



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE QUÍMICA

“EVALUACIÓN DE MÉTODOS PARA LA EXTRACCIÓN DE SAPONINA PRESENTE EN EL MOJUELO DE QUINUA AMARGA (*Chenopodium quinoa*).”

Trabajo de titulación

Tipo: proyecto de investigación

Presentado para obtener al grado académico de:

QUÍMICA

AUTORA: VERÓNICA BELÉN GUILCAPI MAYORGA

DIRECTORA: DRA. SUSANA DEL PILAR ABDO LÓPEZ

RIOBAMBA-ECUADOR

2019

© 2019, Verónica Belén Guilcapi Mayorga

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

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

El Tribunal de Trabajo de titulación certifica que: El trabajo de investigación: Tipo: Proyecto de Investigación "EVALUACIÓN DE MÉTODOS PARA LA EXTRACCIÓN DE SAPONINA PRESENTE EN EL MOJUELO DE QUÍNUA AMARGA (*Chenopodium quinoa*).", de responsabilidad de la señorita VERÓNICA BELÉN GUILCAPI MAYORGA, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de titulación, quedando autorizado su presentación.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dra. Susana del Pilar Abdo López DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN		2019-10-29
Dra. Lourdes Cumandá Carrera Beltrán MIEMBRO DEL TRIBUNAL		2019-10-29

Yo, VERÓNICA BELÉN GUILCAPI MAYORGA declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que proviene de otras fuentes están debidamente citados y referenciado.

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

Riobamba 29 de Octubre de 2019

Verónica Belén Guilcapi Mayorga

CI: 060509812-8

DEDICATORIA

Esta investigación dedico en primer lugar a Dios, que me brindó la fuerza necesaria que a pesar de los diferentes obstáculos, él siempre me guio por el camino correcto para cumplir con mi meta.

A mi más grande amor, mi madre Mónica Mayorga que con su apoyo incondicional y sus consejos me permitió llegar a donde estoy, por ser padre, madre, amiga y por ser mi más grande inspiración.

A mis hermanas María Teresa y Mónica Leonor por ser el motor de mi vida de lucha frente a todos los obstáculos, por su amor, apoyo y bromas durante este tiempo.

Verónica

AGRADECIMIENTO

El más sincero agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, a la Facultad de Ciencias y a la escuela de Ciencias Químicas, por ser el pilar fundamental para llevar a cabo mi investigación y a la autorización del uso de los Laboratorios de Productos Naturales y de Investigación de la Facultad de Ciencias.

A mi madre, no me alcanzará la vida para devolverle todo lo que ha hecho por mí, por formar de mí una persona de bien.

A mis hermanas por acompañarme en cada una de mis decisiones y ser esa parte importante de mi vida.

A Xavier Aranda, por estar a mi lado sin importar la distancia, animándome y apoyándome en cada momento.

A mi amiga Erica Sani por su apoyo incondicional y por ser esa gran compañera de carrera gracias por todo.

A mis amigos Jorge, Tania, Stefy, Paty, Adri gracias por todo.

A mi tutora la Dra. Susana Abdo por toda su confianza y por impartir en mí, grandes conocimientos para la realización de mi trabajo.

A la Dra. Cumandá Carrera en calidad de miembro del trabajo de titulación por su contribución para la realización de este proyecto.

Al Bqf. Diego Vinueza por compartir su conocimiento en esta investigación.

A la Ing. Isabel Escudero por compartir su conocimiento en esta investigación.

Verónica

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

HPLC Cromatografía líquida de alta eficacia

TLC Cromatografía en capa fina

CC Cromatografía en columna

IR Infrarrojo

UV Ultravioleta

VIS Visible

Í.A Índice afrosimétrico

EAU Extracción asistida por ultrasonido

MAE Extracción asistida por microondas

SC Suma de cuadrados

GL Grados de libertad

CM Cuadrados medios

Fc Distribución de frecuencias

rpm revoluciones por minutos

N° Número

min minutos

g gramo

ml mililitros

nm nanómetros

Cx concentración

ppm partes por millón

Rf factor de retención

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	xiii
SUMMARY	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
1.MARCO TEÓRICO	7
1.1. Historia	7
1.2. Quinua	7
1.3. Taxonomía	8
1.4. Características de la quinua	8
1.5. Semilla de la quinua	9
1.6. Distribución Geográfica	10
1.7. Importancia de la quinua	10
1.8. Variedad de la quinua en el Ecuador	11
1.9. Saponina	11
1.10. Estructura de la saponina	12
1.10.1. <i>Monodesmosídicas</i>	13
1.10.2. <i>Bidesmosídicas</i>	13
1.10.3. <i>Tridesmosídicas</i>	14
1.10.4. <i>Estructura triterpénica</i>	14
1.10.5. <i>Estructura esteroidal</i>	15
1.11. Importancia y usos de las saponinas	15
1.12. Métodos de desamargado de saponinas	17
1.13. Métodos de extracción	17
1.13.1. <i>Maceración</i>	18
1.13.2. <i>Maceración con agitación a temperatura controlada</i>	18
1.13.3. <i>Extracción asistida por microondas</i>	19
1.13.4. <i>Extracción asistida por ultrasonido</i>	19
1.14. Purificación	19
CAPÍTULO II	
2.MARCO METODOLÓGICO	20
2.1. Delimitación del universo de la investigación	20
2.2. Origen del material	20

2.3. Materiales	21
2.4. Diseño del experimento	22
2.5. Unidad experimental	24
2.6. Métodos.....	24
2.6.1. Muestra	24
2.6.2. Preparación de la muestra.....	24
2.6.3. Extracción por maceración con agitación	25
2.6.4. Extracción por ultrasonido.....	25
2.6.5. Extracción por microondas	26
2.6.6. Cromatografía en TLC de saponinas	26
2.6.7. Cromatografía en HPL de saponinas.....	27
2.6.8. Tamizaje fitoquímico	27
2.6.9. Purificación de saponinas	28
2.6.10. Cuantificación en Espectrofotometría UV-VIS.....	29
2.7. Método estadístico	29

CAPÍTULO III

3. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS	30
3.1. Elección de la muestra de mojuelo de quinua por el Índice afrosimétrico.....	30
3.2. Análisis del método de extracción	32
3.2.1. Maceración asistida por agitación	33
3.2.2. Extracción asistida por ultrasonido	36
3.2.3. Extracción asistida por microondas.....	38
3.3. Método de extracción eficiente	40
3.4. Detección de saponinas por cromatografía (TLC).....	42
3.5. Caracterización de la saponina obtenida.....	43
3.6. Tamizaje fitoquímico del crudo de saponina	44
3.7. Purificación del crudo de saponina	45
3.8. Análisis cualitativo de saponina por HPLC	47
3.9. Cuantificación de saponina por Espectrometría UV-VIS.....	47
3.10. Cuantificación de saponina por el Índice afrosimétrico.....	51
CONCLUSIONES	56
RECOMENDACIONES	57

GLOSARIO

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Taxonomía de la quinua (<i>Chenopodium quinoa</i>).	8
Tabla 2-1: Variedad de Quinua en el Ecuador.	11
Tabla 3-1: Características entre los métodos de desamargado de saponina.....	33
Tabla 1-2: Materiales de laboratorio.....	21
Tabla 2-2: Equipos de laboratorio.....	22
Tabla 3-2: Reactivos.	22
Tabla 4-2: Método 1. Extracción por maceración por agitación.....	38
Tabla 5-2: Método 2. Extracción asistida por Ultrasonido.	38
Tabla 6-2: Método 3. Extracción por microondas.	39
Tabla 1-3: Resultados del Índice Afrosimétrico.	30
Tabla 2-3: Resultados del rendimiento de crudo de saponina por Maceración asistida por agitación (M1).....	33
Tabla 3-3: ANOVA del método por maceración asistido por agitación.....	34
Tabla 4-3: Test Tukey para el método por maceración asistido por agitación (M1).	35
Tabla 5-3: Rendimiento de crudo de saponina por Ultrasonido (M2).	36
Tabla 6-3: ANOVA de la extracción asistida por ultrasonido (M2).	37
Tabla 7-3: Test Tukey para el método asistido por ultrasonido (M2).....	54
Tabla 8-3: Rendimiento de crudo de saponina por Microondas (M3).	54
Tabla 9-3: ANOVA del método asistido por microondas (M3).....	40
Tabla 10-3: Test Tukey para el método asistido por microondas (M3).	40
Tabla 11-3: ANOVA del diseño factorial 33.	41
Tabla 12-3: Características organolépticas y fisicoquímicas del crudo de saponina obtenido del mojuelo de quinua.....	59
Tabla 13-3: Resultados del tamizaje fitoquímico a la solución acuosa del crudo de saponina.....	60
Tabla 14-3: Resultados de las fracciones recolectadas de Sephadex LH-20.	62
Tabla 15-3: Resultados del % de saponina por Espectrofotometría UV-VIS.	65
Tabla 16-3: ANOVA de la cuantificación de saponina por Espectrofotometría UV-VIS. ...	50
Tabla 17-3: Test de TUKEY para la cuantificación por Espectrofotometría UV-VIS.	51
Tabla 18-3: Resultados del % de saponina por el índice afrosimétrico.	53
Tabla 19-3: ANOVA de la cuantificación de saponina por el Índice afrosimétrico.	54
Tabla 20-3: Test de TUKEY para la cuantificación por el Índice afrosimétrico.	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Sección longitudinal del grano de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i>).....	9
Figura 2-1: Provincias productoras de quinua.	10
Figura 3-1: Estructura general de saponina.	12
Figura 4-1: Ácido 3-O-β-D-glucopiranosil oleanólico.	29
Figura 5-1: 3-O-β-D-Glucopiranosil-(1→3)-α-Lgalactopiranosil-hederagenina 28-O-β-D-glucopiranosil éster.	13
Figura 6-1: Ácido 3,23-bis[(O-β-D-glucopiranosil) oxi] olean-12-en-28-oico-28-O-α-L-arabinopiranosil-(1→3)-β-D-glucopiranosiléster.....	30
Figura 7-1: Estructura triterpénica.	14
Figura 8-1: Estructura esteroidal.....	31
Figura 1-2: Ubicación de Maquita Cushunchic.....	21
Figura 1-3: I.A. 5min después de haber agitado.	31
Figura 2-3: I.A. 15 min después de haber agitado.	31
Figura 3-3: I.A. 20 min después de haber agitado.	31
Figura 4-3: I.A. 30 min después de haber agitado.	31
Figura 5-3: TLC del crudo de saponina.	42
Figura 6-3: Cromatografía en capa fina del purificado de saponina.....	61
Figura 7-3: Cromatograma del purificado de saponina.....	63

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1-3: Determinación de % saponinas.....	46
Ecuación 2-3: % Rendimiento de crudo de saponina.....	49
Ecuación 3-3: Concentración de saponinas triterpenoides en la solución colorimétrica.	64
Ecuación 4-3: % Saponina por espectrofotometría UV-VIS.	64

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: Extracción con Maceración asistida por agitación (M1).....	50
Gráfico 2-3: Extracción asistida por Ultrasonido (M2).....	53
Gráfico 3-3: Extracción asistida por Microondas (M3).	55
Gráfico 4-3: Interacción entre las variables.	58
Gráfico 5-3: Curva de calibración estándar de saponina.	64
Gráfico 6-3: Cuantificación por Espectrofotometría UV-VIS.	66
Gráfico 7-3: Curva de calibración estándar para la cuantificación de saponina por el método de espuma.	68
Gráfico 8-3: Cuantificación por el Índice afrosimétrico.	70

LISTADO DE ANEXOS

Anexo A: Fotografía de la extracción de crudo de saponina.

Anexo B. Fotografías del crudo de saponina y pruebas de identificación de saponina.

Anexo C. Fotografía de TLC del crudo de saponina y Cromatografía en columna.

Anexo D. Fotografías de métodos cualitativos y cuantitativo de crudo de saponina.

Anexo E. Cálculos del Índice afrosimétrico para la elección del mojuelo para la investigación.

Anexo F. Recolección de datos.

Anexo G: Cálculo del rendimiento de saponina.

Anexo H: Cálculo de los Rf.

Anexo I. Cálculo de concentración de saponina por Espectrometría UV-VIS.

Anexo J: Cálculo de concentración de saponina por el Método del Índice afrosimétrico.

Anexo K. Cálculos del ANOVA para cada método y $p < 0.05$.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar los métodos para la extracción de saponina presente en el mojuelo de Quinoa amarga (*Chenopodium quinoa*). La investigación contempló cuatro etapas de desarrollo, la primera fue la selección de mojuelo por el Índice afrosimétrico, se tuvo tres variedades de mojuelo de diferentes orígenes; la segunda etapa fue la extracción de saponina por tres diferentes metodologías: extracción con maceración asistida por agitación, extracción asistida por ultrasonido y extracción asistida por microondas; se trabajó con temperaturas de 30-40-50°C y tiempos de 5-15-20 min, la tercera etapa consistió en la purificación de saponina por cromatografía en columna empleando Sephadex LH-20; finalmente se realizó una cuantificación de saponina extraída por el Índice afrosimétrico y el de Espectrofotometría UV-VIS se empleó vainillina 4% y ácido Sulfúrico al 72%. El método más eficiente para la extracción de saponina en el mojuelo de quinoa, fue la extracción asistida por microondas en condiciones de 30°C y en un tiempo de 20 min con un rendimiento de 49,25% de saponina extraída. Por lo tanto, en función a la metodología desarrollada dentro de la investigación, se cuantificó la cantidad de saponina por el método de Espectrofotometría UV-VIS con porcentajes entre 20% - 45,74% y el Índice afrosimétrico con porcentajes 20,71%-47,64% en las condiciones viables estipuladas. Se recomienda identificar la estructura de la saponina presente en el mojuelo de quinoa amarga de origen de Calpi con Resonancia Magnética Nuclear (NMR) y Espectrofotometría de Masas (MS).

Palabras clave: <QUÍMICA>, <QUINUA (*Chenopodium quinoa*)>, <SAPONINA>, <ÍNDICE AFROSIMÉTRICO>, <SEPHADEX LH-20>, <ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS>, <RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (NMR)>, <ESPECTROFOTOMETRÍA DE MASAS (MS)>

ESPOCH - DEPARTAMENTO
PROCESOS TÉCNICOS Y ANALÍTICOS
BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL
07/10/2013
REVISIÓN DE RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA
Por: VB Hora: 09:36

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the methods for the extraction of saponin present in the mojuelo of bitter Quinoa (*Chenopodium quinoa*). The research contemplated four stages for its development; the first was the selection of mojuelo from different origins; the second stage consisted in the extraction of saponin by three different methodologies: with maceration assisted by agitation, ultrasound and microwave, exposed to temperatures of 30-40-50°C and time periods of 5-15-20 min; in the third stage, the purification of saponin with column chromatography using Sephadex LH-20 was carried out. Finally, a quantification of saponin extracted by the Afrosimetric Index and UV- VIS Spectrophotometry was performed using 4% vanillin and 72% of sulfuric acid. The most efficient method for the extraction of saponin in quinoa mojuelo was the microwave – assisted extraction under condition of 30C and in a time of 20 min with a yield of 49,25% of saponin extracted. Therefore, based on the methodology developed within the investigation, the amount of saponin was quantified by UV-VIS Spectrophotometry percentages between 20%- 45,74% and by afrosimetric index percentages from 20,71% to 47.64% under the stipulated viable conditions. It is recommended to identify the structure of the saponin present in the bitter quinoa mojuelo from Calpi with Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and Mas Spectrophotometry (MS).

Keywords: <CHEMISTRY>, <QUINOA (*Chenopodium quinoa*)>, <SAPONIN>, <AFROSIMETRIC INDEX>, <SEPHADEX LH-20>, <UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY>, <NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE (NMR) >, <MASS SPECTROPHOTOMETRY (MS)>



INTRODUCCIÓN

En los últimos años, ha habido un incremento de consumo de quinua debido a su alto potencial agrícola y nutritivo, considerándola como un producto estrella por sus propiedades nutricionales y medicinales, es el único cereal que posee todos los aminoácidos, además de ser la única alternativa entre los alimentos de origen vegetal. (Rodríguez, 2015, p. 305)

Los principales países productores de quinua son: Ecuador, Perú, Colombia, Bolivia y Chile. Debido a su favorable adaptación al suelo y clima propios de estos países, ha permitido promover la diversificación de la explotación de sus propiedades nutricionales, farmacológicas y agrícolas. (Ahumada et al., 2016, p. 440)

MAGAP en el 2017 manifestó que el Ecuador proyecta producir quinua en 16 mil hectáreas que representa 1,400 toneladas métricas (10 a 15 quintales), con el compromiso de incrementar la producción de quinua y comercializar sus derivados además de ofertar estos nuevos productos para consumo nacional e internacional, dentro del cual están involucradas provincias como el Carchi, Chimborazo, Imbabura y Pichincha. (MAGAP, 2017)

Las saponinas son el principal factor antinutricional de la quinua, éstas se encuentran contenidas en la cáscara y son responsables del sabor amargo, la mayor cantidad de saponinas se encuentra en el epispermo del grano, por lo que son abundantes en los residuos (mojuelo) que se desechan en el proceso de escarificado de la quinua. (Apaza et al., 2016,p.63) Las saponinas son glicósidos triterpénicos solubles en agua. (Escribano et al., 2017, p. 206) (Santis et al., 2016, pp. 277-278) (Ahumada et al., 2016, p. 440)

Corzo en el 2009 menciona en su artículo “Análisis y selección de diferentes métodos para eliminar saponinas en dos variedades de *Chenopodium quinoa*, que la escarificación de los granos se realiza mediante abrasión (por fricción), este método extrae el 58% de saponinas junto con otras impurezas. La pérdida de peso en los granos con este método es del 15% aun 30%, este procedimiento tiene el problema que se elimina parte del embrión, donde se encuentran grasas y proteínas.

