

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA



“EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SÓLIDO - LÍQUIDO DE LA
SAPONINA DE 5 CULTIVARES DE QUINUA (*Chenopodium Quinoa Willd*), SU
ENCAPSULAMIENTO Y UTILIZACIÓN EN LA ALIMENTACIÓN”

TESIS

PRESENTADA POR:

SUZAN ERIKA ZARATE SULLCA

PARA OPTAR EL TÍTULO DE:

INGENIERO QUÍMICO

PUNO - PERÚ

2016

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO PUNO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA

“EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SÓLIDO - LÍQUIDO DE LA
SAPONINA DE 5 CULTIVARES DE QUINUA (*Chenopodium Quinoa Willd*), SU
ENCAPSULAMIENTO Y UTILIZACIÓN EN LA ALIMENTACIÓN”

TESIS PRESENTADA POR:
SUZAN ERIKA ZARATE SULLCA
PARA OPTAR EL TÍTULO DE:
INGENIERO QUÍMICO

APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE

.....
M.Sc. Salomón Tito León

PRIMER MIEMBRO

.....
M.Sc. German Quille Calizaya

SEGUNDO MIEMBRO

.....
Dr. Nazario Villafuerte Prudencio

DIRECTOR DE TESIS

.....
Dr. Francisco Albarracín Herrera

Puno-Perú
2016

LINEA: Ingeniería de procesos

TEMA: Alimentos

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento se dirige a quien ha forjado mi camino y me ha dirigido por el sendero correcto, a Dios, el que en todo momento está conmigo ayudándome a aprender de mis errores y a no cometerlos otra vez. Eres quien guía el destino de mi vida, te lo agradezco padre celestial.

A mi madre, que con su demostración de una madre ejemplar me ha enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada y siempre a perseverar a través de sus sabios consejos, a la confianza y el apoyo brindado, que sin duda alguna en el trayecto de mi vida me ha demostrado su amor, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos. Tus esfuerzos son impresionantes y junto a mi padre me has educado, me has proporcionado todo y cada cosa que he necesitado. Tus enseñanzas las aplico cada día; de verdad que tengo mucho que agradecerte. Tus ayudas fueron fundamental para la culminación de mi tesis. Te doy gracias mamita Alejandrina Sulca de Zarate.

Tu ayuda ha sido fundamental, has estado conmigo incluso en los momentos más turbulentos. Este proyecto de tesis no fue fácil, pero estuviste motivándome y ayudándome hasta donde tus alcances lo permitían. Te lo agradezco muchísimo mi amor Vittorino V. Laura M.

Hijo, eres mi orgullo y mi gran motivación, libras mi mente de todas las adversidades que se presentan, y me impulsas a cada día superarme y de ofrecerte siempre lo mejor. No es fácil, eso lo sé, pero tal vez si no te tuviera, no habría logrado tantas grandes cosas, tal vez mi vida sería un desastre sin ti, te amo Sebastian M. Laura Zarate.

A mis hermanos queridos por darme muchos consejos en el camino de mi vida y demás familia en general por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi carrera universitaria.

“Pero gracias a Dios, que en Cristo Jesús siempre nos hace salir triunfantes, y que por medio de nosotros manifiesta en todas partes el aroma del conocimiento.”

2da de corintios 2.14

INDICE

RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN.....	11
CAPÍTULO I	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
1.1. Planteamiento.....	13
1.1.1. Formulación del problema.....	14
1.1.2. Problemas específicos.....	14
1.2. ANTECEDENTES.....	14
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	17
1.3.1. Científico	18
1.3.2. Social	18
1.3.3. Económico	18
1.3.4. Ambiental	18
1.4. OBJETIVOS	19
1.4.1. Objetivo general	19
1.4.2. Objetivos específicos	19
1.5. HIPÓTESIS.....	19
1.5.1. Hipótesis general	19
1.5.2. Hipótesis específica.....	19
CAPÍTULO II.....	20
MARCO TEÓRICO	21
2.1. La quinua.....	21
2.2. Características de la quinua.....	22
2.3. Composición de la semilla de quinua	23
2.3.1. Semilla.....	23
2.3.2. La saponina.....	26
2.3.3. Estructura de la saponina	27
2.3.4. Producción de quinua en América	29
2.3.5. Características físicas y químicas	30
2.3.6. Toxicología de la saponina.....	31
2.4. Usos de la saponina en la industria.	32

2.5.	Extracción sólido-líquido	33
2.6.	Microfiltración tangencial.....	34
2.7.	Ultrafiltración Tangencial.....	35
2.8.	Secado por aspersión	35
2.9.	Los encapsulados.....	36
2.10.	Metodología para la microfiltración tangencial.....	37
2.11.	Metodología para la ultrafiltración tangencial	38
2.12.	Metodología para el secado por aspersión.....	38
2.13.	Determinación experimental de la ecuación de velocidad.....	39
2.14.	ESPECTROFOTOMETRÍA DE MASA	42
2.15.	marco conceptual	43
2.16.	Conceptos de la extracción de saponina del escarificado de quinua.	45
2.17.	Variables.....	46
CAPÍTULO III		47
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....		48
3.1.	GENERALIDADES.....	48
3.2.	ÁMBITO DEL ESTUDIO.....	48
3.3.	MÉTODO EXPERIMENTAL.....	49
3.3.1.	Materia prima	49
3.3.2.	Materiales, equipos y reactivos.....	49
3.4.	DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	51
3.4.1.	Procedimiento de recolección de datos.....	51
3.4.2.	Descripción del flujo grama para la extracción de quinua perlada y afrecho polvillo.	52
3.5.	Extracción de saponina	53
3.5.1.	Descripción del flujo grama para la extracción de saponina a partir del afrecho polvillo.	54
3.5.2.	Curva de calibración del espectrofotómetro	57
3.6.	Estudio de velocidad de Extracción	58
3.7.	DESARROLLO DEL MODELO MATEMÁTICO POR EXPERIMENTACIÓN Y ESTADÍSTICA	59
3.7.1.	Diseño factorial 2^k con 2 réplicas en el punto central de diseño.....	59
3.7.2.	Influencia de las variables tiempo de adsorción y concentración del solvente	60

3.7.3.	Diseño factorial experimental.....	61
3.7.4.	Identificación de las variables de trabajo.....	61
3.7.5.	Matriz de diseño	62
3.7.6.	Evaluación de resultados	63
3.7.7.	Bondad de ajuste del modelo de regresión	67
CAPÍTULO IV.....		70
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		71
4.1.	Presentación	71
4.2.	Evaluación de extracción de saponina de 5 cultivares de quinua.....	71
4.2.1.	Determinación del solvente	71
4.2.2.	Obtención del afrecho de saponina a través del escarificado.....	72
4.2.3.	Resultados de recuperación del solvente	73
4.2.4.	Resultados de concentración de saponina sólida a diferentes tiempos de agitación.....	76
4.2.5.	Contenido de extracción de la saponina de 5 cultivares de afrecho de quinua en porcentaje.....	78
4.2.6.	Rendimiento de extracción de saponina (Etanol –agua 50 V/V) Para los 5 cultivares.....	79
4.2.7.	Eficiencia de extracción de la quinua de mayor porcentaje en saponina	79
4.2.8.	Aplicación en la industria alimentaria y su encapsulamiento	80
4.2.9.	VELOCIDAD DE EXTRACCIÓN	82
CONCLUSIONES		84
RECOMENDACIONES		85
BIBLIOGRAFIA		86

INDICE DE FIGURA

FIGURA1: PLANTA DE QUINUA (<i>CHENOPODIUM QUINOA WILLD</i>).....	22
FIGURA 2: SECCIÓN LONGITUDINAL MEDIA DEL GRANO DE QUINUA.....	24
FIGURA 3: SEMILLA DE LA QUINUA.....	25
FIGURA 4: SAPONINA ESTEROIDAL.....	28
FIGURA 5: ESPIROSTANOS	29
FIGURA 6: EXTRACTOR SOXHLET	34
FIGURA 7: SEPARACIÓN POR MICRO FILTRACIÓN	35
FIGURA 8: SEPARACIÓN POR ULTRAFILTRACIÓN.....	35
FIGURA 9: PATRONES DE FLUJO EN SECADO POR ATOMIZACIÓN.....	36
FIGURA 10: ESQUEMA DEL MODO DE OPERACIÓN EN MICRO FILTRACIÓN TANGENCIAL	37
FIGURA 11: DIAGRAMA DE FLUJO DE LA ULTRAFILTRACIÓN TANGENCIAL	38
FIGURA 12: DIAGRAMA DE FLUJO DEL SECADO POR ASPERSIÓN.	39
FIGURA 13: PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE QUINUA PERLADA Y AFRECHO POLVILLO.	53
FIGURA 14: DIAGRAMA DE PROCESO DE EXTRACCIÓN DE LA SAPONINA.....	56
FIGURA 15: RELACIÓN DE SAPONINA CON LA ABSORBANCIA DETERMINADA A 343nm.....	58
FIGURA 16: EFECTOS PRINCIPALES DEL TIEMPO Y CONCENTRACIÓN.....	66
FIGURA 17: VARIABLE RESPUESTA Y	67
FIGURA 18: INTERACCIÓN PARA RENDIMIENTO	67
FIGURA 19: CONTORNOS DE SUPERFICIE DE LA RESPUESTA ESTIMADA.....	68
FIGURA 20: DETERMINACIÓN DEL SOLVENTE % ETANOL.....	72
FIGURA 21: DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE AFRECHO DE LA QUINUA.....	73
FIGURA 22: CONTENIDO DE EXTRACCIÓN SÓLIDO LÍQUIDO.....	78
FIGURA 23: EFICIENCIA DE LA EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO.....	79
FIGURA 24: VELOCIDAD DE EXTRACCIÓN DE SAPONINA.....	83
FIGURA 25: PRODUCCIÓN Y EXPORTACIÓN DE LA QUINUA DEL AÑO 2014.....	98
FIGURA 26: DISTRIBUCIÓN DE LAS AREAS DE CULTIVO DE QUINUA EN SUDAMÉRICA	99
FIGURA 27: PRODUCCIÓN DE QUINUA DE PAÍSES DE AMÉRICA DEL SUR.....	99
FIGURA 28: PREPARACIÓN PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN	100
FIGURA 29: PRIMERA DETERMINACIÓN DE LONGITUD DE ONDA.....	100
FIGURA 30: SEGUNDA DETERMINACIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA	101
FIGURA 31: TERCERA DETERMINACIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA.	101
FIGURA 32: LONGITUD DE ONDA DEL 1RO Y 2DO PROMEDIO A 343nm.....	102
FIGURA 33: AGITACIÓN DEL AFRECHO.....	102
FIGURA 34:DETERMINACION DEL FILTRADO AL VACÍO A 425mmHg	103
FIGURA 35: RECUPERACIÓN DEL ETANOL ATREVÉS DEL ROTA VAPOR A 67 °C	103
FIGURA 36: CENTRIFUGACIÓN DE LA SAPONINA A 15 MIN Y 3500 rpm.....	104



FIGURA 37: EXTRACCIÓN DE LA SAPONINA LÍQUIDA AFORADA A100ml 104

FIGURA 38: DETERMINACIÓN DE LA ABSORBANCIA DE LA SAPONINA ATRAVÉS DEL ESPECTROFOTOMETRO 105

FIGURA 39: SAPONINA SÓLIDA DE LOS 5 CULTIVARES DE QUINUA 105

FIGURA 40: PULVERIZADO DE LA SAPONINA PARA SU ENCAPSULAMIENTO. 106

FIGURA 41: TAMAÑO CAPSULAS 106



INDICE DE CUADRO

CUADRO1: COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LA SEMILLA DE QUINUA	25
CUADRO 2: CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS EN LA QUINUA Y OTROS GRANOS.....	25
CUADRO 3: SOLUCIÓN ESTÁNDAR.....	57
CUADRO 4: CURVA DE CALIBRACIÓN CON ABSORBANCIA Y CONCENTRACIÓN DEL ESPECTROFOTÓMETRO.....	57
CUADRO 5: VARIABLES NATURALES-DATOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL.....	60
CUADRO 6: IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES Y NIVELES DE OPERACIÓN	62
CUADRO 7: MATRIZ DE DISEÑO FACTORIAL $2^2 = 4$	62
CUADRO 8: CODIFICACIÓN DE VARIABLES	62
CUADRO 9: CORRIDAS EXPERIMENTALES PARA EL DISEÑO FACTORIAL CON TRES REPLICAS EN EL PUNTO CENTRAL.....	63
CUADRO 10: COEFICIENTE DE REGRESIÓN PARA RENDIMIENTO.....	63
CUADRO 11: ANALIZAR EXPERIMENTO - RENDIMIENTO.....	64
CUADRO 12: ANÁLISIS DE LA VARIANZA PARA Y	65
CUADRO 13: EFECTOS DEL PROCESO DE ADSORCIÓN DE SAPONINA	66
CUADRO 14: RESULTADOS DE LA ESTIMACIÓN PARA Y	68
CUADRO 15: RUTA ASCENDENTE PARA Y.....	69
CUADRO 16: DETERMINACIÓN DEL SOLVENTE PARA LAS DIFERENTES VARIEDADES DE QUINUA.....	71
CUADRO 17: CANTIDAD Y PORCENTAJE DE OBTENCIÓN DEL AFRECHO POLVILLO.....	73
CUADRO 18: CUADRO DE CONSTANTE DE SIDNEY YOUNG	75
CUADRO 19: DETERMINACIÓN DE LA RECUPERACIÓN PROMEDIO DEL ETANOL.....	75
CUADRO 20: DETERMINACIÓN DEL PESO DE LA SAPONINA PARA 20 MIN.....	76
CUADRO 21: DETERMINACIÓN DEL PESO DE LA SAPONINA PARA 30 MIN.....	76
CUADRO 22: DETERMINACIÓN DEL PESO DE LA SAPONINA PARA 40 MIN.....	77
CUADRO 23: DETERMINACIÓN DEL PESO DE LA SAPONINA PARA 60 MIN.....	77
CUADRO 24: DETERMINACIÓN DEL PESO DE LA SAPONINA PARA 80 MIN.....	77
CUADRO 25: DETERMINACIÓN DE EFICIENCIA DE EXTRACCIÓN DE SAPONINA EN LA QUINUA.....	80
CUADRO 26: DETERMINACIÓN DE CANTIDAD DE CÁPSULAS	82
CUADRO 27: ANÁLISIS PROXIMAL DEL ESCARIFICADO DE QUINUA.....	95
CUADRO 28: COMPOSICIÓN DE LA SAPONINA EN POLVO.....	95
CUADRO 29: ANALISIS EXPERIMENTAL DE ANTECEDENTE A 20 Kg DE QUINUA.....	96
CUADRO 30: PORCENTAJE DE SAPONINA EN LA QUINUA	96
CUADRO 31: DIFERENCIA DE LA CURVA DE LA CALIBRACIÓN Y LOS RESULTADOS	97

RESUMEN

En la presente investigación se realizó la evaluación del método de extracción sólido-líquido de la saponina concentrada a partir de 5 cultivares amargos de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*), su encapsulamiento y utilización en la industria alimentaria. El rendimiento de extracción de saponina en el proceso sólido-líquido fue sobresaliente a los 40 minutos de agitación de 800 rpm, con una filtración al vacío de 425 mmHg, un centrifugado de $t = 15$ min a 3500 rpm, con un $t_p = 30$ min en el rota vapor para la recuperación del etanol y finalmente en la estufa a una temperatura a 50°C y $t = 40$ minutos, para dar coloración a la solución de saponina total extraída se utiliza reactivo color que es una mezcla de anhídrido acético al 97% y ácido sulfúrico al 98% de concentración en una proporción de 1:5 (16,7%). La proporción de la muestra con el reactivo de color 1:3,5 (22,23%), de esta manera la muestra fue leída después de 35 minutos de la adición del reactivo color, ya que en este tiempo el color es estable y permanente; el rendimiento de extracción es diferente solo para el afrecho de quinua “Salcedo INIA” varia el tiempo de extracción sólido-líquido en el método de agitación; esta variedad fue sobresaliente su rendimiento a un $t = 80$ min. Es de destacar en la investigación el mayor rendimiento que presenta el afrecho de la quinua “chullpi” debido a su alto porcentaje de saponina, la cual sobresale con un rendimiento del 22,2 % de saponina y supera el rendimiento del 22,14% que sacó laboratorio biolab (Mujica, 2012); en cuanto a la pigmentación del afrecho de la quinua tienden a perder su color en función al tiempo de exposición a la luz visible, pero esto no afecta al contenido total de las muestras. El análisis químico de la saponina en muestra de afrecho de quinua se debe determinar a una longitud de onda 343 nm, prueba que fue determinado en base a solución de saponina estándar Q.P. Calbiochem. La recuperación del etanol se realizó a una $T = 67^\circ\text{C}$ a 250 rpm, cabe saber que la variedad de quinua Chullpi tiene una eficiencia mayor en 0.06 % de saponina.

Palabras clave: Extracción, Saponina, Encapsulamiento, Concentración.

INTRODUCCIÓN

La quinua es una planta herbácea anual, autóctona de los andes. Las zonas de mayor crecimiento y producción son Bolivia y Perú, con el 88% de la producción mundial. En el Perú, Bolivia y Argentina, la producción se destina para el consumo doméstico, en forma de semillas o harina. (Cardozo, A. *et al.* 1997)

Las saponinas se consideran una familia de metabolitos secundarios y se lograron identificar 4 subgrupos: el primero son las saponinas triterpénicas, las segundas son las saponinas esteroidales, las terceras saponinas esteroidales alcalinas y el último son las saponinas de organismos marinos. Las saponinas del primer grupo se encuentran ampliamente distribuidas en el reino de las dicotiledones. La saponina de la quinua tiene un papel de defensa contra plagas como los pájaros e insectos, a nivel de la maduración fisiológica de la planta. Actualmente la saponina forma parte de las sustancias que están siendo investigadas para el tratamiento alternativo de la leishmania. (Hostettmann *et al.*, 2005)

Las saponinas son componentes tensoactivos naturales que pueden ser obtenidos de numerosas plantas. Químicamente, las saponinas son metabolitos secundarios, ampliamente distribuidos en las plantas superiores, en las que se presentan en forma de glucósidos. (Taranco *et al.*, 2005)

Para el consumo humano de la semilla, es necesaria la eliminación de un cierto tipo de sustancias, denominadas saponinas. Las mismas le confieren un sabor amargo y son consideradas por algunos investigadores como el principal anti-nutriente de la quinua, por producir la ruptura de las membranas celulares del intestino delgado del cuerpo humano, y no permitir la asimilación de algunas proteínas. Se sospecha que la presencia de saponinas en el fruto tiene un papel de defensa contra plagas como los pájaros e insectos, a nivel de la maduración fisiológica de la planta. (Cardozo, A. *et al.*, 1997)

El nivel máximo aceptable de saponina en la quinua para consumo humano oscila entre 0.06 y 0.12%. Esto concuerda con los resultados de pruebas sensoriales realizadas en la Universidad de Ambato, Ecuador, en donde se determinó que el límite máximo de aceptación del contenido de saponina en el grano cocido, fue de 0.1%. Investigaciones realizadas informan que las saponinas de la quinua son glucósidos triterpenoidales, solubles en metanol y agua. (Céspedes *et al.*, 1997)



CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO

La quinua (*Chenopodium quinua Willd*) es un cultivo andino que en los últimos 15 años tomó una gran importancia comercial para Perú y Bolivia. Este cereal tiene una alta calidad nutricional gracias al balance de aminoácidos presentes. Uno de los inconvenientes es la presencia de un factor anti nutricional que es la saponina.

El presente trabajo tiene por finalidad proponer una técnica sencilla para la determinación de la saponina total, de bajo costo que pueda ser aplicada por cualquier laboratorio.

El fundamento de la técnica propuesta es la extracción de la saponina por el método de extracción sólido-líquido con una mezcla de etanol al 50% V/V, filtrado al vacío.

La muestra será leída en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 343 nm. La presente técnica no tiene interferencia con colores que pueda presentar la quinua y tiene la virtud de determinar el total de las saponinas presentes en el producto.

La saponina, presente en la cobertura externa del grano de quinua, es la responsable del sabor amargo del grano, por cuya razón, limitan el consumo de quinua en la alimentación humana y obstaculizan el desarrollo agroindustrial; además de ser un contaminante ya que es tóxico para los animales. (Aguilar, 1999)

En la actualidad existen maquinarias (escarificadoras) que eliminan la cáscara, la cual contiene la saponina, quedando está en forma de polvillo en la base de la máquina. De ahí surge la inquietud de evaluar los métodos de extracción de saponina y posterior encapsulación. En lugar de eliminarla y contaminar el medio ambiente, ya que esta saponina tiene múltiples aplicaciones en: la industria cosmética, medicinal y agrícola.

1.1.1. Formulación del problema

Puno constituye el principal productor de quinua con aproximadamente el 82% de la siembra, le siguen en orden de importancia Junín, Arequipa, Cusco, Huancavelica, Ancash, Ayacucho y Apurímac (ver figura 25 del anexo C).

La generación de saponina derivados de la quinua que son vertidas en los ríos y lago del departamento requiere especial atención. Este perjudica severamente la vida acuática y la ecología de su entorno, por lo que se hace necesario evitar esta contaminación y promover la utilización de productos naturales que no resulten nocivos, el presente proyecto de investigación se basa en esta premisa y está definida por la siguiente interrogante:

¿En qué medida es eficaz el método de extracción sólido-líquido de la saponina de 5 cultivares de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*), su encapsulamiento y utilización en la industria alimentaria?

1.1.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es el rendimiento de extracción de la saponina en 5 cultivares amargas de quinua?
- ¿El método de extracción sólido-líquido de la saponina servirá para la aplicación en la industria alimentaria y su encapsulamiento?
- ¿Cuál es la velocidad de extracción sólido- líquido de la saponina en el proceso?

1.2. ANTECEDENTES

) Otero (2012), determinó que los cerdos landrace – york en la etapa de crecimiento, tratados con saponina, obtuvieron los mejores parámetros productivos en cuanto a peso final y ganancia de peso con promedio de 54,31 y 33,69 kg, así también presentaron la mejor conversión alimenticia con un índice de 2,90; en la etapa de engorde los cerdos landrace – york, tratados con saponina, alcanzaron los mejores promedios productivos en cuanto a peso final y ganancia de peso con promedios de 89,88 y 35,57 kg. así como también la mejor conversión alimenticia con índice de 3,54.

) Bonifaz Paredes (2010), indicó que al establecer una comparación general entre la eficacia de las saponinas hidrolizadas y no hidrolizadas frente a *Drosophila melanogaster* se determina una diferencia muy significativa entre la capacidad que tiene la saponina hidrolizadas de matar a un porcentaje de insectos. Se realizó el análisis físico químico del agua de lavado de la quinua determinándose: 0,373% Cenizas, 9720 mg/L de Sólidos Totales, y Nitrogeno Total (Nitratos) 10 mg/L

) Miranda Zea (2004), indica que los resultados presentados, para análisis químico de la saponina contenido en la quinua, ofrece mayor facilidad y precisión en su determinación; los resultados prometedores son: El análisis químico de saponina en muestra de quinua se debe determinar a una longitud de onda de 355 nm, prueba que fue determinado en base a solución de la saponina estándar Q. P. de la Merck. Para determinar la cantidad de muestra de quinua a tomarse, para extraer saponina su cuantificación por espectrofotometría; la variedad Kancolla tiene un alto contenido de saponina para una muestra de (2,5 g quinua/100 ml de agua), que a su vez da una longitud de onda de análisis 354 nm. Mientras que la variedad wintulla, relativamente con bajo contenido de saponina para una muestra de 356nm; en ambos casos estos tamaños de muestra son ideales ya que su determinación son próximos a la longitud de onda de la solución estándar de saponina 355nm. Para el análisis químico de la saponina por método espectrofotométrico, se debe tomar muestra de quinua entre 2,5g a 5,0 g disuelto en 100 ml de agua y someter a operación de agitación por 30 minutos a 60° C para extraer la saponina y determinar su contenido a una longitud de onda de 355 nm.

) Mujica (2012), demuestra que la mejor metodología para obtener saponina encapsulada fue la metodología de filtración al vacío con etanol, debido a que presenta mejor su sensibilidad y correlación entre las variables. Se logró determinar que la máxima absorción de la mezcla se presenta a los 528 nm. Los extractos de las quinuas con colores pierden su color en función del tiempo, esto se debe a que los pigmentos presentes en el afrecho polvillo se descomponen en presencia de luz visible, pero esto no afecta al contenido de saponina total de las muestras. Se logró determinar concentraciones de saponina sólida en las muestras analizadas las cuales varían desde 0,06% en el cultivar Morocho Huamanga hasta 0,81 % en el cultivar

Kancolla de Mañazo. De igual manera se logró determinar las concentraciones de saponina líquida en las muestras analizadas, las cuales varían desde 0,015 ppm en el cultivar choclito hasta 0,1675 ppm en el cultivar Ccoyto.

J Silva Manzo (2006) mencionó la obtención de un aislado proteico de quinua orgánica a pH 11, con materia prima proveniente de la VI Región. Se caracterizó desde el punto de vista químico, bioquímico y funcional. Los resultados se analizaron estadísticamente mediante el uso de análisis de varianza y test de Tukey y Duncan al 95 % de confianza. El aislado proteico se preparó mediante la extracción a pH 11 y precipitación a pH 5. Contenido de proteínas fue del 83,5% con una humedad del 6,8% valor bajo, lo que le confiere estabilidad en el tiempo. La composición de aminoácidos coincidió con lo descrito en la literatura, destacando su alto contenido de lisina y leucina sobrepasando al patrón propuesto por la FAO.

