIZADO DE LA MUESTRA

Diámetro medio (um)	Peso retenido	%Retenido
500	202,73	27,0%
200	316,23	42,2%
ciego	231,04	30,8%

FIGURA 4.8
TAMICES

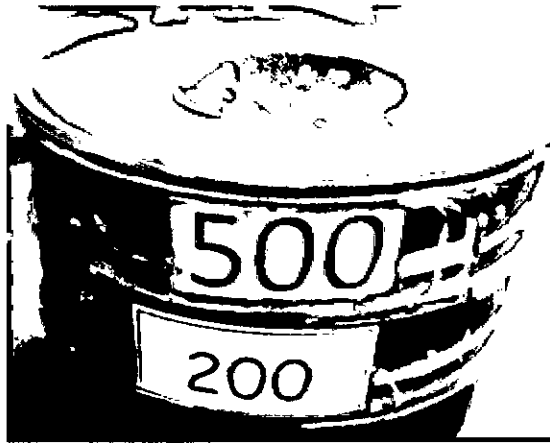


FIGURA 4.9
MUESTRAS TAMIZADAS DE 200 Y 500



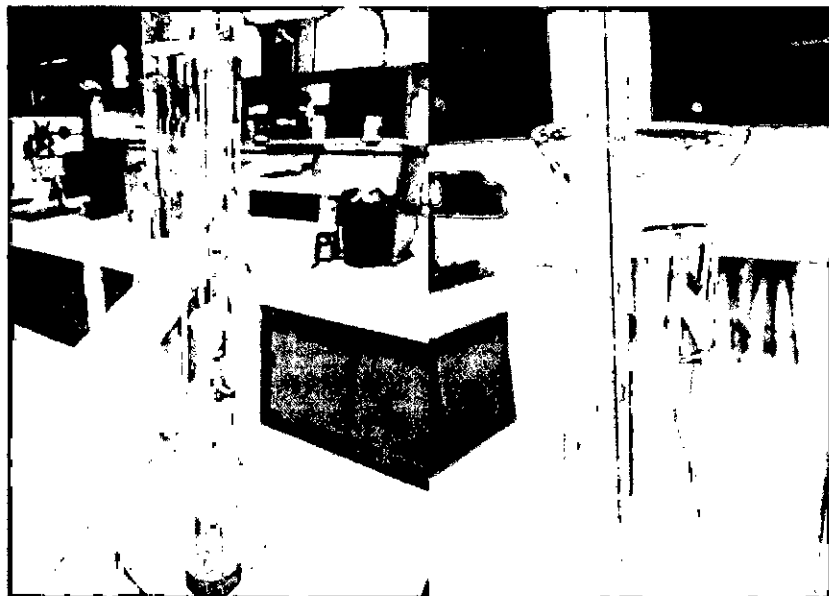
D. Pesado de las muestras.

Se pesaron en balanza analítica ocho (08) muestras cada una con un testigo, según la siguiente distribución: M2, M4, M6 y M8 (12 gramos); y M1, M3, M5 y M7 (9 gramos).

E. Preparación de mezclas Hidroalcohólicas.

Se adquirió alcohol etílico comercial y se midió el grado de alcohol usando el alcoholímetro determinado el 84% de pureza y basándonos en ello, preparamos dos soluciones etanol- agua a 75% y 50%.

FIGURA 4.10
DETERMINACIÓN DE GRADO DE ALCOHOL



F. Extracción en Soxhlet

Las muestras pesadas de 09 y 12 gramos se acomodaron en el papel filtro y se realizó la extracción con las soluciones preparadas anteriormente de acuerdo a nuestro diseño experimental por un tiempo de 1h a una temperatura de 85°C

FIGURA 4.11
EXTRACCIÓN SOXHLET



FIGURA 4.12
EXTRACCIÓN AL 50% ETANOL - AGUA

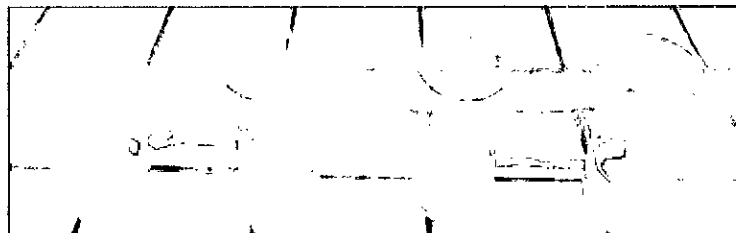
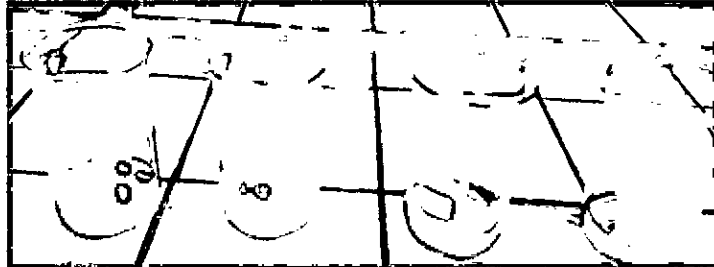


FIGURA 4.13
EXTRACCIÓN AL 75% ETANOL - AGUA



G. Concentración de Saponina.

Lo obtenido en cada extracción, se concentró hasta 40 mL, separando el alcohol utilizando una pera de decantación como se muestra en la figura.

Se extrajo una alícuota de aproximadamente 1 mL del extracto para realizar las pruebas de identificación.

FIGURA 4.14
CONCENTRACIÓN DE SAPONINA



Todos los extractos se colocaron en placas Petri y se pusieron a secar a temperatura ambiente (04 días) hasta peso constante, determinando los pesos en la tabla 4.2.

TABLA 4.2
PESO DEL EXTRACTO

Puntos experimentales	Concentración alcohólica	Tamaño de partícula	Relación líquido-sólido	Peso del extracto seco
	%(V/V)	Dm (um)	mL/g	g
1	75%	500	20	1.622
2	75%	500	15	2.436
3	75%	200	20	1.148
4	75%	200	15	1.918
5	50%	500	20	2.594
6	50%	500	15	2.183
7	50%	200	20	2.622
8	50%	200	15	1.173