En los últimos años las saponinas presentan un crecimiento evidente en los beneficios hacia la salud como en la inhibición de absorción de glucosa, colesterol y de presentar propiedades anticancerígenas. Son surfactantes naturales que han sido utilizados en productos de limpieza personal tales como geles de ducha, lociones, productos para el cuidado de bebé, enjuagues bucales y pastas dentales. Las saponinas triterpenoides previenen el acné. (Netala et al., 2015, p. 25)

Vega y sus colaboradores en su investigación mencionan que en los procedimientos de lavado para eliminar las saponinas amargas, se pierden valiosos nutrientes y pueden cambiar la composición química de las semillas de quinua. El nivel final de contenido de saponina en las semillas de quinua para ser consumidas sigue siendo una gran preocupación en cuanto a su amargura y posibles efectos biológicos negativos. (Vega-Gálvez et al., 2018,p.58)

Sin embargo existen métodos tradicionales de extracción como la maceración que frente a los métodos convencionales como son: extracción asistida por ultrasonido y microondas, estos presentan un menor tiempo de extracción de saponinas y el uso de menos solvente siendo estos menos una ventaja frente a los métodos tradicionales. (Majinda, 2015, pp. 418-419)

La presente investigación se realizó para evaluar métodos extractivos de saponina presente en el mojuelo de quinua, mediante el empleo de 3 métodos de extracción con 2 factores controlables como temperatura y tiempo, buscando la eficacia que presenta uno de estos tres métodos frente al resto. Actualmente la concentración permitida de saponina en el grano de quinua según la Norma Técnica Ecuatoriana oscila entre 0,005% (0,2 cm) hasta 0,37% (3,0 cm) con el método de espuma. (INEN, 1988, p. 3)

El proyecto beneficiará a las empresas procesadoras de quinua en Chimborazo ya que se pretende dar un valor agregado al residuo que es el mojuelo mediante la extracción de saponina para sus diferentes aplicaciones como un aporte dentro del proyecto de vinculación de la ESPOCH “Diseño e implementación de un proyecto de producción, transformación, comercialización y promoción de consumo de quinua y sus derivados”, bajo dirección del grupo de Investigación de Productos Naturales y Farmacia GIPRONAF de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

JUSTIFICACIÓN

MAGAP en el 2017 manifestó que el Ecuador proyecta producir quinua en 16 mil hectáreas, con el compromiso de incrementar la producción de quinua y comercializar sus derivados además de ofertar estos nuevos productos para consumo nacional e internacional, dentro del cual estarán involucradas las provincias de Chimborazo con el 26% de producción de quinua y Imbabura con el 25% siendo las más representativas.

El propósito de la investigación es recuperar sólidos con alta concentración de saponinas del proceso de escarificado del grano de quinua amarga proponiendo que este compuesto que es la saponina sea empleado en otros campos dentro de la industria como es la farmacéutica y la industria alimenticia en donde es empleada en cervecería, jarabe de frutas, cremas de afeitar, etc.

Se desea determinar un proceso eficiente de extracción de la saponina presente en la quinua amarga en base seca, logrando que este no se pierda durante el proceso y se eliminado sin ningún tratamiento previo para la utilización en subproductos importantes, esto reducida el consumo de agua que es empleado en el lavado de la quinua para eliminar las saponinas y ser eliminadas directamente recuperando así la saponina presente en la quinua.

En Ecuador y particularmente en la provincia de Chimborazo no se ha desarrollado este tipo de investigaciones por lo que este trabajo es un aporte para conocer qué cantidad de saponina presenta la quinua amarga en base seca de la provincia de Chimborazo y como esta puede ser empleada para la producción de subproductos a partir de la misma.

ANTECEDENTES

Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es un cultivo con alto potencial para contribuir con la seguridad alimentaria en todas las regiones del mundo. Los principales países productores son Perú, Bolivia y Ecuador. La semilla de quinua es reconocida como nutritiva gracias a la cantidad y calidad de su contenido de proteína, especialmente por su alto contenido en lisina, como también en hierro, potasio, vitaminas B2, B5 y E, entre otros constituyentes. La quinua tiene una variedad de usos en la industria procesadora de alimentos. (Pereira, 2014, p.67)

Según Apaza Rinel et, al., en el 2016 muestra la evaluación de la actividad antifúngica de un extracto rico en saponinas que proviene de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), obtenido de residuos del proceso industrial de beneficiado de los granos de quinoa y controlado químicamente por HPLC, esto representaría un subproducto de beneficio para los agricultores en lo que corresponde a la producción de quinua en Chimborazo.

Dentro de esta investigación se aislaron más de 20 saponinas de diferentes partes de la quinoa (flores, frutos y granos) y se identificaron sus agliconas y respectivos azúcares; sin embargo, la mayor cantidad de saponinas se encuentra en el epispermo del grano, por lo que son abundantes en los residuos (mojuelo) que se desechan en el proceso de beneficiado, a través del cual se separa la cascarilla del grano por fricción (escarificado), actividad que se realiza a la quinua para consumo y exportación.(Sacc, 2016, p.98)

En el extracto obtenido que es de un solvente con el mojuelo; se puede determinar el contenido de saponinas de diversas maneras (espectrofotometría, cromatografía gaseosa, cromatografía líquida de alta presión, etc.). En esta investigación la determinación se realizó por derivatización de las saponinas y medición de su absorbancia en la parte visible del espectro a 528 nm. Para la cuantificación de las saponinas en el extracto se utilizó la reacción de Libermann-Burchard.

Durante los procedimientos de lavado para eliminar las saponinas amargas, también se pierden valiosos nutrientes y pueden cambiar la composición química y los perfiles de aminoácidos de las semillas de quinua. El nivel final de contenido de saponina en las semillas de quinua para ser consumidas sigue siendo una gran preocupación en cuanto a su amargura y posibles efectos biológicos negativos. Con los avances en las técnicas de análisis cualitativo y cuantitativo, el análisis preciso de la lixiviación con saponina se ha vuelto cada vez más relevante.(Vega-Galvez, 2018, p.59)

Las concentraciones de saponina pueden variar entre el 0.01 y el 4.65% de la materia seca para diferentes variedades de quinua con un valor medio del 0.65%. La quinua que contiene 0.11% (en base al peso fresco) de saponinas o menos puede considerarse dulce.(Miranda et al., 2013, p.89)

El proceso ancestral de domesticación de la quinoa, ha utilizado en diferentes formas la diversidad genética de este recurso fitogenético, la que se encuentra asociada estrechamente a

distintas zonas geográficas, determinando en su conjunto la capacidad de sobrevivencia de la quínoa, creando múltiples formas dentro una misma especie. Debido a la existencia de adaptaciones particulares de quínoa en diferentes zonas a lo largo de Los Andes. (Fuentes, 2009, p.88)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El contenido de saponinas en el proceso industrial del escarificado de la quinua esta entre un 15 y 30%, Ledezma Carla & Escalera Ramiro, en el 2010 publican en su artículo “Evaluación de la calidad nutricional y morfología del grano de variedades amargas de quinua” menciona que las saponinas se pierden en los residuos líquidos del proceso de lavado de la quinua, puesto que su recuperación no es económicamente viable.

Las saponinas constituyen el principal factor antinutricional de la quinua, las semillas que contienen más del 0.11% son variedades amargas, la desaponificación extrae el 62% de saponinas y el grano pierde el 9% en peso, este procedimiento implica mayor tiempo y mayor costo por necesitar grandes cantidades de agua en el método de extracción. (Gianni, 2013, p.23)

Según Ahumada et al., en el 2016 menciona que el método de desaponificación resulta ser largo y muy costoso por el uso de reactivos, lavado y secado además los métodos químicos alteran el pH tanto acido como básico que rompen los enlaces O- glucósidos, desnaturalizando las saponinas y por ende estas pierden su propiedad anfifílica.

FORMULACIÓN

¿Existen diferencias significativas en la extracción de saponina presente en el mojuelo de quínoa amarga por efecto de los métodos analíticos empleados?

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar los métodos para la extracción de saponina presente en el mojuelo de quinua amarga (*Chenopodium quinoa*).

Objetivo Específico

- Extraer la saponina del mojuelo de quinua amarga (*Chenopodium quinoa*) por tres métodos distintos.
- Cuantificar la cantidad de saponina extraída del mojuelo de quinua amarga (*Chenopodium quinoa*).
- Analizar comparativamente los resultados obtenidos para determinar el método más eficiente de la extracción de saponina.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Historia

La quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) ha sido considerada por sus aspectos botánicos, como una especie nativa de Sudamérica, cuyo origen se encuentra en los Andes de Bolivia y Perú.

Heisser y Nelson en 1974 indican hallazgos arqueológicos en Perú y Argentina alrededor del inicio de la era cristiana, a su vez Bollaerd y Latcham en 1944 hallaron semillas de quinua en las tumbas indígenas de Tarapacá, Calama y Quillagua demostrando así que el cultivo de quinua es de tiempos muy remotos. La quinua es uno de los cultivos más antiguos de la región Andina. Con aproximadamente 7 000 años de cultivo, cuya domesticación y conservación han sido partícipes de grandes culturas. La quinua fue cultivada en toda la región Andina por culturas precolombinas y sus granos han sido utilizados para la alimentación de los pobladores de todos los valles interandinos. (FAO, 2011,p.3-5)

1.2. Quinua

La quinua tiene por nombre científico (*Chenopodium quinoa*) es un grano alimenticio originario de los andes, que se desarrolla en microclimas y en distintas altitudes dando a una diversidad de especies de quinua. Es una planta herbácea pertenece a la familia *Chenopodiaceae* presenta colores variados como blanca, amarilla morada. Sus semillas son las que posee la mayor parte del valor alimenticio, siendo gránulos con un diámetro de 1,8 y 2,2 mm. (IICA, 2015,pp.15-16)

1.3. Taxonomía

Tabla 1-1: Taxonomía de la quinua (*Chenopodium quinoa*).

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Amaranthaceae

Sub Familia: Chenopodiaceae

Género: Chenopodium

Especie: C. quinoa

Fuente: (SESAN, 2013,p.1)

1.4. Características de la quinua

La quinua es una planta alimenticia de desarrollo anual y que alcanza una altura de 1 a 3 metros; sus hojas son anchas y con formas distintas en una misma planta; el tallo central tiene hojas lobuladas y quebradizas, así como puede o no tener ramas; sus flores son pequeñas y no tienen pétalos. Son hermafroditas por lo que en la mayoría de los casos se auto fertilizan. Su fruto es seco y mide aproximadamente 2 mm de diámetro. Su periodo vegetativo varía entre 150 y 240 días. (Ayala, 2013,p.40)

Los hidratos de carbono forman la principal fuente de energía que presenta la quinua para una excelente alimentación humana, incluyendo todo lo posible presenta vitaminas como la tiamina, riboflavina, niacina y vitamina E. (Ruiz et al., 2017, p. 1164) Los granos de quinua son ricos en minerales como K, Ca, Mg, P, S, Fe y Zn, la quinua es el cereal que contiene más minerales a diferencia de otros cereales. (Lescano y Aco, 2014: p. 1)

La quinua presenta un alto porcentaje de proteínas, encontrándose cerca de un 15%, presentando aminoácidos esenciales como la lisina, triptófano, cisteína y metionina. (Terán, et al., 2015: p. 20) Entre el 16 y 20% del peso que posee la semilla de la quinua corresponde a proteínas de alto

valor biológico, que contiene la mayoría de los aminoácidos, considerándola como el alimento vegetal que puede proporcionar todos los aminoácidos esenciales. (Castañeda et al., 2018: p. 21)

La grasa contenida es de 4 a 9% de los cuales la mitad contiene ácido linoleico, esencial para la dieta humana. El contenido nutricional que poseen sus hojas es comparado con el de la espinaca, conteniendo un bajo índice de nitrato y oxalato. (SESAN, 2013, p. 7)

1.5. Semilla de quinua

Las semillas de quinua, de forma irregular y bastante pequeñas, las semillas de quinua crecen en grandes racimos sobre altos tallos. Las semillas pueden ser de color verde, naranja, rosa, malva, rojo o amarillo. Una vez secas las minúsculas cabezas de las semillas, sencillamente se agitan y se secan. Debido a su recubrimiento resinoso, la quinua puede cultivarse sin pesticidas químicos la resina, protege a la semilla incluso del calor extremo al que está expuesto a elevada altitud. Cuando se elimina la resina, el color también puede desaparecer, dejando las variedades de quinua de color blanco, rojo y negro. (Geisler y Stepaniak, 2014: p. 20)

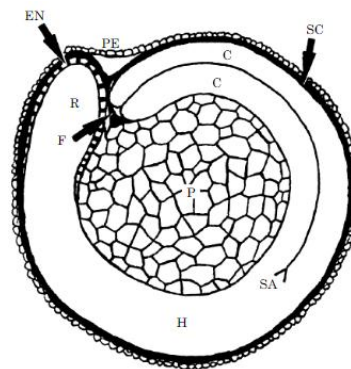


Figura 1-1: Sección longitudinal del grano de quinua (*Chenopodium quinoa*).

Fuente: (Prego et al., 1998: p. 482)

En la Figura 1-1 se muestra la sección longitudinal del grano de quinua donde **(PE)** representa el pericarpio que cubre la semilla de la quinua, **(H)** el embrión tiene un eje de hipocotilradícula y dos cotiledones **(C)**, **(EN)** representa la región micropilar se encuentra el endospermo, **(SC)** es la cubierta de la semilla, **(SA)** se observa el ápice del meristemo, **(R)** radícula, **(P)** perisperma, **(F)** fenículo. (Prego et al., 1998: p. 482)

1.6. Distribución Geográfica



Figura 2-1: Provincias productoras de quinua.

Fuente: (Monteros, 2016, p. 2)

La región Sierra representa el 100% de producción de quinua según el censo del INEC del 2016, Carchi representa el 29% en producción de quinua, Chimborazo con el 26%, Imbabura el 25%, Pichincha el 10%, Cotopaxi el 8%, Tungurahua el 0,81%, Cañar el 0,02% y Azuay con el 0,61%. (A, 2016, p. 4)

1.7. Importancia de la quinua

La quinua tiene un aspecto muy importante de ser empleada no solo para alimentación humana sino también como alimentación animal, dentro de lo que es la alimentación humana se utiliza los granos enteros y estos a su vez puede ser transformado a harina, a partir de las cuales se puede preparar toda clase de comidas, ya sea desde sopas, panes, pasteles galletas hasta chicha blanca de quinua. A su vez en lo que respecta a la alimentación en animales, la planta es empleada como forraje verde; también es aprovechable los residuos de la cosecha para alimentar a cerdos, caballos y aves. Así mismo la saponina que es un factor antinutricional es retirada del grano de la quinua, siendo utilizada en aplicaciones como controlar plagas, empleo en productos industriales de cosmética y farmacéutica. (Forero et al., 2016, p. 69)

1.8. Variedad de quinua en el Ecuador

Las variedades vigentes en el Ecuador de la quinua se muestran en la Tabla 2-1, sin embargo las variedades de quinua se clasifican en dulces y amargas, esto se debe a la cantidad de saponina que presenten. Además el color de la quinua también se considera una clasificación habiendo quinua morada, amarilla y blanca. (FAO, 2011, p. 16)

QUINUA EN EL ECUADOR

Variedad	Altura Planta (cm)	Color de la planta	Días Cosecha	Color Grano	Contenido de Saponina	Rendim. kg/ha (promedio)	Altitud optima m
Tunkahuan	150	Púrpura	180	Blanco	Dulce	2000	2600-3200
Pata de Venado	70	Rosada	150	Blanco crema	Dulce	1400	3000-3600
Ingapirca	85	Púrpura	190	Blanco opaco	Dulce -Amarga	1551	3000-3600
Imbaya	140	Verde	180	Blanco opaco	Amarga	3000	2600-3200
Cochasqui	110	Verde con axilas moradas	220	Blanco opaco	Amarga	4000	3000-3600

Tabla 2-1: Variedad de Quinua en el Ecuador.

Fuente: (Nieto et al., 2009: p. 3) (Nieto et al., 1992: p. 10)

1.9. Saponina

La saponina es un metabolito secundario, siendo el principal factor anti-nutricional que posee las plantas de la quinua, dándoles la característica de un sabor amargo esto se debe a que posee un grupo amplio de glucósidos presentes en hojas, tallos y panojas de la planta de quinua. (García et al., 2018: pp. 242-243)

Este glucósido se caracteriza por su alto peso molecular, estando constituido estructuralmente por una aglicona, que en este caso puede ser terpenoide o esteroideal unida a un carbohidrato

(azúcares) a través de enlaces glucosídicos. (Ahumada et al., 2016: p. 441), que forman saponinas monoglicosidas, diglicosidas o triglicosidas dependiendo del número de sustituciones. (García et al., 2018: p. 243)

La actividad superficial que presentan la saponina se debe a su propiedad espumante, también se incluye la actividad hemolítica. Son de naturaleza anfifílica donde el azúcar es la parte hidrofílica y la genina la hidrofóbica llamada sapogenina. (Ribeiro et al., 2013: p. 702) El potencial de las saponinas requiere métodos robustos para su extracción efectiva de los materiales de interés de las plantas. (Le et al., 2018a: p. 1)

Las saponinas esteroidales se encuentran en plantas monocotiledóneas, mientras que las saponinas terpénicas se encuentran en las plantas dicotiledóneas, las saponinas presentan una gran diversidad de estructuras que se ve reflejado en sus diferentes propiedades biológicas y fisicoquímicas. (Díaz, 2009, p. 35)

1.10. Estructura de la saponina

Su estructura, presenta glucósidos con una aglicona que representa la porción libre del glucósido, policíclica que puede estar presente en forma de un esteroide o triterpenoide, ligada a través del carbono 3 (C3) por medio de un enlace etéreo a una o a más cadenas laterales de azúcares tal y como se muestra en la Figura 3-1. De acuerdo con el número de agliconas encontramos mono, di o tridesmosídicas. (Ahumada et al., 2016: p. 441) (Bazile et al., 2013: p. 318)

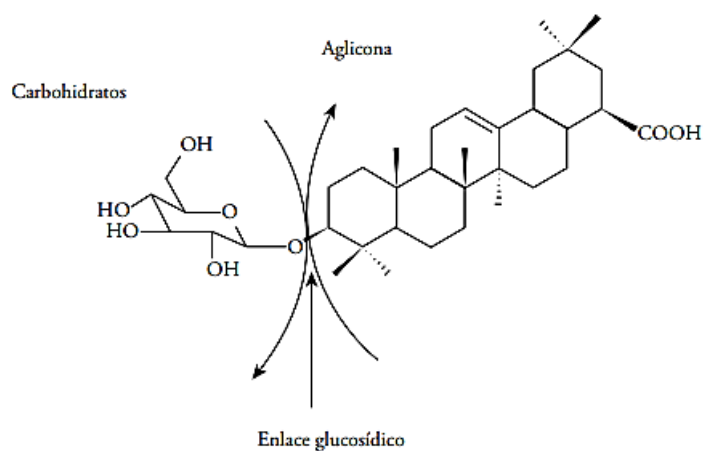


Figura 3-1: Estructura general de saponina.

Fuente: (Ahumada et al., 2016: p. 441)

1.10.1. Monodesmosídicas

Estas saponinas presentan un oligosacárido unido al C-3. Un ejemplo de este tipo de saponina se muestra en la Figura 4-1. (Ahumada et al., 2016: p. 442)

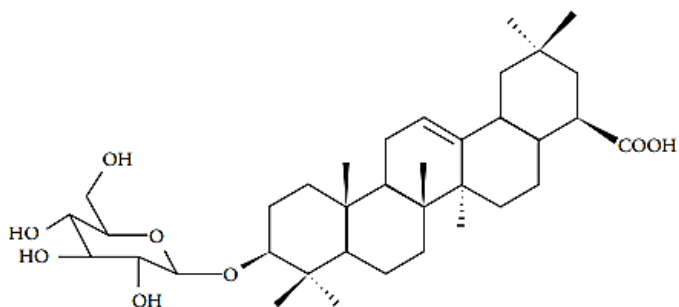


Figura 4-1: Ácido 3-O-β-D-glucopiranosil oleanólico.