J Vera A. (1999) indicó que las saponinas de quinua generan considerablemente menos espuma que las saponinas de quillay, además desaparecen más rápido. Con respecto a la Yuca, inicialmente la espuma producida por las saponinas de quinua y de yuca son similares, pero la quinua es menos estable y desaparece con mayor rapidez. Esto se puede deber a la cantidad o al tipo de saponinas presente en cada especie analizada.

Con el proceso de extracción de saponinas de la quinua desarrollado a lo largo de esta investigación se concluye que con 1 kg de cáscara de quinua se puede obtener 7,262 L de producto no purificado (PNP) que contiene 435 g de sólido a 6° Brix, al realizar una extracción o con un lavado.

Si estos 7 L de PNP se purifican por medio de ultrafiltración se consiguen 2,069 L de concentrado o producto purificado (PP) que contiene 159,9 g de sólido a 8° Brix.

J Vera A. (1997) muestra que al utilizar saponina de quinua Real en pruebas de inapetencia y toxicología sobre insectos plaga de almacén, evidenciaron que la saponina tiene efectos de inapetencia sobre *Sitotroga cerealella* y *Plodia interpunctella* y la dosis letal vía intraperitoneal en ratas fue de 500 mg/kg; además, (González, J. A., 1997) evaluaron a nivel de laboratorio la actividad nematocida de *Chenopodium quinoa* Willd. (extractos de diferentes partes de la planta) sobre

nematodos de suelos saprófagos (*Rhabditis sp*) y fitoparásitos (*Meloidogyne incognita*). Concluyen, que todos los extractos de quinua mostraron actividad nematocida; sin embargo, los extractos de maíz son más activos.

) Andrade (1999) indica que fue posible la recuperación de saponinas en el afrecho de quinua Real de Bolivia, que se obtiene como subproducto de la desaponificación por vía seca o abrasión. A lo largo de esta investigación se realizaron una serie de experimentos para determinar el proceso óptimo de extracción de la saponina presente en la cáscara de la quinua, en todos los procesos se utilizó agua destilada como solvente porque se quiere obtener un producto no contaminado con otro tipo de solventes; así mismo, se determinó que el mejor sistema de extracción es el de Batch clásico con agitación, porque tiene la ventaja de recuperar el 30,4% de los sólidos, si bien tiene la desventaja de presentar mayor dificultad en la etapa de filtración. El método propuesto de extracción Batch tipo baño maría solo recupera el 7,5% de los sólidos por lo que no es recomendable. Se comprobó que el efecto de la temperatura es despreciable porque un aumento de la temperatura de extracción no genera un extracto más rico en saponinas, esto se aplica por la alta solubilidad de las saponinas. Para extracciones a nivel de laboratorio se recomienda usar un porcentaje de afrecho de quinua en agua de 20%, porque a mayor concentración la muestra es muy espesa dificultando la filtración lo que se traduce en menor cantidad de extracto final.

1.3. JUSTIFICACIÓN

Si bien la saponina se ha constituido en el principal obstáculo para la comercialización y exportación de la quinua Peruana, también se han planteado algunas opciones para realizar un aprovechamiento de esta sustancia, que dadas sus propiedades, puede ser empleada como ingrediente para la fabricación de cervezas y detergentes, como componente para la fabricación de extinguidores de incendios, en la industria fotográfica y en la industria farmacéutica (en la fabricación de hormonas sintéticas). Lamentablemente, hasta hoy en día no se ha concretado nada respecto a la utilización de las saponinas como producto secundario (subproducto) de la quinua (Cayoja, 2001).

Por su semejanza estructural con algunos esteroides, podría participar en la producción de hormonas sintéticas para el control de la natalidad. Se destaca también la acción hemolítica, permitiendo de este modo obtener mejores ingresos comparado con las medicinas de origen sintético en la actualidad se está priorizando a los productos de origen orgánico (Marca, 2003)

1.3.1. Científico

El proyecto de investigación se basa en las elecciones metodológicas para mejorar las propiedades y usos que se le puede dar a la saponina en lo industrial, químico y agroindustrial, para así sustituir productos sintéticos utilizados en la actualidad como; cremas cosméticas, medicamentos quimioterapéuticos, elaboración de esteroides, etc.

1.3.2. Social

El proyecto de investigación es un proceso racional y lógico de elecciones, lo cual se justifica en razón de que a las zonas alto andinas donde se desarrolla este cultivo, puede darle una alternativa de obtener valor agregado a estos cultivares con alto contenido de saponina ya que en la actualidad es limitado el conocimiento tecnológico y de gestión que poseen los productores alto andinos y con la presente investigación se podrá contribuir a la mejora de la calidad de vida del agricultor.

1.3.3. Económico

El encapsulamiento, dará mayores ingresos a los productores de quinua ya que sería comercializada en el mercado local, nacional e internacional, como en el caso de la quinua Chullpi que su obtención es al 22,2%.

1.3.4. Ambiental

El método que se empleó en el escarificado de la quinua, evita producir rotura en la quinua perlada de esta manera se puede recolectar la saponina evitando la contaminación ambiental, ya que cuando es desechada ésta llega a las aguas de los ríos y produce la muerte de animales por la presencia de la toxicidad.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

Evaluar la eficiencia del método de extracción sólido-líquido de la saponina concentrada a partir de 5 cultivares amargos de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*), su encapsulamiento y utilización en la industria alimentaria.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar el rendimiento de extracción de la saponina en 5 cultivares amargas de quinua.
- Determinar si el método de extracción sólido-líquido de la saponina servirá para la aplicación en la industria alimentaria y su encapsulamiento.
- Determinar la velocidad óptima de extracción sólido-líquido de la saponina en el proceso.

1.5. HIPÓTESIS

1.5.1. Hipótesis general

El método de extracción sólido-líquido de la saponina de 5 cultivares amargos de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*), su encapsulamiento y utilización en la industria alimentaria, es eficiente.

1.5.2. Hipótesis específica

1. En el proceso de extracción sólido-líquido es óptimo el rendimiento de extracción de la saponina en 5 cultivares amargos de quinua
2. El método de extracción sólido-líquido de la saponina, sirve en la industria alimentaria y su encapsulamiento.
3. La velocidad de extracción sólido-líquido de la saponina de quinua es óptima.



CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. LA QUINUA

En la búsqueda de nuevas fuentes de alimentos que pudieran servir para solucionar en parte el déficit proteico-calórico, en los años 1960 se inició el estudio de un pseudo cereal denominado quínoa, quinua o quingua. La quinua (*Chenopodium quinoa willd*) es un nutritivo pseudocereal que se ha cultivado en forma tradicional en el área andina. Fue ampliamente usado en la alimentación de los pueblos antiguos de Sudamérica como uno de los alimentos básicos. Sin embargo, el cultivo de la quinua en el altiplano disminuyó después de la conquista española, cediendo el paso a cereales introducidos como el trigo y la cebada. (Wahli, 1990).

La quinua fue cultivada y utilizada por las civilizaciones prehispánicas, y reemplazada por los cereales a la llegada de los españoles, a pesar de constituir un alimento básico de la población de ese entonces. A la llegada de los españoles la quinua tenía un desarrollo tecnológico apropiado y una amplia distribución en el territorio Inca y fuera de él. Durante el proceso de domesticación de la quinua el hombre andino llegó a obtener las variedades actuales, tales como las quinuas Chullpi para sopas, las quinuas Pasankalla para tostado, las Ccoyots para harina, las Reales para la pissara o graneado, la Utusaya para resistir a la salinidad, las Witullas y Achachinos para resistir el frío, las Kcancollas para resistir la sequía, las Quellus o amarillas para alto rendimiento, las Chewecas para resistir el exceso de humedad, las Ayaras por valor nutritivo (alto balance de aminoácidos esenciales y proteína) y las Ratuquis. Hoy en día el poblador andino sigue manteniendo los parientes silvestres para su uso como plantas medicinales en casos extremos y para la alimentación.

Actualmente la quinua es conocida y cultivada en Europa, Asia y África, inicialmente por los programas de investigación en diversificación de cultivos de diversas universidades, y está siendo empacada y distribuida por empresas especializadas en productos vegetarianos y naturales. Se difunde en Inglaterra, Alemania, Dinamarca, España, Italia, Francia, Rusia, Portugal, los Himalayas, Sur Este de Asia, y Namibia. (Mujica A. *et al.* 2007)

2.2. CARACTERÍSTICAS DE LA QUINUA

La quinua es una planta anual herbácea que alcanza alturas entre uno y dos metros (ver Figura 1); y que presenta acumulaciones de pequeñas semillas en panojas, ubicadas en los extremos superiores de las ramificaciones. Las semillas son bastante pequeñas, de alrededor de 1,5 mm de diámetro, aunque es posible encontrar variedades que llegan hasta 4 mm (Junge, I. *et al.* 1978)

Desde tiempos ancestrales la quinua se cultiva en la región del altiplano andino de América del Sur. En la actualidad las mayores áreas productivas corresponden a Perú y Bolivia, aunque también se produce en Colombia, Argentina, Chile y Ecuador.

Cabe señalar que es un cultivo que se adapta a condiciones muy variables, pudiéndose cultivar hasta los 3900 metros sobre el nivel del mar (CIED, 2006). Por otra parte y debido a que posee raíces pivotantes y fasciculadas, se adapta bien al clima frío y a la escasez de humedad, puesto que las raíces pivotantes aprovechan el agua a mayor profundidad y las raíces fasciculadas el agua superficial (Fontúrbel, 2003).



Figura1: Planta de Quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*)

Es interesante notar que la quinua es una planta de la que se aprovecha todo. Los tallos rojos o amarillos tienen mucha fibra y como el grano, son buenos para la alimentación de animales: ganan peso y producen más leche. Las hojas tiernas de la planta permiten preparar sopas y ensaladas y tras sacar el grano de las panojas, la cascarilla que envuelve a cada quinua se la quema y con ella se elabora la “pasa” o lejía, utilizada en la masticación de coca (Azcuí, 2006)

Por otra parte, la quinua es evolutivamente distinta a aquellos cereales que contienen gluten, fracción tóxica para los celíacos. En la harina de quinua, muy bajas cantidades de proteínas se encuentran como pro láminas (0,8%), mientras que albúminas (31%) y globulinas (37%) son predominantes (Berti, *et al.* 2004)

2.3. COMPOSICIÓN DE LA SEMILLA DE QUINUA

2.3.1. Semilla

Constituye el fruto maduro sin el perigonio, es de forma lenticular, elipsoidal, cónica o esferoidal, presenta tres partes bien definidas que son: Episperma, embrión y perisperma. La episperma, está constituida por cuatro capas: una externa de superficie rugosa, quebradiza, la cual se desprende fácilmente al frotarla, en ella se ubica la saponina que le da el sabor amargo al grano y cuya adherencia a la semilla es variable con los genotipos, tiene células de forma alargada con paredes rectas; la segunda capa es muy delgada y lisa, se observa sólo cuando la capa externa es translúcida; la tercera capa es de coloración amarillenta, delgada, opaca y la cuarta capa, translúcida, está constituida por un solo estrato de células (Villacorta, L. *et al.* 1976).

El embrión, está formado por dos cotiledones y la radícula y constituye el 30% del volumen total de la semilla el cual envuelve al perisperma como un anillo, con una curvatura de 320 grados, es de color amarillento mide 3.54 mm de longitud y 0,36 mm de ancho (Carrillo, 1999) ,en algunos casos alcanza una longitud de 8,2 mm de longitud y ocupa el 34 % de toda la semilla y con cierta frecuencia se encuentran tres cotiledones (Gallardo & Gonzales, 1997) en forma excepcional a otras semillas, en ella se encuentra la mayor cantidad de proteína que alcanza del 35-40% , mientras que en el perisperma solo del 6,3 al 8,3 % de la proteína total del grano (Ayala, 1977); la radícula, muestra una pigmentación de color castaño oscuro.

El perisperma es el principal tejido de almacenamiento y está constituido mayormente por granos de almidón, es de color blanquecino y representa prácticamente el 60% de la superficie de la semilla, sus células son grandes de

mayor tamaño que las del endosperma, de forma poligonal con paredes delgadas, rectas y con grandes agregados de almidón, estos agregados están compuestos por miles de gránulos de almidón individuales, de forma hexagonal en la mayoría de los casos. (Prego, 1998)

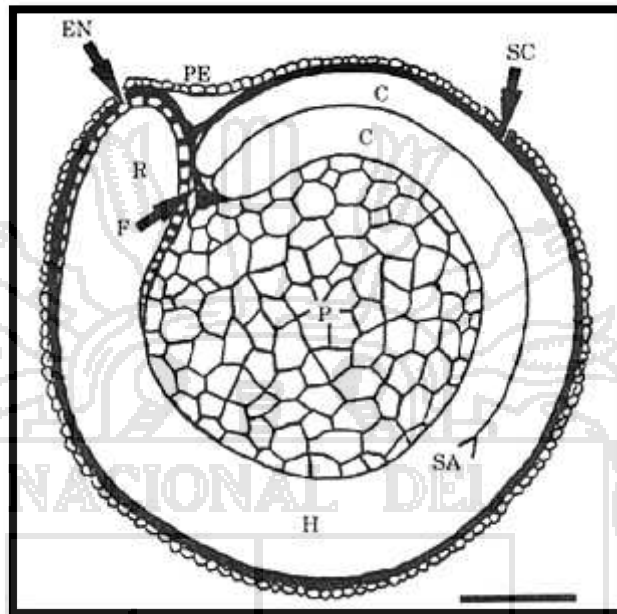


Figura 2: Sección longitudinal media del grano de quinua.

PE: Pericarpio, SC: Cubierta de la semilla, EN: Endosperma; C: Cotiledones, H: Hipocotilo; SA: Ápice del meristemo; R: Radícula, P: Perisperma; F: Funículo

Tal como se señalara, toda la planta de quinua tiene diferentes usos, sin embargo el producto primario es la semilla (ver Figura 3). Luego se realiza análisis bromatológicos de la composición del grano y se divulgará esta información, la quinua ha adquirido importancia internacional por ser uno de los pocos alimentos de origen vegetal que es rico en proteínas y posee todos los aminoácidos esenciales para el ser humano (ver la composición del grano en la cuadro1). También contiene ácidos grasos esenciales como los ácidos grasos insaturados, destacando su alto contenido de ácido linoleico (50,2-56,1%) y oleico (22,0-24,5%), y moderado de linolénico (5,4-7%) (Walhi, 1990). Asimismo, la quinua posee un alto contenido de vitaminas del complejo B, C y E, además de minerales tales como: hierro, fósforo, potasio y calcio. Este último se encuentra en la misma concentración que en la leche descremada, mientras que el fósforo es cuatro veces más concentrado que el de ésta (Albarrán, 1993)



Figura 3: Semilla de la quinua

Cuadro1: Composición proximal de la semilla de quinua

Composición química y valor nutricional					
Contenido en 100 g. de quinua					
Elemento	Unid	Valor	Elemento	Unid	Valor
Agua	%	12.00	Carbohidratos	%	69.29
Proteínas	%	10.70	Ceniza	%	3.20
Grasas	%	5.70	Celulosa	%	4.30

Fuente: A.Gorbitz y R Luna, Ministerio de Agricultura, Boletín n°54

Cuadro 2: Contenido de aminoácidos en la quinua y otros granos

Contenido de Aminoácidos en la Quinua y otros granos (mg/100g de proteínas)					
Aminoácido	Trigo	cebada	Avena	maíz	quinua
Isoleucina	32	32	24	32	68
Leucina	60	63	68	103	104
Lisina	15	24	35	27	79
Fenilamina	34	37	35	27	79
Tirosina	16	17	16	14	41
Cistina	26	28	45	31	68
Metionina	10	13	14	16	18
Treonina	27	32	36	39	40
Triptofano	6	11	10	5	16
Valina	37	46	50	49	76

Fuente: (Schmidt-Hebbel, *et al.* 2006)

2.3.2. La saponina.

Las pequeñas semillas de quinua están recubiertas de una delgada membrana o pericarpio que contiene hasta un 4% de saponina, sustancia sumamente amarga y que produce abundante espuma al agitar la semilla en agua (Junge, I. *et al.* 2006)

Mencionan que, las saponinas (Lat. *Sapo onie* = Jabón), son glucósidos o acetales asimétricos mixtos (Morris, *et al.* 1994), se localiza en muchas especies vegetales como quillay (*Quillaja saponaria*) y saponaria (*Saponaria officinalis*), esta última, rica en saponina y en el pasado fue materia prima para producir jabones. Las plantas durante su proceso evolutivo han desarrollado mecanismos de resistencias bioquímicas y morfológicas contra herbívoros. La saponina de quinua es un glucósido tipo triterpenoidal y tiene efectos alomónicos contra especies fitófagas, es decir, es un compuesto secundario que confiere resistencia al ataque de aves, roedores e insectos; sin embargo, la saponina aparentemente tiene acción kairomónica para “kona kona” *Eurysacca quinoae* (Lepidoptera: Gelechiidae), insecto plaga en el cultivo quinua. (Mujica *et al.* 2006),

La saponina y otros compuestos (sustancias precursoras de saponinas, ácidos grasos oxidados, sales minerales de magnesio, oxalatos, etc.) presentes en las coberturas externas (episperma) del grano de quinua, son los responsables del sabor amargo e indeseable del grano, por cuya razón, limitan el consumo de quinua en la alimentación humana y obstaculizan el desarrollo agroindustrial. (Bacigalupo, 1997)

Indican que las saponinas esteroidales son compuestos que poseen una estructura compleja formada por un núcleo esteroideal hidrofóbico y una parte hidrofílica constituida por unidades de monosacáridos. Estas están ampliamente distribuidas en el reino vegetal y aunque en mayor o menor medida se encuentran en una gran cantidad de plantas, son especialmente abundantes en algunas familias, entre ellas la AgavaBceae. (Mujica *et al.* 2006).

Las saponinas son sustancias con la capacidad de formar espuma cuando son extraídas con agua; las saponinas se consideran una familia de metabolitos

secundarios y se lograron identificar cuatro subgrupos: el primero son las saponinas triterpénicas, las segundas son las saponinas esteroidales, las terceras saponinas esteroidales alcalinas y el último son las saponinas de organismos marinos. Las saponinas del primer grupo se encuentran ampliamente distribuidas en el subreino de las dicotiledóneas. Uno de los principales problemas con los que se enfrentaron los productores de este grano, fue la presencia de saponinas en la cáscara del grano maduro, ya que estos glucósidos son ligeramente tóxicos y de un sabor fuertemente amargo.

La saponina de la quinua tiene un papel de defensa contra plagas como los pájaros e insectos, a nivel de la maduración fisiológica de la planta. Actualmente la saponina forma parte de las sustancias que están siendo investigadas para el tratamiento alternativo de la leishmaniasis. Las saponinas tienen un amplio rango de actividades biológicas tales como su acción antimicótica, antiviral, anti cancerígena, hipolesterolémica, hipoglucémica, antitrombótica, diurética, antiinflamatoria y molusquicida. Por hidrólisis de las saponinas se obtienen las sapogeninas esteroidales, de gran interés para la industria farmacéutica por ser precursores en la síntesis de hormonas y corticoides (Mujica *et al*, 2006).

2.3.3. Estructura de la saponina

Indica, que las saponinas son glucósidos (Figura 4) en los cuales varias unidades de monosacáridos se enlazan mediante un enlace glicosídico a un resto denominado aglicón. El aglicón puede ser de naturaleza triterpénica o esteroide y en función de esto las saponinas se clasifican en saponinas triterpénicas y saponinas esteroidales respectivamente.

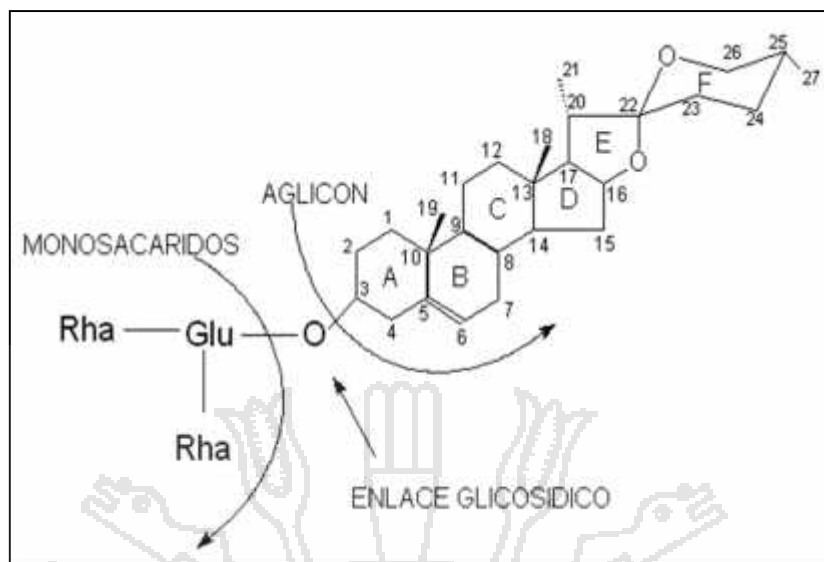


Figura 4: Saponina esteroideal

El aglicón en las saponinas esteroideas (sapogenina) presenta el esqueleto tetracíclico característico de este tipo de compuestos, denominado gonano (ciclopentanoperhidrofenantreno) en el caso de ser saturado. La característica estructural fundamental de estas sapogeninas radica en la presencia de dos anillos adicionales que se originan a partir del C-17 del esqueleto base y están contenidos respectivamente en dos planos perpendiculares entre sí. Además, el átomo de carbono común a estos dos nuevos anillos está unido a dos átomos de oxígeno (estructura de un cetal) por lo que a esta “cadena” lateral se le ha dado el nombre de cadena espirocetálica. (Gandarillas, 2004)

Las sapogeninas pueden clasificarse de acuerdo a la estructura de los anillos E y F en espirostanos, furostanos y furoespirostanos fundamentalmente, siendo el primer grupo el más importante (Figura 5). Estos compuestos pueden presentar unión trans (serie 5A) o cis (serie 5B) entre los anillos A y B, además todos presentan grupos metilos en C-10 y C-13 dirigidos hacia la cara B de la molécula. En el caso de que las sapogeninas posean una insaturación entre C-5 y C-6 se clasifican como D5 espirostanos.

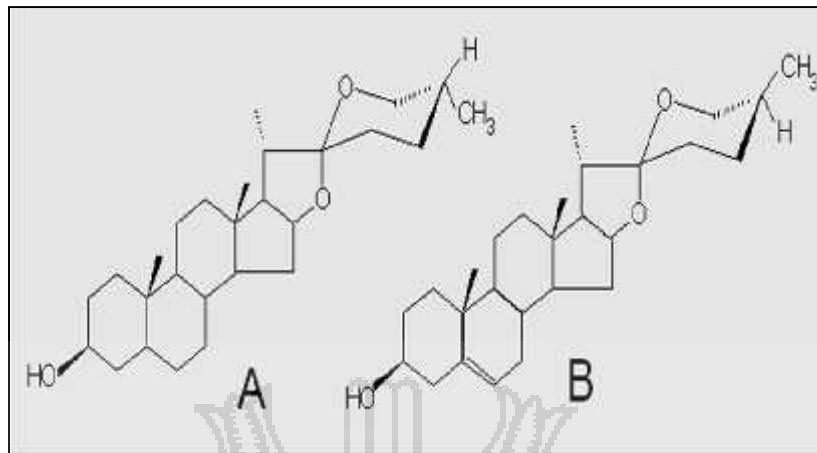


Figura 5: Espirostanos

- A) 3b-hidroxi-5a, 25R-espirostanos;
B) 3b-hidroxi-25S-espirost-5-eno.**

Adicionalmente a otros esteroides las saponinas presentan centros quirales en C-22 y C-25, determinando este último dos series para la clasificación de estos compuestos, la serie "iso" (configuración 25 R) y la serie "neo" (configuración 25 S). Las saponinas esteroidales poseen de una a seis unidades de monosacáridos unidas entre sí mediante enlaces glicosídicos. Estas unidades son comúnmente hexosas, pentosas y deoxihexosas, entre los que se encuentran principalmente glucosa, rhamnosa, galactosa y xilosa. Los enlaces glicosídicos pueden tener configuración a o b. Este resto glicosídico, que puede ser lineal o ramificado en la mayoría de los casos se une con el aglicón a través del C-3 del mismo (Gandarillas, 2004)

2.3.4. Producción de quinua en América

La producción de quinua generalmente se clasifica en dos grupos, un grupo lo constituye la de quinua de grano grande y amargo que se conoce como quinua Real y otro grupo de grano pequeño, llamada quínoa dulce. El principal producto de exportación corresponde a la quinua Real.