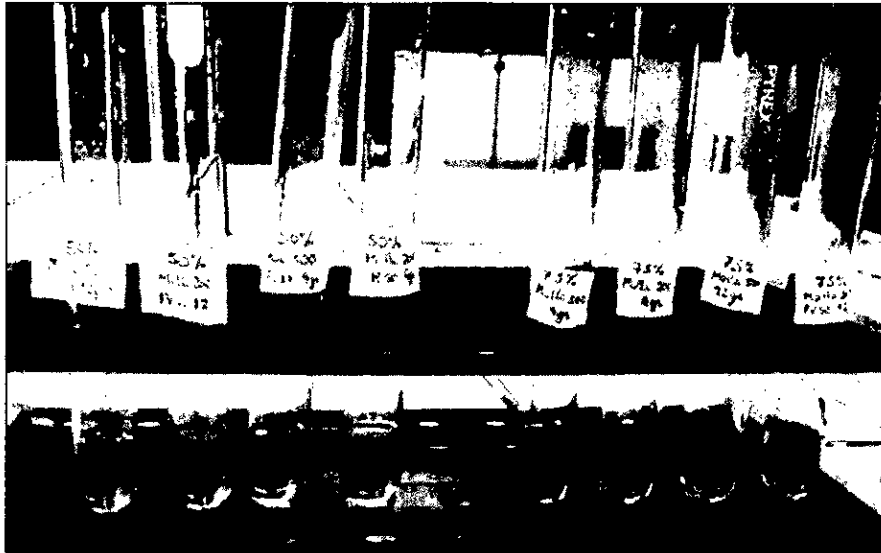
FIGURA 4.15
EXTRACTO DE SAPONINA



H. Prueba de Salkowski

Se tomó 0.1 mL de cada extracto y se colocó en tubos de ensayo, al cual se añadió 0.1 mL de cloroformo y 0.1 mL de ácido sulfúrico. Evaluando la coloración.

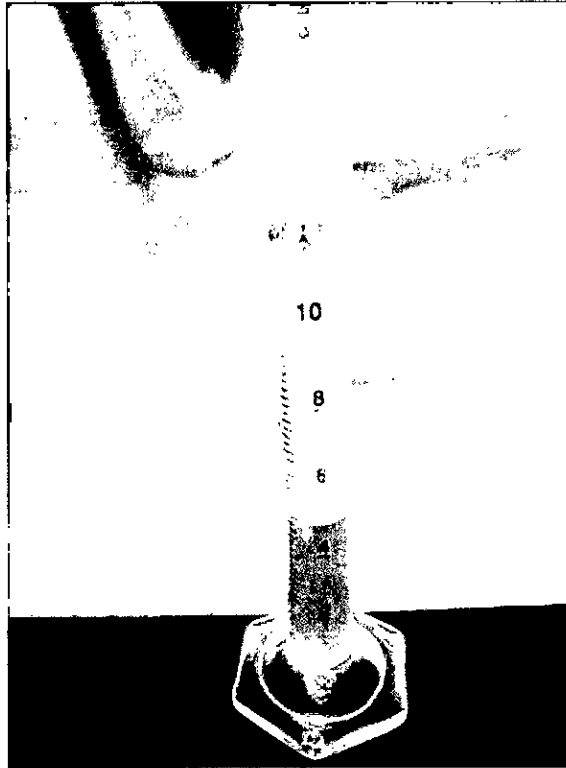
FIGURA 4.16
PRUEBA DE SALKOWSKI



I. Prueba de Abisch

Se tomó 0.1 ml de cada extracto y se colocó en tubos de ensayo, al cual se añadió 0.1 ml de anhídrido acético y 0.1 ml de ácido sulfúrico. Evaluando la coloración.

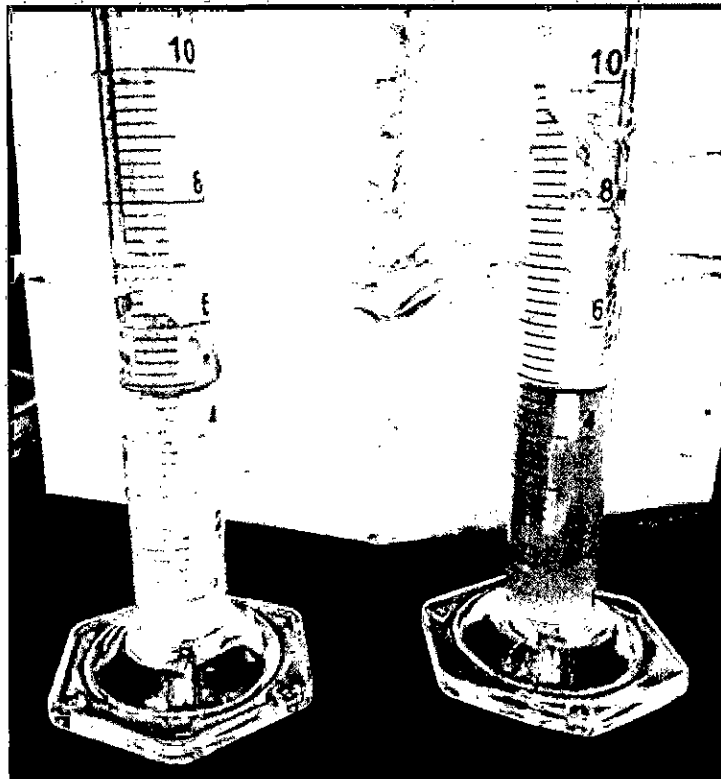
FIGURA 4.17
IDENTIFICACIÓN DE SAPONINA



J. Test de Afrosimétrico

Tomamos alícuotas de extracto y la colocamos en una probeta de 10mL, añadimos 5mL de agua destilada, agitamos vigorosamente durante 60 segundos, colocamos la probeta en posición vertical y esperamos 1 min hasta que se estabilice la altura de la espuma formada. Clasificamos la estabilidad de la espuma.

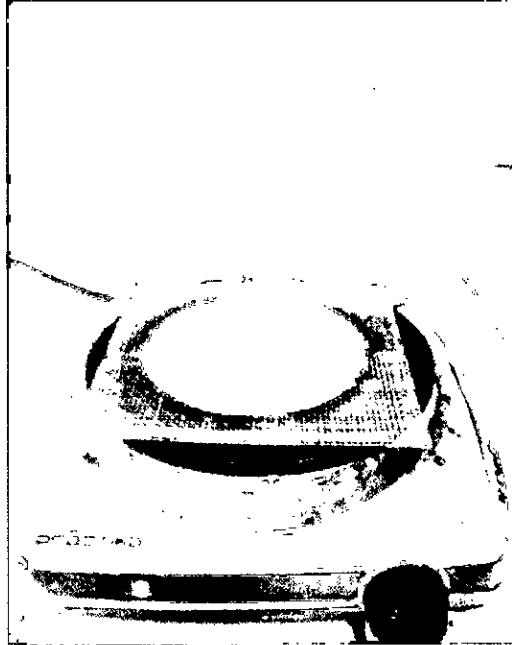
FIGURA 4.18
ESTABILIDAD DE LA ESPUMA



K. Hidrólisis de saponinas

Se pesaron 200 mg de las 8 muestras de saponinas purificadas y se depositaron en un vaso deprecitado de 100 mL, adicionándole 20 mL de agua destilada. En el vaso deprecitado se colocó en Baño María hasta que se alcanzó los 70°C, enseguida se le agregó 10 mL de ácido clorhídrico concentrado, manteniendo a reflujo durante 20 minutos. Se dejó enfriar y se ajustó el pH con hidróxido de sodio al 5% a 7,2.