Fuente: (Ahumada et al., 2016, p. 442)

1.10.2. Bidesmosídicas

Estas saponinas tienen dos cadenas de carbohidratos, uno de ellos está unido mediante un enlace éter al C-3 y el otro unido al C-28 mediante un enlace éster. Como se muestra en la Figura 5-1. (Ahumada et al., 2016: p. 443)

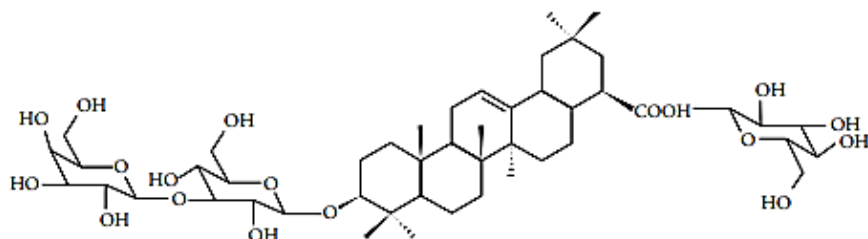


Figura 5-1: 3-O-β-D-Glucopiranosil-(1→3)-α-Lgalactopiranosil-hederagenina 28-O-β-D-glucopiranosil éster.

Fuente: (Ahumada et al., 2016: p. 443)

1.10.3. Tridesmosídicas

Estas contienen 3 cadenas de azúcares. Como se muestra en la Figura 6-1. (Ahumada et al., 2016: p. 443)

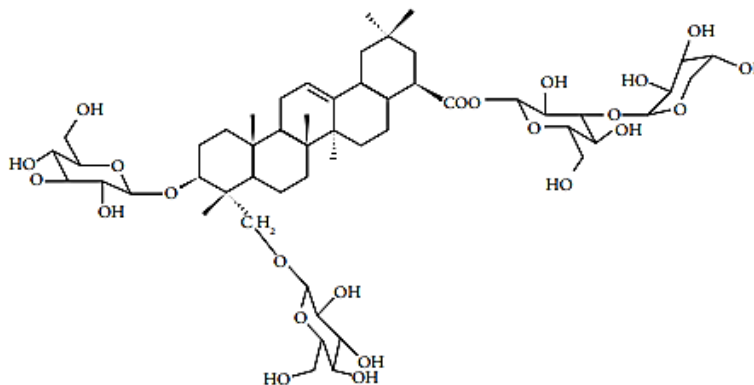


Figura 6-1: Ácido 3,23-bis[(O-β-D-glucopiranosil) oxi] olean-12-en-28-oico-28-O-α-L-arabinopiranosil-(1→3)-β-D-glucopiranosiléster.

Fuente: (Ahumada et al., 2016: p. 443)

1.10.4. Estructura triterpénica

Las saponinas triterpénica son glucósidos con una notable diversidad estructural y bioactividad, compuestas por un triterpeno – aglicona, unida a dos o tres cadenas de sacáridos de tamaño y complejidad variada dependiendo de la especie de planta en la que se encuentre. Dentro de la planta los glicósidos triterpénicos tiene propiedades antimicrobianas, insecticida y anti herbívora que son de protección para las mismas. (Shao et al., 2005: p. 3141)

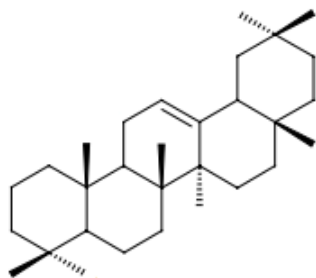


Figura 7-1: Estructura triterpénica.

Fuente: (Mazza y Güçlü, 2007a: p. 232)

1.10.5. Estructura esteroideal

Las saponinas con estructura esteroideal son glucósidos que presentan conjugados de azúcar que se producen naturalmente en los compuestos esteroideales C27, la aglicona de la saponina esteroideal es generalmente un espirostanol o un furostanol, la partes de las agliconas de estos compuestos son en su mayoría oligosacáridos, dispuestos de forma lineal o ramificada, unidos a grupos hidroxilo a través de un enlace acetal

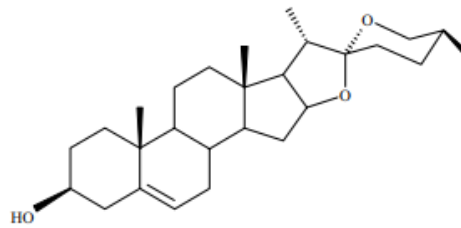


Figura 8-1: Estructura esteroideal.

Fuente: (Mazza y Güçlü, 2007a: p. 232)

1.11. Importancia y usos de las saponinas

El uso que tienen las saponinas se hace presente en jabones, en fármacos anticancerígenos, hemolíticos, entre otros. A pesar de la gran aplicación que las saponinas presentan en la industria y en la farmacéutica, esta es limitada debido a que no se ha estudiado con amplitud. (Díaz, 2009, pp. 32-35)

➤ Aplicación en alimentos

Dentro de lo que es alimentos las saponinas son empleadas como aditivos de alimentos, una de ella es la saponina de soja modificada enzimáticamente, por sus propiedades espumantes se emplea en bebidas no alcohólicas, se usa como emulsionantes que contiene colores o sabores lipofílicos que se les agrega a los refrescos vegetales, además la saponina permite la eliminación del colesterol de alimentos lácteos. (Mazza y Güçlü, 2007b: p. 240)

➤ **Cosmética**

Debido a sus propiedades tensoactivas, son utilizadas en productos de limpieza en el cuidado personal por su contenido natural se emplea en la fabricación de geles de ducha, shampoo, baños de espuma, lociones, jabones líquidos. A su vez las saponinas son comercializadas debido a su formulación cosmética en cremas que retardan el proceso de envejecimiento. (Mazza y Güçlü, 2007c: p. 240)

➤ **Medicina**

✓ **Actividad Antimicrobiana**

Debido a sus propiedades la saponina inhibe el crecimiento de ciertos hongos que resultan ser plagas en especies vegetales teniendo la propiedad antifúngica y antibacteriana, algunas saponinas tienen la capacidad de penetrar las membranas celulares de algunos microorganismos eliminándolos. (Mugford y Osbourn, 2016a: p. 213)

✓ **Actividad Anticancerígena**

Las saponinas muestran una actividad citotóxica contra las células tumorales, estudios contra el cáncer de pulmón demostrando que las saponinas pueden llegar hacer el medicamento prometedor para la terapia del cáncer. (Mugford y Osbourn, 2016b: p. 214)

✓ **Actividad Anticardiovascular**

La ingestión de saponina que contiene ciertos alimentos disminuye la cantidad de colesterol en el flujo sanguíneo y por ende disminuye el riesgo de enfermedades cardiovasculares. (Mugford y Osbourn, 2016b: p. 214)

✓ Actividad Antinflamatoria

Según resultados de hojas de papavea presenta un alto poder antiinflamatorio ante inflamaciones agudas crónicas, esta propiedad se demostró que se debe a su inhibición enzimática que presenta en procesos internos de la célula de los animales con los que se trabajó. (Mugford y Osbourn, 2016c: pp. 214-215)

1.12. Métodos de desamargado de saponinas

Tabla 3-1: Características entre los métodos de desamargado de saponina.

	VENTAJAS	DESVENTAJAS
MÉTODO HÚMEDO	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Poca cantidad de granos dañados. ✓ Conserva propiedades proteicas. ✓ Alta extracción de saponina. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Bajo rendimiento. ✓ Empleo excesivo de agua. ✓ Elevada humedad del grano de quinua un 50%. ✓ Dificultad de secado.
MÉTODO SECO O ESCARIFICADO	<ul style="list-style-type: none"> ✓ No se emplea agua. ✓ Fácil recuperación de polvos fino. ✓ No requiere secado. ✓ Bajo costo de producción. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Deficiencia de extracción de saponina. ✓ Granos de quinua dañados.
MÉTODO COMBINADO	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Eficiente en la extracción de saponina. ✓ Empleo de agua bajo. ✓ Tiempo de secado menor. 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Granos de quinua dañados. ✓ Elevada humedad del grano de quinua 50%. ✓ Proceso costoso.

Fuente: (Bergesse et al., 2019: p. 113) (Gunsha, 2013, p. 71)

1.13. Métodos de extracción

Los diferentes métodos empleados para la extracción de saponinas implican una extracción de la matriz de la planta, con factores que dependerán del método a emplear, en el cual los factores que están más relacionados son la temperatura, el pH y la relación entre el disolvente, además de esto un factor importante, que a veces no es considerado, es el tamaño de partícula, entre más

pequeña sean existirá una mayor eficiencia de extracción, además de un secado y desengrasado de la muestra. (Majinda, 2015, p. 418)

Dentro de los métodos de extracción estos pueden ser clasificados como métodos de extracción convencionales y métodos de extracción verde. Los métodos convencionales que encontramos son: la maceración, Soxhlet, mientras que los métodos verdes son: extracción asistida por microondas, por ultrasonido y extracción acelerada por solventes. (Cheok et al., 2014: p. 17)

1.13.1. Maceración

La maceración implica un remojo de la planta o material de extracción, este puede encontrarse en polvo o en pedazos gruesos. Se coloca en un recipiente tapado con un disolvente (agua, etanol, acetona, etc.) y se deja reposar a temperatura ambiente durante un período mínimo de 3 días, este método de extracción pretende ablandar y romper la pared celular de la planta para liberar los fitoquímicos solubles. Luego la mezcla del proceso se presiona o se filtra. Este método es considerado el más simple. (Nn, 2015, pp. 3-6)

Dentro de este método hay una clasificación de maceración en frío, maceración con calor y la de maceración por agitación con temperatura. Ambas presentan sus diferentes características extractivas ya que están en juego factores como temperatura, tiempo, contenido del disolvente. (Tartian et al., 2017: p. 2)

1.13.2. Maceración con agitación a temperatura controlada

La maceración con agitación es un método que permite que la materia prima que se desea extraer, se encuentre en movimiento junto con el solvente, esto produce que exista una rotura en la pared celular de la planta liberando así las sustancias de interés, habitualmente se emplea un agitador magnético o un agitador orbital en el cual se puede seleccionar la temperatura de extracción. (Balakrishna et al., 2016: p. 881)

1.13.3. Extracción asistida por microondas

La extracción asistida por microondas, es considerado un método selectivo que favorece a las moléculas polares y disolventes con alta constante dieléctrica. Este método reduce tiempo de extracción y volumen del solvente en comparación con el método de maceración, recuperando mejor los analitos. (Nn, 2015, p. 3)

La extracción asistida por microondas (MAE) es una técnica en la que una muestra utiliza para sus preparaciones energía de microondas para calentar y extraer los ingredientes de interés de muestras en un disolvente. La energía que presenta un microondas es un tipo de energía de radiación sindicalizada causada por iones que migran y rotan de dipolo a dipolo, siendo una onda de alta frecuencia que genera energía rápidamente y aumenta la eficiencia de extracción. Se da movimientos mil millones de veces por segundo repetidamente, lo que ocasiona la vibración de los enlaces químicos, que entran en contacto y reaccionan con las partes activas de las moléculas, obteniendo los componentes que se espera. (Yao et al., 2016: pp. 416-417)

1.13.4. Extracción asistida por ultrasonido

La extracción asistida por ultrasonido (EAU) es un método ideal capaz de producir grandes cantidades de compuesto bioactivos en un tiempo de extracción más corto. Este método de EAU es una técnica económica y eficiente para la separación de compuestos biológicos activos, este método es de mucho interés en lo que corresponde a área biomédicas, creando oportunidades para explorar sus propiedades valiosas. (Maran et al., 2017: p. S1146)

1.14. Purificación

Es un proceso que consiste en la eliminación de impurezas, una mezcla que contiene más de dos componentes de interés, puede ser separado en los componentes puros individuales. Dentro de esto se ha desarrollado un gran número de métodos para realizar esta operación de purificación de mezcla de sustancias. (UNAM, 2012, p. 4)

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO.

2.1. Delimitación del universo de la investigación

Esta investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

- Laboratorio de Productos Naturales
- Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias
- Laboratorio de Investigación del grupo GIPRONAF
- Laboratorio de Química Analítica

2.2. Origen del material

El mojuelo de quinua fue provisto por la planta procesadora de quinua Maquita Cushunchic, aproximadamente 40 kilogramos; la planta procesadora de quinua Maquita Cushunchic, se encuentra ubicada a 13.81 kilómetros de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Coordenadas Geográficas de la planta procesadora de quinua (-1.648533, -78.740003), ubicada en Calpi.

Mapa de la zona proveedoras de la muestra de mojuelo de quinua, el punto rojo muestra la planta procesadora de Maquita Cushunchic.



Figura 1-2: Ubicación de Maquita Cushunchic.

2.3. Materiales

Los materiales, equipos y reactivos utilizado en la parte experimental de la investigación se muestran en las tablas.

Tabla 1-2: Materiales de laboratorio.

Vasos de precipitación de 250 ml	Probetas de 100 ml
Varilla de agitación	Kitasato
Termómetro	Embudo Buchner
Caja de guantes estériles	Papel aluminio
Mascarilla con filtros de carbono	Papel plástico de cocina
Caja de mascarillas	Gafas
Frascos de tapa azul de 250 ml	Papel filtro
Vidrios reloj	Espátula
Frascos ámbar con tapa	Balones de aforo de 100 ml
Balones de aforo de 25 ml	Pipetas graduadas de 1 ml
Pipetas graduadas de 10 ml	Pera de succión
Bandeja de aluminio	Tubos de centrifuga con tapa
Tamiz #20	Pinzas de bureta
Columna cromatográfica pared gruesa con llave de paso tamaño: 457 mm*2 mm	Capilares
Micropipeta de 100 µl	Mortero con pistilo
Balones esmerilados de 100 ml	Tubos de ensayo
Gradilla	Pinza de tubos
Piseta	Papel toalla
Placas de TLC Fluka Silica gel on TLC Al foils Silica gel matrix with fluorescent indicator 254 nm	Tijera
Pipetas pasteur	Vasos de precipitación de 100 ml
Algodón	Caja de fósforo
Puntas amarillas	

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Tabla 2-2: Equipos de laboratorio.

Vortex Gallenkam Spinmix SI.100	HPLC Agilet 1100 series
Estufa Memert SNB 400	Desecador Borde plano 300 mm con tapa y placa de porcelana
Espectrofotómetro UV-VIS S2150UV	Agitador magnético con imán CIMAREC
Baño María Tecnal TE-0541/1	Rotavapor Heidolph-Vap modelo de elevación manual

	con cristalería G1 recubierta diagonal
Reverbero	Horno Microondas MAGGIO MMO720D
Baño ultrasónico BRASONIC 3510R-MTH	Balanza analítica RADWAG modelo AS 220.R2
Estufa con recirculación de aire NABERTHERM TR-240	Centrífuga DYNAC modelo 0101
Espectrofotómetro IR FT/IR-4100 JASCO	

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Tabla 3-2: Reactivos.

Agua bidestilada	Vainillina
Zeolita	Reactivo de Fehling Ay B
Sephadex LH-20	Alcohol
Ácido sulfúrico	Anhídrido acético
Etanol al 96%	Butanol

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

2.4. Diseño del experimento

El diseño de la investigación es un diseño factorial 3^3 , donde se controló las variables: temperatura y tiempo, para determinar el método más eficiente en la extracción de saponinas presente en el mojuelo de quinua.

Tabla 4-2: Método 1. Extracción por maceración por agitación.

	Código	Temperatura °C	Tiempo (min)
5 g de mojuelo de quinua + 100 ml de H ₂ O +350 rpm.	M1-1	30	5
5 g de mojuelo de quinua + 100 ml de H ₂ O+ 350 rpm.	M1-2	40	15
5 g de mojuelo de quinua + 100 ml de H ₂ O+ 350 rpm.	M1-3	50	20

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Tabla 5-2: Método 2. Extracción asistida por Ultrasonido.

	Código	Temperatura °C	Tiempo (min)
5 g de mojuelo de quinua + 100 ml de H ₂ O.	M2-1	30	5

5 g de mojuelo de quinua + 100 ml de H₂O.	M2-2	40	15
5 g de mojuelo de quinua + 100 ml de H₂O.	M2-3	50	20

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Tabla 6-2: Método 3. Extracción por microondas.

	Código	Temperatura °C	Tiempo (min)
5 g de mojuelo de quinua + 100 ml de H₂O + 3 Nivel de potencia.	M3-1	30	5
5 g de mojuelo de quinua + 100 ml de H₂O + 3 Nivel de potencia.	M3-2	40	15
5 g de mojuelo de quinua + 100 ml de H₂O + 3 Nivel de potencia.	M3-3	50	20

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

2.5. Unidad experimental

Las unidades experimentales están constituidas por el número de métodos empleados y por las repeticiones que tendrá cada método de extracción. De esta manera la investigación presenta 3 metodologías distintas de extracción y 3 repeticiones.

2.6. Métodos

2.6.1. Muestra

Se realizó una prueba previa denominada Índice afrosimétrico que representa la cantidad de saponina en una especie vegetal, se realizó en 3 variedades de mojuelo, provenientes de

Maquita Cushunchic, COPROVICH y Bolivia, se seleccionó la muestra con mayor cantidad de saponina.

➤ **Índice afrosimétrico**

Es el número expresado en cm^3 en que está disuelto un gramo de material saponínico para producir espuma de un centímetro de altura en un tubo de 16 mm, que contiene 10 ml de solución. Este método evalúa a la saponina por su propiedad fisicoquímica, de disminuir la tensión superficial, provocando abundante espuma por agitación. (Valencia et al., 2005: p. 34)

Se tomó 0,5 g de mojuelo de quinua en 5ml de agua bidestilada, se procedió a agitar por 5-10 min, se dejó reposar y se midió la altura que alcanzó la espuma en el método realizado. (Mir et al., 2016: p. 172)

2.6.2. Preparación de la muestra

El mojuelo, fue tamizado con un tamiz #20, para la retención de semillas de quinua que se encuentran en la mezcla. El mojuelo de quinua ya tamizado se llevó a una estufa con recirculación de aire a 40°C por 4 horas. Una vez eliminada la humedad se colocó en bolsas plásticas para posteriores pruebas. (Villacis, 2018, p. 32)

2.6.3. Extracción por maceración con agitación

Se pesó en un vaso de precipitación de 250 ml aproximadamente 5 g de mojuelo de quinua, se colocó 100 ml de agua bidestilada. Se llevó a cabo el proceso de maceración con agitación, con ayuda de un agitador magnético a $30-40-50^{\circ}\text{C}$ y a 250-300-350 rpm, se controló la temperatura con ayuda de un termómetro. Se filtró a presión reducida la solución, se colocó en el embudo Bücher papel filtro, zeolita y otro papel filtro para evitar la espuma.