Este alimento se cultiva ampliamente en la región andina como se puede observar en la figura 25 en anexo C, desde Colombia hasta el norte de Argentina para las condiciones de montañas de altura, aunque una variedad que se cultiva en Chile, se produce a nivel del mar. (Bacigalupo), 1997)

A continuación se presenta un resumen de distribución de la quinua, de acuerdo a los países de la región y sus zonas tradicionales de producción (Bacigalupo, 1997)

- En Colombia en el departamento de Nariño, en las localidades de Ipiales, Puesres, Contadero, Córdova, San Juan, Mocondino y Pasto.
- En Ecuador en las áreas de Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Chimborazo, Loja, Latacunga, Ambato y Cuenca.
- En Perú se destacan las zonas de Cajamarca, Callejón de Huaylas, Valle del Mantaro, Andahuayllas, Cusco y Puno (altiplano).
- En Bolivia en el altiplano de La Paz, Oruro y Potosí y en los valles interandinos de Cochabamba, Chuquisaca, Potosí y Tarija.
- En Chile en el altiplano Chileno (Isluga e Iquique) y Concepción. También existen reportes de quinuas cultivadas en la Novena y Décima región.
- En Argentina se cultiva en forma aislada en Jujuy y Salta. El cultivo se amplió también hacia los Valles Calchaqués de Tucumán.

En la figura 26 en anexo C, se representan las producciones de los tres países que mayor cantidad de toneladas anuales producen.

2.3.5. Características físicas y químicas

Mujica *et al.* (2006) plantea que la quinua no solo tiene adecuado valor nutritivo en cantidad y calidad, sino, posee factores anti nutricionales como taninos, inhibidores de proteasas, ácido fítico y saponina, éstas sustancias secundarias, son limitantes para consumo en la alimentación y la agroindustria. La distribución cuantitativa y cualitativa de glucósidos es variable en las distintas partes de una planta, en quinua, la saponina se localiza en el episperma o cáscara del grano, considerado factor anti nutricional por el sabor amargo y su capacidad hemolítica. Físicamente, posee cuerpo amorfo (cristales), su color varía de pardo claro, blanco opaco a incoloro.

El contenido de saponina en quinua, es variable de acuerdo a la variedad, granos escarificados o no escarificados y método de obtención. Las saponinas, generalmente son sustancias terciarias (C, H y O) de elevado peso molecular,

neutras o ligeramente ácidas, abarca dos grupos de glucósidos vegetales. Holócidos y heterócidos (Font Quer, 1995), se componen de una parte lípida y soluble, la cual es un triterpenoide o esteroide en varias posesiones sustituido por azúcares o residuos ácidos, creando un grupo amplio y complejo de compuestos, con gran variedad de propiedades biológicas, químicas, toxicológicas y sabor (Dini *et al*, 2000). La fórmula química no está bien definida, (Robyt, 1984) dice que las formulas es: $C_nH_{2n-8}O_1$, en cambio, (Fluckinger, 1990) sostiene que la formula corresponde a:



Estructuralmente la saponina de la quinua contiene de una a seis unidades de hexosas o pentosas, unida a una sapogenina aglicona (Ruales, J. *et al.* 1994), además contiene, flavonol glicosidas (Dini *et al*, 2000), existe dos tipos de saponinas: saponina A (0.7%) y saponina B (0.2%), sin embargo, (Ruales, J. *et al.* 1994) registraron en quinua hasta seis tipos de saponinas.

La saponina de quinua por acción de las agliconas esféricas y triterpenoidales tiene la propiedad de formar abundante espuma en la solución acuosa, es soluble en etanol absoluto (98%) y otros solventes orgánicos; (Molina, 1992) sostiene que la saponina en vegetales es reguladora de la presión osmótica. Aparentemente, el sabor amargo tiene propiedades alomónicas para aves y roedores, en cambio, kairomónicas para insectos plaga en quinua. (Mujica *et al.* 2006),

2.3.6. Toxicología de la saponina.

Las especies vegetales poseen en sus tejidos sustancias tóxicas, por cuya razón, las sustancias secundarias como, glucósidos y otros, son mecanismos químicos de defensa contra depredadores y pueden otorgarle propiedades alomónicas (benefician a la planta) o kairomónicas (benefician al consumidor de la planta). Generalmente, la saponina tiene efecto alomónico contra herbívoros.

En humanos la saponina es tóxica, altera la permeabilidad de las paredes celulares de eritrocitos y produce hemólisis, afecta el nivel de colesterol en el hígado y sangre (Cheeke, 1991), además son irritantes, estornutatorios y eméticos (Navarro – Beltrán, 1984). Sin hipocolesterolémicos y posibles secuelas preventivas contra el cáncer coli (Dini, I. *et al.* 2000). Determinó que la ingesta de saponina en soluciones

de uno y dos gramos produjo una disminución significativa en los niveles séricos de colesterol y afines en personas normocolesterolémicos e hipercolesterolémicos. (Aguilar, 1999).

El efecto tóxico de la saponina en animales está en discusión, sin embargo, para peces es muy tóxica. El sabor amargo resultante del glucósido es una limitante para consumo humano, por cuya razón, es necesaria determinar la Ingesta Diaria Admisible (IDA) de saponina, es decir, la cantidad de saponina que una persona pueda ingerir en su alimentación durante toda la vida sin riesgo, considerando que los factores que afectan las saponinas son múltiples y no necesariamente tóxicos. Los niveles de saponina aceptados para consumo humano varía entre 0,06 y 0,12% y el límite máximo en granos cocidos es 0,1% (Nieto, C. *et al.* 1997)

2.4. USOS DE LA SAPONINA EN LA INDUSTRIA.

La saponina por sus características físicas (espuma) y químicas (ácidas), es usada en la fabricación de cerveza, preparados de compuestos para extintores contra incendios, industria fotográfica, cosmética (shampoo), tabacalera y farmacéutica (Cardozo, A. *et al.* 1997) También, la saponina se puede usar en la fabricación de medicamentos para aves de corral. (Briceño, O y C. Castro., 1992), evaluaron saponina (0,24%) de quinua Kancolla para prevenir mal de altura en pollos de carne, los resultados, determinan que la saponina contrarresta el mal de altura y el nivel óptimo de saponina en la dieta fue 114 ppm. El habitante rural de la zona andina, usa el agua del lavado de quinua para lavar prendas de vestir y cabellos.

En la agricultura orgánica, el uso de saponina contra fitopestes posee potencialidades comparativas y competitivas en relación a otros extractos vegetales con propiedades biocidas. Generalmente, en insectos plaga la saponina actúa por contacto y sofocación, es usarse contra insectos (inmaduros y adultos) de cuerpo blando, además, son biodegradables y poco persistentes en los agro ecosistemas.

La saponina de la quinua para uso humano también presenta múltiples usos como ser en medicina, especialmente en enfermedades respiratorias y dérmicas, por su semejanza estructural con algunos esteroides, podría participar en la producción de hormonas sintéticas para el control de la natalidad. Se destaca también la acción hemolítica. “La saponina de la quinua en la actualidad ha adquirido gran importancia en la industria teniendo múltiples usos como: Agente emulsionante de

grasas y aceites, protector de sustancias coloidales, cosmética, dentífricos, jabones, productos para la limpieza del cabello, formulación para tinturas y coloraciones para el pelo. Agente espumante para baño, no tóxico, con efectos en dermatosis y sueño profundo, Shampoo y acondicionador”.

A la fecha se cuenta con bastante materia prima en las zonas productoras potenciales de quinua que no están siendo aprovechados por la industria; en este sentido se plantea la necesidad de contar con una planta industrializadora de la saponina de la quinua, utilizando el desperdicio de la quinua; las alternativas para utilizar el desperdicio de la quinua incluyen: Extracción de proteínas de quinua, extracción de antioxidantes naturales presentes en la cáscara de la quinua, harina de quinua para mejorar el valor nutricional de productos horneables, (Lieberman, 2002)

2.5. EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO

La extracción es una operación de transferencia de materia basada en la disolución de uno o varios de los componentes de una mezcla (líquida o que formen parte de un sólido) en un disolvente selectivo. Aprovechándose, por tanto, la diferencia de solubilidades de los componentes de la mezcla en el disolvente añadido. Se hace la distinción entre la extracción líquido-líquido y la extracción sólido-líquido (llamada también lixiviación) según que la materia a extraer esté en un líquido o en un sólido respectivamente. El número mínimo de componentes presentes en la extracción es tres. Un problema importante lo constituye la selección del disolvente extractor.

En la extracción sólido-líquido se acostumbra a trabajar por cargas o en semicontinuo por la dificultad de manipulación del sólido que hay que someter a extracción. Uno de los extractores sólido-líquido más usados a escala de laboratorio es el extractor Soxhlet (Figura 6). El disolvente extractor hierve en la caldera y, después de condensarse con agua fría, cae sobre el recipiente que contiene el sólido con el soluto a extraer. Se realiza la extracción y, a través de un sifón, sale del recipiente el disolvente con el soluto extraído. La mezcla se devuelve a la caldera, donde se va concentrando el soluto a medida que se repite el ciclo. (Gomis, 1998)

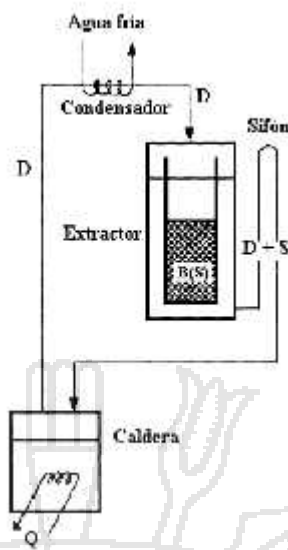


Figura 6: Extractor soxhlet

2.6. MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL

La microfiltración es una membrana semi-permeable de baja presión para separar sólidos suspendidos del agua, dejando pasar sales y macromoléculas. La tecnología consiste en la separación de componentes de un fluido alimentado que se mueve paralela o tangencialmente a la superficie de la barrera, la acción de arrastre o barrido de éste minimiza la acumulación de especies rechazadas por la membrana y posterior formación de la torta sobre la superficie, de esta forma se logra un índice de filtración más alto que para sistemas que utilizan la configuración frontal.

El permeado es la fracción que ha atravesado la membrana semipermeable y es recolectada en el lado opuesto de la membrana; la porción del flujo alimentado que ha sido enriquecida con los solutos o sólidos suspendidos, que no pasaron a través de la membrana, es llamada retenido o concentrado. Este puede ser recirculado a través del sistema para extraer la mayor cantidad posible de permeado, con lo cual se logra un índice de filtración mayor que los obtenidos en la filtración convencional. El retenido o concentrado corre a través del mismo canal de flujo por donde lo hace el flujo alimentado, arrastrando soluto concentrado (Salas, 2003).

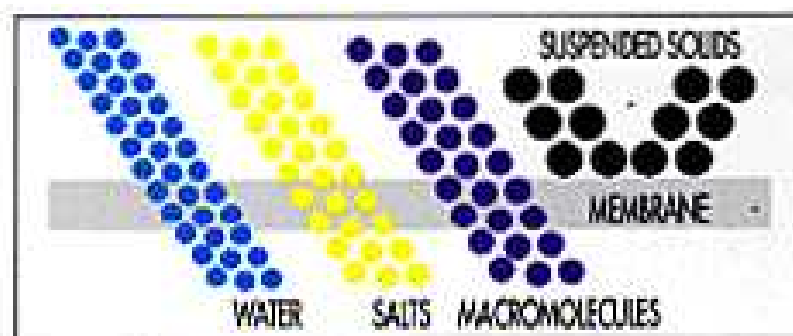


Figura 7: Separación por micro filtración

2.7. ULTRAFILTRACIÓN TANGENCIAL

El principio de la ultrafiltración es la separación física. Es el tamaño de poro de la membrana lo que determina hasta qué punto son eliminados los sólidos disueltos, la turbidez y los microorganismos, las sustancias de mayor tamaño que los poros de la membrana son retenidas totalmente. Las sustancias que son más pequeñas que los poros de la membrana son retenidas parcialmente, dependiendo de la construcción de una capa de rechazo en la membrana. La ultrafiltración es una membrana semi-permeable de baja presión para separar partículas de alto peso molecular, dejando pasar sales y partículas de bajo peso molecular (Nuñi, A. *et al.* 2005)

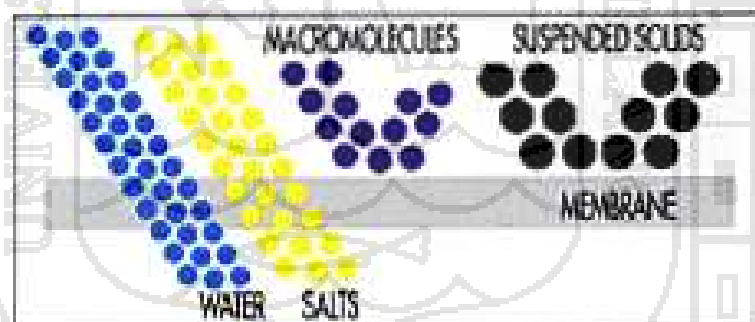


Figura 8: Separación por Ultrafiltración

2.8. SECADO POR ASPERSIÓN

Levenspiel, (1993), indica que por definición, el secado corresponde a la transformación de un fluido en un material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas, es un método de secado en caliente. El principio de secado por aspersión es la producción de un polvo seco por medio de la atomización de una

emulsión en una corriente de aire caliente en cámaras de secado. Una de las grandes ventajas de este proceso, además de su simplicidad, es que es apropiado para materiales sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto (5 a 30 segundos).

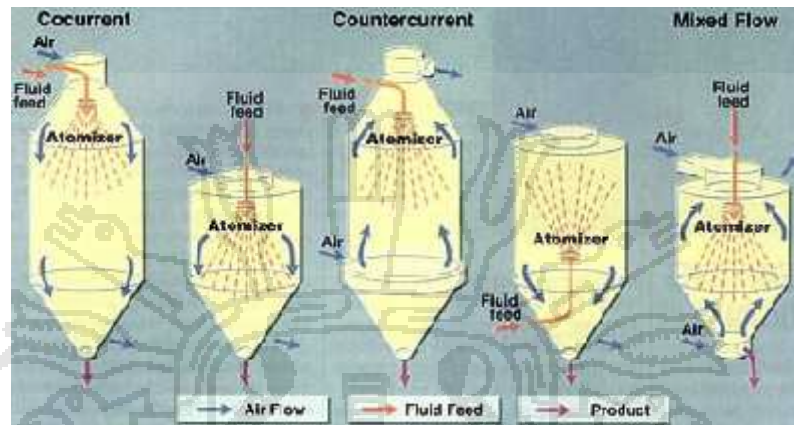


Figura 9: Patrones de flujo en secado por atomización.

2.9. LOS ENCAPSULADOS

La encapsulación es un proceso mediante el cual ciertas sustancias bioactivas (sabores, grasas, vitaminas o aceites esenciales) son introducidas en una matriz o sistema pared; o en otras palabras, es un recubrimiento de las sustancias volátiles o inestables con una capa delgada de algún polímero u otro material. El producto resultante de este proceso recibe la denominación de micropartículas o microcápsulas (Peredo, 2003)

Una cápsula es una forma farmacéutica sólida en la cual el principio activo ya sea sólido o líquido, se encuentra contenido en un micro recipiente comestible, de forma cilíndrica y redondeada en los extremos o bien en forma esférica. El material con el cual se fabrican generalmente las cápsulas es gelatina y otros excipientes que la hacen más o menos rígida. Existen cápsulas rígidas y cápsulas blandas, las primeras constan de tapa y cuerpo y las segundas se encuentran constituidas por una sola pieza sellada. En la Industria Farmacéutica las cápsulas son manejadas con números que van desde 000 hasta 4 (figura 41 anexo D), de acuerdo a su tamaño (J. M., lakkis *et al.*, 2007)

2.10. METODOLOGÍA PARA LA MICROFILTRACIÓN TANGENCIAL

Salas, (2003), indica que en micro filtración tangencial (MFT), la alimentación es enviada a través de un tanque del módulo de la membrana utilizando una bomba.

La presión a través de la membrana, conocida como presión transmembranaria, se calcula sumando la presión del interior de la membrana más la de salida de la membrana menos la presión del permeado (la cual es muy cercana a cero) y la sumatoria es dividida entre dos (Salas, 2003). A través de la bomba se regula la presión del fluido de alimentación y la temperatura se controla a través de intercambiadores de calor o manteniendo la temperatura directamente (no mayor a 35°C) sobre el tanque de alimentación (Salas, 2003). El retenido es concentrado y que al hacer recircular el retenido más el flujo de alimentación, a través de la membrana, crea un efecto de arrastre de partículas.

La concentración del retenido puede ser expresada como el factor de reducción volumétrica (FRV) (Salas, 2003). La Figura 10 muestra un esquema del modo de operación en micro filtración tangencial.

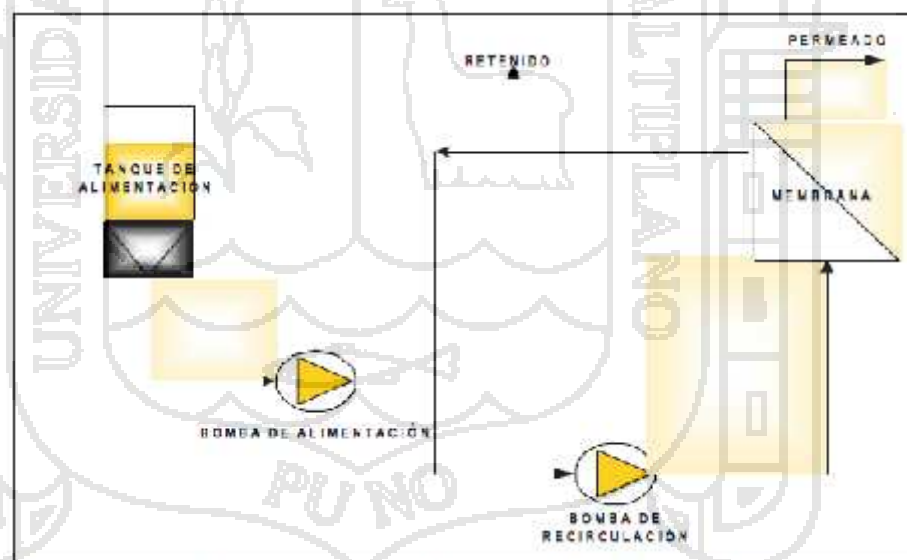


Figura 10: Esquema del modo de operación en micro filtración tangencial

2.11. METODOLOGÍA PARA LA ULTRAFILTRACIÓN TANGENCIAL

Luego del pre filtrado y centrifugado el jugo de quinua se le somete a un proceso de ultrafiltración tangencial, utilizando cargas de 20 L, a una temperatura promedio de 35°C y a cinco presiones transmembrana diferentes para determinar cuál proporciona la mayor eficiencia de separación de la membrana (Nuñi *et al*, 2005).

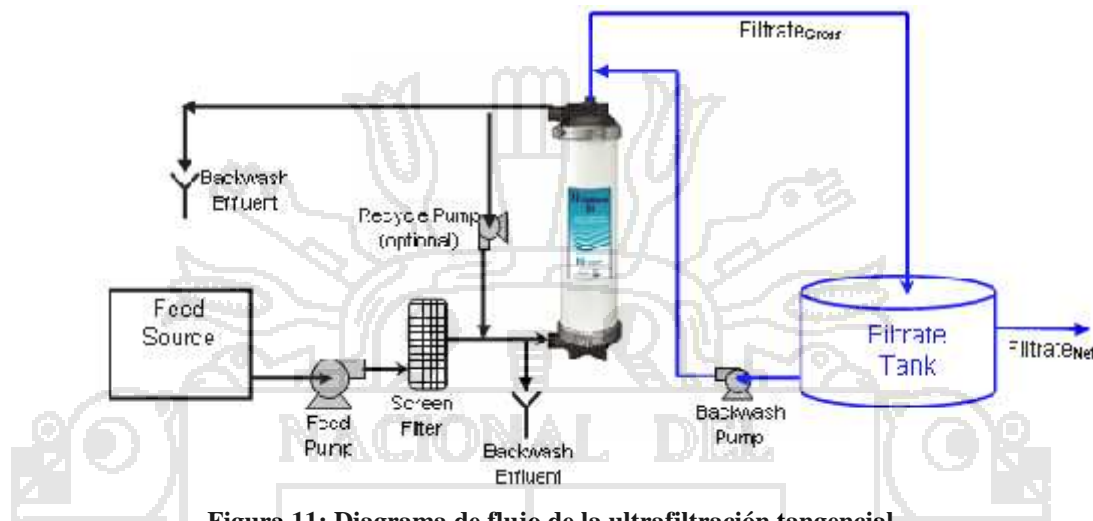


Figura 11: Diagrama de flujo de la ultrafiltración tangencial

2.12. METODOLOGÍA PARA EL SECADO POR ASPERSIÓN

El líquido que se va a secar se atomiza y se introduce en una cámara grande de secado, en donde las gotas se dispersan en una corriente de aire caliente. Las partículas de líquido se evaporan rápidamente y se secan antes de que puedan llegar a las paredes del secador; el polvo seco que se obtiene cae al fondo cónico de la cámara y luego es extraído mediante una corriente de aire hasta un colector de polvos. La parte principal del gas saliente también se lleva al colector de polvos, como se muestra, antes de ser descargado. Las instalaciones pueden ser, incluso, de 12 m de diámetro y 30 m de altura (Levenspiel, 1993)

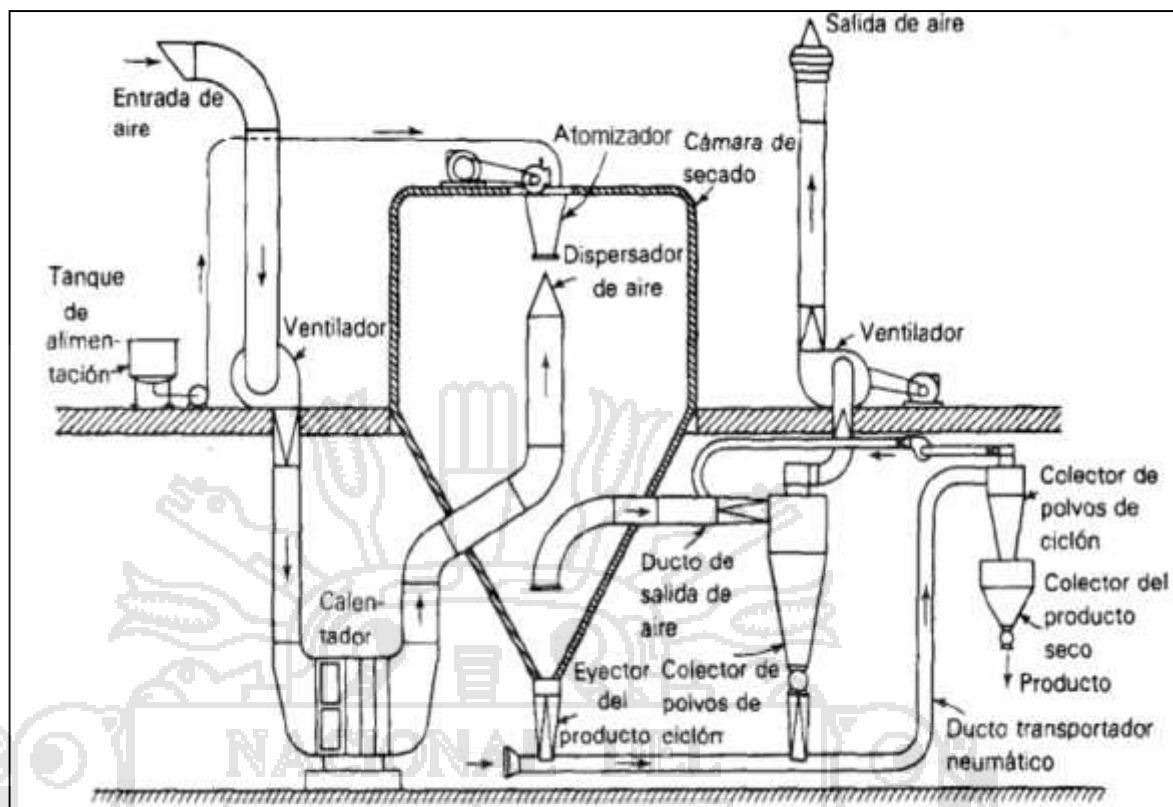


Figura 12: Diagrama de flujo del secado por aspersión.

2.13. DETERMINACIÓN EXPERIMENTAL DE LA ECUACIÓN DE VELOCIDAD

El primer objetivo es establecer la ecuación de velocidad. Lo cual supone la determinación de los órdenes de reacción y de la constante de velocidad. Así, si se estudia una reacción de la forma: (Andrade, 1999)



Como primera aproximación, podemos suponer una ley general del tipo:

$$v = k[A]^n[B]^m \quad (2)$$

Para determinar los órdenes de reacción se puede hacer uso del método de las velocidades iniciales, el cual se basa en la medida de la velocidad inicial v_0 , para diversas mezclas de reacción en las que se mantienen constantes todas las concentraciones. En esas condiciones la velocidad aparece como una función de la única concentración variable y, por lo tanto, se puede determinar fácilmente el orden de reacción respecto a dicha especie. Así, en la reacción anterior, para

determinar “n” se mantendría constante la concentración de B y se haría uso de la expresión:

$$v_0 = K'[A]_0^n \quad (3)$$

Donde k' incluye el término constante de concentración de B. Tomando logaritmos resulta:

$$\lg v_0 = \lg k' + n \lg [A]_0 \quad (4)$$

Que es la ecuación de una recta. Una serie de experiencias realizada para diversas concentraciones iniciales de “A” nos permitirá obtener diversos puntos de la recta. El orden de reacción, “n”, es la pendiente de la recta, que puede obtenerse ajustando por mínimos cuadrados.