FIGURA 4.19
HIDROLISIS DE SAPONINA



Fuente: Biotransversal

L. Extracción de sapogeninas

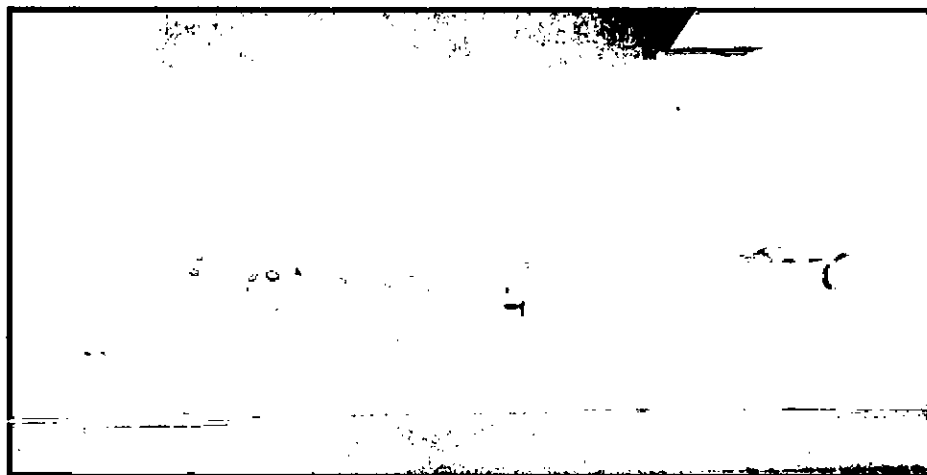
Luego de ajustar el pH, se trasvasó la muestra a una pera de decantación y se aislaron las sapogeninas con extracción sucesiva de cloroformo. La fase clorofórmica se llevó a sequedad hasta la evaporación del solvente, obteniéndose un producto seco (sapogeninas) que fue utilizado para la cuantificación de saponinas.

FIGURA 4.20
EXTRACCIÓN DE SAPOGENINA



Fuente: Biotransversal

FIGURA 4.21
EXTRACTOS CLOROFORMICOS



Fuente: Biotransversal

FIGURA 4.22
SAPOGENINA



Fuente: Biotransversal

M. Ensayo espectrofotométrico

De las sapogeninas extraídas se pesaron muestras de 20 mg, y cada una se solubilizó con 5 mL de metanol en una fiola de 25 mL, se añadió el reactivo de color en una proporción de 1:3,5 (muestra/ reactivo), aforando con metanol, de esta manera se obtuvo soluciones cuya concentración fue 0,8 mg/mL. Se leyó la absorbancia de las soluciones a 412 nm, a los 60 minutos después de haber adicionado el reactivo de color. Alternativamente se preparó una solución blanco con los pasos mencionados.

La concentración de sapogeninas (mg/mL calculados) fue obtenida a partir de la pendiente e intercepto de la recta calculada por análisis de regresión lineal simple en base a las absorbancias de las soluciones

estándares preparadas para la curva de calibración como se puede apreciar en la tabla 4.3 y grafico 4.1

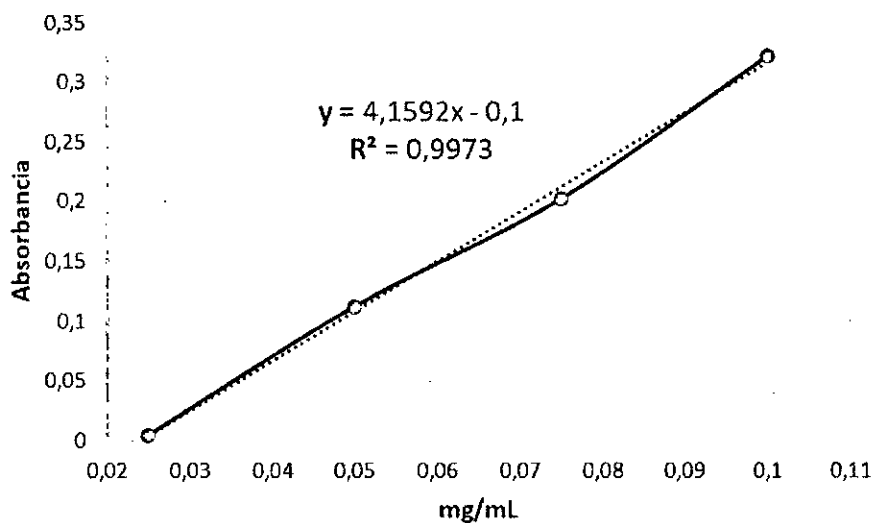
TABLA 4.3
RESULTADOS DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE LAS
SAPONINAS PATRÓN

mg/mL	Absorbancia	Promedio de Absorbancia	Desviación Estándar
0,025	0,005	0,005	0,0006
	0,004		
	0,005		
0,050	0,116	0,112	0,0036
	0,111		
	0,109		
0,075	0,199	0,202	0,0030
	0,205		
	0,202		
0,100	0,311	0,321	0,0100
	0,331		
	0,322		

Fuente: Biotransversal

GRÁFICO 4.1

CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE SAPONINAS TRITERPÉNICAS PENTACÍCLICAS



Fuente: Biotransversal

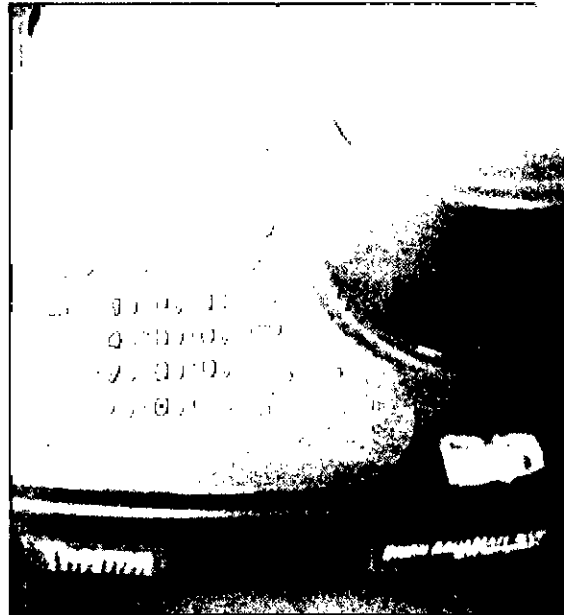
Por lo cual se estimó la cantidad (%) de saponinas contenidas en las muestras aplicando la siguiente relación:

$$\% \text{ saponinas} = \frac{\% \text{ recuperación sapogenina} \times \text{g extracto seco saponina}}{\text{g cáscara de quinua}}$$

donde:

$$\% \text{ recuperación sapogenina} = \frac{\text{mg/mL calculados}}{0,8 \text{ mg/mL}} * 100$$

FIGURA 4.23
ESPECTOFOTOMETRO



Fuente: Biotransversal

4.6 Procedimiento estadístico y análisis de datos

Se realizó la evaluación de la concentración alcohólica, relación sólido-líquido y tamaño de partícula sobre el porcentaje de saponina obtenida en el proceso de extracción y posteriormente se determinaron los niveles de dichas variables que optimicen el proceso de extracción de saponina por Soxhlet.