Se colocó 25 ml de etanol en la solución filtrada, esto permitió la precipitación de almidón presente en la solución, por 3 horas. Se llevó la solución a centrifugar para la sedimentación total del almidón, por 6 min a 500 rpm. El almidón restante se colocó en vidrios reloj y se llevó a secar a 40°C. Luego se llevó la solución centrifugada a rotavapor hasta sequedad.

2.6.4. Extracción por ultrasonido

Se pesó en un vaso de precipitación de 250 ml aproximadamente 5 g de mojuelo de quinua, se colocó 100 ml de agua bidestilada. Se llevó a cabo el proceso de extracción por ultrasonido a 5-15-20 min a 30-40-50°C se controló la temperatura con ayuda de un termómetro. Se filtró a presión reducida la solución, se colocó en el embudo Bücher papel filtro, zeolita y otro papel filtro para evitar la espuma.

Se colocó 25 ml de etanol en la solución filtrada, esto permitió la precipitación de almidón presente en la solución, por 3 horas. Se llevó la solución a centrifugar para la sedimentación total del almidón, por 6 min a 500 rpm. El almidón restante se colocó en vidrios reloj y se llevó a secar a 40°C. Luego se llevó la solución centrifugada a rotavapor hasta sequedad.

2.6.5. Extracción por microondas

Se pesó en un frasco de tapa azul de 25 0ml aproximadamente 5 g de mojuelo, se colocó 100 ml de agua bidestilada. Se llevó a cabo el proceso de extracción asistida por microondas, se fijó los parámetros de potencia en el microondas, se seleccionó Power, seguidamente se colocó 3 que expresa el nivel de potencia que se desea, después se seleccionó el botón time para poner el tiempo de radiación de 5-15-20 min finalmente cerrar el horno microondas y se colocó Start.

Se dejó reposar por 15 min luego se colocó en agua fría para disminuir rápidamente la temperatura, para evitar pérdidas de vapores que disminuyen la cantidad de líquido de la muestra.

Se colocó 25 ml de etanol en la solución filtrada, esto permitió la precipitación de almidón presente en la solución, por 3 horas. Se llevó la solución a centrifugar para la sedimentación total del almidón, por 6 min a 500 rpm. El almidón restante se colocó en vidrios reloj y se llevó a secar a 40°C. Luego se llevó la solución centrifugada a rotavapor hasta sequedad.

2.6.6. Cromatografía en TLC de saponinas

Para identificar los compuestos presentes en el mojuelo de quinua, se empleó la técnica cromatografía en capa fina (TLC), se utilizó placas de silica gel y una fase móvil de n-butanol, ácido acético, agua (60:35:15) y como revelador vainillina-H₂SO₄ 5%. Se tomó una pequeña cantidad de crudo de saponina y se disolvió en etanol-agua 80%, con la ayuda de un capilar se sembró en la placa de silica gel y se dejó correr en la fase móvil preparada. Con ayuda de una placa metálica se sometió a calor para su revelado. (Shoji et al., 1976: p. 2207)

2.6.7. Cromatografía en HPLC de saponinas

La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) es un método que proporciona alta resolución y eficacia en el análisis de especies vegetales. (Talreja et al., 2017: p. 89)

➤ Condiciones para el método por HPLC

Para el análisis de saponinas por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) se siguió la metodología desarrollada por Lozano Martha y sus colaboradores en su artículo “Cuantificación de saponinas en residuos de quinua real *CHENOPODIUM QUINOA WILLD*” (Lozano et al., 2012: p. 137)

Se trabajó con una columna C18 de 4 mm *125 mm, luego se inyectó un volumen de 15µl de muestra concentrada a 100 ppm de saponina purificada. Se empleó Acetonitrilo al 100% como solvente con un flujo constante de 2.0 ml/min durante 6 min, a una temperatura de 37°C y λ=220 nm. (Lozano et al., 2012: p. 137)

2.6.8. Tamizaje fitoquímico

Se identificó de los siguientes metabolitos:

- Saponinas
- Triterpenoide y esteroides
- Azúcares
- Almidón

a) **Ensayo de espuma**

Se tomó 0,5 mg de crudo de saponina y 5 ml de agua bidestilada, se agitó vigorosamente por 30 s. El ensayo es positivo si aparece espuma en la superficie del líquido y persiste por más de 2 min. (Lozano et al., 2012: p. 133)

b) **Ensayo de Liebermann-Burchard**

Se preparó el reactivo de Liebermann-Burchard, ácido sulfúrico con anhídrido acético (1:5) se considera que la reacción que se produce es exotérmica y se preparó en un baño de hielo, se consideró positivo si presenta tonalidades que van desde rojo, azul o verde. (Rojas et al., 2009: p. 164) luego se disolvió 0,5 g del crudo de saponina en etanol-agua al 80%, se colocó 1-2 ml de la solución en un tubo de ensayo y se coloca 2 ml del reactivo de color.

c) **Ensayo de Fehling**

Se utilizó para identificar azúcares reductores, la solución de Fehling A que es sulfato de cobre (II) pentahidratado y Fehling B solución de tartrato de potasio sódico tetra hidratado, la mezcla de los dos presentó un color azul intenso. Se disolvió 0,5 g del crudo de saponina en etanol-agua al 80% luego en un tubo de ensayo se colocó 1-2 ml de la solución y se coloca 2 ml de Fehling A y B, se sometió a calor en un baño maría de 5 a 10 min, siendo una prueba positiva al tener una tonalidad de color ladrillo. (Kunz et al., 2011: p. 63)

d) **Prueba de Yodo**

La prueba de yodo o conocida como Lugol se emplea habitualmente para la identificación de almidón presente en algunas plantas, dentro de esta prueba se tomó una pequeña cantidad del sólido que resultó del proceso de centrifugación y se colocó de 2-3 gotas de Lugol, dando como prueba positiva un color negro o violeta oscuro. (García, 2016, p. 27) (Martínez et al., 2015: p. 292)

2.6.9. Purificación de saponinas

Se utilizó una columna cromatográfica de 457 mm por 2 mm, se pesó 1,5g de Sephadex LH-20 y se hidrató en 15 ml de acetona, se dejó reposar por 4 h aproximadamente, luego se realizó el empaquetamiento en la columna cromatográfica con cuidado y se esperó 24 h para su total empaquetamiento con Sephadex LH-20 hidratado. Se preparó la solución con 0,25 g de crudo de saponina disuelto en 25 ml de acetona, se colocó en la columna cromatográfica y con ayuda de una pipeta pasteur, se adicionó 10 ml de acetona evitando que se seque la columna ya empaquetada. Se recogió 100 fracciones en tubos de ensayo, luego se juntó las fracciones idénticas que con ayuda de cromatografía en capa fina (TLC) se identificó y luego se llevó a rotavapor hasta sequedad. Se guardó las fracciones ya secas, en frascos ámbar, etiquetados con su peso y número de fracción recogida. Luego se guardó en un desecador para mantenerlos fuera de la humedad. (Cicek et al., 2009: p. 2)

2.6.10. Cuantificación en Espectrofotometría UV-VIS

Se llevó a cabo la cuantificación de saponina realizándose una curva de calibración, con la saponina purificada por cromatografía en columna. Se pesó 0,10 g de saponina purificada y se disolvió en 10 ml de etanol-agua 80%, se tomó volúmenes de 100, 150, 200, 500, 800,1000 y se aforó con la misma solución a 25 ml. Para llevar a cabo este proceso se tomó como reactivo de color Vainillina 4%-Ácido Sulfúrico72%. (Le et al., 2018b: p. 2)

Se tomó 0,5 ml de la muestra y se sometió a baño maría por 15 min a 60°C, transcurrido el tiempo se colocó 0,5 ml de vainillina al 4% y 2,5 ml de ácido sulfúrico al 72%, se llevó por otros 15 min a baño maría y luego por 5min a un baño de agua al ambiente. Se fijó la longitud de onda a 560 nm. Luego se colocó en la celda de cuarzo la solución con el reactivo de color y se anotó las absorbancias que el equipo mostró. (Le et al., 2018b: p. 2)

2.7.Método estadístico

Los datos obtenidos se presentaron como medio de tres determinaciones repetidas \pm desviación estándar. Se realizaron análisis de varianza para comparar las medias con ANOVA y prueba de Test de Tukey ($p < 0,05$), utilizando el software estadístico IBM SPSS Statistics 23.

Para evaluar el diseño factorial 3^3 se utilizó el mismo software para el tratamiento estadístico de los resultados.

CAPÍTULO III

3. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

3.1. Elección de la muestra de mojuelo de quinua por el Índice afrosimétrico.

Para definir la muestra a estudiar se trabajó con tres muestras de mojuelo de COPROVICH, Maquita Cushunchic y una muestra de Bolivia de quinua roja.

Se empleó el Índice afrosimétrico a continuación se muestra en la Tabla 1-1 los resultados obtenidos.

Tabla 1-3: Resultados del Índice Afrosimétrico.

Muestra	Altura de la espuma	Promedio	Saponina % por peso
M.C.1	3,9	3,60±0,3	41,92
M.C.2	3,6		
M.C.3	3,3		
CB.1	1,3	1,10±0,2	11,66
CB.2	0,9		
CB.3	1,1		
B.1	2,2	2,33±0,3	25,95
B.2	2,1		
B.3	2,7		

± desviación estándar

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

De acuerdo con la Norma INEN 1672 (INEN, 1988) se realizaron los cálculos para la obtención del % de saponina presente en el mojuelo de Maquita Cushunchic, el de COPROVICH y el de Bolivia:

$$\% \text{ saponinas} = \frac{(0,646x h) - 0,104}{m x 10}$$

Ecuación 1-3: Determinación de % saponinas.

Fuente:(INEN, 1988, p. 2)

Siendo:

h= altura de la espuma, cm.

m= masa de la muestra de mojuelo, g

Fuente: Guilcapi Verónica,
2019

Fuente: Guilcapi Verónica,
2019

Fuente: Guilcapi Verónica,
2019

Fuente: Guilcapi Verónica,
2019

Como se observa en la Tabla 1-3 el mojuelo de Maquita Cushunchic presentó un 41,92% del contenido de saponina, el de COPROVICH presentó un 11,66% y Bolivia un 25,95%. Los resultados obtenidos son similares a los del estudio realizado por (Lozano et al., 2012: p. 128) que presenta un porcentaje de saponinas en el mojuelo de 17,3% hasta 22,1% con ciertas variaciones de especie de mojuelo de quinua logrando alcanzar hasta un porcentaje entre 47,3% y 56,2%.

En la Figura 4-3 se observa que en el mojuelo de Bolivia el tiempo de duración de espuma es corto a comparación a los otros, tal y como se muestra en las Figuras 1-3,2-3 y 3-3. Esto pudo deberse a las características que presentó cada mojuelo, el de Maquita Cushunchic es más limpio y presentó pocos granos de quinua dañados, el de COPROVICH presentó impurezas y más cantidad de granos de quinua dañados y el de Bolivia no presentó ni impurezas ni granos de quinua y además presenta un color rojo característico.

3.2. Análisis del método de extracción

Para la extracción del mojuelo de quinua, se realizó una prueba previa con una temperatura de 70°C en un tiempo de 30 min, debido a la presencia de almidón la solución aumentó su viscosidad dando lugar a dificultar su extracción, por tal razón se establecen temperaturas de 30-40-50°C y tiempos cortos de 5-15-20 min.

Los tres métodos empleados para la extracción de saponina en el mojuelo de quinua tienen una variación en su metodología, ya que según (Suárez y Carrillo, 2013: p. 95) se emplea mezclas alcohólicas o hidroalcohólicas, para extraer los metabolitos de las especies vegetales. La investigación empleó agua bidestilada como solvente para los tres métodos, no solo por su bajo costo, sino también porque tenemos mejores rendimientos de extracción de saponina solo con agua.

Sin embargo se explica que las mezclas alcohólicas o hidroalcohólicas presentan reacciones con el grupo ácido, ya que en la estructura de la saponina está presente el ácido oleanólico de esta manera se forman ésteres, que representa un bajo rendimiento en extracciones con solventes alcohólicos o hidroalcohólicos. (Ballesteros et al., 2014: p. 1327) menciona en su estudio que para extracciones de saponinas el agua es un excelente solvente, ayuda a formar las estructuras de glicósidos con mayor facilidad y sin que exista segundas reacciones.

(Cahyo et al., 2009: p. 307) menciona que el agua a ser empleado en extracciones vegetales, ayuda a que se produzca un arrastre total de todas aquellas sustancias polares con la que puede tener afinidad como en este caso las saponinas, teniendo así la presencia de varios grupos funcionales en su estructura.

3.2.1. Maceración asistida por agitación

Tabla 2-3: Resultados del rendimiento de crudo de saponina por Maceración asistida por agitación (M1).

Método 1	Tiempo (min)	Temperatura °C	rpm	Mojuelo de quinua (g)*	Crudo de saponina extraído (g)**	% Rendimiento de crudo de saponina
	5	30	350	5,0003	1,7873	35,74± 0,01
	15	30	350	5,0005	1,7899	35,79± 0,01
	20	30	350	5,0006	1,8898	37,79± 0,01
	5	40	350	5,0001	1,5563	31,13± 0,01
	15	40	350	5,0003	1,6325	32,65± 0,02
	20	40	350	5,0005	1,7701	35,40± 0,02
	5	50	350	5,0002	1,3573	27,15± 0,02
	15	50	350	5,0003	1,4446	28,89± 0,01
	20	50	350	5,0005	1,5021	30,04± 0,01

* representa la desviación estándar del mojuelo de quinua ± 0,00

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

± desviación estándar

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Se realizó los cálculos para el rendimiento de crudo de saponina:

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

Ecuación 2-3: % Rendimiento de crudo de saponina.

Fuente:(Flores et al., 2013: p. 50)

Como se muestra en la Tabla 2-3 en el método de maceración asistida por agitación (M1), se trabajó con dos variables que en este caso fueron, las temperaturas de 30-40-50°C y los tiempos 5-15-20 min a 350 rpm, aplicando un diseño factorial de 3² con un total de 9 ensayos. Mostrando las combinaciones posibles de temperatura con el tiempo. Se observó que el mejor rendimiento del crudo de saponina obtenido por el M1 es de 37,79% en condiciones de 30°C y a un tiempo de 20 min.

Como (Pandey y Tripathi, 2014: p. 117) menciona en sus estudios para la extracción por maceración asistida por agitación las mejores condiciones son a temperatura baja o incluso al ambiente y en

tiempos de 20 a 30 min, esto ayuda a que si se trabaja con agua, no retenga almidón y por lo tanto se extraiga el metabolito de interés.

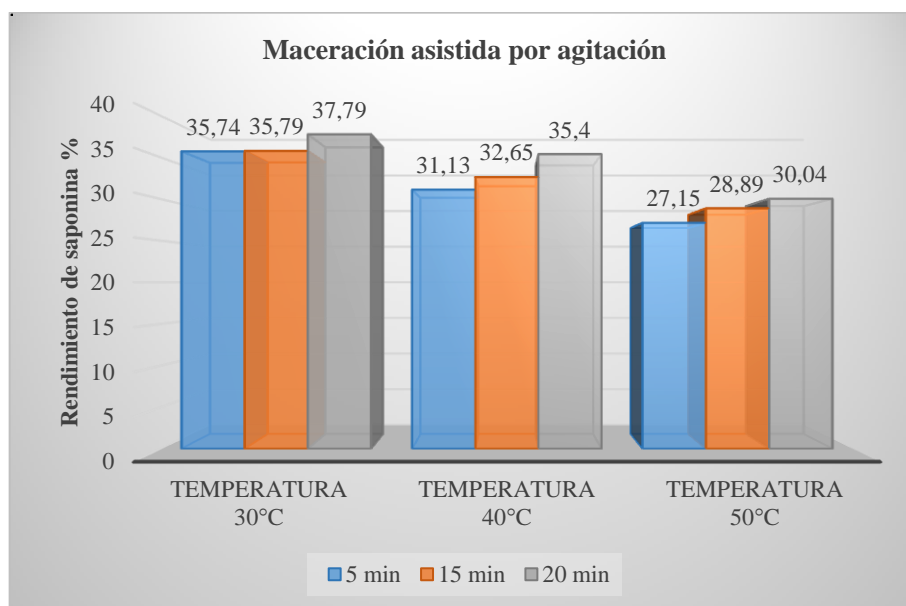


Gráfico 1-3: Extracción con Maceración asistida por agitación (M1).

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

En el Gráfico 1-3 se identifica que la temperatura y el tiempo si influyen en la cantidad de saponina extraída en el mojuelo de quinua, la cantidad promedio de saponina extraída disminuye a medida que aumenta la temperatura en los tres distintos lapsos de tiempo. Finalmente la cantidad promedio de saponina extraída aumenta a medida que se aumenta la cantidad de tiempo para los tres tipos de temperaturas.

Tabla 3-3: ANOVA del método por maceración asistido por agitación.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Temperatura	2	0,679752	0,339876	1,14708E+08	0,000
Tiempo	2	0,109037	0,054518	18399971,38	0,000
Temperatura*Tiempo	4	0,013762	0,003441	1161185,75	0,000
Error	18	0,000000	0,000000		
Total	26	0,802551			

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

En la Tabla 3-3 se puede observar los valores obtenidos por el test ANOVA, que indica que los datos de tiempo y temperatura, es menor al nivel de significancia por lo que se rechaza la hipótesis nula, concluyendo que la temperatura y el tiempo influyen en la cantidad de crudo de saponina extraída, por el método con maceración asistido por agitación (M1), existiendo diferencias estadísticamente significativas se realiza el test de Tukey.

Tabla 4-3: Test Tukey para el método por maceración asistido por agitación (M1).

Test: Tukey				Alfa= 0.05										
Temperatura*Tiempo	N	Media	E. E	Agrupación										
30 20	3	1,88980	0.00	A										
30 15	3	1,78987	0.00		B									
30 5	3	1,78733	0.00			C								
40 20	3	1,77007	0.00				D							
40 15	3	1,63247	0.00					E						
40 5	3	1,55633	0.00						F					
50 20	3	1,50213	0.00							G				
50 15	3	1,44463	0.00								H			
50 5	3	1,35733	0.00									I		

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Como muestra la Tabla 4-3 las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, los resultados obtenidos están en relación con el número de interacciones entre las diferentes temperaturas y los tiempos, de esta manera la media de cada interacción muestra que hay diferencias significativas en todas las muestras, es decir que la cantidad de crudo de saponina extraído va a depender de cada una de las variables.

3.2.2. Extracción asistida por ultrasonido

Tabla 5-3: Rendimiento de crudo de saponina por Ultrasonido (M2).