➤ Integración de leyes de velocidad sencillas

Reacciones de orden cero:

En este caso la velocidad de formación del producto viene dada por una ecuación del tipo:

$$\frac{d[P]}{dt} = k \quad (5)$$

$$\int_{p_u}^p d(p) = k \int_a^t dt$$

$$[P] - [P_0] = kt$$

Cuya integración conduce a:

$$[P] = [P]_0 + kt \quad (6)$$

Y por tanto a una variación lineal de la concentración con el tiempo. Reacciones de orden cero se encuentran frecuentemente en catálisis heterogénea, cuando la

reacción se lleva a cabo sobre una superficie saturada de reactivo. Y en reacciones catalizadas con suficiente exceso de sustrato para saturar el catalizador.

Reacciones de primer orden:

Corresponden a procesos elementales unimoleculares:



La ley de velocidad es del tipo:

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A] \quad (8)$$

La integración de esta ecuación conduce a una expresión logarítmica:

$$\ln [A] = -kt + \ln [A]_0 \quad (9)$$

Representando $\ln[A]$ frente al tiempo se obtiene una recta de pendiente igual a $-k$ y con ordenada en el origen igual a $\ln [A]_0$. En procesos gobernados por leyes de primer orden la concentración de reactivo, A, disminuye exponencialmente y, de manera simultánea, la concentración de producto aumenta también exponencialmente:

$$[A] = [A]_0 e^{-kt}$$

$$[A] = [A]_0 (1 - e^{-kt})$$

Un concepto importante en cinética es el tiempo de vida media o período de semireacción. Se define como el tiempo necesario para que la concentración del reactivo se reduzca a la mitad. En el caso de una reacción de primer orden resulta:

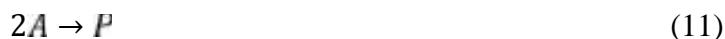
$$\frac{[A]_0}{2} = [A]_0 e^{-k t_{1/2}} \quad (10)$$

Y por tanto, la vida media viene dada por:

$$t_{1/2} = (\ln 2)/k$$

Reacciones de segundo orden:

Pueden darse dos casos, dependiendo de que la ecuación de velocidad sea función de la concentración de un solo reactivo o de dos. El primer caso corresponde a una reacción elemental del tipo:



Que podrá describirse mediante la ecuación de velocidad de segundo orden siguiente:

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A]^2 \quad (12)$$

La integración de esta ley de velocidad conduce a:

$$\frac{1}{[A]} = k t + \frac{1}{[A]_0} \quad (13)$$

Y por tanto, la representación de $1/[A]$ frente al tiempo da lugar a una recta de pendiente k y ordenada en el origen $1/[A]_0$. La concentración de A experimenta una variación hiperbólica con el tiempo:

$$[A] = [A]_0 / (1 + [A]_0 k t) \quad (14)$$

El tiempo de vida media para este tipo de reacciones tiene la expresión:

$$t_{1/2} = \frac{1}{[A]_0 k} \quad (15)$$

2.14. ESPECTROFOTOMETRÍA DE MASA

La espectrometría de masas (MS) es una de las técnicas analíticas más completas que existen. Recientemente, esta técnica se utiliza no sólo en investigación, sino también en análisis de rutina de los procesos industriales, en control de calidad, etc. Sus principales cualidades son: - Capacidad de identificación de forma prácticamente inequívoca, ya que proporciona un espectro característico de cada molécula.

- Cuantitativa: permite medir la concentración de las sustancias.
- Gran sensibilidad: habitualmente se detectan concentraciones del orden de ppm o ppb y en casos específicos se puede llegar hasta ppt e incluso ppq.
- Universal y específica.
- Proporciona información estructural sobre la molécula analizada.
- Suministra información isotópica.
- Es una técnica rápida: se puede realizar un espectro en décimas de segundo, por lo que puede monitorizarse para obtener información en tiempo real sobre la composición de una mezcla de gases.

Dentro del espectrómetro de masas, se procede a la ionización de la muestra mediante diferentes métodos. El sistema de ionización más frecuente es el de impacto electrónico que bombardea las moléculas con electrones de una cierta energía, capaces de provocar la emisión estimulada de un electrón de las moléculas y así ionizarlas. Además de moléculas ionizadas o iones moleculares (M^+) también se forman iones fragmento debido a la descomposición de los iones moleculares con exceso de energía. El tipo y proporción relativa de cada uno de estos fragmentos es característico de las moléculas analizadas y de las condiciones del proceso de ionización. Una vez ionizadas las moléculas, se aceleran y se conducen hacia el sistema colector mediante campos eléctricos o magnéticos. La velocidad alcanzada por cada ión será dependiente de su masa. La detección consecutiva de los iones formados a partir de las moléculas de la muestra, suponiendo que se trate de una sustancia pura, produce el espectro de masas de la sustancia, que es diferente para cada compuesto químico y que constituye una identificación prácticamente inequívoca del compuesto analizado. El espectro de masas puede almacenarse en la memoria del ordenador para compararse con los espectros de una colección de espectros (o librería) y proceder a su identificación o puede estudiarse para averiguar la naturaleza de la molécula que le dio origen, etc. (Gutierrez M., 2002)

2.15. MARCO CONCEPTUAL

Cápsula: Las cápsulas son pequeños contenedores o envases solubles generalmente fabricados a base de gelatina en cuyo interior se halla la dosis del fármaco que se

administrará por vía oral. Es la forma farmacéutica más utilizada. (J. M., Iakkis & Madene, 2007)

Cultivar: Un cultivar (del inglés *cultivar*, a su vez de *cultivated variety* "variedad cultivada"), es un término empleado en botánica y agronomía para aquellas poblaciones de plantas cultivadas que son genéticamente homogéneas y (1) comparten características de relevancia agrícola que permiten distinguir claramente a la población de las demás poblaciones de la especie y (2) traspasan estas características de generación en generación, de forma sexual o asexual. (Wahli, 1990)

Glucósido: Los glucósidos son un conjunto de moléculas compuestas por un glúcido (generalmente monosacáridos) y un compuesto no glucídico. Los glucósidos desempeñan numerosos papeles importantes en los organismos vivos. Muchas plantas almacenan los productos químicos importantes en forma de glucósidos inactivos; si estos productos químicos son necesarios, se hidrolizan en presencia de agua y una enzima, generando azúcares importantes en el metabolismo de la planta. Muchos glucósidos de origen vegetal se utilizan como medicamentos. (Vera A. , 1999)

Saponina triterpénica: Las saponinas triterpénicas son compuestos químicos de tipo terpenoide presentes en las plantas de las familias Apiaceae y Pittosporaceae. En botánica sistemática, el hecho de que las saponinas triterpénicas estén presentes en estas dos familias apoya la hipótesis de que estas familias son parientes cercanos. (Dini, I. et al, 2000)

Efecto tóxico: Se define como efecto tóxico o respuesta tóxica, cualquier desviación del funcionamiento normal del organismo que ha sido producida por la exposición a sustancias tóxicas. (Cardozo, A. y Tapia M., 1997)

Efecto alomónico: compuestos moleculares diversos producidos por el metabolismo secundario de los vegetales que actúan como señales o mensajeros químico ecológicos de disuasión produciendo efecto repulsivo o toxico. (Cardozo, A. y Tapia M., 1997)

Hemólisis: Lahemólisis (eritrocateresis) es el fenómeno de la desintegración de los eritrocitos (glóbulos rojos o hematíes). (Marca, 2003)

Escarificado: La escarificación de las semillas es una técnica que tiene por finalidad abrir o debilitar la cutícula o estructura externa de las semillas para que la radícula puede abrirse paso entre ella y se pueda producir la germinación adecuadamente. (Mujica Sanchez, 2012)

2.16. CONCEPTOS DE LA EXTRACCIÓN DE SAPONINA DEL ESCARIFICADO DE QUINUA.

Materia prima (afrecho de quinua).-La materia prima es el afrecho de quinua que se obtiene como subproducto de la desaponificación por vía seca o abstracción de los 5 cultivares de quinua.

- **Lavado.**- Se realiza con agua potable, se agita y se hace un lavado.El efecto de la temperatura es despreciable porque un aumento de la temperatura de extracción no genera un extracto más rico en saponinas, esto se aplica por la alta solubilidad de las saponinas.
- **Extracción sólido-líquido.**- Se realiza inmediatamente después del lavado; para un máximo aprovechamiento de la materia prima se recomienda el lavado de la torta filtrante de sólidos descartados en la etapa de filtración.
- **Filtración.**- Se realiza después de haber obtenido la solución para minimizar cualquier componente sólido que se encuentre en el líquido.
- **Ultrafiltración.**- Se realiza a partir del líquido obtenido en la filtración.
- **Rota vapor.**- se recupera el etanol al 88% promedio, (Ver Figura 35, anexo D)

- **Secado por aspersión.-** El líquido obtenido de la filtración pasa a un atomizador para ser secado y obtener la saponina en polvo.
- **Micro filtración.-** Se realiza a partir del líquido obtenido en la filtración.
- **Identificación de componentes.-** Para esta etapa se realiza un análisis de HPLC (Cromatografía de líquidos de alta resolución)

2.17. VARIABLES

Las **variables**, son características de la realidad que puedan ser determinadas por observación y, lo más importante, es que puedan mostrar diferentes valores de una unidad de observación a otra. (Medina, 2001)

Así las cosas, podemos decir que con los conceptos pensamos, observamos y explicamos, mientras que las variables se encuentran en el mundo real y son el objeto de nuestras observaciones y explicaciones.

Los conceptos están situados en un plano teórico mientras que las variables están situadas en un plano concreto y perceptible por los sentidos.

La relación entre ambas cosas es lo que se busca mediante el proceso de investigación científica, lo cual se logra por medio de las definiciones operacionales de los conceptos, lo que se busca en última instancia es ver como los conceptos (mi teoría) explica el cambio y el sentido y magnitud del cambio de mis variables.



CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. GENERALIDADES

El objetivo es evaluar el método de extracción sólido-líquido de la saponina de 5 cultivares de quinua (*chenopodium quinoa willd*), su encapsulamiento y utilización en la alimentación, determinando la velocidad de extracción.

a) Agitación de la mezcla.

Para que la extracción sea eficiente, es necesario que la mezcla de etanol con agua destilada en una proporción 50 % V/V y sean agitados convenientemente durante 40 minutos, para que haya una buena adsorción de la saponina del afrecho.

b) Tipo y cantidad de solvente.

El solvente utilizado es etanol de 98%V/V de pureza, el mismo que fue adecuado a diferentes concentraciones en mL/mL, para realizar la concentración del solvente se realizó pruebas experimentales a diferentes disoluciones como se muestra en el cuadro 16, de acuerdo a lo resultados el valor óptimo para la extracción de la saponina es el 50 % V/V el cual muestra más porcentaje de saponina.

3.2. AMBITO DEL ESTUDIO

El presente trabajo de investigación se ejecutó en el laboratorio de control de calidad de aguas de la Facultad de Ingeniería Química de la UNA – Puno. Que está a 3814 m.s.n.m. y la temperatura ambiental aproximada está en 13 a 15 °C respectivamente.

) Los análisis y preparación de muestras se realizaron en el laboratorio de control de calidad de aguas de la Facultad de Ingeniería Química – UNA - PUNO.

Ubicación:

Provincia : Puno

Departamento : Puno

Dirección : Av. Sesquicentenario N° 1150 - Puno

) Ubicación geográfica:

Latitud : 15°49'20.48" del Meridiano de Greenwich.

Longitud : 70°01'08.76" de la línea ecuatorial.

Altitud : 3810 m.s.n.m.

3.3. MÉTODO EXPERIMENTAL**3.3.1. Materia prima**

La materia prima que se utilizó en el presente trabajo de investigación fueron 5 cultivares de quinua que fueron elegidos al azar y que son los siguientes:

-) Pasankalla
-) Chullpi
-) Blanca de Juli
-) Salcedo INIA
-) Kancolla

3.3.2. Materiales, equipos y reactivos**3.3.2.1. Materiales y equipos**

-) Balanza analítica marca: Metter Toleno.
-) Probeta 500 mL.
-) Vasos de precipitado 500 mL.

-) Pipeta de 100 mL.
-) Piceta.
-) Pastilla magnética
-) Vaso de precipitado de 100 mL
-) Tubos de ensayo
-) Espátula
-) Papel de filtro
-) Espectrofotómetro. Marca Spectronic 210
-) Agitador magnético. Marca Cat-Mg.1
-) Rota evaporador (Rotavapor). Marca Buchi – R -3
-) Fiolas de 100mL
-) Embudo buchner
-) Matraz kitazato
-) Despedradora
-) Escarificadora.
-) Centrifugadora.
-) Estufa.

3.3.2.2. Reactivos

-) Agua destilada
-) Ácido sulfúrico pureza(H_2SO_4)98 %
-) Anhídrido acético($C_4H_6O_3$) pureza 97%
-) Etanol (C_2H_6O) de 98% V/V de pureza
-) Saponina estándar 85% calbiochem
-) 05 cultivares de quinua.

3.4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

En el presente capítulo se describen las técnicas, instalaciones y procedimientos experimentales empleados durante la realización de esta tesis, desde el escarificado de la quinua y caracterización del solvente hasta los ensayos de saponificación de las 5 diferentes clases de quinuas (*Chenopodium quinua Willd.*).

El presente trabajo tiene por finalidad proponer una técnica sencilla para la determinación de la saponina total, de bajo costo que pueda ser aplicada por cualquier laboratorio. El fundamento de la técnica propuesta es la extracción sólido-líquido de la saponina con una mezcla de etanol al 50% V/V, filtrado al vacío (*Ver Figura 34, anexo D*).

Se realizó la selección de los 5 cultivares de quinua, una vez seleccionado los cultivares se procedió a registrar los pesos y características, luego se procedió a escarificarlo y recopilar el afrecho de cada uno de los cultivares teniendo cuidado de no mezclarlas.

Se utilizó polvo de saponina (polvillo escarificado purificado de grano) extraído del grano por un proceso mecánico abrasivo. A partir de este polvillo se realizó la extracción con etanol al 50% V/V y se filtró al vacío. Una vez obtenida la solución se llevó a un rotaevaporador hasta que se evaporó y recuperó el total de agua y el alcohol eficientemente al igual que la saponina en sólido y posteriormente llevar al pesado y ver la eficiencia del procedimiento.

3.4.1. Procedimiento de recolección de datos

En la evaluación de este trabajo se procedió de la siguiente manera: se fue a pesar el peso inicial de la quinua sin escarificar para así ver el porcentaje de afrecho de polvillo, se realizó con mucho cuidado ya que se utiliza barbijos y protección para vista por seguridad porque posteriormente de escarificar la quinua en la maquina se procede al pesado, en el proceso de pesado se levanta el polvillo de la cáscara y al momento de respirar se siente picazón en las garganta y fosas nasales, también se siente un ardor en la vista.

3.4.2. Descripción del flujo grama para la extracción de quinua perlada y afrecho polvillo.

-) **Materia prima.-** Para la obtención de saponina se han llegado a utilizar 5 Kg. de quinuas de distintas variedades obtenidas desde el mismo lugar de producción
-) **Despedregado.-** Para este proceso se sometió la quinua a una despedradora y seleccionadora, donde se eliminan pajas, polvos y piedritas de diferentes tamaños.
-) **Escarificado.-** Seguidamente al terminar el despedrado se pasó a la máquina de escarificar donde se separa el afrecho polvillo del grano de quinua.
-) **Afrecho polvillo.-** Es el compuesto también conocido como cáscara esta queda en la base de la máquina escarificadora.
-) **Pesado.-** Se recogió el polvillo afrecho de la base de la maquina escarificadora con mucho cuidado tomando en cuenta de recoger en su totalidad limpiando las paredes de la máquina para poder tener el peso exacto, y cada muestra se pesó utilizando una balanza electrónica.

Diagrama de flujo de proceso para la obtención de quinua perlada y afrecho polvillo.

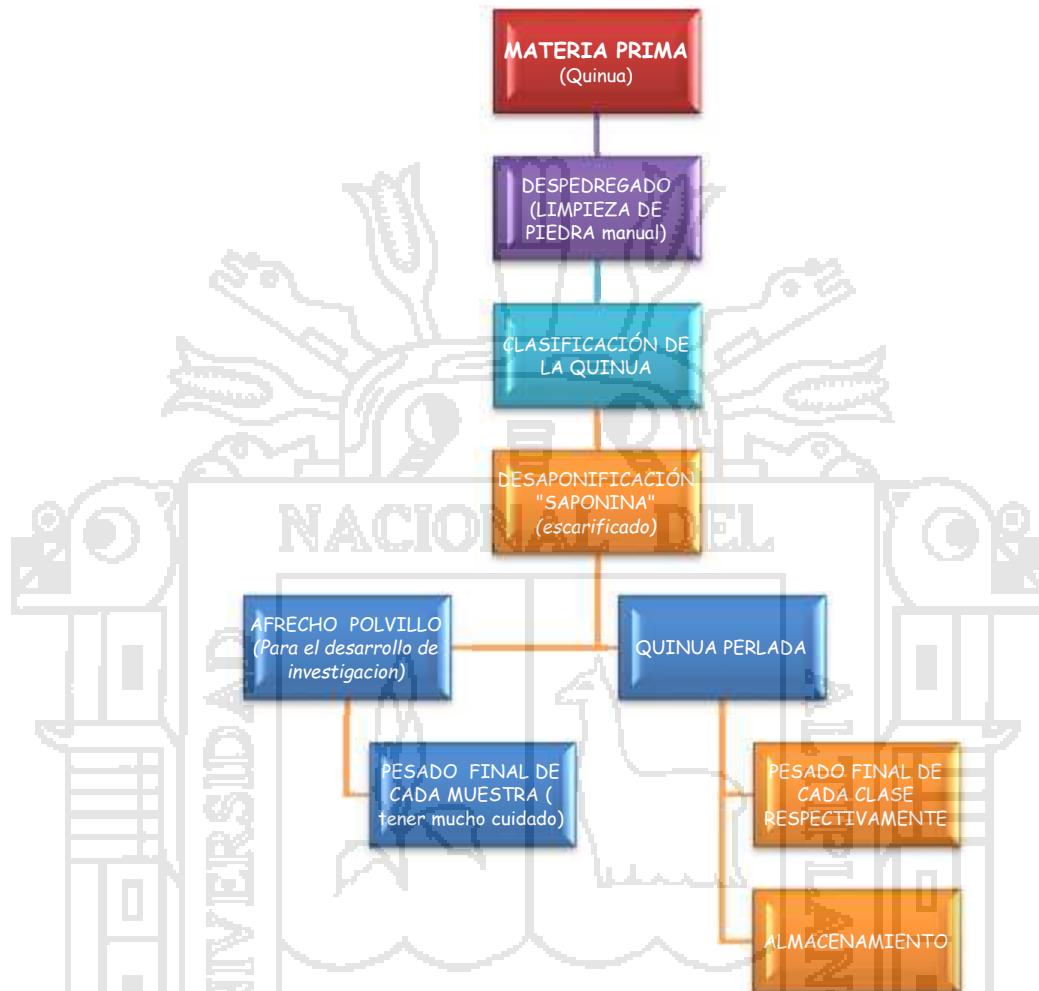


Figura 13: proceso para la obtención de quinua perlada y afrecho polvillo.

3.5. EXTRACCIÓN DE SAPONINA

Cada variedad de quinua se sometió a un proceso mecánico de escarificación, donde se elimina la cáscara quedando; la quinua perlada y el afrecho polvillo.

Una vez obtenido el afrecho en polvillo (cuadro 17), se pesa 2,5g de cada variedad (cuadro 20) y se disuelve en 100ml de etanol al 50% V/V, esta solución se agito desde 30 a 80 minutos a 800 rpm una vez concluida esta operación se procedió con el filtrado al vacío. La solución filtrada se depositó en fioles de 100mL las cuales fueron aforadas al mismo volumen con etanol al 50% V/V (Ver Figura 37, anexo D)

Se realizó el centrifugado de la mezcla de la saponina con el etanol en el equipo durante 15 minutos a 3500 rpm el que sirvió para decantar los sólidos y poder separarla de la solución.

Para dar coloración a la solución de saponina total extraída se utiliza reactivo color que es una mezcla de anhídrido acético al 97% y ácido sulfúrico al 98% de concentración en una proporción de 1:5 (16,7%). La proporción de la muestra con el reactivo de color 1:3,5 (22,23%) (*Ver Figura38, anexo D*). La muestra fue leída después de 30 minutos de la adición del reactivo color, ya que en este tiempo el color es estable y permanente. (Miranda R. , 2006)

Luego la muestra fue leída a una longitud de onda de 343nm (*figura31 en anexo D*). La presente técnica no tiene interferencia con colores que pueda presentar la quinua y tiene la virtud de determinar el total de las saponinas presentes en el producto.

Se tiene que tener cuidado al momento de mezclar el reactivo de color con la muestra ya que esta reacción es exotérmica. Otro punto a considerar es que la mezcla tiene una viscosidad alta y es necesario utilizar un vaso de precipitados para realizar la mezcla antes de dejar el tiempo recomendado para que ocurra la reacción; luego se realiza la recuperación del etanol en el rotavapor para $T= 67^{\circ} C$ y 250 rpm, al terminar sólo quedará el agua con la saponina para hacer su secado final en la estufa. Para las 5 variedades de quinua se hizo uso de etanol al 50% V/V a temperatura ambiental, donde se determinó la concentración de saponina por cada variedad (*figura 39*), después de aplicar el reactivo color.

3.5.1. Descripción del flujo grama para la extracción de saponina a partir del afrecho polvillo.

-) **Materia prima.-** el afrecho de quinua vendría ser nuestra materia prima que se obtiene como sub producto del escarificado de los 5 cultivares de quinua.
-) **Pesado.-** Seguido se pesa el afrecho a cada una de las 5 cultivares a un peso de 2,5 g c/u, teniendo cuidado de que no se mezclen.
-) **Mezclado.-** Para cada muestra se añadió los 2,5 g de sólido en un matraz con 100mL de etanol y se agitó para uniformizar el líquido.

-) **Agitado.-** La muestra se agita a diferentes tiempos 20, 30, 40, 60, y 80 minutos respectivamente para hallar la eficiencia de cada clase afrocho de quinua.
-) **Filtrado.-** Se recomienda pasar por filtrado para evitar impurezas, muy aparte de las impurezas presentes que recuperamos la saponina en el etanol.
-) **Centrifugación.-** El líquido obtenido del primer filtrado se pasó a centrifugar en un tiempo de 15 min y 3500 rpm, para así pasar al rota vapor.
-) **Secado.-** Se extrae la torta con sumo cuidado y se le deja secar en un rota evaporador a temperatura de 67°C aproximadamente a 250 rpm por un tiempo aproximado de 30 min.
-) **Estufa.-** se recomienda pasar a la estufa el sólido por un breve tiempo para que no se quede meloso al momento de pulverizar.
-) **Pulverizado.-** seguido pulverizamos con mucho cuidado pasando un poco a la estufa para tener mejor resultado.
-) **Encapsulado.-** el encapsulado se realiza de forma manual con un peso 0,5g cada una de las capsula.

Diagrama de flujo de la extracción de saponina del escarificado de quinua.

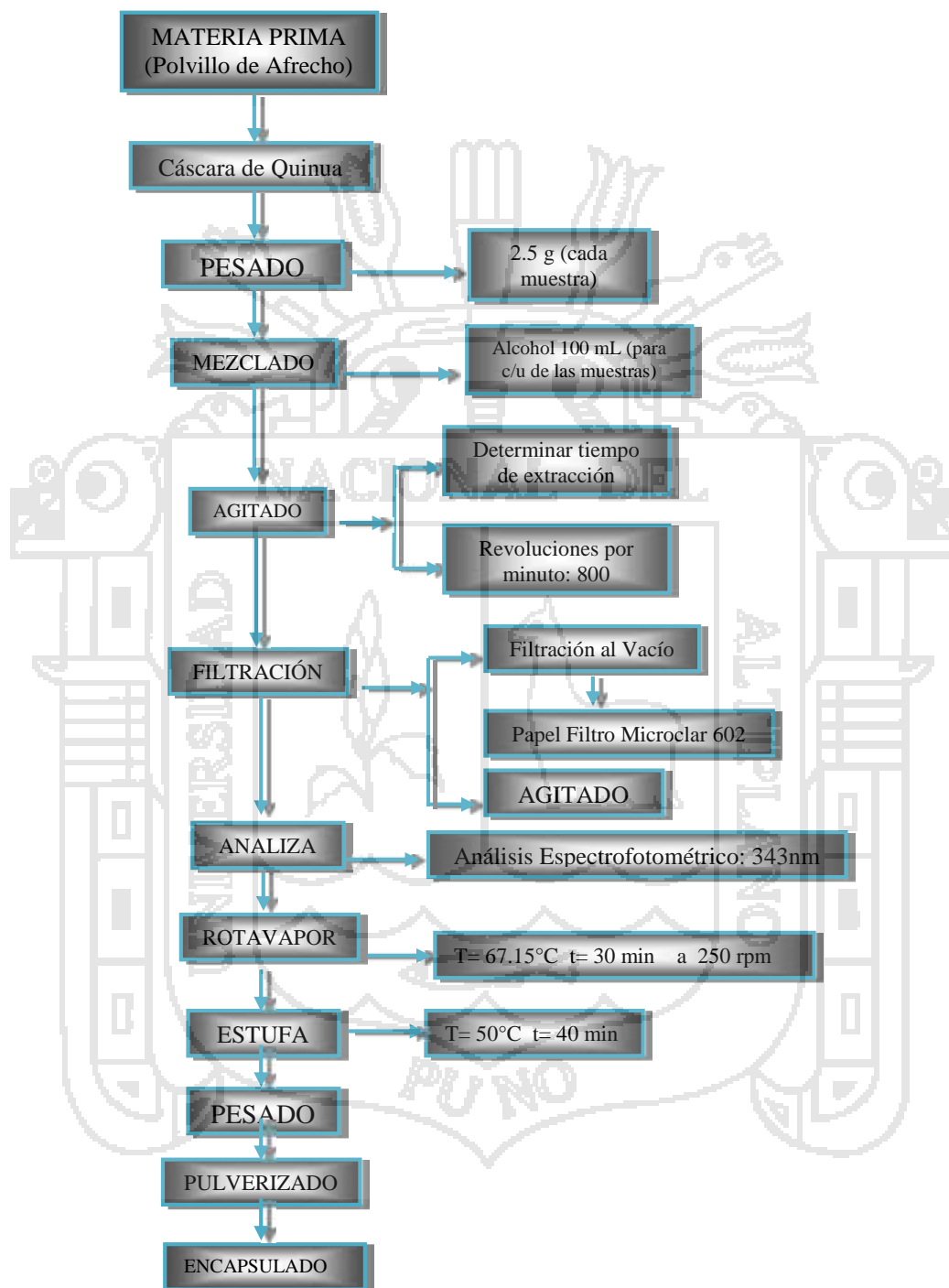


Figura 14: Diagrama de proceso de extracción de la saponina.