Los análisis estadísticos se desarrollaron utilizando el programa Minitab 18. Basándonos en el diseño factorial de Taguchi, se estableció dos niveles y según nuestras variables tenemos tres factores. Por lo cual nuestro diseño factorial es de 2^3 resultando un total de 8 puntos experimentales.

Los niveles seleccionados para las variables mencionadas según pruebas experimentales previas realizadas fueron los mencionados en la tabla 4.4.

TABLA 4.4
NIVELES DE LOS FACTORES

Factores	Unidad	Niveles	
		1	2
Concentración alcohólica	%(V/V)	75	50
Tamaño de partícula (Diámetro medio)	micrómetros	500	200
Relación sólido-líquido	mL/g	20	15

En el cuadro siguiente mostramos la matriz de experimentos que resulta de la interacción de los factores con sus respectivos niveles.

TABLA 4.5
DISEÑO FACTORIAL

Puntos experimentales	Concentración alcohólica	Tamaño de partícula	Relación líquido-sólido
	%(V/V)	Dm(um)	mL/g
1	75%	500	20
2	75%	500	15
3	75%	200	20
4	75%	200	15
5	50%	500	20
6	50%	500	15
7	50%	200	20
8	50%	200	15

V. RESULTADOS

5.1. Resultados Parciales

a. Caracterización del mojuelo de Quinua

Se realizó un análisis de composición de nuestra materia prima en los laboratorios de Certificaciones del Perú S.A. y se obtuvieron los siguientes resultados:

TABLA 5.1
COMPOSICIÓN DEL MOJUELO DE QUINUA

Ensayos	Unidad	Resultados	
		Base húmeda	Base seca
Proteína	g/100g	8,50	9,71
Grasa	g/100g	5,05	2,34
Ceniza	g/100g	8,05	9,2
Humedad	g/100g	12,5	
Carbohidratos	g/100g	68,9	
Calorías	Kcal/100g	328,05	
Calorías provenientes de proteínas	Kcal/100g	34	
Calorías provenientes de grasa	Kcal/100g	18,45	
Calorías provenientes de carbohidratos	Kcal/100g	275,6	

Fuente: INFORME DE ENSAYO N°1-12532/17 - CERPER

b. Identificación de materia prima

La quinua roja variedad Pasankalla, presenta saponinas triterpénicas según la Prueba de Abisch ya que se puede observar la coloración rojiza característica.

c. Prueba de Salkowski

La prueba de identificación resultó positiva para cada uno de nuestros extractos, por la coloración naranja que estas presentaban.

Las tonalidades son variadas debido a que cada extracto presenta diferente concentración de saponina.

d. Cuantificación de saponina en el mojuelo

Después de medir las alturas de la espuma con 0.1 g de mojuelo en 5ml (W=100) de solución acuosa se obtuvieron una altura de espuma de 3.2 cm.

Según el modelo de Koziol descrito anteriormente, calculamos X (mg de saponina en 5ml de solución acuosa) a partir de la altura:

$$X = \frac{Y - 0.455}{2.154}$$

$$X = \frac{3.2 - 0.455}{2.154}$$

$$X = 1.2744 \text{ mg}$$

Hallamos Z (%saponina en el mojuelo):

$$Z = \frac{1.2744 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} * 100$$

$$Z = 2.5\%$$

e. Test de afrosimetría

Después de calificar la altura de la espuma se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 5.2.

**TABLA 5.2
TEST AFROSIMETRICO**

Concentración alcohólica	Tamaño de partícula	Relación líquido-sólido	Clasificación de la espuma
%(V/V)	Dm(um)	mL/g	(++/+)
75%	500	20	+
75%	500	15	+
75%	200	20	+
75%	200	15	+
50%	500	20	++
50%	500	15	++
50%	200	20	+
50%	200	15	++

f. Porcentaje de saponina

TABLA N° 5.3
CONCENTRACIÓN DE SAPONINAS DE LA CÁSCARA DE *CHENOPODIUM QUINUA* PASANKALLA (QUINUA)

Muestra	Absorbancia Promedio	Absorbancia desviación estándar	mg/mL calculado	% Recuperación sapogenina	% Saponina
1	0,008	0,0006	0,0258	3,2201	0,5803
2	0,042	0,001	0,034	4,2547	0,8637
3	0,018	0,0015	0,0283	3,5415	0,4517
4	0,008	0,0006	0,0258	3,2201	0,5147
5	0,019	0,001	0,0285	3,5616	1,0265
6	0,003	0	0,0246	6,159	1,1204
7	0,009	0,0006	0,026	6,5005	1,8938
8	0,007	0,0006	0,0255	3,19	0,3118

Fuente: Biotransversal

Identificando los parámetros de diseño que corresponden a cada corrida experimental relacionándolo con la tabla 5.3, obtenemos:

TABLA 5.4
PORCENTAJE DE SAPONINA

Puntos experimentales	Concentración alcohólica	Tamaño de partícula	Relación líquido-sólido	Saponina en el mojuelo
	%(V/V)	Diámetro medio (micrómetros)	mL/g	%
1	75%	500	20	0,5803
2	75%	500	15	0,8637
3	75%	200	20	0,4517
4	75%	200	15	0,5147
5	50%	500	20	1,0265
6	50%	500	15	1,1204
7	50%	200	20	1,8938
8	50%	200	15	0,3118

Calculando el rendimiento de la extracción:

$$\%Rendimiento = \frac{M_2}{M_1} * 100$$

Donde:

M_2 : %Saponina obtenido en extracción

M_1 : %Saponina en el mojuelo inicial

Por lo tanto $M_1 = 2.5\%$

Para el caso de la primera extracción:

$$\%Rendimiento = \frac{0.5803}{2.5} * 100$$

$$\%Rendimiento = 23.21\%$$

Realizando el mismo análisis para los siguientes casos:

TABLA 5.5
PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

Puntos experimentales	Rendimiento
	%
1	23,21%
2	34,55%
3	18,07%
4	20,59%
5	41,06%
6	44,82%
7	75,75%
8	12,47%