Método	Tiempo (min)	Temperatura °C	Mojuelo de quinua (g)*	Crudo de saponina extraído (g)**	% Rendimiento de crudo de saponina
2	5	30	5,0002	2,2989	45,98± 0,02
	15	30	5,0004	2,1755	43,51± 0,01
	20	30	5,0005	2,3241	46,48± 0,01
	5	40	5,0008	2,1583	43,16± 0,02
	15	40	5,0005	2,2699	45,39± 0,02
	20	40	5,0006	2,1375	42,74± 0,01
	5	50	5,0004	1,9898	39,79± 0,02
	15	50	5,0008	1,8964	37,92± 0,01
	20	50	5,0008	1,9986	39,97± 0,02

* representa la desviación estándar del mojuelo de quinua ± 0,00

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

± desviación estándar

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Como se muestra en la Tabla 3-3 en el caso de la extracción asistida por ultrasonido (M2), se trabajó con un diseño factorial 3² con un total de 9 ensayos, donde se realizó las combinaciones de tiempo y temperatura, las mejores condiciones que presentó un rendimiento de crudo de saponina fueron a 30°C y a un tiempo de 20 min con un rendimiento de 46,48% de crudo de saponina.

Este método de extracción según (Cares et al., 2010: p. 174) menciona que los rendimiento de la extracción por ultrasonido, aumentaron significativamente con el período de sonicación de 10 a 30 min y que la temperatura adecuada esta entre 20°C y 40°C. Además los estudios realizados por (Le et al., 2018: p. 3) muestra que la extracción por EAU emplearon solo agua por ser el mejor disolvente.

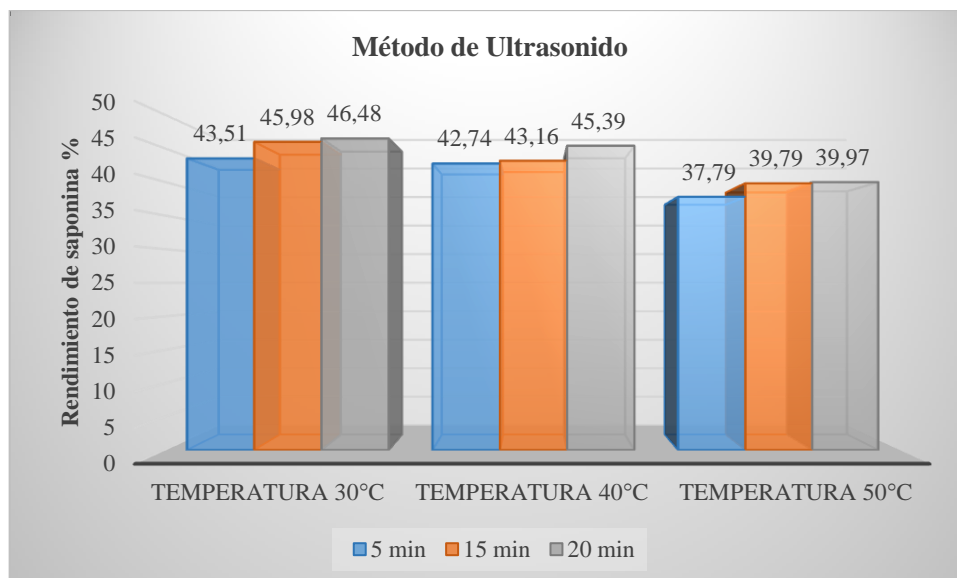


Gráfico 2-3: Extracción asistida por Ultrasonido (M2).

Realizado por: Verónica Guilcapi, 2019

Analizando el Gráfico 2-3 se identifica que la temperatura y el tiempo si influyen en la cantidad de crudo de saponina extraída por ultrasonido (M2), la cantidad promedio de crudo de saponina extraída disminuyen a medida que se aumenta la temperatura. Se tiene un excelente rendimiento a condiciones de 30°C a un tiempo de 20 min con un rendimiento de 46,48%.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tiempo	2	0,008423	0,004212	1421409,13	0,000
Temperatura	2	0,450834	0,225417	76078254,50	0,000
Temperatura*Tiempo	4	0,079162	0,019790	6679291,63	0,000
Error	18	0,000000	0,000000		
Total	26	0,538419			

Tabla 6-3: ANOVA de la extracción asistida por ultrasonido (M2).

Realizado por: Verónica Guilcapi, 2019

La Tabla 6-3 se puede observar los valores obtenidos por el test ANOVA, que indica que los datos de tiempo y temperatura, es menor al nivel de significancia rechazando la hipótesis nula por lo que se concluye que la temperatura y el tiempo influyen en la cantidad de crudo de saponina extraída, por el método asistido por ultrasonido (M2), existiendo diferencias estadísticamente significativas se realiza el test de Tukey.

Tabla 7-3: Test Tukey para el método asistido por ultrasonido (M2).

Test: Tukey				Alfa= 0.05													
Temperatura*Tiempo	N	Media	E. E	Agrupación													
30 20	3	2,32407	0.00	A													
30 5	3	2,29893	0.00		B												
40 15	3	2,26987	0.00			C											
30 15	3	2,17553	0.00				D										
40 5	3	2,15833	0.00					E									
40 20	3	2,13747	0.00						F								
50 20	3	1,99863	0.00							G							
50 5	3	1,98983	0.00								H						
50 15	3	1,89640	0.00														I

Realizado por: Verónica Guilcapi, 2019

Como muestra la Tabla 7-3 las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, los resultados obtenidos están en relación con el número de interacciones entre las diferentes temperaturas y los tiempos, de esta manera la media de cada interacción muestra que hay diferencias significativas en todas las muestras, es decir que la cantidad de crudo de saponina extraído va a depender de cada una de las variables.

3.2.3. Extracción asistida por microondas

Tabla 8-3: Rendimiento de crudo de saponina por Microondas (M3).

Método	Tiempo (min)	Temperatura °C	Nivel de Potencia	Mojuelo de quinua (g) *	Crudo de saponina extraído (g) **	% Rendimiento de crudo de saponina
3	5	30	3	5,0005	2,3247	46,49 ± 0,02
	15	30	3	5,0006	2,4021	48,04± 0,01
	20	30	3	5,0008	2,4627	49,25± 0,01
	5	40	3	5,0006	2,4014	48,02± 0,01
	15	40	3	5,0008	2,4096	48,18± 0,02
	20	40	3	5,0008	2,4110	48,21± 0,02
	5	50	3	5,0004	2,0226	40,45± 0,02
	15	50	3	5,0008	2,0117	40,23± 0,01
	20	50	3	5,0008	2,0089	40,17± 0,02

* representa la desviación estándar del mojuelo de quinua ± 0,00

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

± desviación estándar

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

En la Tabla 4-3 muestra los rendimientos obtenidos por el método de extracción asistido por microondas (M3), donde muestra el diseño factorial, teniendo dos factores temperatura y tiempo ya que el nivel de potencia es el mismo para los tratamientos aplicado, se tuvo un total de 9 resultados del rendimiento del crudo de saponina, presentó mejores resultados en condiciones de 30°C y un tiempo de 20 min como los anteriores métodos ya descritos donde.

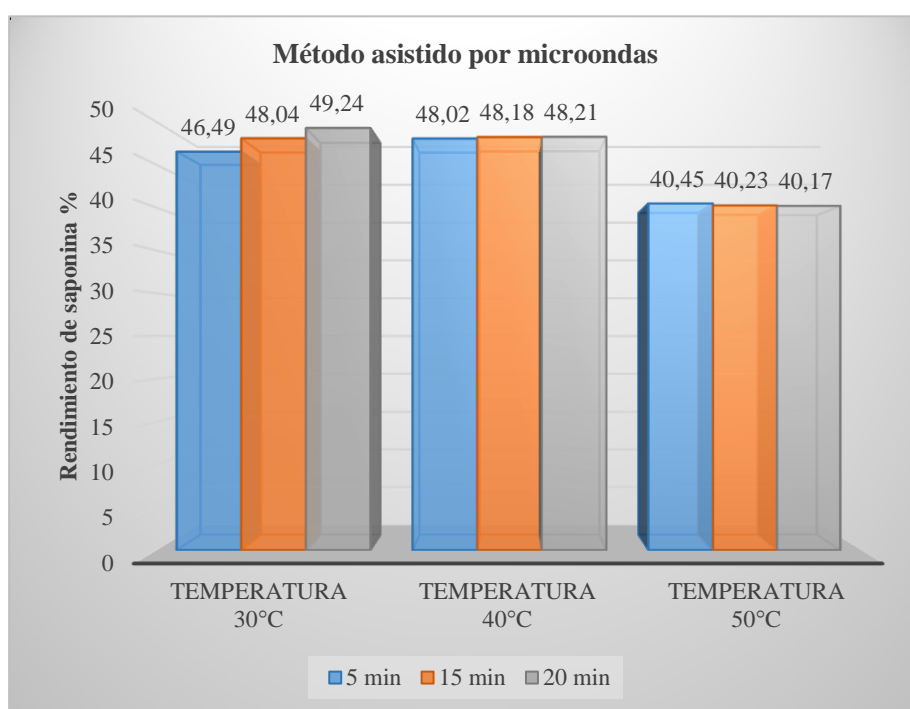
Se obtuvo un 49,25 % de crudo de saponina de mojuelo de quinua en la extracción asistida por microondas (M3).

Gráfico 3-3:
Extracción asistida por Microondas (M3).

Realizado por:
Verónica
Guilcapi, 2019

Analizando el Gráfico 3-3

aparentemente se



identifica que no existe influencia significativa del tiempo en la cantidad de extracción de crudo de saponina por el método asistido por microonda (M3). Existe diferencia significativa en la cantidad promedio de crudo de saponina aplicando las temperaturas 30°C y 50°C. Aplicando la temperatura de 40°C el promedio es igual en los tres niveles de tiempo.

Tabla 9-3: ANOVA del método asistido por microondas (M3).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tiempo	2	0,009009	0,004504	1520200,50	0,000
Temperatura	2	0,901622	0,450811	1,52149E+08	0,000
Temperatura*Tiempo	4	0,020184	0,005046	1703057,25	0,000

Error	18	0,000000	0,000000		
Total	26	0,930815			

Realizado por: Verónica Guilcapi, 2019

En la Tabla 9-3 muestra que el valor p es menor que el nivel de significancia se rechaza la hipótesis nula concluyendo que la temperatura y el tiempo influyen en la cantidad de crudo de saponina extraída del mojuelo de quinua por el método asistido por microondas (M3) existiendo diferencias estadísticamente significativas se realiza el test de Tukey.

Tabla 10-3: Test Tukey para el método asistido por microondas (M3).

Test: Tukey				Alfa= 0.05																
Temperatura*Tiempo	N	Media	E. E	Agrupación																
30 20	3	2,46273	0.00	A																
40 20	3	2,41103	0.00		B															
40 15	3	2,40957	0.00			C														
30 15	3	2,40207	0.00				D													
40 5	3	2,40143	0.00					E												
30 5	3	2,32470	0.00						F											
50 5	3	2,02257	0.00							G										
50 15	3	2,01173	0.00								H									
50 20	3	2,00887	0.00									I								

Realizado por: Verónica Guilcapi, 2019

Como muestra la Tabla 10-3 las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes, los resultados obtenidos están en relación con el número de interacciones entre las diferentes temperaturas y los tiempos, de esta manera la media de cada interacción muestra que hay diferencias significativas en todas las muestras, es decir que la cantidad de crudo de saponina extraído va a depender de cada una de las variables.

3.3. Método de extracción eficiente.

El método que presentó mejores resultados fue el de extracción asistida por microondas en condiciones de 30°C y en un tiempo estimado de 20 min, en relación con los otros dos métodos empleados. Según (Waziroh et al., 2018, p. 4) que explica cómo funciona este método, el proceso estudiado por microondas ayuda a destruir el tejido celular, además que tiene la ventaja que reduce el volumen de disolvente, menor consumo de tiempo y proporciona un mayor rendimiento de muestra.

(Bai et al., 2007: p. 175) menciona que la rotación dipolar que se produce en el sistema acelera la aparición de colisiones entre las moléculas del soluto y disolvente lo que presenta una modificación celular, teniendo un rendimiento eficiente por parte del método asistido por microondas (M3).

Tabla 11-3: ANOVA del diseño factorial 3³.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Método	2	6,07204	3,03602	1,02466E+09	0,000
Temperatura	2	1,91238	0,95619	3,22713E+08	0,000
Tiempo	2	0,06793	0,03397	11463616,67	0,000
Método*Temperatura	4	0,11983	0,02996	10110785,42	0,000
Método*Tiempo	4	0,05854	0,01463	4938982,17	0,000
Temperatura*Tiempo	4	0,02935	0,00734	2476714,79	0,000
Método*Temperatura*Tiempo	8	0,08375	0,01047	3533409,92	0,000
Error	54	0,00000	0,00000		
Total	80	8,34383			

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

La tabla 5-3 muestra el ANOVA del diseño factorial 3³, donde los factores métodos, temperatura y tiempo, presentan un p-valor menor a 0.05, lo que demuestra que existen diferencias significativas tanto en los métodos empleados, el tiempo y la temperatura que influyen en el rendimiento obtenido de crudo de saponina.

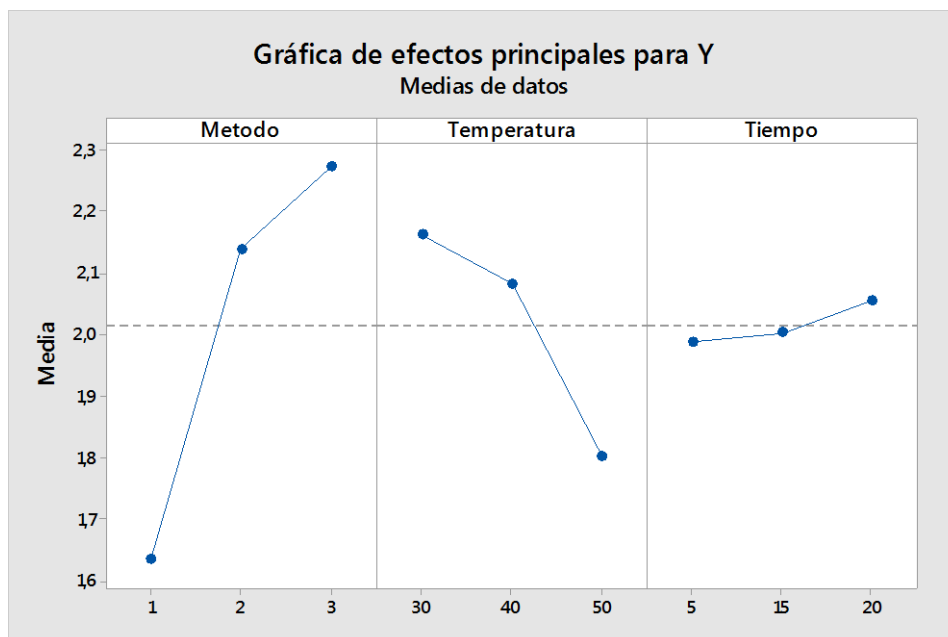


Gráfico 4-3: Interacción entre las variables.

Realizado por: Verónica Guilcapi, 2019

Se puede corroborar con ayuda del Gráfico 4-3 que los efectos de temperatura, tiempo y el método empleo están interrelacionados de manera que se observa que en el caso del método empleado los mejores resultados se encuentran en el método de extracción asistida por microondas (M3), con respecto a la temperatura esta presenta mejores condiciones a unos 30°C y menores a 50°C y finalmente el tiempo está estrechamente relacionado de manera que en intervalos de tiempos cortos los rendimiento de saponinas presentan valores altos.

3.4. Detección de saponinas por cromatografía en capa fina (TLC).

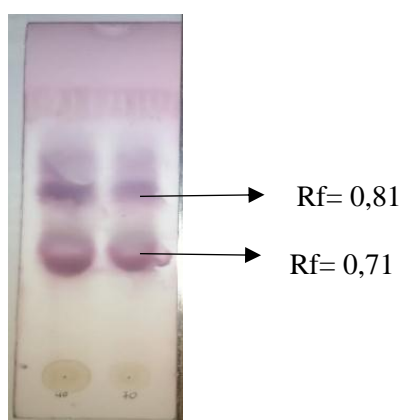


Figura 2-3: TLC del crudo de saponina.

Fuente: Guilcapi Verónica, 2019

El sistema empleado para TLC fue n-butanol, ácido acético y agua (60:35:15) y como revelador vainillina-H₂SO₄ 5%, posterior al calentamiento de la placa a 120°C por 20 min, sobre una placa metálica, se observó claramente las manchas de color violeta. (Soltani et al., 2014: p. 45) menciona que estos solventes debido a su alta polaridad, permiten la mejor separación de las saponinas presentes en una especie vegetal

El revelador de vainillina- H₂SO₄ es el mejor considerado, debido a que al tratar solamente con Liebermann-Burchard como revelador este quema completamente la placa cromatográfica por dos razones: la primera que como la extracción fue realizada en agua al estar en presencia con el reactivo de Liebermann-Burchard se da una reacción muy violenta y la segunda razón es debido a la cantidad de ácido que presenta el reactivo de color.

(Moghimpour y Handali, 2015:p. 212) menciona que las condiciones más adecuadas para una placa cromatográfica al ser sometida a calor son temperaturas entre 100-120°C, por un tiempo de 10-20 min, teniendo excelentes resultados de presencia de los compuestos de interés.

El Rf determinado para la Figura 5-3 fue para la primera mancha con un Rf= 0,71 y la segunda mancha con un Rf= 0,81 correspondientes a las saponinas presentes en la muestra corroborado con los estudios de (Biradar y Rachetti, 2013: p. 246) y (Agha, 2018, p. 503) que presentan Rf= 0,70 y Rf= 0,80 para compuestos polares característicos de la saponina

3.5. Caracterización de la saponina obtenida

Tabla 12-3: Características organolépticas y fisicoquímicas del crudo de saponina obtenido del mojuelo de quinua.

Metabolito	Saponina
Aspecto	Sólido
Color	Marrón
Olor	Inodoro
pH	6,92
Humedad	13,81%

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Se obtuvo una saponina completamente sólida, con un color marrón no presentó olor alguno.

Se tomó el pH de las muestras de los diferentes métodos teniendo un pH promedio de 6,92 siendo ligeramente ácido, con valores oscilantes entre 6,89 y 7,02.

Su humedad se encuentra en 13,81% que se encuentra en los rangos estimados que van desde 10 hasta 15% como lo menciona (Castilla et al., 2016:p. 265).

3.6. Tamizaje fitoquímico del crudo de saponina

Tabla 13-3: Resultados del tamizaje fitoquímico a la solución acuosa del crudo de saponina.