3.5.2. Curva de calibración del espectrofotómetro

La curva estándar inicial debe incluir un blanco reactivo el cual será etanol al 50% V/V, por lo menos, seis estándares que cubran toda la escala de concentraciones que se usará en el análisis del laboratorio y que permitirá medir el método analítico. El instrumento debe ponerse en cero con el etanol al 50% a este punto se denomina línea base blanco (*Ver Figura 28, anexo D*). Sin antes preparar nuestra solución patrón 2 g de saponina pura de la marca calbiochem (código US1558255-100GM) en un litro de etanol al 50% V/V el cual equivale a 2 g/L. seguido colocar alícuotas para luego aforarlas tal como se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 3: solución estándar

	1	2	3	4	5	6	7
Vol. de alícuota (ml)	0	7,5	15	25	35	40	50
Vol. aforado (ml) de etanol	100	92,5	85	75	65	60	50
Total	100	100	100	100	100	100	100

Fuente: Elaboración propia

Inmediatamente de cada uno de los fioles sacar 1mL de cada prueba y colocar en tubo de ensayo las siete pruebas y adicionarle reactivo color 3,5 mL y esperar mínimo por un tiempo de 30 min en plena agitación para que el color se vaya uniformando, posteriormente leer en el espectrofotómetro cada uno de las muestras a una longitud de onda de 343nm.

Cuadro 4: Curva de calibración con absorbancia y concentración del espectrofotómetro.

concentración $\times 10^{-3}$ mg/L	Absorbancia medida	T% Transmitancia
0,000	0,000	100,00
0,150	0,148	71,12
0,300	0,220	60,26
0,500	0,420	38,02
0,700	0,694	20,23
0,900	0,810	15,49
1,000	0,960	10,96

Fuente: Elaboración propia

De los datos obtenidos se forma la gráfica (Figura 15) y se observa la relación entre concentración y absorbancia de la solución; la longitud de onda en el espectrofotómetro muestra 343 nm (figura 31 del anexo), se asemeja más al resultado de (Miranda Zea, 2004) quien obtuvo 355 nm de longitud de onda;

(Mujica Sanchez, 2012) y (Muñoz, 2009) son quienes mencionan qué la longitud de onda es a 528 nm, con el cual la diferencia es considerable.

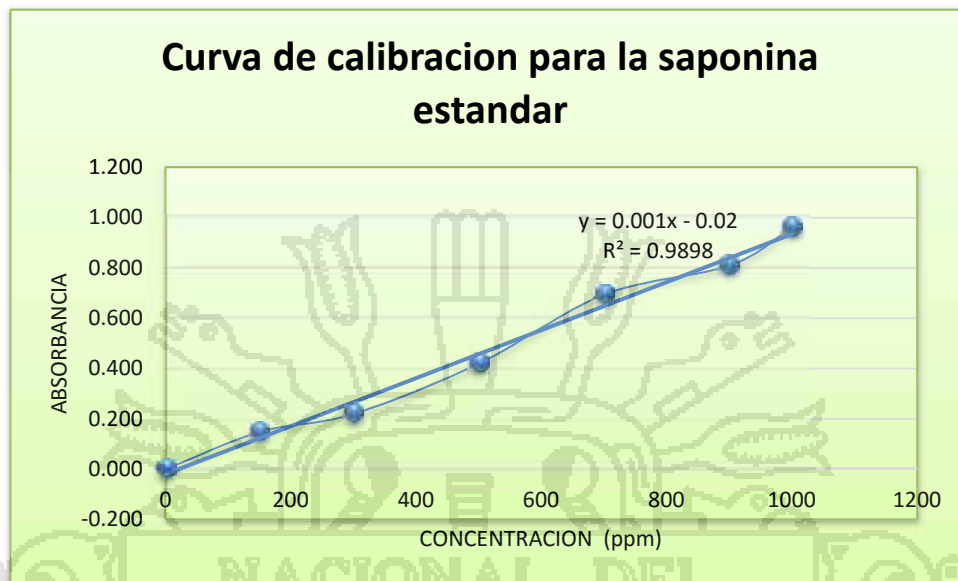


Figura 15: Relación de saponina con la absorbancia determinada a 343nm.

Con los datos obtenidos del análisis estadístico realizado con la técnica espectrofotométrica para la cuantificación de la saponina podemos indicar que:

El valor del coeficiente de correlación R^2 se acerca al valor ideal que es 1, lo que nos indica que la curva de calibración se aproxima a una línea recta, indicando una excelente correlación entre las variables.

La determinación de la longitud de onda se realizó en el espectrofotómetro a diferente concentración de acuerdo a la curva de calibración como se ve en la figura 31 y figura 32 del anexo.

3.6. ESTUDIO DE VELOCIDAD DE EXTRACCIÓN

El estudio de la velocidad de extracción es una operación unitaria la cual consiste en hacer pasar un cuerpo de una fase a otra fase. Esta operación es un fenómeno inverso a la adsorción.

Cinética de obtención de saponina de primer orden:

La ley de velocidad es del tipo:

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A] \quad (3.1)$$

La integración de esta ecuación conduce a una expresión logarítmica:

$$\ln[A] = -kt + \ln[A]_0$$

$$\ln[A] - \ln[A]_0 = -kt$$

Representando $\ln[A]$ frente al tiempo se obtiene una recta de pendiente igual a $-k$, con ordenada en el origen igual a $\ln[A]_0$. En procesos gobernados por leyes de primer orden la concentración del reactivo, disminuye exponencialmente y de manera simultánea (Smith & Ness, 2007):

$$\frac{\ln[A] - \ln[A]_0}{-t} = k$$

3.7. DESARROLLO DEL MODELO MATEMÁTICO POR EXPERIMENTACIÓN Y ESTADÍSTICA

3.7.1. Diseño factorial 2^k con 2 réplicas en el punto central de diseño

El diseño factorial de experimentos es una técnica estadística que permite planificar eficientemente la experimentación de modo que con un número mínimo de ensayos se logre determinar la significancia de cada una de las variables independientes evaluadas, que constituye la base para un proceso posterior de optimización.

Por lo tanto: El número total de experimentos a llevarse a cabo viene definido por la relación:

$$N = 2^K$$

Donde:

N: Numero de Experimentos.

K: Numero de Variables.

Por lo que este diseño estadístico será utilizado en la etapa de la investigación por adecuarse a los ensayos a realizar.

3.7.2. Influencia de las variables tiempo de adsorción y concentración del solvente

El modelo factorial asume cierta linealidad y debe predecir adecuadamente todos los puntos de diseño, incluyendo el central. Por lo que elegimos 2 variables que según nuestras pruebas exploratorias intervienen y mejoran la recuperación de saponina de las diferentes variedades de quinua. Estas variables son: tiempo de adsorción y concentración del solvente

Puesto que se desea determinar el efecto de las dos variables sobre el rendimiento de la recuperación de saponina, para ello experimentalmente se realizaron pruebas preliminares para determinar los niveles de cada variable, las que se indican en el siguiente cuadro.

Cuadro 5: Variables naturales-datos del diseño experimental

SIMBOLO	NOMBRE DE LOS FACTORES	UNIDAD	X (min)	X(max)
X1	Tiempo de extracción	Minutos	20	40
X2	concentración de extracción	mg/L (ppm)	465	554,9

Fuente: Elaboración propia

3.7.3. Diseño factorial experimental

Según (Miranda L. F., 1998), una metodología a seguir en el desarrollo de un modelo matemático empleando el diseño de experimentos del tipo factorial, es el siguiente:

Formulación y propósito

) Para un diseño factorial 2^2 para dos factores o variables originales (tiempo de adsorción y Concentración del solvente) y cada factor con dos niveles $k = 2$ se tiene el siguiente modelo matemático:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_1X_2$$

Dónde:

- Y = Variable respuesta rendimiento
 X_1, X_2 = Variables codificadas de entrada del tiempo y concentración del solvente,
 $X_1 X_2$ = Interacciones entre las dos variables principales
 b_0, b_1, b_2, b_3 = Estimadores de los coeficientes de regresión.

Primero se halló los valores de X_1, X_2 en función a las variables de entrada del proceso y luego los valores b_0, b_1, b_2, b_3 (estimadores de los coeficientes de regresión) en función a la variable respuesta Rendimiento de extracción Y' , donde se realiza los calculo en el programa de statgraphics.

3.7.4. Identificación de las variables de trabajo

En el presente trabajo de investigación se ha efectuado la optimización eficaz del proceso, encontrando los rangos de trabajo más óptimos de dicho proceso, se trabajó en función a los factores y niveles establecidos anteriormente, los resultados se obtuvieron de los resultados más resaltantes de la prueba realizada con el afrecho de la quinua chullpi del siguiente cuadro:

Cuadro 6: Identificación de variables y niveles de operación

FACTOR	NOMBRE DE LOS FACTORES	UNIDAD	X (min)	X(max)	PUNTOS CENTRALES
X1	Tiempo de extracción	Minutos	20	40	30
X2	concentración de extracción	mg/l (ppm)	465	554,9	501,6

Fuente: Elaboración propia

3.7.5. Matriz de diseño

Determinamos el número de pruebas experimentales a realizar (combinando los valores máximo y mínimo de tres factores establecidos). Para un diseño 2^2 se tiene 4 pruebas experimentales. Además de acuerdo al principio de adición de puntos centrales (que proporciona protección contra el efecto curvatura y permite una estimación independiente del error que ha de obtenerse

Cuadro 7: Matriz de diseño factorial $2^2 = 4$

NUMERO DE PRUEBA	DISEÑO	COMBINACION DE NIVELES		VARIABLE RESPUESTA (Rendimiento %) "Y"
		X1	X2	
1	•K	20	465	18.6
2	a	40	465	17.5
3	b	20	554.9	19.8
4	ab	40	554.9	22.2

Fuente: Elaboración propia

Si agregamos una variable ficticia $X_0 = 1$, en la que todos sus elementos son "+1", resulta el siguiente cuadro.

Cuadro 8: Codificación de variables

N°	Relación de variables	X_0	X_1	X_2	Y
1	•l'	+1	-1	-1	$Y_1 = 18,6$
2	a	+1	+1	-1	$Y_2 = 17,5$
3	b	+1	-1	+1	$Y_3 = 19,8$
4	ab	+1	+1	+1	$Y_4 = 22,2$
Sumatoria			0	0	0

Fuente: Elaboración propia

Diseño que cumple la condición de réplica del punto central del diseño en tanto la sumatoria de sus vectores X_1 y X_2 , de su producto es cero. (Montgomery & C., 1996)

Desarrollando la matriz de diseño incluyendo los tres puntos centrales, este diseño puede expresarse de acuerdo el siguiente cuadro:

Cuadro 9: Corridas experimentales para el diseño factorial con tres replicas en el punto central

Nº DE PRUEBAS	Tiempo de adsorción (min)		Concentración (mg/l)		RENDIMIENTO (%)
1	-	20	-	465,0	18,6
2	+	40	-	465,0	17,5
3	-	30	+	554,9	19,8
4	+	40	+	554,9	22,2
5		30		501,6	19,9
6		30		501,6	20,1

Fuente: Elaboración propia

Este cuadro nos indica que nuestro diseño experimental tuvo 4 pruebas experimentales con 2 puntos centrales (pruebas 5 y 6), obteniéndose un rendimiento o resultado en porcentaje que varían desde 18,6 % hasta un rendimiento mayor de 22,2% en la prueba 4 para la obtención de saponina.

3.7.6. Evaluación de resultados

De acuerdo al procedimiento de análisis factorial, según L .F. Miranda, 1998 se procede con el coeficiente del cuadro 10:

Cuadro 10: Coeficiente de regresión para rendimiento

<i>Coeficiente</i>	<i>Estimado</i>
constante	30,5287
A:Tiempo	-0,92931
B:Concentración	-0,0233593
AB	0,00189099

Fuente: Elaboración propia utilizando Statgraphics

Esta ventana despliega la ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos. La ecuación del modelo ajustado es:

$$Y = 30.5287 - 0.92931 * \text{Tiempo} - 0.0233593 * \text{Concentración} + 0.00189099 * \text{Tiempo} * \text{Concentración}$$

En donde los valores de las variables están especificados en sus unidades originales. Para hacer que statgraphics evalúe esta función, seleccione predicciones de la lista de opciones tabulares. Para graficar la función, seleccione gráficas de respuesta de la lista de opciones gráficas

Efectos estimados para rendimiento (Y)

Cuadro 11: Analizar Experimento - Rendimiento

<i>Efecto</i>	<i>Estimado</i>	<i>Error Estd.</i>	<i>V.I.F.</i>
promedio	19,6667	0,171594	
A:Tiempo	0,7	0,420317	1,0
B:Concentración	3,0	0,420317	1,0
AB	1,7	0,420317	1,0

Fuente: Elaboración propia utilizando Statgraphics

Errores estándar basados en el error total con 2 g.l. (grado de libertad).

Esta tabla muestra las estimaciones para cada uno de los efectos estimados y las interacciones. También se muestra el error estándar de cada uno de estos efectos, el cual mide su error de muestreo. Note también que el factor de inflación de varianza (V.I.F.) más grande, es igual a 1.0. Para un diseño perfectamente ortogonal, todos los factores serían igual a 1. Factores de 10 o más normalmente se interpretan como indicativos de confusión seria entre los efectos.

Esta tabla muestra cada uno de los efectos estimados e interacciones.

Cuadro 12: Análisis de la Varianza para Y

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadros</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Tiempo	0,49	1	0,49	2,77	0,2377
B:Concentración	9,0	1	9,0	50,94	0,0191
AB	2,89	1	2,89	16,36	0,0560
Error total	0,353333	2	0,176667		
Total (corr.)	12,7333	5			

Fuente: Elaboración propia utilizando Statgraphics

R-cuadrada = **97,2251** porciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 93,0628 porciento

Error estándar del est. = 0,420317

Error absoluto medio = 0,222222

Estadístico Durbin-Watson = 2,49057 (P=0,8803)

Auto correlación residual de Lag 1 = -0,361635

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 97,2251% de la variabilidad en Y (rendimiento). El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 93,0628%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 0,420317. El error medio absoluto (MAE) de 0,222222 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P que consta de un tiempo 0,2377 y una concentración de 0,0191 es mayor que 5,0%, no hay indicación de auto correlación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5,0%.

Interpretación de los efectos:

Si visualizamos el factor tiempo y la concentración, notamos que ambos son positivos, esto indica que tienen la pendiente positiva y que a medida que se

incrementan los valores de estos se incrementa también el rendimiento, es decir que estos factores podrían ser optimizados y establecido su rango de trabajo óptimo.

Optimizar respuesta

Meta: maximizar rendimiento, es próximo a 22.2% del rendimiento de las pruebas del laboratorio.

Valor óptimo = **22,3667**

Cuadro 13: Efectos del proceso de adsorción de saponina

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Tiempo	20,0	40,0	40,0
Concentración	465,0	554,9	554,9

Fuente: Elaboración propia utilizando Statgraphics

Esta tabla muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza rendimiento sobre la región indicada.

Usando el cuadro de dialogo de opciones de la ventana indica la región sobre la cual se llevara a cabo la optimización. Estableciendo los valores altos de 40 minutos con una concentración alta de 554.9 mg/L (ppm) de la figura 16.

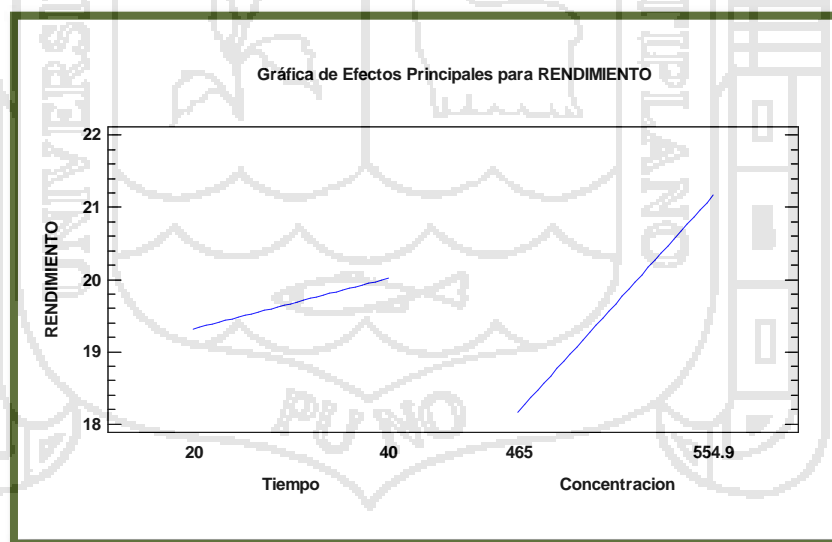


Figura 16: Efectos principales del tiempo y concentración.

3.7.7. Bondad de ajuste del modelo de regresión

La figura 17 ha sido elaborada en base a los datos del Cuadro 14 la cual muestra cada uno de los efectos estimados e interacciones, entre las variables, tiempo de adsorción y concentración del solvente, la más significativa para la variables respuesta es tiempo, así mismo se observa que la concentración es importante, en cambio la combinación de ambas variables no son importantes.

El tiempo (A) indica cuan representativo es esta variable, a continuación le sigue la concentración (B) y finalmente sus combinaciones (AB). Hay indicios de correlación de serie en los residuos, a lo que nos indica a menor de tiempo mayor concentración.

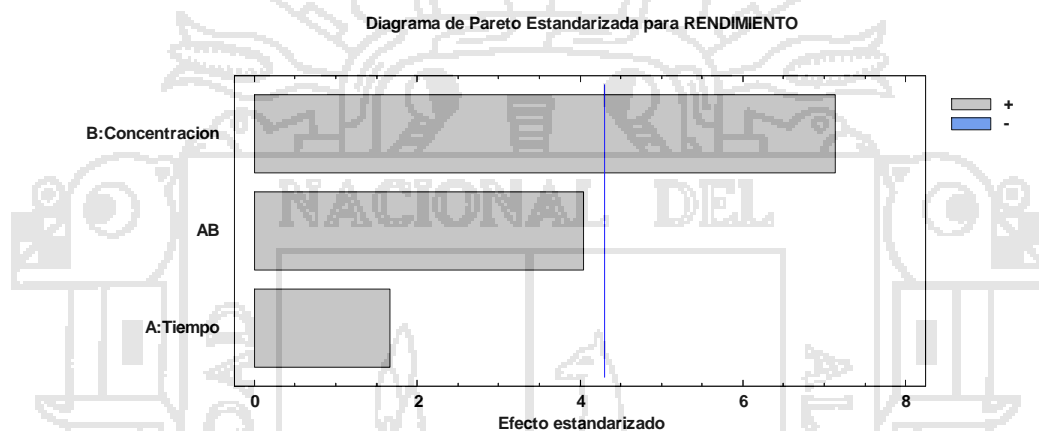


Figura 17: Variable respuesta Y

En la figura 18 se puede visualizar que no existe interacción entre las variables, por lo que estas variables son independientes lo que corresponde a la superficie respuesta, tal como muestra a cada diferencia de tiempo de experimentación.

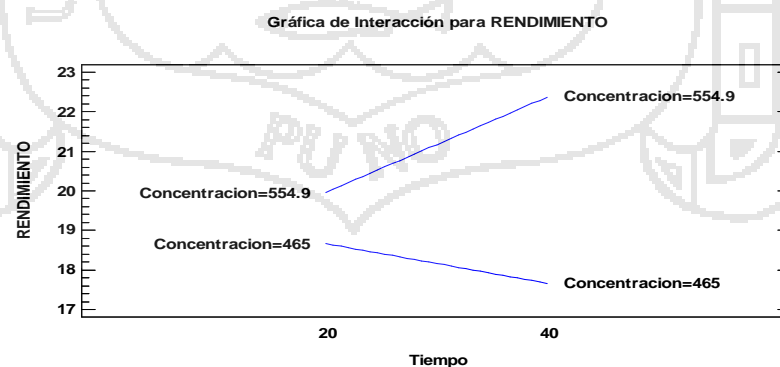


Figura 18: Interacción para rendimiento

Visualizando el gráfico (apolíneas) Figura 19, podemos interpretar lo siguiente: El valor óptimo para el tiempo es 40 min

Esta ventana muestra la ruta ascendente (o descendente). Este es el camino del centro de la región experimental actual a lo largo de la cual la respuesta estimada varía rápidamente con una variación mínima en los factores experimentales. Indica localizaciones buenas para ejecutar experimentos adicionales si su objetivo es aumentar o disminuir Rendimiento.

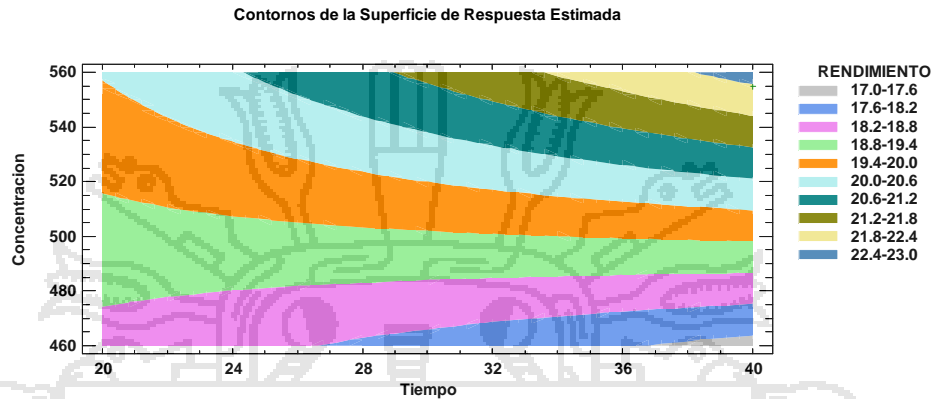


Figura 19: Contornos de superficie de la respuesta estimada.

Cuadro 14: Resultados de la estimación para Y

	Observados	Ajustados	Inferior 95.0%	Superior 95.0%
Fila	Valores	Valores	para Media	para Media
1	19,9	19,6667	18,9284	20,405
2	19,8	19,9667	18,2352	21,6982
3	20,1	19,6667	18,9284	20,405
4	18,5	18,6667	16,9352	20,3982
5	17,5	17,6667	15,9352	19,3982
6	22,2	22,3667	20,6352	24,0982

Fuente: Elaboración propia utilizando programa Statgraphics

Promedio de 2 puntos centrales = 20,0

Promedio de las predicciones del modelo al centro = 19,6667

Esta tabla contiene información acerca de los valores de Rendimiento “Y” generados usando el modelo ajustado. La tabla incluye:

- (1) los valores observados de rendimiento (si alguno)
- (2) el valor predicho de rendimiento usando el modelo ajustado
- (3) intervalos de confianza del 95,0% para la respuesta media

Cada ítem corresponde a los valores de los factores experimentales en una fila específica de su archivo de datos. Para generar pronósticos para las combinaciones adiciones de los factores, agregue filas al final su archivo de datos. En cada nueva fila, introduzca valores para los factores experimentales pero deje vacía la celda para la respuesta. Cuando regrese a esta ventana, se habrán agregado pronósticos a la tabla para las nuevas filas pero el modelo no se verá afectado.