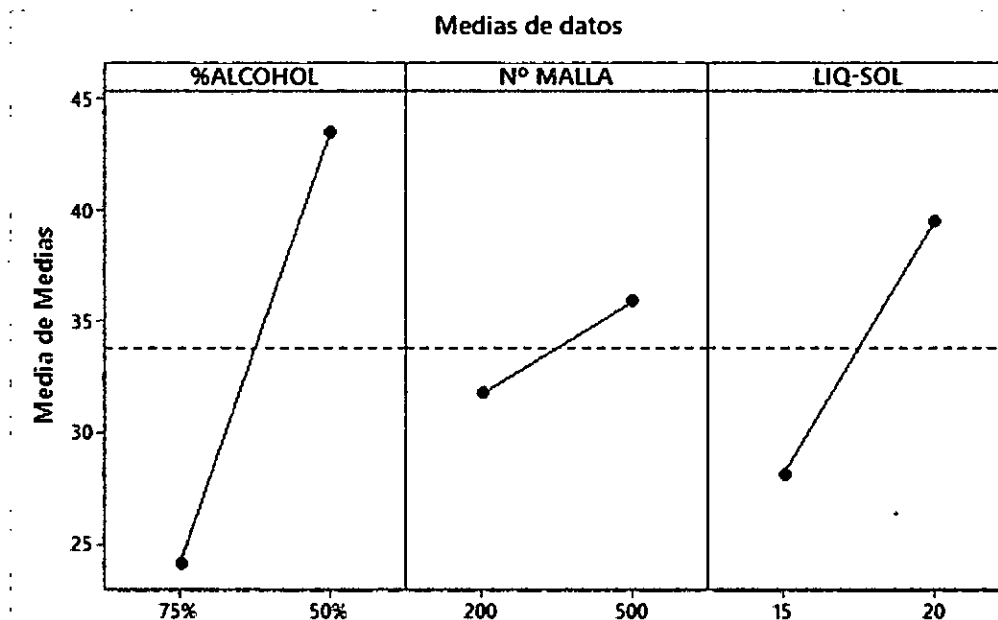
Ingresando los datos al Minitab, tenemos:

FIGURA 5.1
DISEÑO DE TAGUCHI

Resumen del diseño			
Arreglo de Taguchi	L8(2 ³)		
Factores:	3		
Corridos:	8		
Columnas del arreglo de L8(2 ⁷): 1 2 4			
Análisis de Taguchi: %REND vs. %ALCOHOL; N° MALLA; LIQ-SOL			
Tabla de respuesta para medias			
Nivel	%ALCOHOL	N° MALLA	LIQ-SOL
1	24,11	31,72	28,11
2	43,52	35,91	39,52
Delta	19,42	4,19	11,41
Clasificar	1	3	2

Fuente: MINITAB

FIGURA 5.2
GRAFICA DE EFECTOS PRINCIPALES PARA MEDIAS



Fuente: MINITAB

Las gráficas de efectos principales muestran cómo cada factor afecta la característica de respuesta.

5.2. Resultados Finales

Se determinó que el mayor porcentaje de rendimiento de extracción fue de 75.75% y se obtuvo realizando la extracción de saponina en el equipo Soxhlet con 180 mL de solvente a una concentración alcohólica del 50% de etanol y utilizando 9 g de mojuelo previamente tamizado para conseguir un tamaño de partícula menor a 200 micras de diámetro, en la tabla 5.6 se puede apreciar en color azul los parámetros que finalmente fueron los que nos permitieron obtener los mejores resultados.

TABLA 5.6
PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA LA OBTENCIÓN DE SAPONINA

Puntos experimentales	Concentración alcohólica	Tamaño de partícula	Relación líquido-sólido	Saponina en el mojuelo	Rendimiento
	%(V/V)	Diámetro medio (micrómetros)	mL/g	%	%
1	75%	500	20	0,5803	23,21%
2	75%	500	15	0,8637	34,55%
3	75%	200	20	0,4517	18,07%
4	75%	200	15	0,5147	20,59%
5	50%	500	20	1,0265	41,06%
6	50%	500	15	1,1204	44,82%
7	50%	200	20	1,8938	75,75%
8	50%	200	15	0,3118	12,47%

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Contrastación de hipótesis con los resultados

El mayor rendimiento de extracción de saponina se obtuvo a menor diámetro de partícula como lo predecimos, sin embargo, se da a menor concentración alcohólica (50%) contrario a lo dicho anteriormente, esto indica que un solvente más puro no necesariamente implica una mejor extracción, esto depende de la naturaleza del soluto.

Por otro lado, las características de la corteza de la Quinoa, en específico el porcentaje de saponina en el mojuelo nos permitió estimar la cantidad de saponina que obtendríamos después de la extracción.

En el mayor rendimiento de extracción se obtuvo una cantidad de saponina similar al total de saponina contenida en la corteza de la Quinoa, por lo cual podemos decir que este procedimiento es aplicable.

6.2. Contrastación de resultados con otros estudios similares

- En la investigación de Vicente (2013) que realizó la extracción de saponina por cuatro métodos, uno de ellos fue el Soxhlet, y el mayor rendimiento trabajando con etanol al 20% fue 2.03 g saponina/100 g en un tiempo de 5h. Por ende podemos decir que trabajando a una concentración más elevada de alcohol podemos obtener un rendimiento similar en menor tiempo.

- Lozano et al., 2012 realizaron la extracción tomando en cuenta la temperatura, relación sólido-líquido y concentración alcohólica. El método fue por maceración y el mejor rendimiento a 72h y etanol al 50% con un rendimiento del 58%.
- Otra investigación realizada por maceración es la de Paredes et al., (2007), en este caso se realizó el aislamiento de la saponina, hidrólisis y pruebas de identificación como la de Liebermann-Burchard para saponinas triterpénicas como en nuestro caso.

VII. CONCLUSIONES

- a. El mayor rendimiento se obtuvo a menor tamaño de partícula (diámetro menor a 200 micrómetros), con una relación de 20 mL de solvente por cada gramo de mojuelo y utilizando una mezcla hidroalcohólica al 50% de etanol.
- b. Las características de la Quinoa variedad Pasankalla proveniente de la región de Ayacucho (Huanta) contiene saponinas triterpénicas. Según el procedimiento de escarificado se obtiene aproximadamente 5% de mojuelo, el cual contiene 2.5% de saponina.
- c. Se identificó la presencia de saponina en el mojuelo mediante la prueba de Salkowski, se obtuvo un extracto de 1.9% de saponina, por ende, ésta se pudo extraer hasta un 75.75% del mojuelo donde se encontraba.