Metabolito	Ensayo	Resultado
Triterpenos y/o esteroides	Liebermann Burchard	+++
Saponina	Espuma	+++
Azúcares reductores	Fehling	++
Almidón	Yodo	+++

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Donde:

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

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

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

La reacción de Liebermann Burchard se empleó para diferencia si se tenía una estructura esteroidal o triterpénica (Rojas et al., 2009: p. 164) de esta manera se observó una coloración que va desde rojo a verde y púrpura cuando la reacción ya ha finalizado, de esta manera se tiene como resultado un compuesto triterpénico, resultado que es correcto y sustentado en bibliografía que cuya coloración es representativa de saponinas triterpénicas, aunque se desconoce su estructura definida de la saponina.

Concluyendo que los metabolitos más representativos en el mojuelo de quinua son: triterpénos, saponinas, azúcares reductores y almidón siendo corroborado con la investigación de (Valencia et al., 2017: p. 18)

Según (Xiong et al., 2007: p. 88) el ensayo de Lieberman Burchard indica que si el ensayo se realiza en una muestra que solo contiene agua, va a dar como resultado una reacción violenta que puede causarnos algún daño si no tenemos cuidado, para ello recomienda que la muestra este disuelta en una cierta cantidad de alcohol-agua, para llevar con tranquilidad el ensayo.

3.7. Purificación del crudo de saponina

Se separó una cromatografía por exclusión de tamaño como fase estacionaria se empleó Sephadex LH-20, se recogió 100 fracciones como resultado de la purificación, se partió de 0,25 g de crudo de saponina disuelto en 25 ml de acetona, dichas fracciones se agruparon de acuerdo con el resultado de TLC (se empleó las mismas condiciones para la TLC del crudo de saponina) como se muestra en la Figura.7-3 Cabe mencionar que las primeras fracciones desde el N°1 hasta la N°3, son residuos de acetona que no arrastraron los metabolitos de la muestra.

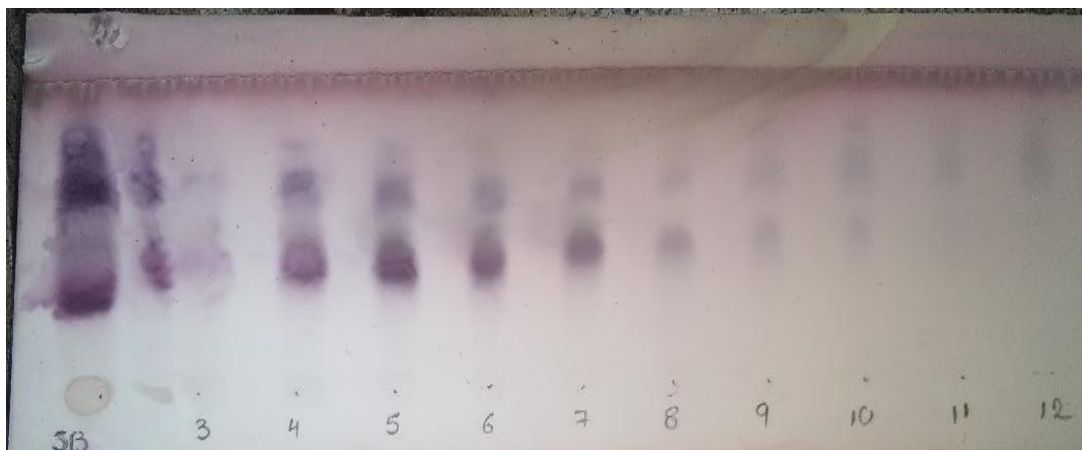


Figura 3-3: Cromatografía en capa fina del purificado de saponina.

Fuente: Guilcapi Verónica, 2019

La metodología de purificación con cromatografía por exclusión de tamaño empleando como fase estacionaria Sephadex LH-20 mencionada anteriormente, permitió primero la salida de las moléculas de mayor tamaño, lo que permitió primero la salida de saponinas debido a su alto

peso molecular, continuamente salieron el resto de las moléculas que poseen menor peso molecular.

Tabla 14-3: Resultados de las fracciones recolectadas de Sephadex LH-20.

Fracciones	Peso (g)
N°4 hasta N°11	0,1520 g
N°13 hasta N°21	0,0090g
N°24 hasta N°32	0,0028g
N°35 hasta N°43	0,0013g
N°46 hasta N°53	0,0009g
N°54 hasta N°69	0,0005g

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Se juntaron las fracciones idénticas según los resultados obtenidos por TLC, la mayor fracción que se obtuvo fue la N°4 hasta N°11 con un peso de 0,1520g, se reservó para el análisis cualitativo en HPLC y cuantitativo en Espectrofotometría UV-VIS.

Estos resultados son corroborados por (Zhao et al., 2012, p. 3290) que menciona en su estudio que obtuvo 6 fracciones, las primeras fracciones corresponde a un compuesto glucósido como son las saponinas y desde la fracción N°55 corresponde a metabolitos como flavonoides, la mayor cantidad recolectada fue de 0,205g. A su vez los resultados los corroboró con el estudio realizado por (Kudou et al., 1998: p. 2293) donde describe que la presencia de saponina en las primeras fracciones son saponinas del tipo monodesmosídicas, que contienen una cadena de azúcar ligada al éter en la posición 3.

3.8. Análisis cualitativo de saponina por HPLC

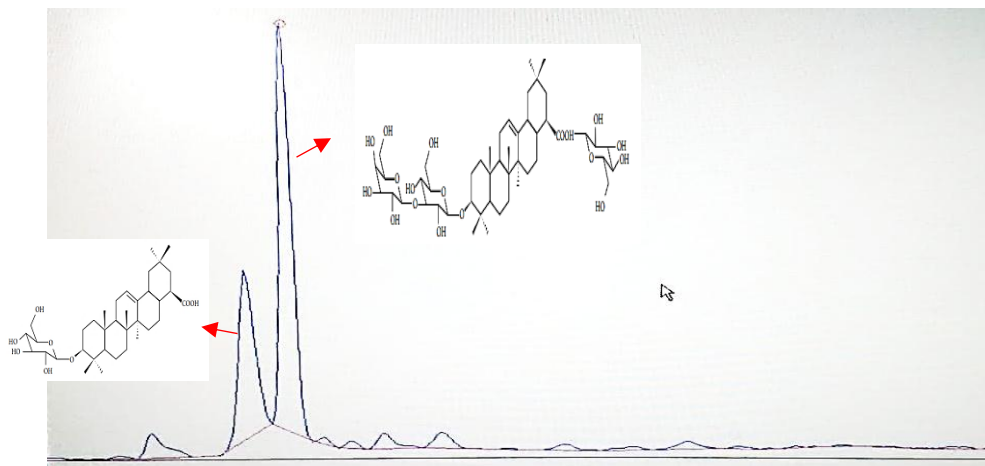


Figura 4-3: Cromatograma del purificado de saponina.

Fuente: Guilcapi Verónica, 2019

La muestra que se empleó para el análisis en HPLC, fue de la saponina purificada por cromatografía de exclusión de tamaño la fracción empleada fue la N°4 hasta las N°11 con un peso de 0, 1520g. Se tomó una muestra de 0,0010g, aforado en 10 ml de la solución de agua-etanol 80%, que representan 100 ppm.

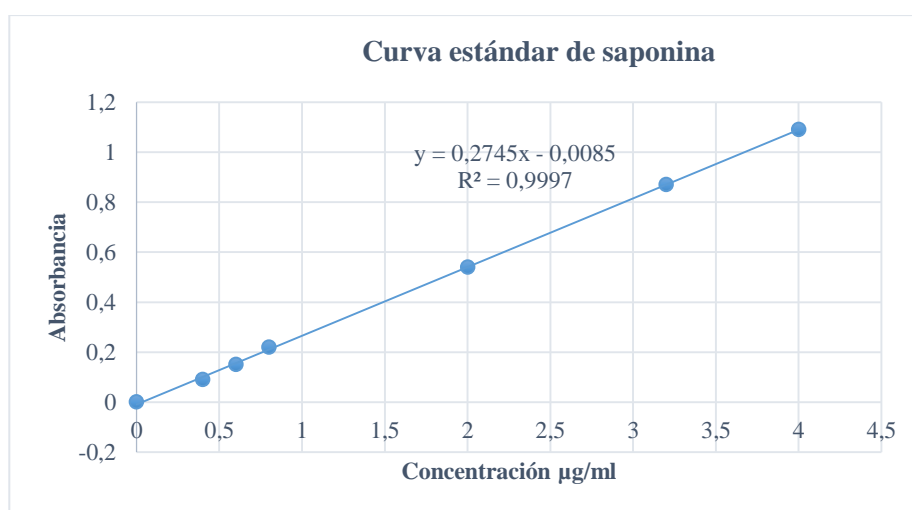
En cromatografía líquida de alta resolución HPLC se determinó dos picos muy representativos y característicos de la saponina que se muestra en la Figura 8-3 con tiempos de retención de tR1: 1.050 min con una área: 434,4755 y tR2: 2.033 min con una área: 597,3060 que son corroborado con las investigaciones de (Chen et al., 2007: p. 275) y (Oleszek y Jurzysta, 1990: p. 115) presentó el mismo cromatograma con tiempos similares y áreas cercanas. Donde determinan que los picos corresponden a una saponina monodesmosídica el pico pequeño y bidesmosídica el pico más representativo.

3.9. Cuantificación de saponina por Espectrofotometría UV-VIS

La cantidad de saponina extraída por los diferentes métodos se determinó mediante la técnica espectrofotométrica, el principio de la metodología es la reacción de las saponinas triterpénicas

con la Vainillina y Ácido Sulfúrico. Al emplear el propuesto por ciertas bibliografías del reactivo de color de Liebermann-Burchard ocurre una reacción violenta y no presenta cambio de coloración. (Le et al., 2018c: p. 4)

Se utilizó como estándar el purificado de saponina que se obtuvo por cromatografía de exclusión por tamaño, se empleó la fracción con mayor peso que fue la de 0, 2520 g. Se tomo 0,10g aforado en un balón de 10 ml con una solución de agua-etanol 80%, teniendo una solución de 100 ppm.



Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Gráfico 5-3: Curva de calibración estándar de saponina.

Se tiene la relación lineal $y = 0,2745x - 0,0085$ donde el $R^2 = 0,9997$, el C_x (mg/ ml) como se muestra en la Ecuación 3-3 que es la concentración de saponina triterpenoides en la solución colorimétrica, b el intercepto, m la pendiente y Abs es la absorbancia en el VIS 560 nm.

$$C_x = \frac{Abs - b}{m}$$

Ecuación 3-3: Concentración de saponinas triterpenoides en la solución colorimétrica.

Fuente: (Rojas et al., 2015: p. 80)

El contenido total de saponina se calculó de acuerdo con la Ecuación 4-3:

$$\% \text{ Saponina} = \frac{C_x}{C \text{ muestra}}$$

Ecuación 4-3: % Saponina por espectrofotometría UV-VIS.

Fuente: (García et al., 2018: p. 77)

Donde:

Cx = a la concentración de saponina en la solución colorimétrica.

C muestra = concentración del crudo de saponina extraído por el método.

Tabla 15-
Resultados
% de
saponina

Temperatura °C	Tiempo min	% de Saponina M1	% de Saponina M2	% de Saponina M3
30	5	21,17	32,89	43,28
30	15	21,18	32,63	45,45
30	20	21,17	33,68	45,74
40	5	20,63	28,92	40,24
40	15	19,96	26,90	37,60
40	20	19,54	29,13	38,39
50	5	20,00	27,95	36,13
50	15	20,00	28,08	36,00
50	20	18,65	27,22	31,67

3:
del
por

Espectrofotometría UV-VIS.

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

En la Tabla 15-3 se indica los resultados obtenidos en el remplazo de la ecuación de la curva de calibración del purificado de saponina como se muestra en el Gráfico 5-3, tomando como referencia para la cuantificación de saponina por espectrofotometría UV-VIS, donde la cantidad de saponina presente esta entre un 20% y un 45,74%

Se obtuvo la cantidad de saponina en los diferentes métodos, a las condiciones de temperatura y tiempo establecidas. Al comparar con los resultados obtenidos con respecto a los alcanzados por (Lozano et al., 2012a: p. 131) quienes publicaron contenidos de saponina presente en la especie *Chenopodium quinoa*, a 560 nm y siendo la extracción con agua se encuentra entre 20% y 45% de saponina triterpénica.

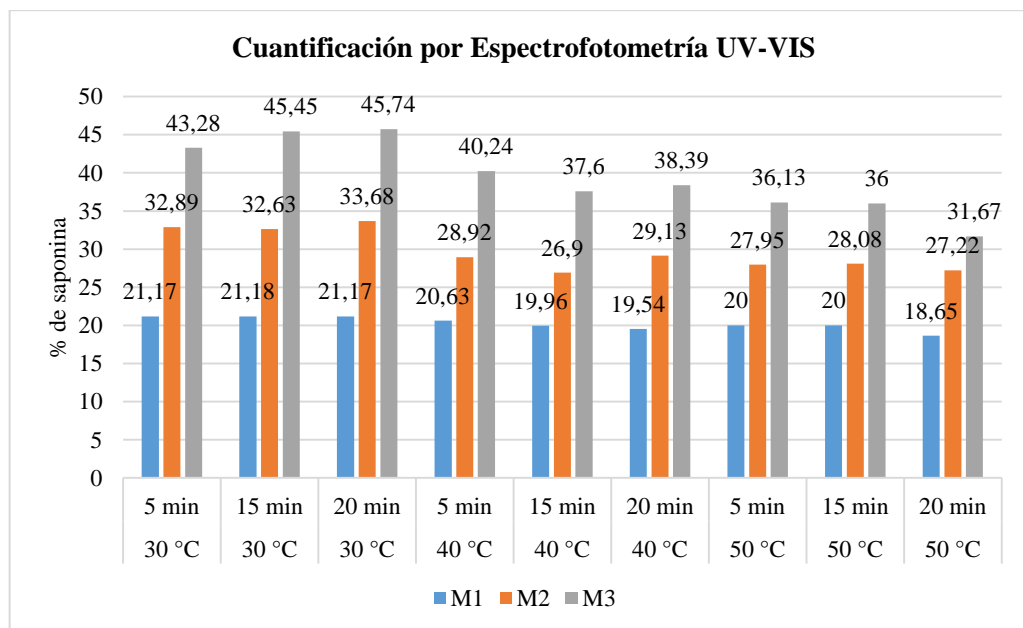


Gráfico 6-3: Cuantificación por Espectrofotometría UV-VIS.

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Analizando el Gráfico 6-3 muestra que la cantidad mayoritaria de saponina por Espectrofotometría UV-VIS está en el método M3 que corresponde a la extracción por microondas con un valor de 45,74 en condiciones de 20 min y a 30°C.

Tabla 16-3: ANOVA de la cuantificación de saponina por Espectrofotometría UV-VIS.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Método	2	1647,45	823,727	946,46	0,000
Temperatura °C	2	154,90	77,449	88,99	0,000
Tiempo min	2	2,03	1,013	1,16	0,000
Método*Temperatura °C	4	59,06	14,764	16,96	0,001
Método*Tiempo min	4	3,07	0,767	0,88	0,006
Temperatura °C*Tiempo min	4	14,00	3,499	4,02	0,005
Error	8	6,96	0,870		
Total	26	1887,46			

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

En la Tabla 16-3 muestra que el valor p son menores o iguales a 0.05 se rechaza la hipótesis nula para el caso donde el método y la temperatura si influyen en la cantidad de saponina. Por otra parte se tiene un valor mayor a 0.05 con respecto al método y el tiempo el cual no va a influir en la cantidad de saponina extraída por los tres métodos distintos. Existiendo diferencias estadísticamente significativas se realiza el test de Tukey.

Tabla 17-3: Test de TUKEY para la cuantificación por Espectrofotometría UV-VIS.

Método*Temperatura °C	N	Media	Agrupación			
m3 30	3	44,8233	A			
m3 40	3	38,7433		B		
m3 50	3	34,6000			C	
m2 30	3	33,0667			C	
m2 40	3	28,3167				D
m2 50	3	27,7500				D
m1 30	3	21,1733				E
m1 40	3	20,0433				E
m1 50	3	19,5500				E

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Como muestra la Tabla 17-3 los grupos de interacciones método 3/temperatura 50 – método 2/temperatura 30, método 2/temperatura 40 – método 2/temperatura 50 y método 1/temperatura 30 – método 1/temperatura 40 – método 1/temperatura 50, tienen porcentajes promedios de saponina similares, mientras que las demás interacciones tienen porcentajes diferentes.

3.10. Cuantificación de saponina por el Índice afrosimétrico

Para esta metodología se siguió la metodología establecida por (Kozioł, 1992, p. 1; citados en Ledezma y Vásquez, 2010, p. 26) que se debe realizar una curva de calibración con un estándar. El estándar de saponinas de quinua fue el del purificado de saponina, con cromatografía de exclusión por tamaño. Con este estándar se prepararon cinco soluciones en concentración creciente: disponiendo de 5ml de agua destilada en tubos de ensayo, por triplicado

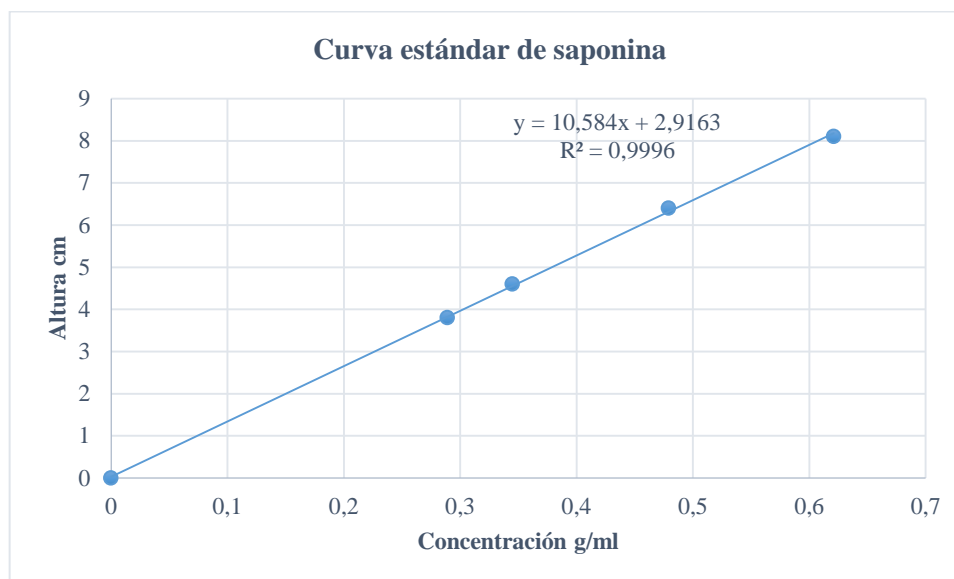


Gráfico 7-3: Curva de calibración estándar para la cuantificación de saponina por el método de espuma.