Cuadro 15: Ruta Ascendente para Y

<i>Tiempo (minutos)</i>	<i>Concentracion (ppm (mg/l))</i>	<i>Predicción para Rendimiento "Y" (%)</i>
30,0	509,95	19,6667
31,0	524,271	20,2066
32,0	534,48	20,648
33,0	543,084	21,0653
34,0	550,787	21,4783
35,0	557,903	21,8953

Fuente: Elaboración propia utilizando programa Statgraphics

Esta ventana despliega el trayecto de máximo ascenso (o descenso). Este es el trayecto, desde el centro de la región experimental actual, a través del cual la respuesta estimada cambia más rápidamente con un cambio menor en los factores experimentales. Indica buenas características para ejecutar experimentos adicionales si el objetivo es incrementar o decrementar rendimiento. Actualmente, 6 puntos se han generado cambiando Tiempo en incrementos de 1.0 minutos. El programa también calcula la Rendimiento estimada en cada uno de los puntos del trayecto, con los cuales pueden compararse los resultados si es que se corren esos ensayos.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PRESENTACIÓN

En el presente capítulo se analiza e interpreta los datos obtenidos en la ejecución del diseño experimental; por lo tanto se plantea la utilización de parámetros estadísticos junto con la determinación de un modelo matemático, con la finalidad de describir satisfactoriamente el presente proceso; los cuales se analizaron de acuerdo a los objetivos planteados para posteriormente presentar las conclusiones que validan la hipótesis planteada.

4.2. EVALUACIÓN DE EXTRACCIÓN DE SAPONINA DE 5 CULTIVARES DE QUINUA

4.2.1. Determinación del solvente

La bibliografía recomienda la extracción de saponina en agua, no obstante esta técnica presenta dificultades en el filtrado debido a la formación abundante de espuma, que perjudica el pipeteo y aforado de la solución, llevando a determinaciones erróneas (Andrade, 1999). Este problema fue subsanado con la adición paulatina de etanol a diferentes concentraciones con la finalidad de romper la emulsión que se ha formado. La determinación de mejor concentración, fue tomada de la quinua chullpi a la que se le extrajo la saponina a diferentes concentraciones 20, 30, 40, 60 y 80% V/V. El resultado se muestra en la figura 20.

Cuadro 16: Determinación del solvente para las diferentes variedades de quinua

Etanol % V/V	% DE SAPONINA
20	14,6
30	15,8
40	18,7
50	22,2
60	20,4

Fuente: Elaboración propia

Se determinó que el mejor porcentaje para la extracción de saponina es de 50% V/V de etanol



Figura 20: Determinación del solvente % etanol.

4.2.2. Obtención del afrecho de saponina a través del escarificado.

El escarificado consiste en la separación del episperma (descascarado) y segmentos secundarios del grano de quinua, donde se concentra el mayor contenido de saponina, que le confiere el sabor amargo y astringente, impropio para poder ser aprovechado en la alimentación; 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. Esta fase se realizó a través de un medio mecánico abrasivo, utilizando un equipo de 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 seccionadores de aire.

De esta forma obtendremos el afrecho de los 5 cultivares por separado, siendo el peso inicial de cada uno de las variedades de 5 kg de quinua sin escarificado, los resultados y porcentajes se muestra en el siguiente cuadro 17.; La diferencia que se muestra en la obtención del afrecho es muy considerado ya que los resultados en los antecedentes son de bajo rendimiento y eficiencia, se puede observar en el cuadro 29 del anexo B.

Cuadro 17: cantidad y porcentaje de obtención del afrecho polvillo

TIPOS	PESO (g) inicial	Afrecho (g)	porcentaje %
Pasankalla	5000	847,5	16,9
Chullpi	5000	867,3	17,3
Blanca de juli	5000	576,9	11,5
Salcedo INIA	5000	445,5	8,9
Kancolla	5000	816,3	16,3

Fuente: Elaboración propia

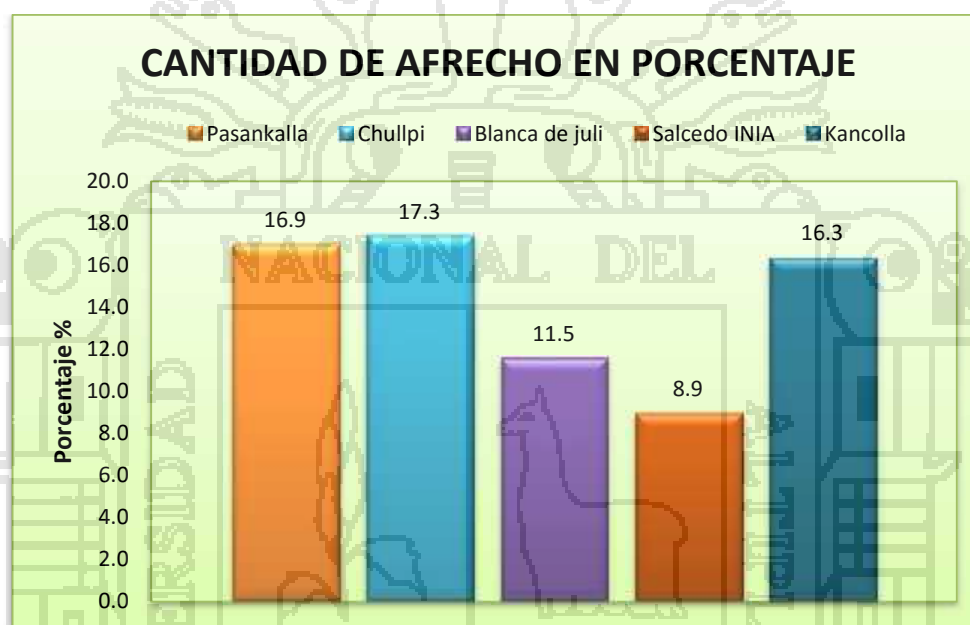


Figura 21: determinación de la cantidad de afrecho de la quinua.

4.2.3. Resultados de recuperación del solvente

Hallando el punto de ebullición del etanol en la ciudad de Puno, para programar en el rotavapor para mejorar el tiempo de recuperación el etanol, tal como se muestra en los cuadros:

a) Formula Barométrica

$$P_h = P_0 \cdot e^{\frac{-m \cdot g \cdot h}{kT}}$$

Fuente: (Smith & Ness, 2007)

Dónde:

- P_h : Presión de trabajo
- P_0 : Presión atmosférica a nivel de mar
- m : Masa molecular del aire
- k : Constante de Boltzman
- t : Temperatura
- g : Gravedad
- h : Altura

de acuerdo con la ley barométrica (Smith & Ness, 2007) se realiza el cálculo de la presión de trabajo

dónde:

- P_h : ?
- P_0 : 760 mmHg
- m : $28,9 \frac{g}{mol}$
- h : 3810m
- g : $9,8 \frac{m}{s^2}$
- k : $1,38 \cdot 10^{-23} \frac{J}{K}$
- J : $\frac{K \cdot m^2}{s^2}$
- k : $1,38 \cdot 10^{-23} \frac{K \cdot m^2}{s^2 \cdot K}$
- T° : 289,15°K

Reemplazando en la ecuación barométrica se tiene

$$P_h = P_0 \cdot e^{-\frac{m \cdot g \cdot h}{k \cdot T}}$$

$$P_h = 760 \cdot e^{-\frac{28,9 \frac{g}{mol} \cdot 9,8 \frac{m}{s^2} \cdot 3810 m}{1,38 \cdot 10^{-23} \frac{K \cdot m^2}{s^2 \cdot K} \cdot 289,15 K}}$$

$$P_h = 760 \cdot e^{-\frac{1071,162}{3,77823 \cdot 10^{-17}}}$$

$$P_h = 760 \cdot e^{-28374,37}$$

$$P_h = 760 \cdot 0$$

$$P_h = 484,58$$

La presión atmosférica de trabajo será 484,58mmHg

b) Ecuación de Sídney Young

$$T = \frac{T_{760} - 2.1 K (7 - P)}{1 + K (7 - P)}$$

Fuente: (Smith & Van Ness, 2007)

Donde:

- T** : Temperatura de ebullición corregida
- K** : Constante de sidney young
- P** : Presión atmosférica de trabajo
- T₇₆₀**: temperatura de ebullición a 1atm

Cuadro 18: Cuadro de constante de Sidney Young

Sustancia	Ksy
Polar	0,00012
No Polar	0,00010

Fuente: (Smith & Ness, 2007)

Dónde:

- T** : Temperatura de ebullición a corregir
- K** : 0,00012 (Etanol líquido polar)
- P** : 484,58 mmHg
- T₇₆₀** : 78,4° C temperatura de ebullición del etanol

$$T = \frac{78,4 - 2,1 (0,00012) (7 - 484,58)}{1 + (0,00012) (7 - 484,58)}$$

T = 67,15. C

La extracción sólido-líquido se realizó con un $t_p = 30 \text{ m}$ en el rota vapor para la recuperación del etanol con una $T = 67^\circ\text{C}$ y finalmente en la estufa a una temperatura a 50°C y $t = 40 \text{ min}$. (Ver figura 35, anexo D).

Cuadro 19: determinación de la recuperación promedio del etanol

recuperación del etanol promedio (ml)	TIEMPO	RPM	% recuperación promedio
88	30	250	88

Fuente: Elaboración propia

Usando el rota vapor se tuvo una recuperación del 88% de etanol a las condiciones indicadas en el cuadro 19.

4.2.4. Resultados de concentración de saponina sólida a diferentes tiempo de agitación.

Se disuelve 2,5g de muestra en 100mL de alcohol al 50% V/V tal como se ve en la figura 37, anexo D, las pruebas se efectuaron a diferentes tiempos tal y cual se desarrolla a continuación:

Tiempo = 20 min

Cuadro 20: Determinación del peso de la saponina para 20 min.

Variedad de quinua	Peso inicial (g)	Absorbancia	T% (transmitancia)	Peso de saponina (g)
Pasankalla	2,5	1,465	3,5	0,369
Chullpi	2,5	1,315	4,9	0,465
Blanca de juli	2,5	1,267	5,4	0,4009
Salcedo INIA	2,5	1,245	5,7	0,3499
Kancolla	2,5	1,101	7,9	0,2901

Fuente: Elaboración propia

Tiempo = 30 min

Cuadro 21: Determinación del peso de la saponina para 30 min.

Variedad de quinua	Peso inicial (g)	Absorbancia	T% (transmitancia)	Peso de saponina (g)
Pasankalla	2,5	1,742	1,8	0,3771
Chullpi	2,5	1,645	2,3	0,5016
Blanca de juli	2,5	1,485	3,4	0,385
Salcedo INIA	2,5	1,465	3,8	0,365
Kancolla	2,5	1,34	4,6	0,3271

Fuente: Elaboración propia

Tiempo = 40 min

Cuadro 22: Determinación del peso de la saponina para 40 min.

Variedad de quinua	Peso inicial (g)	Absorbancia	T% (transmitancia)	Peso de saponina (g)
Pasankalla	2,5	1,63	2,3	0,4828
Chullpi	2,5	1,635	2,3	0,5549
Blanca de juli	2,5	1,853	1,4	0,4493
Salcedo INIA	2,5	1,61	2,5	0,4123
Kancolla	2,5	1,293	5,1	0,3523

Fuente: Elaboración propia

Tiempo = 60 min

Cuadro 23: Determinación del peso de la saponina para 60 min.

Variedad de quinua	Peso inicial (g)	Absorbancia	T% (transmitancia)	Peso de saponina (g)
Pasankalla	2,5	1,682	2,1	0,4603
Chullpi	2,5	1,831	1,5	0,5286
Blanca de juli	2,5	1,659	2,2	0,4409
Salcedo INIA	2,5	1,677	2,1	0,4057
Kancolla	2,5	1,387	4,1	0,3106

Fuente: Elaboración propia

Tiempo = 80 min

Cuadro 24: Determinación del peso de la saponina para 80 min

Variedad de quinua	Peso inicial (g)	Absorbancia	T% (transmitancia)	Peso de saponina (g)
Pasankalla	2,5	1,784	1,6	0,4168
Chullpi	2,5	1,634	2,3	0,5240
Blanca de juli	2,5	1,603	2,5	0,4174
Salcedo INIA	2,5	1,614	2,5	0,4280
Kancolla	2,5	1,381	4,2	0,3298

Fuente: Elaboración propia

Con los resultados de recuperación de saponina en gramos obtenidos del cuadro 20, 21, 22, 23, 24, se efectúa la Figura 22 en la que se identifica el tiempo óptimo de extracción.

4.2.5. Contenido de extracción de la saponina de 5 cultivares de afrecho de quinua en porcentaje.

El contenido de extracción sólido - líquido de los 5 cultivares fue óptimo, tal como se muestra en la figura 22, que muestra su mayor rendimiento en 40 minutos de agitación 800 rpm. Los resultados de la concentración de encuentran dentro de los puntos de la curva de calibración tal como se muestran en cuadro 31

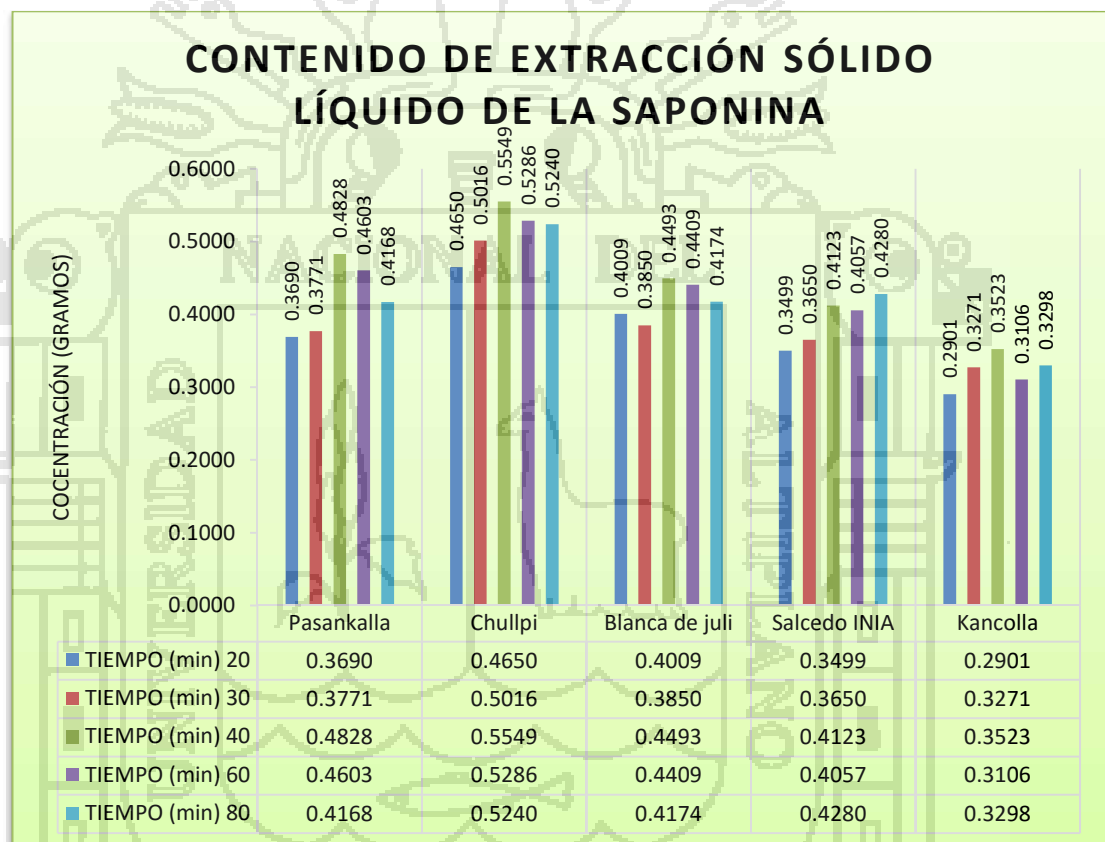


Figura 22: Contenido de extracción sólido líquido.

Para las 4 variedades de quinua (Pasankalla, Chullpi, Blanca de juli y Kancolla) el tiempo óptimo de extracción es de 40 minutos sin embargo la variedad Salcedo INIA obtuvo una recuperación mayor a los 80 minutos esto podrá estar ligado a algunas de las características particulares que pudiera contener esta variedad, que ya podrían generar otro tipo de investigaciones.

4.2.6. Rendimiento de extracción de saponina (Etanol –agua 50 V/V) Para los 5 cultivares.

Los resultados obtenidos para el rendimiento fue óptimo a comparación de la eficiencia que se presentó en el cuadro 25. El resultado que más sobresale en la figura 23 fue en el tiempo de 40 min, dentro de ese tiempo la clase de afrecho que tuvo mayor rendimiento fue el de chullpi.

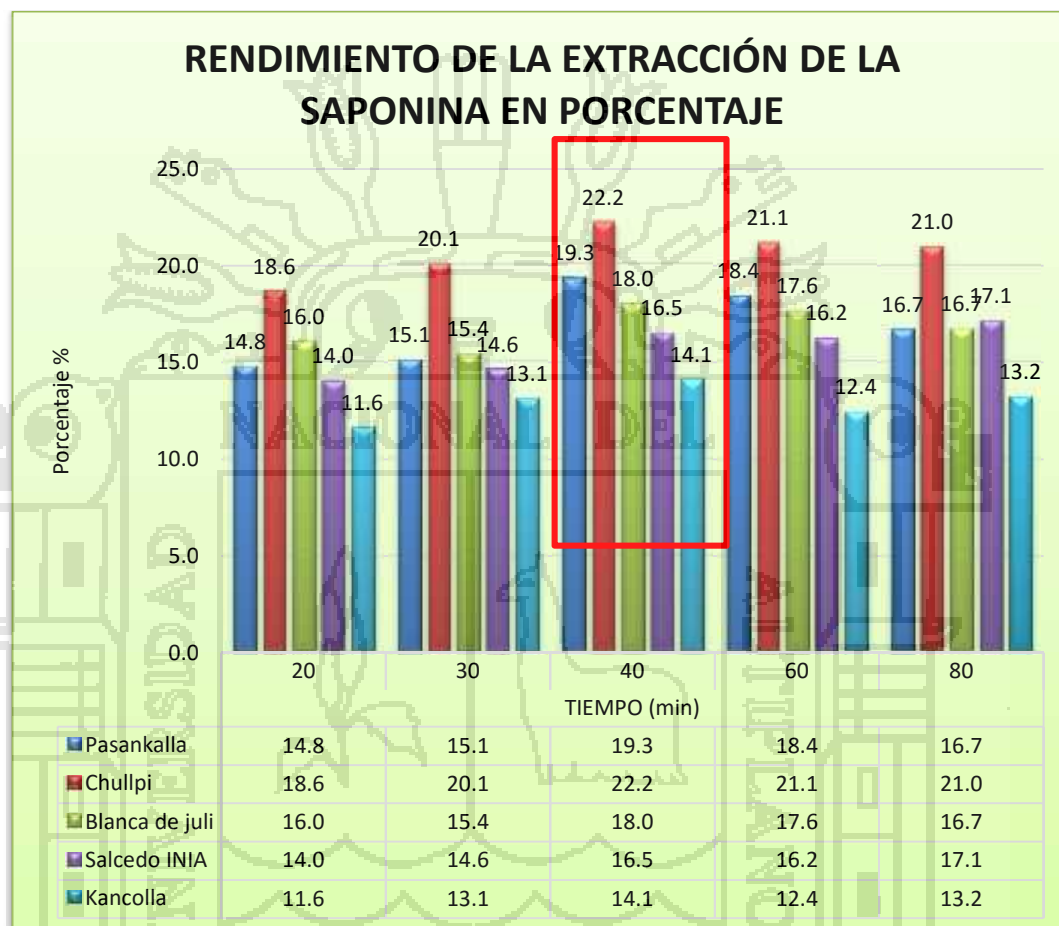


Figura 23: eficiencia de la extracción sólido-líquido

4.2.7. Eficiencia de extracción de la quinua de mayor porcentaje en saponina

Para la eficiencia se calcula el porcentaje de absorción del afrecho tomando el peso inicial que es de 1 kg, donde la quinua que más saponina tiene es la variedad chullpi con 22.2 % total en el afrecho y del resultado de (Mujica sanchez, 2012) obtuvo el 22,14 % de saponina en el afrecho, haciendo la respectiva comparación se puede observar que se tiene una eficiencia mayor en 0,06% (Ver cuadro 25).

Cuadro 25: Determinación de eficiencia de extracción de saponina en la quinua

VARIEDAD	PESO DE QUINUA (g)	AFRECHO %	PORCENTAJE DE LA SAPONINA EN EL AFRECHO (%)	PORCENTAJE DEL LABORATORIO DE LA SAPONINA EN AFRECHO (%) (Mujica Sanchez, 2012)	DIFERENCIA	EFICIENCIA % (100-Dif.)
Pasankalla	1000	17	19,3	22,14	-2,84	97,16
Chullpi	1000	17,3	22,2	22,14	0,06	100,06
Blanca de juli	1000	11,5	18	22,14	-4,14	95,86
Salcedo INIA	1000	8,9	17,1	22,14	-5,04	94,96
Kancolla	1000	16,3	14,1	22,14	-8,04	91,96

Fuente: Elaboración propia

4.2.8. Aplicación en la industria alimentaria y su encapsulamiento

4.2.8.1. En la industria alimentaria

El efecto de la utilización de la saponina hibotek (*quillaja saponaria*), en la etapa de crecimiento y engorde de cerdos landrace york, frente a un tratamiento testigo, los cuales fueron distribuidos bajo un diseño completamente al azar, durante un lapso de 120 días de investigación. al analizar el experimento, se determinó que los cerdos en la etapa de crecimiento, tratados con saponinas, obtuvieron los mejores parámetros productivos en cuanto al peso final y ganancia de peso con promedios 54,31 y 33,69 kg. Así también presentaron la mejor conversión alimenticia con un índice de 2,90. En la etapa de engorde de los cerdos tratados con saponina, alcanzando los mejores productos en cuanto al peso final y ganancia de peso con promedios de 89,88 y 35,57 kg. Y la mejor conversión alimenticia con un índice de 3,54; obteniéndose además el mejor índice de beneficio - costo. Por lo que se recomienda utilizar saponinas en cerdos, en las etapas de crecimiento y engorde, ya han demostrado resultados eficientes en términos productivos y económicos. (Whitney, 2012).

En la comparación del reemplazo de cebada por quinua en cerveza, se determinó el efecto de dos sustituciones de cebada (*Hordeum vulgare*) por quinua (*Chenopodium quinoa*) y de dos valores de pH inicial de maceración (5,0 y 6,0) en las

características fisicoquímicas (grado alcohólico, capacidad y estabilidad espumante, densidad y pH final) y aceptabilidad general de una cerveza tipo Ale. La evaluación estadística de las características fisicoquímicas mostró que existe homogeneidad de varianzas en todas las variables de estudio, presentándose efecto significativo tanto de la sustitución de cebada por quinua como del pH inicial de maceración sobre el grado alcohólico, la capacidad y estabilidad espumante y el pH final; con excepción de la densidad, sobre la cual sólo existió efecto significativo con la sustitución de cebada por quinua. La prueba de Tukey determinó que el mayor grado alcohólico (4,55%) se obtuvo con la sustitución de 25% - pH inicial de 6,0; además, dicho tratamiento obtuvo la mejor capacidad espumante (63%) al igual que el tratamiento con la sustitución de 50% - pH inicial de 6,0 (67%), siendo ambos estadísticamente iguales. En cuanto a la estabilidad espumante, los mejores resultados se obtuvieron con la sustitución de 25% - pH inicial de 6,0 y los dos tratamientos con sustitución de 50%, siendo los tres estadísticamente iguales; por otra parte, todos los tratamientos presentaron densidades y valores de pH final óptimos, con excepción del tratamiento con sustitución del 50% - pH inicial de 6,0, el cual sobrepasó el límite máximo permisible en lo que respecta al pH final. La evaluación sensorial, mediante la prueba de Durbin y la de comparaciones múltiples de Conover, reportó una mayor aceptabilidad general (Suma de rangos = 80,5) con la sustitución de 25% - pH inicial de 6,0, siendo estadísticamente igual a la de los tratamientos control. (Cruz, 2015)

Agente emulsionante de grasas y aceites, protector de sustancias coloidales, dentífrico, Las saponinas se producen de forma comercial y tienen múltiples usos: Emulsificador de la industria fotográfica. Se agrega a las bebidas para la espuma, shampoo, cremas y en extinguidores de incendios (Cardozo, A. *et al.* 1997).

4.2.8.2. Método y encapsulamiento de la saponina

Método manual:

Todo el proceso se hace con la manipulación directa del operario, desde el destapado hasta el pulido.

A partir de la harina de la saponina en polvo se encapsuló en capsulas de gelatina tamaño N°1 ver figura 41 color transparente, cada unidad contiene 0,5 g.

Cuadro 26: Determinación de cantidad de cápsulas.

Variedad	PESO TOTAL DE QUINUA (g)	PESO TOTAL DE AFRECHO DE QUINUA (g)	total de saponina (g)	Cantidad de Cápsulas
				c/u .0.5g
Pasankalla	1000	169,50	32,73	65
Chullpi	1000	173,46	38,50	77
Blanca de juli	1000	115,38	20,74	41
Salcedo INIA	1000	89,10	15,25	31
Kancolla	1000	163,26	23,01	46
TOTAL				260

Fuente: Elaboración propia

En relación con el rendimiento de extracción de saponina se puede observar que con 38,5 g de saponina se logra encapsular un total de 77 unidades y la variedad Salcedo INIA género menor cantidad de capsulas, ya que es relativo a la recuperación de la saponina.