VIII. RECOMENDACIONES

- a. Realizar la hidrólisis de la saponina para su correcta cuantificación, esto se debe a que la saponina es un compuesto higroscópico, por lo que es inestable para su determinación.
- b. Este procedimiento de extracción es rentable debido a que se usó un alcohol comercial, sin embargo, se debería estudiar la extracción acuosa de la saponina a fin de evaluar la efectividad y también aplicarlo a otras especies de Quinoa.
- c. Para la extracción sólido- líquido mediante el equipo del Soxhlet se recomienda agregar el solvente por la parte superior del refrigerante hasta llenar el cuerpo del Soxhlet hasta realizar el sifoneo y así asegurar que durante la operación el balón no quedará sin solvente.
- d. Realizar un estudio que identifique las principales empresas procesadoras de Quinoa en nuestro país y cantidad de cascarilla que cada una de ellas obtienen durante su proceso, de esta manera podemos determinar cuánto de este residuo estamos produciendo al año y el tamaño de planta que necesitaríamos para procesarlos y en un futuro exportarla como la saponina de Quillay en Chile o la saponina Tea Tree de China.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Asociación Latinoamericana de Integración (ALADI). Disponible en: http://consultawebv2.aladi.org/sicoexV2/jsf/comercio_exterior_item_ancelario.seam. Consultado el 15 de diciembre del 2017.
2. ARAQUE, I. y Otros. **Diseño del proceso para elaboración de detergente a partir de saponina de quinua**. Disponible en: <http://myslide.es/documents/disenodelproceso-de-elaboracion-de-detergente-a-partir-de-la-saponina-de.html>. Artículo web. Consultado el 10 de junio del 2016.
3. AGRICULTURERS. **El cultivo de Quinua**. Disponible en: <http://agriculturers.com/el-cultivo-de-quinua/>. Artículo web. Consultado el 02 de diciembre del 2017.
4. BACIGALUPO, A. y TAPIA, M. E. (2000). **Tecnología para la preparación de alimentos. Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación**. Disponible en: https://issuu.com/b.mendozaelizabeth/docs/cultivos_andinos_subexplotados_y_s1
5. CACCHI TELLO, Katty. **Demanda de la Quinua (Chenopodium Quinoa Willdenow) a nivel industrial**. Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. Lima. Universidad Nacional Agraria La Molina 2009.
6. CORZO BARRAGAN, Diana. **Análisis y selección de diferentes métodos para eliminar las saponinas en dos variedades de**

- Chenopodium Quinoa Willd.** *Pérez Arbelaezia* Vol 19: 153-162. Diciembre 2008.
7. EUROECOTRADE. **Posibilidades de la Saponina de la Quinoa en la Industria Cosmética.** Artículo web. Disponible en: <http://www.euroecotrade.pe/galeria/57bbdb99e24e2.pdf>. Consultada el 10 de noviembre del 2017.
 8. FOY VALENCIA, Enzo. **Extracción, Identificación y Evaluación de Saponinas en Agaricus Bisporus.** *Biotempo*. Vol.5: 31-36. 2005.
 9. GUEVARA GALÁRRAGA. **Saponinas triterpénicas de la Quinoa (Chenopodium Quinoa Willd) en la elaboración de una crema con actividad exfoliante.** Tesis de grado. Riobamba. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2012
 10. GUNT HAMBURG. Ingeniería de Procesos Términos Extracción. http://www.gunt.de/images/download/extraction_spanish.pdf. Artículo web. Consultada el 02 de Diciembre del 2017.
 11. HERNÁNDEZ S., Rosa y Otros. **Extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de agave lechuguilla Torrey.** *Revista e-Gnosis*. Vol. 3: 1 a 9. Noviembre 2005.
 12. IBARZ A. y BARBOZA G. **Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos.** Madrid. Ediciones Mundi – Prensa. 2011.
 13. LÓPEZ LUENGO, Tránsito. **Saponósidos.** *Fitoterapia*. 124-128. Junio 2001.

14. LOZANO, Maribel y OTROS. **Cuantificación de Saponinas en Residuos de Quinoa Real *Chenopodium Quinoa Willd.*** *Revista Boliviana de Química*. Vol. 29 N° 2: 133 a 137. 2012
15. MARTÍNEZ MARTÍNEZ, Alejandro. **Saponinas esteroideas.** Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/saponinas.pdf>. Artículo web. Consultado el 20 de mayo del 2016
16. MINAG. (2013). **Ministerio de agricultura – Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos. Direcciones Regionales y Subregionales de Agricultura.** Disponible en: <http://www.minag.gob.pe/portal/herramientas/estadisticas/dinamicaagr> [opeuari](http://www.minag.gob.pe/portal/herramientas/estadisticas/dinamicaagr). Artículo web. Consultada el 1 de junio del 2016.
17. MINAGRI. **La Quinoa: Producción y comercio del Perú.** Perfil Técnico N°2. Marzo 2017
18. MUJICA.S, Angel; JACOBSEN, Sven y Otros. **Quinoa-*Chenopodium quinoa*.** Disponible en: <http://www.condesan.org/publicacion/Libro03/home03.htm>. Artículo web. Consultada el 29 mayo del 2016.
19. NATURE IS OUR ORIGIN, ORIGIN IS OUR. **Saponina de Camelia.** Artículo web. Disponible en: <http://www.xsyagri.com/es/portfolio/saponina-de-camelia/>. Consultada el 06 diciembre del 2017.

20. NUÑEZ, Eduardo. **Extracciones con Equipo Soxhlet**. Artículo web. Disponible en: <http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-extraccinconequipo Soxhlet.pdf>. Consultada el 06 diciembre del 2017.
21. PAREDES MARIÑOS, Hugo y SOLAR ARMAS, Mary. **Identificación y Cuantificación de las Saponinas Contendidas en el Fruto de la Especie Cucumis Dipsaceus por Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC)**. Tesis para obtener el grado de Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú. Universidad Nacional de Trujillo. 2007.
22. PÉREZ OCHOA, Johnny y QUITIÁN MÉNDEZ, Lili. **Evaluación de Métodos de Extracción de Saponinas de los Residuos del Beneficio del Fique**. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Químico. Bucaramanga. Universidad Industrial de Santander. 2009.
23. QUIROJA LEDEZMA, Carla y ESCALERA VASQUEZ, Ramiro. **Evaluación de la Calidad Nutricional y Morfología del Grano de variedades amargas de Quinoa beneficiadas en seco, mediante el novedoso empleo de un Reactor de Lecho Fluidizado de tipo Surtidor**, en UPB - INVESTIGACIÓN & DESARROLLO. Vol.10: 23 – 36.2010.
24. SILLER JUÁREZ, Daniel. **Extracción y purificación de saponinas del residuo del tallado de Agave lechuguilla Torrey (guishe) y su aplicación potencial**. Tesis para obtener el grado de Ingeniero en

Ciencia y Tecnología de Alimentos. México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 2012.

25. TAPIA, M y OTROS. **La Quinoa y La Kañiwa Cultivos Andinos.** Bogota, Colombia. Editorial IICA.1979.

26. TROISI, R y OTROS. **Saponina.** Capítulo 3.3. en BAZILE D. et al. Estado del Arte de la Quinoa en el Mundo en 2013. FAO (Santiago de Chile) y CIRAD.2014

27. VICENTE GIANNA. **Extracción, Cuantificación y Purificación de Saponinas de semillas de chenopodium Quinoa Willd provenientes del Noroeste Argentino.** Tesis Doctoral. Córdoba. Universidad Nacional de Córdoba. 2013.