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Con esta metodología se realizó la curva de calibración obteniendo la recta correspondiente a la ecuación: $y = 10,584x + 2,9163$ con $R^2 = 0,9996$. En base a la ecuación de la recta de calibración se calculó el porcentaje de saponina para cada muestra de los tres métodos empleados en la extracción.

$$Y = 10,584x + 2,9163$$

$$Z = \frac{x}{w} * 100$$

Dónde:

X= mg de saponina calculados de la ecuación

Y= altura de la espuma en cm

Z= porcentaje de saponina en el extracto

W= mg del crudo de saponina extraído en cada método.

Tabla 18-3: Resultados del % de saponina por el Índice afrosimétrico.

Temperatura °C	Tiempo min	% de Saponina M1	% de Saponina M2	% de Saponina M3
30	5	20,71	34,60	44,38
30	15	23,32	34,39	46,88
30	20	24,59	36,26	47,64
40	5	20,75	30,29	42,96
40	15	22,68	28,80	38,89
40	20	20,92	30,58	40,83
50	5	23,80	28,10	36,99
50	15	22,36	31,98	34,84
50	20	21,50	27,98	32,54

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

La Tabla 18-3 muestra los resultados obtenidos por el Índice afrosimétrico donde se estima que la cantidad de saponina extraída va desde 20,71% hasta 47,64% de saponina triterpénica presente en el mojuelo de quinua. Estos resultados son corroborados con el estudio realizado por (Lozano et al., 2012b: p. 131) que mencionan que la cuantificación de saponina por el Método de espuma y en condiciones de extracción solo con agua están entre 17,3% hasta 57%.

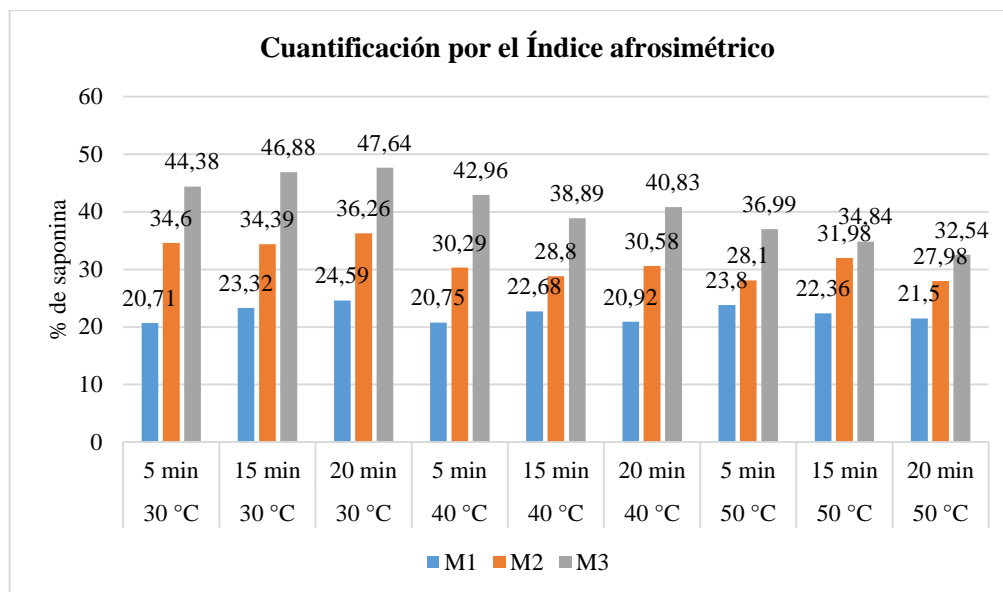


Gráfico 8-3: Cuantificación por el Índice afrosimétrico.

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Analizando el Gráfico 8-3 muestra que la cantidad mayoritaria de saponina por el Índice afrosimétrico está en el método M3 que corresponde a la extracción por microondas con un valor de 47,64 en condiciones de 20 min y a 30°C.

Tabla 19-3: ANOVA de la cuantificación de saponina por el Índice afrosimétrico.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Método	2	1518,38	759,190	306,11	0,000
Temperatura °C	2	161,19	80,595	32,50	0,000
Tiempo min	2	0,16	0,078	0,03	0,009
Método*Temperatura °C	4	101,21	25,303	10,20	0,003
Método*Tiempo min	4	5,15	1,287	0,52	0,005
Temperatura °C*Tiempo min	4	25,96	6,489	2,62	0,005
Error	8	19,84	2,480		
Total	26	1831,88			

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

En la Tabla 19-3 muestra que el valor p son menores o iguales a 0.05 se rechaza la hipótesis nula para el caso donde el método y la temperatura si influyen en la cantidad de saponina. Por otra parte se tiene un valor mayor a 0.05 con respecto al tiempo el cual no va a influir en la cantidad de saponina extraída por los tres métodos distintos. Existiendo diferencias estadísticamente significativas se realiza el test de Tukey.

Tabla 20-3: Test de TUKEY para la cuantificación por el Índice afrosimétrico.

Método*Temperatura °C	N	Media	Agrupación				
m3 30	3	46,3000	A				
m3 40	3	40,8933		B			
m2 30	3	35,0833			C		
m3 50	3	34,7900			C		
m2 40	3	29,8900			C	D	
m2 50	3	29,3533				D	
m1 30	3	22,8733					E
m1 50	3	22,5533					E
m1 40	3	21,4500					E

Realizado por: Guilcapi Verónica, 2019

Como muestra la Tabla 20-3 los grupos de interacciones producidos por: método 2/temperatura 50 – método 3/temperatura 50 - método 2/temperatura 40, método 2/temperatura 40 – método 2/temperatura 50 y las interacciones producidas con el método 1 tienen porcentajes similares de saponina.

CONCLUSIONES

- Al comparar las técnicas de MAE, ultrasonido y maceración asistida por agitación se encontró que MAE era el método más eficiente para la extracción de saponina triterpénicas con un rendimiento de 49,25% y un volumen final de solvente de 78 ml, proporcionando una alta eficiencia de extracción de saponina a partir del mojuelo de quinua amarga.
- Según la metodología desarrollada por la investigación se cuantificó la cantidad de saponina por dos métodos, con el método de Espectrofotometría UV-VIS se obtuvo de un 20% - aun 45,74% y con el método de espuma se obtuvo entre un 20,71% aun 47,64% de saponinas.
- Las condiciones óptimas de extracción que permitieron obtener mejores rendimientos en las tres metodologías fueron a 30°C y en un tiempo de 20 min, considerándose resultados útiles para el desarrollo de una extracción eficiente a gran escala de saponina triterpénicas a gran escala a partir del mojuelo de quinua amarga.
- Se evaluaron las tres metodologías planteadas, presentando que p-valor, el cual es menor a 0.05 manifiesta que existen diferencias significativas en la cantidad final del crudo de saponina extraída por los diferentes métodos.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda buscar técnicas de purificación de saponina del mojuelo de quinua, ayudando a reducir tiempo y costos del material empleado.
- Probar temperaturas más bajas y tiempo que superen a los 20 min para la extracción de saponina evitando la formación de almidón.
- Se recomienda la identificación de la estructura de la saponina por Resonancia Magnética Nuclear (NMR) y Espectrometría de Masas (MS)
- Realizar pruebas biológicas y de dosificación para la aplicación de los campos agrícolas y cosméticas.

GLOSARIO

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

Escarificado: proceso de remoción de la capa que cubre al grano de quinua, con ayuda de molinos que van friccionando, dentro de este proceso queda una gran cantidad de material particulado.

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

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

Desaponificación: proceso de eliminación de saponina que se encuentra en los granos de ciertas especies vegetales, el proceso se lleva a cabo con una serie de lavados.

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

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

BIBLIOGRAFÍA

AGHA, Isam. "Isolation of new saponins from *Belliumbellidioides L.* family asteraceae". *Journal of Pharmaceutical and Medical Research* [en línea], 2018, (Siria) 5(5), pp. 500-503. ISSN:2394-3211. Disponible en:

https://www.ejpmr.com/admin/assets/article_issue/1525346277.pdf.

AHUMADA, Andrés; et al. "Saponinas de quinua(*Chenopodium quinoa*Willd .): un subproducto con alto potencial biológico". *Rev.Colomb.Cienci.Quím.Farm* [en línea], 2016, (Colombia) 45(3), pp. 438-469. Disponible en:

<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/62043>.

APAZA, Rinel; et al. "Efecto de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd contra el fitopatógeno *Cercospora beticola* Sacc" . *Rev.Protección Veg.* [en línea], 2016, (La Paz, Bolivia) 31(1), pp. 63-69.ISSN:2224-4697 Disponible en:

<http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v31n1/rpv09116.pdf>.

AYALA, Fernando." Desarrollo de estrategias de posicionamiento . Caso : Producto Quinoa". *Perpectivas.* [en línea], 2013, (Cochabamba,Bolivia) 1(32), pp. 39-60.ISSN:1994-3733 Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=425941262002>

BAI, Xinpeng; et al. "Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Antihepatotoxic Triterpenoid from *Actinidia deliciosa* Root and Its Comparison with Conventional Extraction Methods". *Fod Technol.Biotechnol.* [en línea], 2007, (China) 45(2), pp. 174-180. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/5d5d/83b22c40f3295ad749955af5c0ccf5195d56.pdf>.

BALAKRISHNA, T; et al. "A review on extraction techniques". *IAJPS* [en línea], 2016, (India) 8(3), pp. 880-891.ISSN:2349-7750 Disponible en: <http://oaji.net/articles/2016/1210-1472707967.pdf>.

BALLESTEROS, Lina;et al. "Selection of the Solvent and Extraction Conditions for Maximum Recovery of Antioxidant Phenolic Compounds from Coffee Silverskin". *Food Bioprocess Technol* [en línea], 2014, (New York ,USA) 7(1), pp. 1322-1332. DOI 10.1007/s11947-013-1115-7. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/55632064.pdf>.

BAZILE, Didier; et al. *Estado del arte de la Quinoa en el mundo en 2013*. FAO Santiago de Chile,2013,p.724.

BERGESSE, Antonella; et al."Evaluación de las condiciones de desamargado en húmedo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd .)". *Nutrición clínica y Dietética Hospitalaria* [en línea],

2019, (Córdoba, Argentina) 39(1), pp. 107-114. DOI 10.12873/391bergesse. Disponible en: <http://www.urp.edu.pe/pdf/biologia/SAPONINAS.pdf>.

BIRADAR, Sangay.R. & RACHETTI, Bhagyashri.D. "Extraction of some secondary metabolites & thin layer chromatography from different parts of *Centella asiatica* L. (URB)". *American Journal of Life Sciences* [en línea], 2013, (India) 1(6), pp. 243-247. DOI 10.11648/j.ajls.20130106.11. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/b2cc/23e96bf4ce1a99cab777f6e659a787956518.pdf>.

CAHYO, Andri; et al. "Effects of solvent properties on the Soxhlet extraction of diterpenoid lactones from *Andrographis paniculata* leaves". *ScienceAsia* [en línea], 2009, (Indonesia) 35(3), pp. 306-309. DOI 10.2306/scienceasia1513-1874.2009.35.306. Disponible en: http://www.scienceasia.org/2009.35.n3/scias35_306.pdf.

CARES, M.G; et al. "Ultrasonically assisted Extraction of bioactive principles from *Quillaja Saponaria* Molina". *Physics Procedia* [en línea], 2010, (Santiago de Chile) 3(1), pp. 169-178. ISSN 1875-3892. DOI 10.1016/j.phpro.2010.01.024. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phpro.2010.01.024>.

CASTAÑEDA, Ricardo; et al. "Efecto de la adición de quinua (*Chenopodium quinoa wild*) malteada y sin maltear en la elaboración de cerveza tipo Ale a base de cebada (*Hordeum vulgare*) malteada". *Enfoque UTE* [en línea], 2018, (Quito, Ecuador) 9(2), pp. 15-26. ISSN:1390-9363 Disponible en: <http://scielo.senescyt.gob.ec/pdf/enfoqueute/v9n2/1390-6542-enfoqueute-9-02-00015.pdf>.

CASTILLA, Nils; et al. "Efecto del contenido de humedad y temperatura sobre la difusividad térmica en granos andino". *Revista de la Sociedad Química del Perú* [en línea], 2016, (Lima, Perú) 82(3), pp. 259-271. ISSN:1810-6341 Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3719/371949374002.pdf>.

CHEN, Junhui; et al. "Determination of four major saponins in the seeds of *Aesculus chinensis* Bunge using accelerated solvent extraction followed by high-performance liquid chromatography and electrospray-time of flight mass spectrometry". *Analytica Chimica Acta*, vol. 596,(2007) pp. 273-280. DOI 10.1016/j.aca.2007.06.011.

CHEOK, Choon; et al. "Extraction and quantification of saponins." *Food Research International* [en línea], 2014, (Malasia) 59(1), pp. 16-40. DOI 10.1016/j.foodres.2014.01.057. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096399691400074X>.

CICEK, Serhat, et al. "Development of a Fast and Convenient Method for the Isolation of Triterpene Saponins from *Actaea racemosa* by High-speed Countercurrent Chromatography

Coupled with Evaporative Light Scattering Detection". *Development of a Planta Med* [en línea], 2009, (Austria) p. 7. DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0029-1186236>. Disponible en: http://202.127.145.151/siocl/siocl_0005/091001hhpdf/091026pm-1.pdf.

DÍAZ, Luz. "Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos". *Revista de Estudios Transdisciplinarios* [en línea], 2009, (Caracas) 1(2), pp. 32-55. ISSN: 1856-9161 Disponible en: <https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/Diaz-2009.pdf>.

ESCRIBANO, Josefa; et al. "Characterization of betalains, saponins and antioxidant power in differently colored quinoa (*Chenopodium quinoa*) varieties". *Food Chemistry*, vol.234, n°19 (2017), (Lima, Perú). pp. 285-294. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2017.04.187.

FAO. *La quinua: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial* [en línea].(2011) Disponible en: <http://www.fao.org/3/aq287s/aq287s.pdf>.

FLORES, T; et al. "Estudios comparativos de tres metodologías cuantitativas de extracción de saponinas de la *Melisa officinalis* «Tonronjil»". *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, vol.16, n°2 (2013), (Lima, Perú) . pp. 47-51.

FORERO, Nidia; et al. "Usos potenciales de la quinua (*Chenopodium quinoa Willd*) en la industria alimentaria". [en línea], 2016, (Colombia). pp. 68-88. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/324672750_Usos_potenciales_de_la_quinua_Chenopodium_quinoa_Willd_en_la_industria_alimentaria.

GARCIA, Caroline; et al. "Selective extraction of saponins from *Ilex paraguariensis* St. -Hil. unripe fruits". *Food and Bioproducts Processing* [en línea], 2018,(Brasil) 111(1), pp. 72-82. ISSN 0960-3085. DOI 10.1016/j.fbp.2018.07.001. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.07.001>.

GARCÍA, Dayana. "Análisis químico del almidón de papa para la obtención de papel higiénico". *Revista Ingenium* [en línea], 2016, (Huancayo, Perú) 1(2), pp. 24-28. DOI <http://dx.doi.org/10.18259/ing.2016010> Análisis. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/265915420_Glucose_-_a_Reducing_Sugar_Reducing_Properties_of_Sugars_in_Beverages_and_Food.

GARCÍA, Miguel; et al. "Descripción de las saponinas en quinua (*Chenopodium quinoa willd*) en relación con el suelo y el clima". *Informador Técnico* [en línea], 2018, (Colombia) 82(2), pp. 241-249. ISSN:2256-5035. DOI <http://doi.org/10.23850/22565035.1451>. Disponible en: http://revistas.sena.edu.co/index.php/inf_tec/article/view/1451/1918.

GEISLER, Beth. & STEPANIAK, Jo. *La Quinoa proteína sin gluten* [en

línea].2014.SIRIO.Disponible en:
https://books.google.com.ec/books?id=wX0sDwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=semilla+d e+quinua+pdf&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjCv_6q2JTiAhUsqlkKHUBdAB4Q6AEILjAB#v=onepage&q&f=true.

GUNSHA ALLAUCA, Liliana Jacqueline. Elaboración de un emulsionante cosmético a base de las saponinas del agua de lavado de quinua (*Chenopodium quinoa*) en erpe. [en línea]. (tesis).(Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.2013.p.117 Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2471/1/56T00352.pdf>.

IICA. *El mercado y la producción de quinua en el Perú* [en línea]. 2015, Perú. ISBN:9789292486020. Disponible en: <http://repositorio.iica.int/bitstream/11324/2652/1/BVE17038730e.pdf>.

INEN, 1672. *Quinua. Determinación del contenido de saponinas por medio del método espumoso (Método de rutina).*

KOZIOL, M. "Chemical Composition and Nutritional Evaluation of Quinoa(*Chenopodium quinoa* Willd.)". *Journal of Food composition and analysis*, vol5, n°1, (1992), (Quito, Ecuador) pp. 35-68.

KUDOU, Sigemitsu; et al. "Relationship between Chemical Structures and Biological Activities of Triterpenoid Saponins from Soybean". *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* [en línea], 1998, (Japón) 62(12), pp. 2291-2299. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/3728/1cf5a5f2b117b7fdcf1226c8688357c4c0cb.pdf>.

KUNZ, Thomas; et al. "Glucose – a Reducing Sugar? Reducing Properties of Sugars in Beverages and Food". *BrewingScience* [en línea], 2011, (Alemania) 64(1), pp. 61-67. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/265915420_Glucose_a_Reducing_Sugar_Reducing_P roperties_of_Sugars_in_Beverages_and_Food.

LE, Anh; et al. "Improving the Vanillin-Sulphuric Acid Method for Quantifying Total Saponins". *Technologies* [en línea], 2018, (Australia) 6(84), pp. 1-12. DOI 10.3390/technologies6030084. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2227-7080/6/3/84>.

LE, Anh; et al."Effect of Solvents and Extraction Methods on Recovery of Bioactive Compounds from Defatted Gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng .) Seeds". *Separations* [en línea], 2018, (Australia) 5(39), pp. 1-13. DOI 10.3390/separations5030039. Disponible en: https://pdfs.semanticscholar.org/8f2c/793b73afc5dc7021de62c1fba789ca5af65f.pdf?_ga=2.196617573.898486864.1565492027-504990752.1548813926.

LEDEZMA, Carla. & VÁSQUEZ, Ramiro. "Evaluación de la calidad nutricional y morfología del grano de variedades amargas de Quinoa beneficiadas en seco, mediante el novedoso empleo de un reactor de lecho fluizado de tipo surtidor". *Investigación & Desarrollo* [en línea], 2010, (Bolivia) 1(10), pp. 49-62. ISSN:2518-4431 DOI 10.23881/idupbo.010.1-4i. Disponible en: <http://www.upb.edu/revista-investigacion-desarrollo/index.php/id/article/view/66>.