4.2.9. VELOCIDAD DE EXTRACCIÓN

En el proceso de adsorción, los parámetros cinéticos son útiles para predecir el grado de adsorción y proporcionan importante información para el diseño y modelamiento del proceso (Silva Manzo, 2006).

El proceso completo de extracción suele comprender la recuperación por separación, generalmente esto se efectuó por otro tipo de proceso como la separación o destilación, se llevó a cabo la extracción sólido-líquido cuyos valores son recogidos en la Figura N° 24 , lo que demuestra que el modelo puede ser aplicado para todo el proceso de extracción.

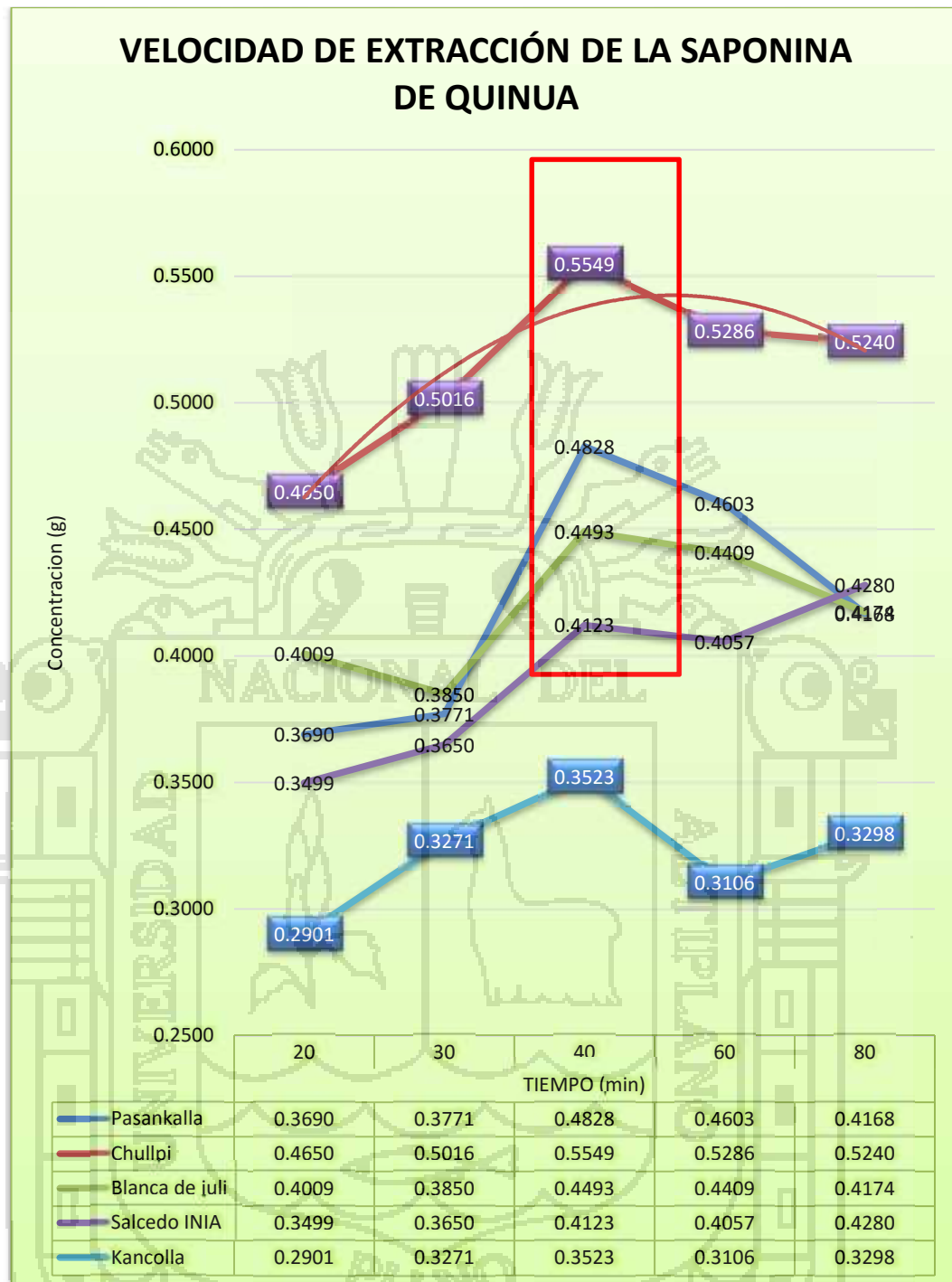


Figura 24: Velocidad de extracción de saponina

De la velocidad de extracción se concluye que a los 40 min de extracción ya se disolvieron todos los sólidos solubles en el solvente, por lo que se recomienda que cada extracción sea de 40 min de mezcla con agitación constante, sin embargo hay una observación con la quinua salcedo INIA que su máxima absorción de saponina fue en el tiempo 80 min de agitación.

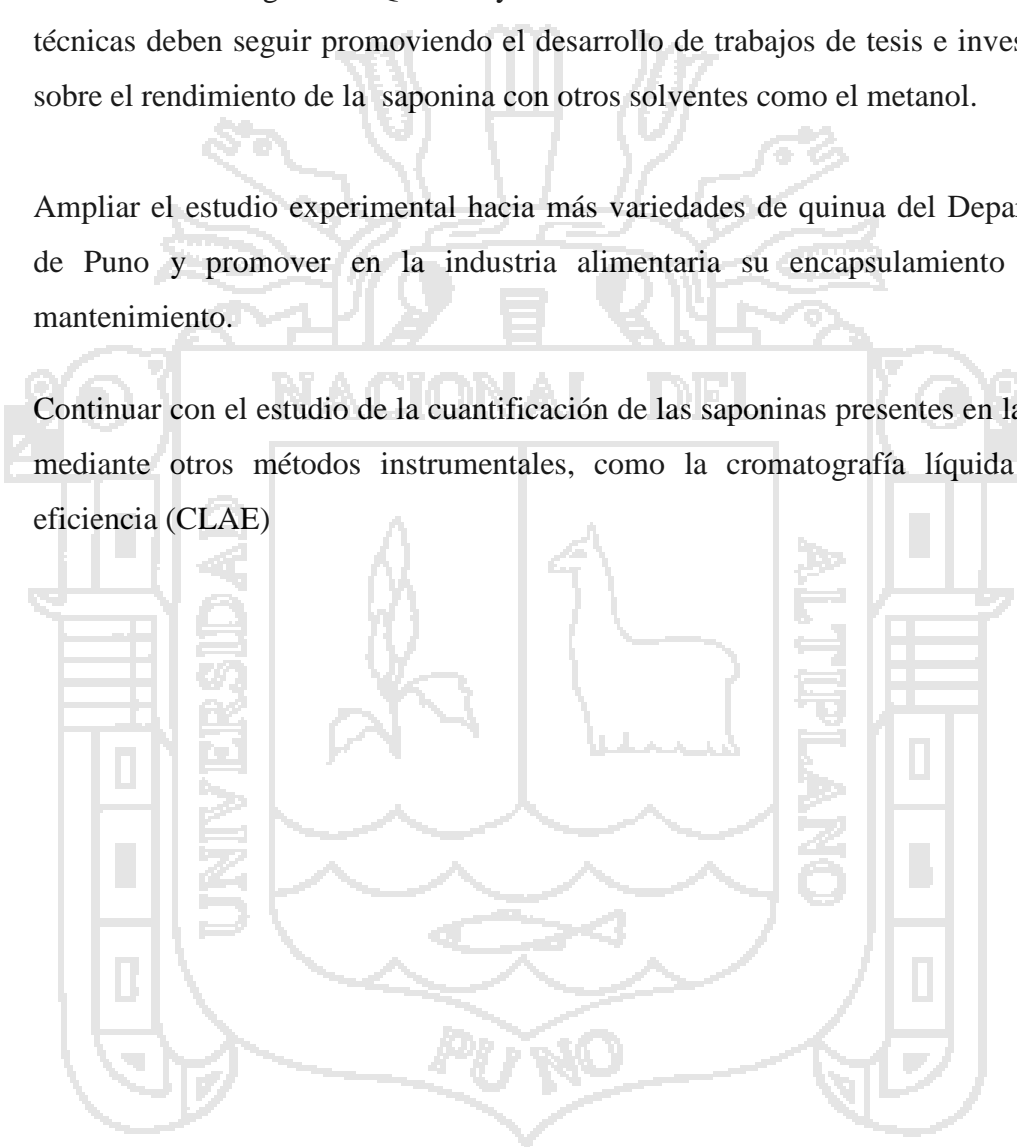
CONCLUSIONES

1. Para el análisis químico de la saponina por método espectroscopia, se tomó muestras de afrecho de quinua 2.5 g disuelto en 100 ml de etanol al 50 % V/V a una longitud de onda de 343 nm. El rendimiento de extracción es diferente solo para la quinua Salcedo INIA varia el tiempo de extracción sólido –líquido en el método de agitación; esta variedad fue sobresaliente su rendimiento a un $t= 80$ min.
2. Se demostró con el método de extracción sólido-líquido la eficiencia de extracción de saponina, la cual servirá para la aplicación en la industria y su encapsulamiento debido a que en la investigación se tiene un rendimiento mayor en el afrecho de la variedad chullpi, la cual sobresale con una eficiencia del 22,2 % de saponina y supera la el rendimiento del 22,14% que obtuvo (Mujica, 2012).
3. La velocidad óptima de extracción es a los 40 minutos, ya que a este tiempo se noto que la mayoría de las variedades se logro extraer mayor saponina, además de resaltar los parámetros de trabajo indicados en la metodología experimental.

RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta los resultados experimentales obtenidos, y con el objetivo de mejorar y completar el tratamiento de obtención de saponinas utilizando como solvente al etanol se realizan las siguientes recomendaciones en trabajos futuros:

- La Facultad de Ingeniería Química y la Universidad como instituciones científicas y técnicas deben seguir promoviendo el desarrollo de trabajos de tesis e investigación sobre el rendimiento de la saponina con otros solventes como el metanol.
- Ampliar el estudio experimental hacia más variedades de quinua del Departamento de Puno y promover en la industria alimentaria su encapsulamiento para su mantenimiento.
- Continuar con el estudio de la cuantificación de las saponinas presentes en la quinua, mediante otros métodos instrumentales, como la cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE)



BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar, T. (1999). En *Efecto del consumo de saponina de quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) sobre los niveles séricos de colesterol, HDL C, LDL C y triglicéridos. Tesis Médico Cirujano. Universidad Nacional del Altiplano.* (pág. 82). Puno, Peru.
2. Albarrán, R. (1993). “Estudio de Algunos Componentes Químicos, Caracteres Morfoanatómicos y Patrones Proteicos en Semillas de dos Ecotipos de Quinoa (Chenopodium Quinoa Willd)” . En *Tesis (Ingeniero Agrónomo)*. Chillán, Chile: Universidad de Concepción, Facultad de agronomía.
3. Álvarez, A. y E. Céspedes. (1997). Evaluación de saponina en 75 entradas de quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) del banco de germoplasma del CICA. En *Libro de Resúmenes IX Congreso Internacional de Cultivos Andinos* (págs. 89 – 90.). Peru, Cuzco.
4. Andrade, L. (1999). Efecto de flujo de alimentación sobre ultrafiltración en quinoa (Chenopodium quinoa Willd.). En *Escuela Agrícola Panamericana Zamorano Honduras.* (págs. 1-24).
5. Ayala, C. (1977). Efecto de localidades en el contenido de proteínas en quinoa (Chenopodium quinoa Willd.). En *Tesis Ing. Agro. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Técnica del Altiplano.* (pág. 97). Puno, Perú.
6. Azcui, M. (2006). En “*El tesoro Dorado de Quechuas y Aymaras. Quinoa: Grano de Oro*”. (pág. <http://revista.serindigena.cl/props/public_html/?module=displaystory&story_id=761&format=htm>.).
7. Bacigalupo, A. y. (1997). Agroindustria. En: Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. En *Agroindustria. En: Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación.* (págs. 187 – 237). Santiago, Chile: Segunda Edición. Santiago.
8. Berti, C.; Ballabio, C.; Restan, P.; Porrini, M.; Bonomi, F. y Lametti, S. (2004). “Immunochemical and Molecular Properties of Proteins in Chenopodium Quinoa”. En *Cereal Chem.* (págs. 81 (2):275-277.).

9. Bonifaz Paredes, L. (2010). *Determinacion de la actividad insecticida de la saponina de quinua (Chenopodium quinua) hidrolizada y no hidrolizada sobre drosophila melanogaster*. Riobamba-Ecuador.
10. Bonifaz, L. (2010.). *Determinación de la actividad Insecticida de la Saponina de Quinua (Chenopodium quinoa Wild)*.
11. Briceño, O y C. Castro. (1992). Las saponinas de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) en la prevención del mal altura en pollos de carne. En *En: Tercer Congreso Internacional de Cultivos Andinos*. (pág. 156). La Paz, Bolivia.
12. Cardozo, A. y Tapia M. (1997). valor nutritivo en quinua y kañiwa, cultivos andinos. En *cultivos andinos*. (págs. 149-192). Bogota, Colombia.
13. Carrillo, A. (1999). Anatomía de la semilla de Chenopodium berlandieri ssp. nuttalliae (Chenopodiaceae) Huauzontle. En *Tesis Maestro en Ciencias. Colegio de Postgraduados* (pág. 87). México: Centro de Botánica. Montecillo.
14. Cayoja, M. (2001). *Caracterización de variables continuas y discretas del grano de quinua (Chenopodium quinoa Willd.) del banco de germoplasma de la Estación Experimental Patacamaya. Benson Institute Relan*. Benson Institute Relan.
15. Céspedes, E., & Alvarez, A. (1997). Evaluación de saponina en 75 entradas de quinua (Chenopodium quinoa willd) del banco de germoplasma del CICA. *Libro de Resúmenes IX Congreso Internacional de Cultivos Andinos* , 89-90.
16. Cheeke, P. (1991). Nutritional and physiological implications of saponins. En *A review Canadian J. of animal sciences*. (págs. 51(3). pp.631 – 632.).
17. CIED. (2006). Recuperado el 20 de Setiembre de 2011, de Quinua: chenopodium quinua willdenow. centro de investigacion, educacion y desarrollo. Lima, Perú: <http://www.ciedperu.org/productosquinua.html>
18. Cruz, B. W. (2015). *efecto de lefecto de la sustitución de cebada (hordeum vulgare) por quinua (chenopodium quinoa) y del ph inicial de maceración* . Trujillo-Perú.
19. Dini, I.; Jacobsen, S–E; Schettini, O.; Simioli, T. y Dini, A. (2000). Caracterización de saponina y otros metabolitos secundarios de la quinua (Chenopodium quinoa Willd.). En A. Dini, *En: Resúmenes I Congreso de Especies Ornamentales para el Desierto y II Congreso Internacional de Agricultura en Zonas Áridas*. (pág. 41). Iquique, Chile.
20. Fluckinger, R. (1990). Glúsidos. . En *Ediciones Enciclopedia Industria Barcelona*. (pág. 77). España: Editorial Gilli S.A. Vol. V .

21. Font Quer, P. (1995). En *Diccionario de Botánica*. (pág. 331). Barcelona, España.: Editorial Labor S.A.
22. Fontúrbel, F. (2003). "Problemática de la Producción y Comercialización de *Chenopodium Quinoa* W. (Chenopodiaceae), debida a la Presencia de las Saponinas".
23. Gallardo, M., & Gonzales, A. y. (1997). Morfología del fruto y semilla de *Chenopodium quinoa* Willd.(Quinoa). *Chenopodiaceae*. 39.
24. Gandarillas, H. (2004). Genética y Origen de la Quinoa. En *Instituto de Fitotécnia. Boletín Genético*. Castelar, Argentina.: N° 8.
25. Gomis, A. M. (1998). *Introducción a las operaciones de separación cálculo por etapas de equilibrio*. Compobell, S.L. Murcia.
26. Gonzáles, J. A. (1997). Actividad nematicida de extracción de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). En L. Vares, & I. y. Herencia, *En: Libro de Resúmenes IX Congreso Internacional de Cultivos Andinos*. (pág. 86). Cuzco, Perú.
27. Gutierrez M., D. (2002). Identificación de compuestos volátiles.
28. Hostettmann, K., & Marston, A. (2005). *Chemistry pharmacology of natural products saponins*. Estados Unidos: Cambridge University.
29. J. M., lakkis, J., & Madene, A. (2007). *encapsulation and controlation rease technologies in food systems*. EE.UU.: Publishing, Iowa.
30. Junge, I. y Cerda, Patricia. (1978). "Estado Actual de las Investigaciones sobre Quinoa para la Alimentación Humana". En *Alimentos* (págs. Alimentos 3 (1):19-25).
31. Levenspiel, O. (1993). Secado e Intercambio de Calor. En *Flujo de Fluidos* (pág. 237). España: Reverté.
32. Liberman, M. (2002). El cultivo tradicional de la quinua: una alternativa agrícola sostenible para las poblaciones andinas. Bolivia.
33. Marca, M. (2003). En O. d. quinua, *Proyecto quinua cultivo multipropósito* (pág. 57). Puno, Peru.
34. Medina, L. F. (2001). "Investigando en Ingeniería". Arequipa, Peru: UNSA.
35. Miranda Zea, n. S. (2004). Metodo espectrofotometrico de analisis de saponina. *Ingenieria Quimica y desarrollo regional y nacional* , 33-35.
36. Miranda, L. F. (1998). metodología de la investigacion.

37. Miranda, R. (2006). determinación de saponina total en quinua (*chenopodium quinua willd*) método espectrofotométrico. *iv Congreso Nacional de la Asociación Boliviana de Protección Vegetal. Oruro* .
38. Molina, V. (1992). Desarrollo de un método de lavado por agitación y turbulencia del grano de quinua (*Chenopodium quinoa Willd.*). En *Tesis Ingeniería Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria la Molina*. (pág. 78). Lima, Perú. .
39. Montgomery, D., & C., R. G. (1996). "Fold-Overs of 2k-p Resolution IV Designs". En *Journal of Quality Technology* (pág. Vol. 28). No. 4.
40. Morris, D. M. y Bogán, M. (1994). "Bases bioquímicas y morfológicas de la resistencia. En: Mejoramiento de plantas resistentes a insectos". México: Editorial Musa S.A.
41. Mujica Sanchez, A. (2012). *extraccion de saponina de cultivares (chenopodium quinoa wills.) para uso industrial. Puno-Peru*.
42. Mujica, A. (2006). "Proyecto Quinoa: Cultivo Multipropósito para los Países Andinos". En e. a. Dr. Angel Mujica, & A. Mujica, *Agroindustriade la quinoa (chenopodium quinoa willd) en los paises andinos PNUD. CONCYTEC.UNA-Puno. PROIMPA* (págs. 24 - 28). Colombia, Peru, Puno.
43. Mujica, A. I. (2007). "Origen y descripción de la quinua". En: *Quinoa. Ancestral Cultivo Andino, Alimento del Presente y Futuro*. . Lima: FAO, CIP, UNALM.
44. Muñoz. (2009). *sistema de extraccion*.
45. Navarro – Beltrán, E. (1984). Salvat. En *Diccionario terminológico de Ciencias Médicas*. (pág. 1007). España: Editores S.A. Barcelona,.
46. Nieto, C. y Soria, M. (1997). Procesamiento de quinua en Ecuador. En *Proyecto 3p85 0213. Informe final de labores*. (pág. 94). Quito, Ecuador: INIAP UTA – CIID.
47. Nuñi, A.; Páez, G.; Fária, José; Ramones, E; Ferrer, J. (2005). Eficiencia de un sistema de ultrafiltración/ nanofiltración tangencial en serie para el fraccionamiento y concentración de lactosuero. *Revista Científica, agosto, año/ Vol. XV número 004 – Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela*.
48. Olivero, D. M. (2009). "la quinua y sus propiedades para consumo humano". En *asociación argentina de fitomedicina*.
49. Otero Montaña, w. (2012). *Efecto de la saponina HIBOTECK (quilaja saponaria), en los alimentos de cerdos en las etaps de crecimiento y engorde*. Riobamba-Ecuador.

50. Peredo, A. (2003). *Procedimientos y técnicas básicas seleccionadas para trabajo en bancos de sangre y servicios de transfusión y laboratorios*.
51. Prego, I. S. (1998). Seed structure and localization of reserves in *Chenopodium quinoa*.
52. Robyt, A. A. (1984). *Enzymes in the hydrolysis of starch*. In: *Starh chemistry and technology*. London: Academic Press.
53. Ruales, J. y Nair, B.M. (1994). saponinas, ácido fítico, taninos e inhibidores de proteasas. En: Resúmenes. VIII Congreso Internacional de Sistemas Agropecuarios Andinos. En *Factores antinutricionales en semillas de quinua (Chenopodium quinoa Willd.)*. Valdivia, Chile.: Universidad Austral de Chile.
54. Salas, R. (2003). Estudio del proceso de clarificación de jugo de banano mediante microfiltración tangencial. En *Tesis. Licenciatura en Tecnología de alimentos*. San José, Costa Rica.: universidad de Costa Rica.
55. Schmidt-Hebbel, H., Pennachiotti, I.; Masson, L. y Mella, M.A. (2006). Tabla de Composición Química de Alimentos Chilenos,. Santiago, Chile: 8ª edición.
56. Segal, R.; Mansour, N.; Saitschek, DV. (1996). Effect of ester groups on the haemolytic of some saponins and sapogenins. *Biochem Pharmacol*. San Simón: Universidad Mayor de San Simón UMSS/FCYT.
57. Silva Manzo, J. A. (2006). "Obtención, Caracterización y Relación Estructura - Funcionalidad de un Aislado Proteico de Quinua (*Chenopodium quinoa*) Orgánica Proveniente de la VI Región de Chile". En " *Memoria para optar al Título Profesional de Ingeniero en Alimentos Universidad de Chile Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química*.
58. Smith, & Ness, V. (2007). *Introduction to Chemical Engineering Thermodynamics*. McGraw-Hill.
59. Taranco, M., & Solis, C. (2005). *Extracción de la saponina de (Chenopodium Quinoa Willd) para su utilización en la elaboración de productos cosméticos*. Lima-Perú.
60. Vera, A. (1999). *Actividad Biológica de la saponina de la quinua (Chenopodium quinoa willd)*.
61. Vera, A. (1997). Libro de resúmenes IX Congreso Internacional de Cultivos Andinos. En *Actividad biológica de las saponinas de la quinua (Chenopodium quinoa Willd.)*. (págs. 87-88). Cuzco, Perú.

62. Villacorta, L. y V. Talavera. . (1976). Anatomía del grano de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). . Lima, Perú.: Universidad Nacional Agraria. .
63. Wahli, C. (1990). Hacia su Cultivo Comercial. En *Quinual*. Quito, Ecuador: Latinreco S.A.
64. Whitney, O. M. (2012). *Efecto de la saponina hibotek (quillaja saponaria) en los alimentos de cerdos en las etapas de crecimiento y engorde*. Riobamba-Ecuador.





ANEXO A

Aplicaciones de la saponina.

(1) **Agroquímicos:** El mecanismo funcional de la saponina es en la Tensión superficial. En aplicaciones como un agente humectante para las aplicaciones plaguicidas en polvo. La tasa de suspensión de polvo mojable de plaguicidas puede alcanzar hasta el 85% a 90% e incluso más del 95%. La saponina podría ser utilizada como sinergista, en la difusión de plaguicidas en emulsión. Podría ser utilizado en el polvo soluble de herbicidas o herbicidas líquidos para mejorar la eficacia. Puede reducir la dosis de herbicidas puros. La saponina, como un plaguicida biológico, también podría ser utilizado como insecticida, fungicida, nematocida, como agente de limpieza de los estanques, acelera el crecimiento del camarón. El insecticida que contiene saponina, mata los gusanos, lombrices nematodos etc.

(2) **Molusquicida:** Es un molusquicida natural orgánico sin ningún tipo de daño potencial para los humanos, los animales y el medio ambiente. Se aplica en los campos de arroz para matar a los caracoles, sobre todo Golden Apple. Se puede garantizar la cosecha y calidad superior de arroz sin elementos nocivos acumulados.

(3) **Acuicultura:** Pesticida natural es ampliamente utilizado en la acuicultura para eliminar los peces no deseados y los insectos nocivos en los peces y estanques de camarones. Su contenido es la T.saponina. Ayuda a los camarones a desprenderse del shell y mejora el crecimiento de los camarones. Desintoxica rápidamente en el agua y no son perjudiciales para el ganado y las personas que pueden usar el agua. No dejan residuos nocivos acumulativos, y es fácil de usar y económico.

En la ganadería, se puede reducir el nivel de colesterol en el interior de los animales y desarrollar productos de bajo contenido de colesterol de los animales.

(4) **Alimentación:** La T. Saponina para piensos es eficaz y sustituye los antibióticos, puede reducir las enfermedades para los seres humanos y animales y mejora toda la industria de cría acuática.

(5) **Construcción:** La T. saponina puede ser utilizado como agente espumante y de estabilización de la espuma como agente en la producción de hormigón. Tiene una función especial en los aglomerados de maderas.

(6) **Química:** La Saponina se puede utilizar para la producción de champú para el lavado de cabello. Tiene buenos efectos en el cabello, la protección, la inflamación, la eliminación de la caspa. La Saponina también se puede utilizar para lavar la ropa y no reduce el color o se encogen y por lo tanto la industria textil no pierde brillo.