ANEXOS

Anexo 1 Matriz de consistencia

OBTENCIÓN DE SAPONINA DE LA CORTEZA DE QUINUA (CHENOPODIUM QUINOA) MEDIANTE EXTRACCIÓN HIDROALCOHÓLICA

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	VARIABLE DEP.	DIMENSIONES	INDICADORES	MÉTODO
¿Cuáles serán los parámetros óptimos para la obtención de saponina de la corteza de la Quinua extracción hidroalcohólica?	Determinar los parámetros óptimos para la obtención de saponina de la corteza de Quinua mediante la extracción hidroalcohólica.	La extracción de saponina de la corteza de Quinua mediante la extracción hidroalcohólica será más eficiente a menor tamaño de partícula y a mayor concentración alcohólica.	X: Obtención de saponina de la corteza de Quinua mediante extracción hidroalcohólica.	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración del solvente • Tamaño de partícula • Relación sólido – líquido 	<ul style="list-style-type: none"> • %V/V • Numero de • Diámetro medio • gr/ml 	<ul style="list-style-type: none"> • Equipo Soxhlet
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	VARIABLE IND.	DIMENSIONES	INDICADORES	MÉTODO
a) ¿Cuáles son las características generales de la corteza de la Quinua?	a) Identificar las características generales de la corteza de la Quinua.	a) Las características de corteza de la Quinua nos permitirán estimar la cantidad de saponina que obtendremos.	Y ₁ : Características generales de corteza de la Quinua.	<ul style="list-style-type: none"> • Especie • Composición • Altura de espuma 	<ul style="list-style-type: none"> • Triterpenoide/ Esteroidal • % • cm 	<ul style="list-style-type: none"> • Colorimetría • Análisis proximal • Prueba afrosimétrica
b) ¿Cuáles son las características de la saponina que se demanda extraer?	b) Identificar las características de la saponina que se demanda extraer.	b) Si la cantidad de saponina que se demanda extraer es cercana al total de saponina contenida en la corteza Quinua diremos que el procedimiento es el más adecuado.	Y ₂ : Características de la saponina que se demanda.	<ul style="list-style-type: none"> • Identificación • Estabilidad de la espuma • Concentración 	<ul style="list-style-type: none"> • Presente o no presente • +/++ • %Saponina 	<ul style="list-style-type: none"> • Salkowski • Test Afrosimétrico • Espectrofotometría

Anexo 2 Informe de ensayo N° 1-12532/17 CERPER



INFORME DE ENSAYO N° 1-12532/17

Pág. 1/1

Solicitante : HUAMAN VIERA, HEIDY KARELY
 Domicilio legal : Jr. Ucayali Mz 18 Lt 20 Marquez - Callao - Callao
 Producto declarado : MOJUELO DE QUINUA ROJA
 Cantidad de Muestras para el Ensayo : 1 muestra x 150 g
 Muestra proporcionada por el solicitante
 Forma de Presentación : En bolsa de polietileno, cerrada y conservada a temperatura ambiente
 Fecha de recepción : 2017 - 12 - 26
 Fecha de inicio del ensayo : 2017 - 12 - 26
 Fecha de término del ensayo : 2017 - 12 - 28
 Ensayo realizado en : Laboratorio de Físico Química
 Identificado con : H/S 17016965 (EXAJ-23346-2017)
 Validez del documento : Este documento es válido solo para las muestras desolías

Ensayos	Unidad	Resultados	
		b.h	b.a
Proteína (N x 6.25)	g/100 g	6.50	9.71
Grasa	g/100 g	2.05	2.34
Ceniza	g/100 g	6.05	6.20
Humedad	g/100 g	12.6	
Carbohidratos	g/100 g	68.90	
Calorías	Kcal/100g	328.05	
Calorías provenientes de proteínas	Kcal/100g	34.00	
Calorías provenientes de grasa	Kcal/100g	18.45	
Calorías provenientes de carbohidratos	Kcal/100g	275.60	

b.h: base húmeda
 b.a: base seca

MÉTODOS

Calorías: Cálculo
 Calorías provenientes de carbohidratos: Cálculo
 Calorías provenientes de grasa: Cálculo
 Calorías provenientes de proteínas: Cálculo
 Carbohidratos: Cálculo (no incluye fibra cruda)
 Cenizas: NTP 203.004.1979 (Revisada el 2016) CEREALES Y MENESTRAS Determinación de cenizas
 Grasas: NTP 205.006.1950 (revisada el 2011) YAD 1.2012.1980 Cereales y menestras Determinación de materia grasa
 Humedad: NTP 205.002.1979 (Revisada el 2011) Cereales y menestras Determinación de contenido de humedad Método usual
 Proteína: NTP 205.005.1979 (revisada el 2001) YAD 1.2012 Cereales y Menestras Determinación de proteínas totales (Método de Kjeldahl)

OBSERVACIONES

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.
 Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de la calidad de la entidad que lo produce

Callao, 30 de diciembre de 2017
 AM

CERTIFICACIONES DEL PERU S.A.

ING. ROSA PALOMINO LOO
 C.I.P. N° 40302
 JEFE DE COORDINACIÓN DE LABORATORIOS

CALLAO
 Oficina Principal
 Av. Santa Rosa 601, La Piedad - Callao
 T. (511) 319 9000

AREQUIPA
 Calle Tariente Rodríguez N 1415
 Miraflores - Arequipa
 T. (054) 265572

CHIMBOTE
 Urb. José Carlos Mariátegui s/n
 Centro Cívico, Nuevo Chimbote
 T. (043) 311 048

PIURA
 Urb. Angamos A - 2 - Piura
 T. (073) 322 908 / 5975 63161

info@carper.com - www.carper.com

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

Anexo 3 Informe de ensayo analítico preliminar N° 0012-17

Biotransversal



UNIDAD DE GESTIÓN BIOTRANSVERSAL SAC

INFORME DE ENSAYO ANALÍTICO PRELIMINAR N° 0012-2017

CLIENTE : Heidy Karely Huaman Viera
DIRECCIÓN : Lima
MUESTRAS : E121, E122, E123, E124, E125, E126, E127 y E128
LOTE/FECHA DE FABRICACIÓN : -----
PRESENTACIÓN : Placas Petri de plástico con sólido oscuro viscoso
CANTIDAD RECIBIDA : 400 mg aproximadamente de cada muestra
CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO : Sólido negro viscoso.
CONDICION DE LA MUESTRA : Entrega en Placas Petri.
FECHA DE RECEPCIÓN : 14.12.2017
FECHA INICIO DE RECEPCIÓN : 14.12.2017
FECHA INICIO DE ANÁLISIS : 27.12.2017
FECHA DE TÉRMINO : 30.12.2017
TIPO DE ANÁLISIS : Ensayo de cuantificación de saponinas por espectrometría UV-Vis
DOCUMENTO DE REFERENCIA : Bibliografía especializada*

GENERALIDADES:

El presente ensayo tiene como finalidad realizar el análisis cuantitativo de saponinas, de la clase triterpénicas, presentes en la muestras E121, E122, E123, E124, E125, E126, E127 y E128; teniendo como referencia estudios científicos, expuestos en trabajos de tesis, libros y revistas indexadas*.

ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA:

La muestra ha sido codificada por el solicitante mediante el uso de números arábigos del 1 al 8. Se utilizó otro tipo de codificación en el ensayo, por código propio del área de análisis, según la tabla 1.

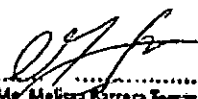
Tabla 1. Codificación de las muestras


CÓDIGO DE SOLICITANTE	CÓDIGO DE ANÁLISIS
1-8	E121, E122, E123, E124, E125, E126, E127 y E128

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA:

* Métodos consultados en el ensayo analítico:

- Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. 2ª Ed. Zaragoza. Acribia. S.A, 2001, pp. 1100.
- Lock O. Investigación Fitoquímica, Método en el Estudio de Productos Naturales. Fondo Editorial PUCP. Lima, 1994, pp. 114-130.
- Rojas Avólos A, Tapia Ramírez, W. Cuantificación por Espectrometría UV/Vis de las Saponinas contenidas en el episperma de la especie *Chenopodium quinoa* Willd "Quinoa" procedente de la provincia de Santiago de Chuco - La Libertad. Universidad Nacional de Trujillo; 2011, pp. 16-24.


Mg. Melissa Barrera Torres
Chief Executive Officer
Unidad de Gestión Biotransversal SAC


Mg. Miguel Angel Inocente Camargo
Chief Operating Officer
Unidad de Gestión Biotransversal SAC



UNIDAD DE GESTIÓN BIOTRANSVERSAL SAC

INFORME DE ENSAYO ANALÍTICO PRELIMINAR N° 0012-2017

1. Cuantificación de saponinas por espectrofotometría UV-Visible

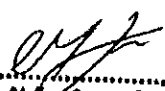
La cantidad de saponinas, expresados en porcentaje presente por muestra, fue determinada mediante el método espectrofotométrico UV-visible, cuyos resultados se expresan en la tablas 2, 3 y 4.


Tabla 2. Cuantificación de saponinas triterpénicas

Datos preliminares	
Método:	Monje y Raffaelli modificado (Monje et al., 2006)
Tratamiento de la muestra:	Hidrolizado con HCl concentrado
Estándar:	Saponina triterpénica pentacíclica.
Longitud de onda máxima (λ_{max}):	412 nm
Ecuación de curva patrón:	$y = 4,1592x - 0,1$

Tabla 3. Curva de calibración de las saponinas patrón

mg/mL	Absorbancia	Promedio de Absorbancia	Desviación Estándar
0,025	0,005	0,005	0,0006
	0,004		
	0,005		
0,050	0,116	0,112	0,0030
	0,111		
	0,109		
0,075	0,199	0,202	0,0030
	0,205		
	0,202		
0,100	0,311	0,321	0,0100
	0,331		
	0,322		


Mg. Melissa Barrera Tomas
Chief Executive Officer


Mg. Miguel Angel Inocente Camones
Chief Operating Officer
Unidad de Gestión Biotransversal SAC



UNIDAD DE GESTIÓN BIOTRANSVERSAL SAC

INFORME DE ENSAYO ANALÍTICO PRELIMINAR N° 0012-2017

Tabla 4. Concentración de saponinas presentes en cada muestra


Muestra	Absorbancia promedio	Absorbancia desviación estándar	mg/mL calculado	% Recuperación sapogenina	% Saponina (*)
E121	0,042	0,0010	0,0340	4,2547	0,8637
E122	0,008	0,0006	0,0258	3,2201	0,6803
E123	0,018	0,0015	0,0283	3,5415	0,4517
E124	0,008	0,0006	0,0258	3,2201	0,6147
E125	0,007	0,0006	0,0255	3,1900	0,3118
E126	0,019	0,0010	0,0285	3,5616	1,0265
E127	0,009	0,0006	0,0260	6,5005	1,8938
E128	0,003	0,0000	0,0246	6,1590	1,1204

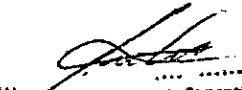
(*) % saponinas = $\frac{\% \text{ recuperación sapogenina} \times \text{g extracto seco saponinas}}{\text{g cáscara de quinua}}$

Donde:

$\% \text{ recuperación sapogenina} = \frac{\text{mg/mL calculados}}{0,8 \text{ mg/mL}} \times 100$

0,8 mg/mL


.....
Mg. Melissa Barrera Torres
Chief Executive Officer
Unidad de Gestión Biotransversal SAC


.....
Mg. Miguel Angel Inocente Camones
Chief Operating Officer
Unidad de Gestión Biotransversal SAC

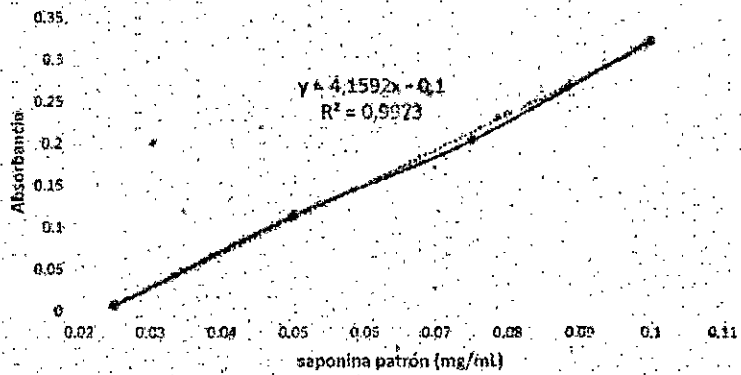


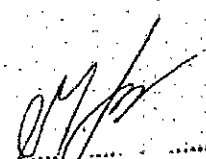
UNIDAD DE GESTIÓN BIOTRANSVERSAL SAC

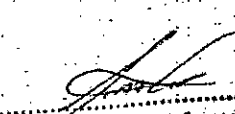
INFORME DE ENSAYO ANALÍTICO PRELIMINAR N° 0012-2017

ANEXO

1. Curva de calibración de las saponinas patrón




Mg. Melissa Barrera Torres
Chief Executive Officer
Unidad de Gestión Biotransversal SAC


Mg. Miguel Angel Inocente Camarero
Chief Operating Officer
Unidad de Gestión Biotransversal SAC