(7) **Medicina:** T. Saponina tiene características anti-inflamatorio. Durante el período primario de la inflamación, puede normalizar los vasos capilares; regular el contenido de azúcar en sangre, reduce el colesterol, previene las enfermedades cardiovasculares, puede aliviar la tos y curar la bronquitis y los edemas pulmonares, también puede eliminar las bacterias y restringir el albicans blanco, y escherichia coli, puede incluso frenar la absorción del etanol, la disolución del etanol en la embriaguez después estar borracho.

(8) **Bebidas:** La T. Saponina en el vino, puede evitar que la levadura actué, y obtener una calidad estable. También se puede utilizar en los vinos espumantes.

(9) **Limpieza:** T. Saponina es uno de los surfactantes no iónicos más natural, tienen una mejor función de emulsificación, en la limpieza, la dispersión y la espuma. Cuando se utiliza como detergente para lavar ropa, jersey de lana y tela, etc., posee no sólo facultad de limpiar la suciedad grasienta, limpia mejor que otros similares, también hace la tela inmarchitable, fresca, brillante y suave.

(10) **Minería y Petróleo:** La T.Saponina como resultado de la función de la Tensión superficial, se puede usar para la explotación petrolera. En la minería, puede ser un excelente agente de flotación, mejorando significativamente la eficiencia de flotación. También en los procesos de recuperación del cobre, evitando la contaminación de gases tóxicos.

(11) **Fotografía y copias:** Utilice T. Saponina para procesar papel de copia, se puede aumentar la claridad y calidad. Y para hacer la película fotográfica, se puede mejorar significativamente la calidad de imagen y brillo.

(12) **Contra incendios:** Saponina tiene una capacidad de espuma muy fuerte, y tiene buena función retardante de fuego.

Puede convertirse en agente de lucha contra incendios.

ANEXO B

Cuadro 27: Análisis proximal del escarificado de quinua

PARÁMETRO	%	Porcentaje en peso (%)	MÉTODO
Humedad	%	9,56	Gravimétrico
Grasa	%	9,18	Soxhlet
Cenizas Totales	%	18,55	Gravimétrico
Fibra	%	5,63	Gravimétrico
Almidón	%	negativo	Volumétrico
Carbohidratos	%	52,73	Cálculo
Saponina	%	22,14	Semicualitativo
Proteínas	%	9,98	Kjeldahl

Fuente: Laboratorio Biolab SRL(Mujica, 2012).

En términos generales se puede afirmar que los granos de quinua, tal como salen de la trilladora, no deben ser utilizados directamente en la elaboración de alimentos sino que tienen que pasar por un proceso de limpieza y des amargado.

Cuadro 28: Composición de la saponina en polvo

Definición	% (porcentaje)	% en peso
Humedad	%	8,65
Ceniza	%	17,21
Proteína	%	8,82
Fibra	%	4,35
Saponina	%	48,17
Impurezas	%	No detectable

Fuente: Universidad Mayor de San Simón UMSS/FCYT (Cardoso 1997)

Cuadro 29: ANALISIS EXPERIMENTAL DE ANTECEDENTE A 20 Kg DE QUINUA.

Variedad	% AFRECHO	EFICIENCIA % DE LA SAPONINA	cantidad de Capsula
			c/u .0,5g
Pasankalla	5,5	6,90	7
Chullpi	6,7	5,90	8
Blanca de juli	2,6	4,40	2
Salcedo INIA	5,35	4,90	4
Kancolla	7,7	6,31	10

Fuente: resultado de agronomía (Mujica Sanchez, 2012).

Cuadro 30: porcentaje de saponina en la quinua

Variedad	PESO TOTAL DE QUINUA (g)	PESO TOTAL DE AFRECHO DE QUINUA (g)	total de saponina (g)	PORCENTAJE DE SAPONINA EN LA QUINUA (%)
Pasankalla	1000	169,5	32,73	3,3
Chullpi	1000	173,46	38,5	3,9
Blanca de juli	1000	115,38	20,74	2,1
Salcedo INIA	1000	89,1	15,25	1,5
Kancolla	1000	163,26	23,01	2,3

Fuente: elaboración propia

Cuadro 31: diferencia de la curva de la calibración y los resultados

Variedad	Curva de Calibración concentración (g/L)	concentracion a los 40 min (g/L)
Pasankalla	0,000	0,4828
Chullpi	0,150	0,5549
Blanca de juli	0,300	0,4493
Salcedo INIA	0,500	0,4123
Kancolla	0,700	0,3523

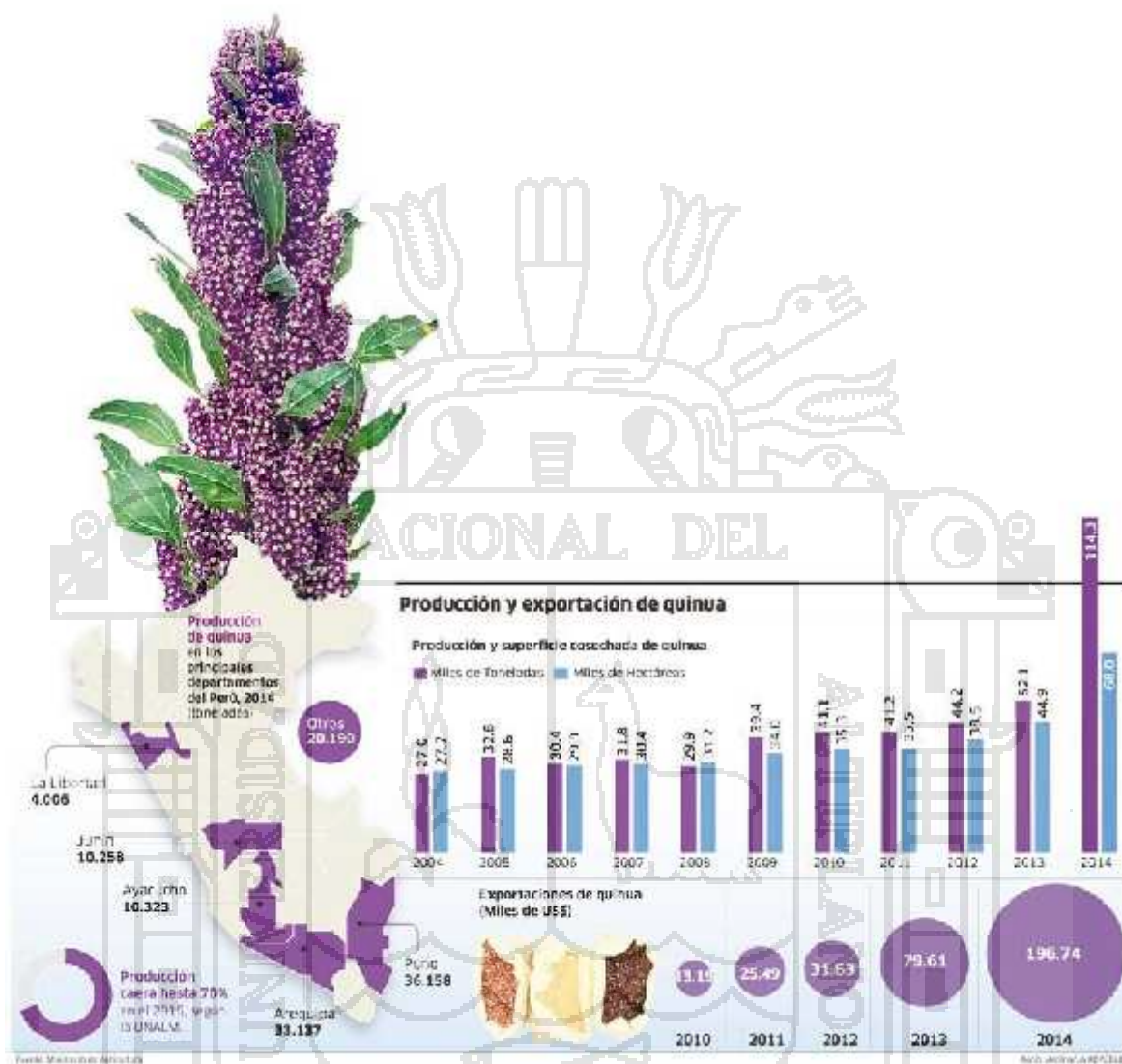
Fuente: Elaboración propia

En el cuadro 31 nos indica que los resultados obtenido de la concentración a los 40 minutos si se encuentra dentro de la curva de calibración, ya que la máxima concentración en de 0,5549 g/L.



ANEXO C

Figura 1-c :Producción y Exportación De La Quinua del año 2014



Fuente: Ministerio de Agricultura, Diciembre 2014

Figura 25: Producción y Exportación De La Quinua del año 2014



Figura 26: Distribución de las ares de cultivo de quinua en Sudamérica

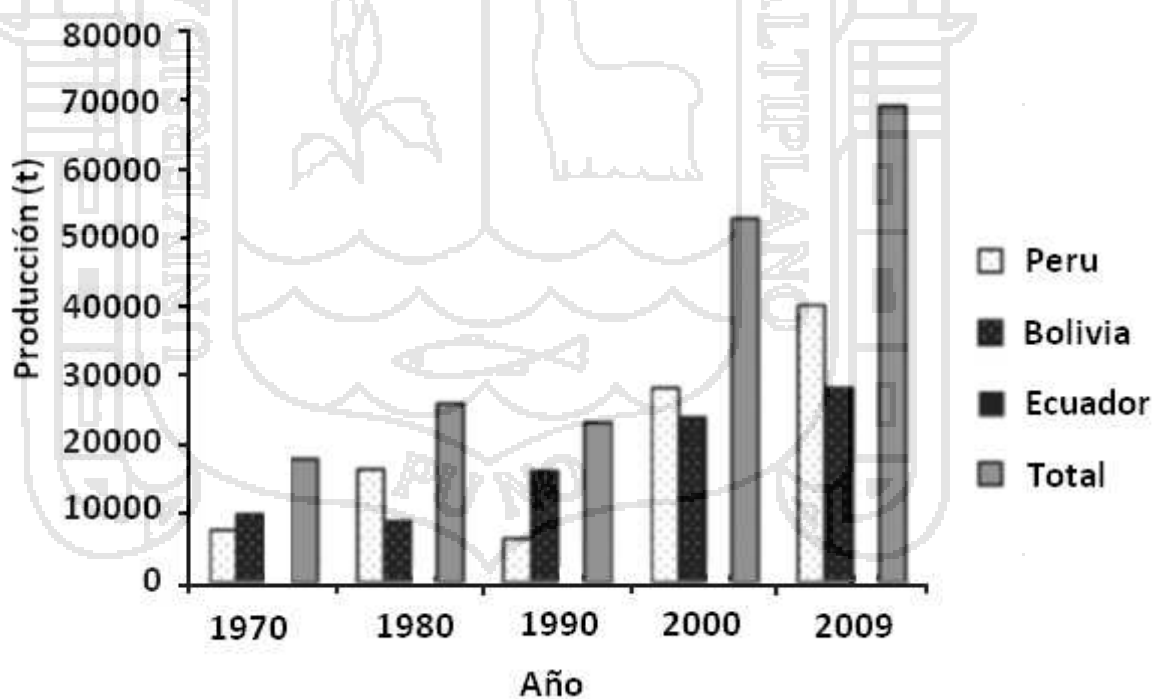


Figura 27: Producción de quinua de países de América del Sur

ANEXO D



Figura 28: preparación para la curva de calibración

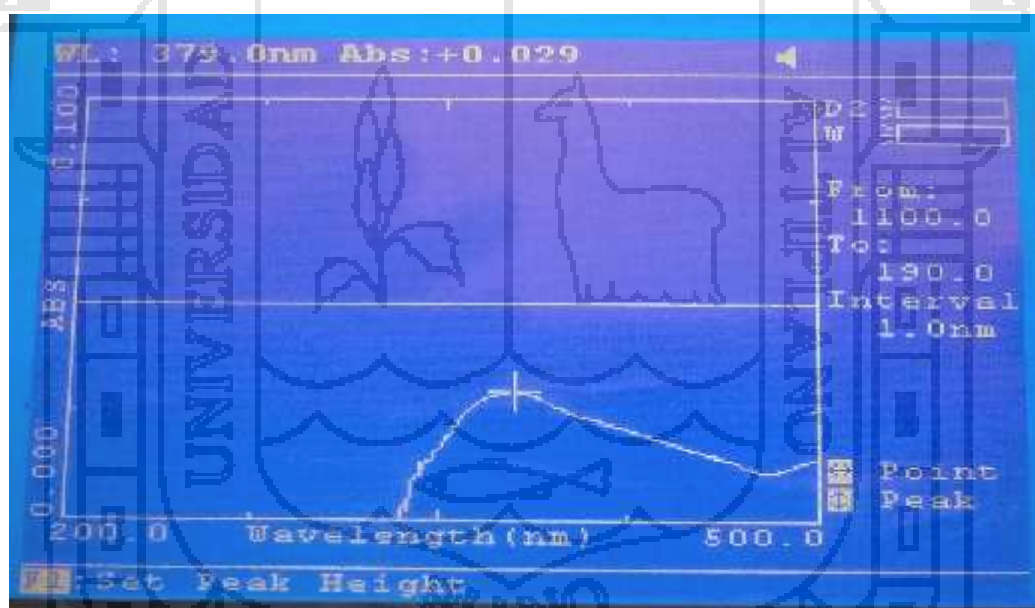


Figura 29: primera determinación de longitud de onda

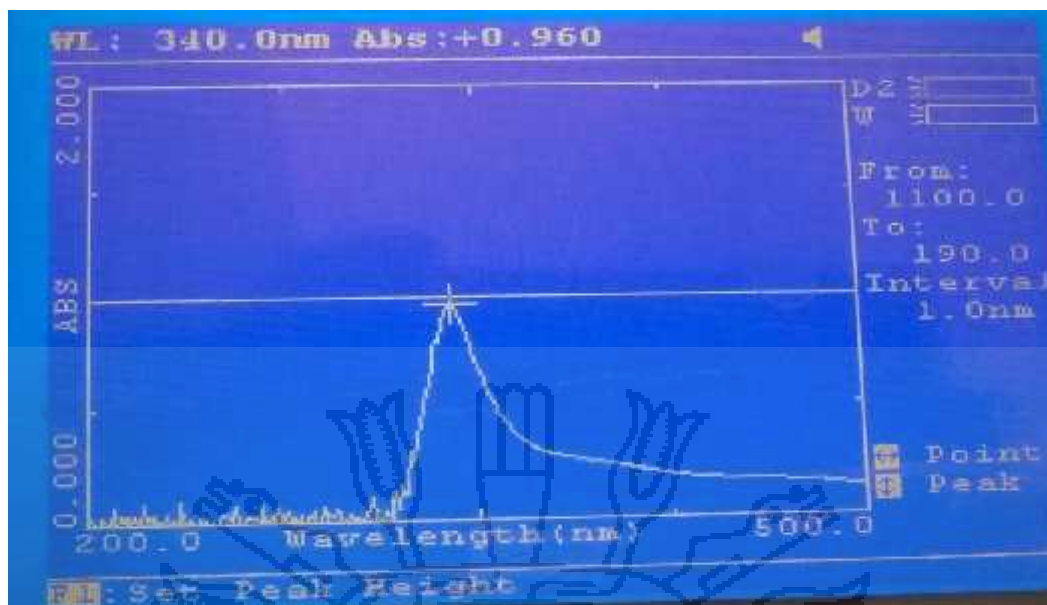


Figura 30: segunda determinación de la longitud de onda

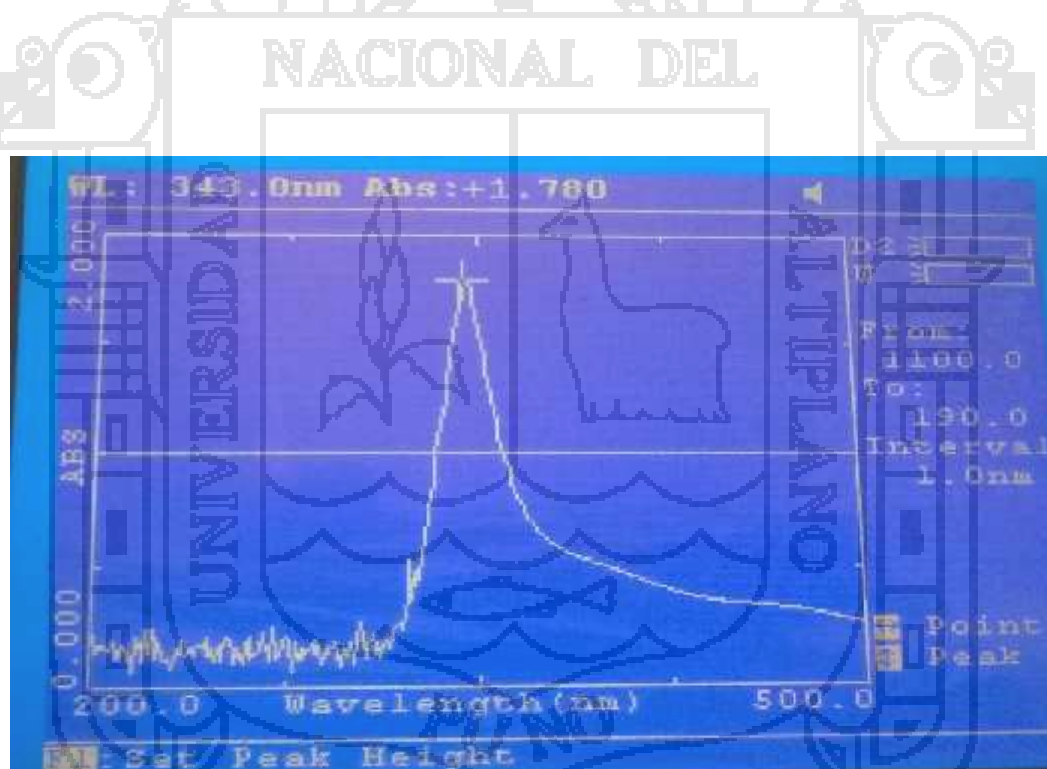


Figura 31: tercera determinación de la longitud de onda.

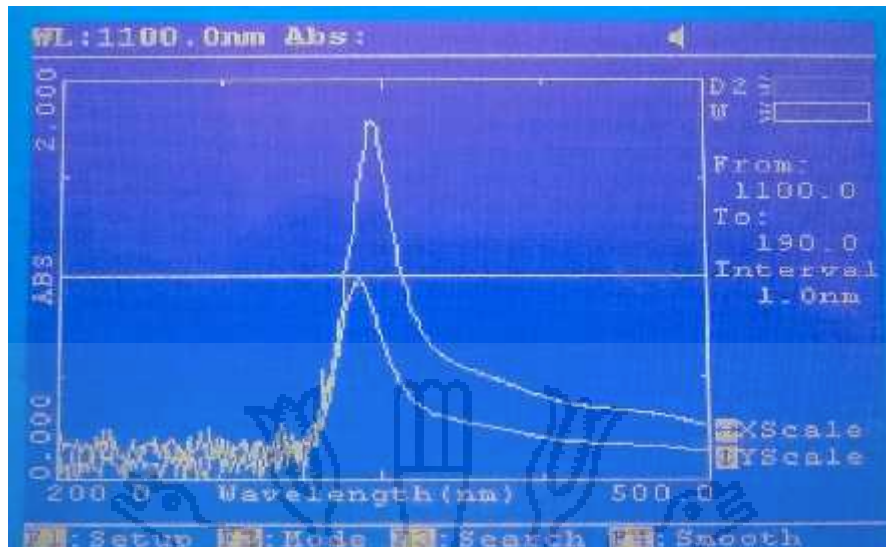


Figura 32: longitud de onda del 1ro y 2do promedio a 343nm



Figura 33: Agitación del afrecho



Figura 34: Determinación del filtrado al vacío a 425mmHg



Figura 35: recuperación del etanol atreves del rota vapor a 67 °C



Figura 36: centrifugación de la saponina a 15 min y 3500 rpm



Figura 37: extracción de la saponina líquida aforada a 100ml



Figura 38: determinación de la absorbancia de la saponina a través del espectrofotómetro

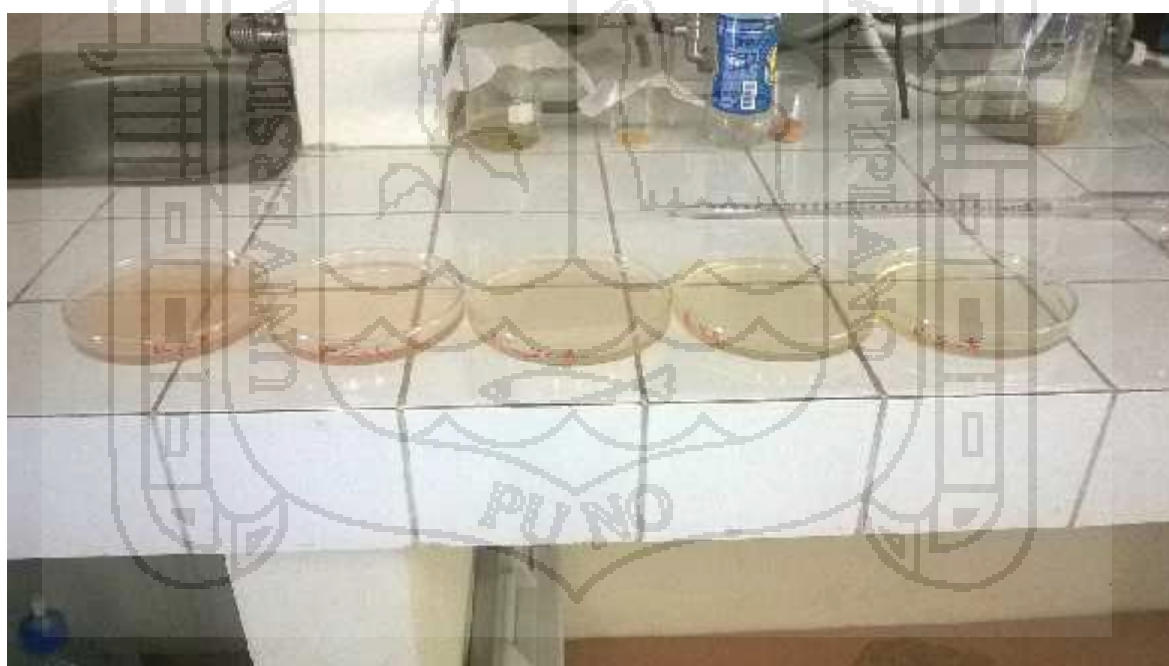


Figura 39: saponina sólida de los 5 cultivares de quinua



Figura 40: pulverizado de la saponina para su encapsulamiento.

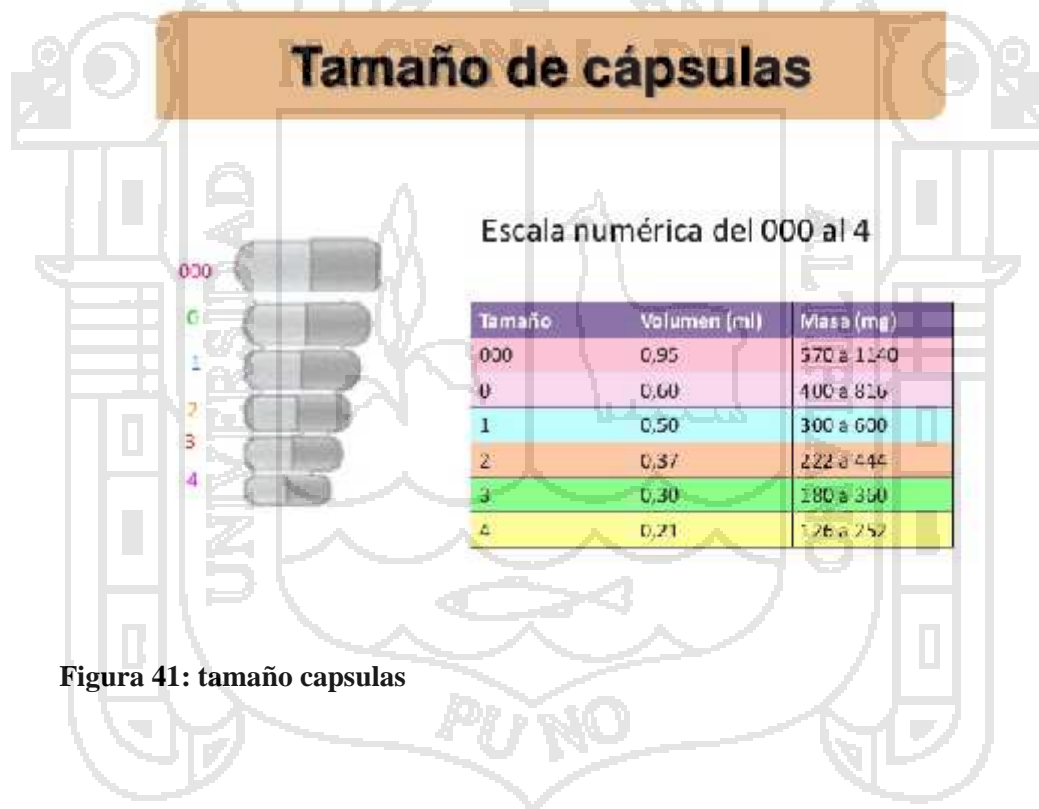


Figura 41: tamaño capsulas