LESCANO, Paula. & ACO, Diego. "Caracterización elemental en granos de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*). mediante la técnica de fluorescencia de rayos X". *Informe Científico Tecnológico* [en línea], 2014, (Lima, Perú) 14(1), pp. 1-5. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/306014337_Caracterizacion_elemental_en_granos_de_quinoa_Chenopodium_quinoa_Willd_mediante_la_tecnica_de_fluorescencia_de_rayos_X.

LOZANO, Maribel; et al. "Cuantificación de saponinas en residuos de quinua real". *Revista Boliviana de Química* [en línea], 2012, (Bolivia) 29(2), pp. 131-138. ISSN:0250-5460 Disponible en: http://www.scielo.org.bo/pdf/rbq/v29n2/v29n2_a02.pdf.

MAGAP. "2017 año clave para Ecuador exportación en quinua". [en línea].(2017) [Consulta: 22 mayo 2019]. Disponible en: <https://www.agricultura.gob.ec/2017-ano-clave-para-ecuador-en-exportacion-de-quinua/>.

MAJINDA, Runner. "Chapter 16 Extraction and Isolation of Saponins". *Natural Products Isolation*, vol,864, n°1, (2015). pp. 415-426. DOI 10.1007/978-1-61779-624-1.

MARAN, J; et al. "Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L . fruit peel using central composite face centered response surface design". *Arabian Journal of Chemistry* [en línea], 2017, (India) 10(1), pp. S1145-S1157. ISSN 1878-5352. DOI 10.1016/j.arabjc.2013.02.007. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.007>.

MARTÍNEZ, P; et al. "Caracterización funcional de almidones nativos obtenidos de papas (*Solanum phureja*) nativas peruanas". *Scientia Agropecuaria* [en línea], 2015, (España) 6(4), pp.291-301. DOI 10.17268/sci.agropecu.2015.04.06. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3576/357643270006.pdf>.

MAZZA, Giuseppe. & GÜÇLÜ, Özlem. "Saponins : Properties , Applications". *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [en línea], 2007, (Canadá) 47(1), pp. 231-258. ISSN: 1040-8398. DOI 10.1080/10408390600698197. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/6375032_Saponins_Properties_Applications_and_Processing.

MIR, Mamin; et al. "Estimation of alkaloid , saponin and flavonoid , content in various extracts of *Crocus sativa*". *Journal of Medicinal Plants Studies* [en línea],2016, (India) 4(5), pp. 171-174. ISSN: 2320-3862 Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/d958/51e174eb803dd51ce46a19bfa716c5b61dae.pdf>.

MOGHIMIPOUR, Eskandar. & HANDALI, Somayeh "Saponin : Properties , Methods of Evaluation and Applications". *Annual Research & Review in Biology* [en línea],2015, (Iran) 5 (3), pp. 207-220. DOI 10.9734/ARRB/2015/11674. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/94f6/0d0a2de5c115026ff3aa41f916d411913efb.pdf>.

MONTEROS, Andres. Rendimientos de quinua en el ecuador 2016. [en línea], 2016, Quito, Ecuador. p.9. Disponible en: http://sipa.agricultura.gob.ec/biblioteca/rendimientos/rendimiento_quinua_2016.pdf.

MUGFORD, Sam. & OSBOURN, Anne. *Saponin Synthesis and Function*. New York. USA. 2013, pp. 405-425. DOI 10.1007/978-1-4614-4063-5.

NETALA, Vasudeva; et al. "Triterpenoid saponins : a review on biosynthesis , applications and mechanism of their action". *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, [en línea], 2015, (India) 7(1), pp. 24-28. ISSN: 0975-1491. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/a927/a5a4006ab273c19503399edfc0ddfc20ae04.pdf>

NIETO, Carlos; et al. *Iniap – Imbaya e Iniap – Cochassqui, primeras variedades de quinua para la sierra* [en línea]. Ecuador, 2009. Disponible en: <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/270/4/iniapscbd228.pdf>.

NIETO, Carlos; et al. *Iniap-Ingapirca e Iniap-Tunkahuan dos variedades de quinua de bajo contenido de saponina* [en línea]. Ecuador, 1992. Disponible en: <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/270/4/iniapscbd228.pdf>.

NN, Azwanida. "Medicinal & aromatic plants a review on the extraction methods use in medicinal plants, principle , strength and limitation". *Medicinal & Aromatic Plants* [en línea], 2015, (Malasia) 4(3), pp. 3-8. ISSN: 2167-0412. DOI 10.4172/2167-0412.1000196. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096399691400074X>.

OLESZEK, Wieslaw. & JURZYSTA, Marian. "High-performance liquid chromatography of alfalfa root saponins". *Journal of Chromatography* [en línea], 1990, (Polonia) 519(1), pp. 109-116. Disponible en: https://www.academia.edu/14514278/High-performance_liquid_chromatography_of_alfalfa_root_saponins.

PANDEY, Amita. & TRIPATHI, Shalini. "Concept of standardization , extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug". *Journal of Pharmacognosy and*

Phytochemistry [en línea],2014, (India) 2(5), pp. 115-119. ISSN: 2278-4136. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/327e/05117da33703b52728e0033263c79bb97226.pdf>.

PREGO, Imelda; et al. "Seed Structure and Localization of Reserves in *Chenopodium quinoa*". *Annals of Botany* [en línea], 1998, (La Plasta. Argntina) 82 (4), pp. 481-488. ISSN 0305-7364. DOI <https://doi.org/10.1006/anbo.1998.0704>. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305736498907041>.

RIBEIRO DÍAZ, Bernardo; et al. "Application of foam column as green technology for concentration of saponins from sisal (*Agave sisalana*) and juá (*Ziziphus joazeiro*)". *Brazilian Journal of Chemical Engineering* [en línea], 2013, (Brasil) 30(04), pp. 701-709. ISSN: 0104-6632 Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/bjce/v30n4/a02v30n4>.

RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, José. "La quinua , una opción para la nutrición del paciente con diabetes mellitus". *Revista Cubana de Endocrinología* [en línea], 2015, (La Habana. Cuba) 26 (3), pp. 304-312. ISSN: 1561-2953 Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/end/v26n3/end10315.pdf>.

ROJAS, Luisa; et al. *Métodos Analíticos para la Determinación de Metabolitos Secundarios de Plantas.* [en línea]. UTMACH. Ecuador.2015 ISBN 978-9978-316-62-7. Disponible en: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/57830742/20_METODOS_ANALITICOS_PARA_LA_DETERMINACION_DE_METABOLITOS_SECUNDARIOS_DE_PLANTAS.pdf

ROJAS, Luisa; et al. "Análisis fitoquímico preliminar de hojas , tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana krukoff*)". *Revista Colombia Forestal* [en línea], 2009, (Colombia) 12(1), pp. 161-170. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v12n1/v12n1a11.pdf>.

RUIZ, María; et al. "Efecto del consumo de quinua (*Chenopodium quinoa*) como coadyuvante en la intervención nutricional en sujetos prediabéticos". *Nutrición Hospitalaria* [en línea], 2017, (Perú) 34(5), pp. 1163-1169. ISSN: 0212-1611 Disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v34n5/21_original.pdf.

SANTIS, Guiditta; et al. "Characterization of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) accessions for the saponin content in Mediterranean environment". *Italian Journal Of Agronomy* [en línea],2016, (Italia) 11(774), pp. 2016-2018. DOI 10.4081/ija.2016.774. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/306052825_Characterization_of_quinoa_Chenopodium_quinoa_Willd_accessions_for_the_saponin_content_in_Mediterranean_environment.

SESAN. *La quinua o quinoa (Chenopodium Quinua).* [en línea]. Guatemala, 2013. p.65 Disponible en: <http://repositorio.iica.int/bitstream/11324/2652/1/BVE17038730e.pdf>.

SHAO, H; et al. "Crystal Structures of a Multifunctional Triterpene / Flavonoid Glycosyltransferase from *Medicago truncatula*". *The Plant Cell* [en línea], 2005, (Oklahoma) 17(1), pp. 3141-3154. DOI 10.1105/tpc.105.035055.Glycosylation. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/6375032_Saponins_Properties_Applications_and_Processing.

SHOJI, Yahara; et al. "Saponins of the Leaves of *Panax ginseng* C.A. Meyer". *Chem.Pharm.Bull.* [en línea], 1976, (Japón) 24(9), pp. 2204-2208. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb1958/24/9/24_9_2204/_pdf/-char/ja.

SOLTANI, Mozghan; et al. "Hemolytic and Cytotoxic Properties of Saponin Purified from *Holothuria leucospilota* Sea Cucumber". *Reports of Biochemistry & Molecular Biology* [en línea], 2014, (Iran) 3(1), pp. 43-50. Disponible en: <http://rbmb.net/article-1-57-en.pdf>.

SUÁREZ, Néstor. & CARRILLO, Anastasia. "Eficacia de los extractos hidroalcohólicos de dos plantas sobre garrapatas adultas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*". *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria* [en línea], 2013, (Tunja. Colombia) 14(1), pp. 91-97. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v14n1/v14n1a10.pdf>.

TALREJA, Tamanna; et al. "HPLC analysis of saponins in *Achyranthes aspera* and *Cissus quadrangularis*". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* [en línea], 2017, (India) 6(1), pp. 89-92. ISSN: 2278-4136 Disponible en: <http://www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue1/PartB/6-1-29-770.pdf>.

TARTIAN, Alexandru; et al. "The influence of the different techniques of maceration on the de Bohotin wine aromatic and phenolic profile of the Busuioac a". *Bio Web of Confernces* [en línea], 2017, (Rumanía) 02032(1), pp. 1-8. DOI 10.1051/bioconf/20170902032. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/318287461_The_influence_of_the_different_techniques_of_maceration_on_the_aromatic_and_phenolic_profile_of_the_Busuioaca_de_Bohotin_wine.

TERÁN, Wilman; et al. "Compuestos bioactivos derivados de amaranto y quinoa". *Actualización en Nutrición*, vol. 16, no. 1 (2015), (Ambato. Ecuador) pp. 18-22. ISSN: 1667-8052.

UNIVERSIDAD MÉXICO AMERICA DEL NORTE-UNAM, *Procesos de separación I.* [en línea]. México, 2012. Disponible en: <http://depa.fquim.unam.mx/procesos/PDF/ProcesosI.pdf>.

VALENCIA, Enzo; et al. "Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*". *Biotempo* [en línea], 2005, (Lima. Perú) 5(1), pp. 31-36. Disponible en: <http://www.urp.edu.pe/pdf/biologia/SAPONINAS.pdf>.

VALENCIA, Zanhy; et al. "Compuestos bioactivos y actividad antioxidante de semillas de

quinua peruana (*Chenopodium quinoa W.*). *Rev Soc Quim Perú* [en línea],2017, (Lima. Perú) 83(1), pp. 16-29. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v83n1/a03v83n1.pdf>.

VEGA GÁLVEZ, Antonio; et al. "Assessment of dietary fiber , isoflavones and phenolic compounds with antioxidant and antimicrobial properties of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*)" *Chilean J. Agric. Anim.Sci., ex Agro-Ciencia* [en línea],2018, (La Serena. Chile) 34(1), pp. 57-67. ISSN: 0719-3890 Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/chjaasc/v34n1/0719-3890-chjaasc-00101.pdf>.

VILLACIS SEGOVIA, Carlos Eduardo. Estudio para la extracción y purificación de saponinas a partir del mojuelo de quinua como una posible alternativa a la disponibilidad de tensoactivos de origen natural. [en línea] (tesis) (pregrado) Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Ecuador. 2018. p. 94. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/15426/1/T-ESPEL-IPE-0018.pdf>.

WAZIIROH, E; et al. "Microwave-assisted extraction (MAE) of bioactive saponin from mahogany seed (*Swietenia mahogany Jacq*)". *International Coference on Green Agro-industry and Bioeconomy* [en línea],2018, (Indonesia) 131(1), pp. 1-7. DOI 10.1088/1755-1315/131/1/012006. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/323920174_Microwave-assisted_extraction_MAE_of_bioactive_saponin_from_mahogany_seed_Swietenia_mahogany_Jacq.

XIONG, Q; et al. "The Liebermann – Burchard Reaction : Sulfonation , Desaturation , and Rearrangment of Cholesterol in Acid". *Lipids* [en línea], 2007, (USA) 42(1), pp. 87-96. DOI 10.1007/s11745-006-3013-5. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3719/371949374002.pdf>.

YAO, Hua; et al. "An optimized microwave-assisted extraction method for increasing yields of rare ginsenosides from *Panax quinquefolius L*" . *Journal of Ginseng Research* [en línea], 2016, (China) 40(4), pp. 415-422. ISSN 1226-8453. DOI 10.1016/j.jgr.2016.06.007. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgr.2016.06.007>.

ZHAO, Dayan; et al. "Efficient protocol for isolation and purification of different soyasaponins from soy hypocotyls". *Journal of Separation Science*, vol. 35,(2012), (China) pp. 3281-3292. DOI 10.1002/jssc.201200531.

ANEXOS

Anexo A: Fotografía de la extracción de crudo de saponina.

Extracción por maceración asistida con agitación



Extracción por microondas

Extracción por ultrasonido



Filtración de la solución con zeolita



Centrifugación de muestras

Secado de la muestra en un equipo de rotavapor adaptado un espumante



Anexo B. Fotografías del crudo de saponina y pruebas de identificación de saponina.

Crudo de saponina



Crudo de saponina seco



Prueba de Fehling



Ensayo de Yodo



Prueba de Liebermann-Burchard

Prueba de Espuma



Anexo C. Fotografía de TLC del crudo de saponina y Cromatografía en columna.

TLC del Crudo de saponina

Cromatografía en columna

Fracciones recogidas

TLC de las fracciones recogidas

Secado de las fracciones en rotavapor

Envases donde se conservó muestras purificadas



Anexo D. Fotografías de métodos cualitativos y cuantitativos de crudo de saponina.

Espectrofotometría IR

Método cuantitativo en HPLC

Cromatograma del Purificado de saponina

Vainillina 4% y Ácido Sulfúrico 72% como reactivos de color



Aplicación de reactivo de color en la muestra

Método cuantitativo del Purificado de saponina



Anexo E. Cálculos del Índice afrosimétrico para la elección del mojuelo para la investigación.

Statistics				
		MAQUITA	COPROVICH	BOLIVIA
N	Valid	3	3	3

Missing	0	0	0
Mean	3,60	1,10	2,33
Std. Deviation	,300	,200	,321

Maquita Cushunchic

h=1, 10 cm $\% \text{ saponinas} = \frac{(0.646 \times 3.60) - 0.104}{0.53 \times 10} = 41,92$

m=0, 53 g

COPROVICH

h=1, 10 cm $\% \text{ saponinas} = \frac{(0.646 \times 1.10) - 0.014}{0.52 \times 10} = 11,66$

m=0, 52 g

Bolivia

h=2, 33 cm $\% \text{ saponinas} = \frac{(0.646 \times 2.33) - 0.014}{0.54 \times 10} = 25,95$

m=0, 54 g

MAQUITA

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 3	1	33,3	33,3	33,3
4	1	33,3	33,3	66,7
4	1	33,3	33,3	100,0
Total	3	100,0	100,0	

COPROVICH

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 1	1	33,3	33,3	33,3
1	1	33,3	33,3	66,7
1	1	33,3	33,3	100,0
Total	3	100,0	100,0	

BOLIVA

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 2	1	33,3	33,3	33,3
2	1	33,3	33,3	66,7
3	1	33,3	33,3	100,0
Total	3	100,0	100,0	

Anexo F. Recolección de datos.

Método por maceración con agitación Repetición 1

Peso de mojuelo de quinua amarga (g)	Volumen de agua bidestilada (ml)	Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso final de mojuelo (g)	Volumen final (ml)	Peso de almidón	Peso de saponina extraído
5,0004	100	5	30	2,4311	70	0,7821	1,7873
5,0005	100	15	30	2,5502	64	0,6605	1,7899
5,0006	100	20	30	2,5721	64	0,5389	1,8898

Método por maceración con agitación Repetición 2

Peso de mojuelo de quinua amarga (g)	Volumen de agua bidestilada (ml)	Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso final de mojuelo (g)	Volumen final (ml)	Peso de almidón	Peso de saponina extraído
5,0003	100	5	30	2,4310	70	0,7820	1,7874
5,0005	100	15	30	2,5501	64	0,6606	1,7898
5,0006	100	20	30	2,5720	64	0,5391	1,8898

Método por maceración con agitación Repetición 3

Peso de mojuelo de quinua amarga (g)	Volumen de agua bidestilada (ml)	Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso final de mojuelo (g)	Volumen final (ml)	Peso de almidón	Peso de saponina extraído
5,0003	100	5	30	2,4311	70	0,7820	1,7873
5,0004	100	15	30	2,5502	65	0,6605	1,7899
5,0007	100	20	30	2,5720	65	0,5390	1,8898

Método asistido por ultrasonido Repetición 1

Peso de mojuelo de quinua amarga (g)	Volumen de agua bidestilada (ml)	Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso final de mojuelo (g)	Volumen final (ml)	Peso de almidón	Peso de saponina extraído
5,0003	100	5	30	1,7487	71	0,9526	2,2990
5,0004	100	15	30	1,8112	75	1,0137	2,1755
5,0005	100	20	30	1,9278	77	0,7486	2,3241

Método asistido por ultrasonido Repetición 2

Peso de mojuelo de quinua amarga (g)	Volumen de agua bidestilada (ml)	Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso final de mojuelo (g)	Volumen final (ml)	Peso de almidón	Peso de saponina extraído
5,0002	100	5	30	1,7488	70	0,9525	2,2989
5,0005	100	15	30	1,8111	75	1,0139	2,1755
5,0005	100	20	30	1,9277	76	0,7488	2,3240

Método asistido por ultrasonido Repetición 3

Peso de mojuelo de quinua amarga (g)	Volumen de agua bidestilada (ml)	Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso final de mojuelo (g)	Volumen final (ml)	Peso de almidón	Peso de saponina extraído
5,0002	100	5	30	1,7487	70	0,9526	2,2989
5,0004	100	15	30	1,8112	76	1,0136	2,1756
5,0004	100	20	30	1,9277	77	0,7486	2,3241

Método asistido por microondas Repetición 1

Peso de mojuelo de quinua amarga (g)	Volumen de agua bidestilada (ml)	Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso final de mojuelo (g)	Volumen final (ml)	Peso de almidón	Peso de saponina extraído
5,0005	100	5	50	2,2076	75	0,7704	2,0225
5,0008	100	15	50	2,3100	71	0,6790	2,0118
5,0008	100	20	50	2,5677	77	0,4242	2,0089

Método asistido por microondas Repetición 2

Peso de mojuelo de quinua amarga (g)	Volumen de agua bidestilada (ml)	Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso final de mojuelo (g)	Volumen final (ml)	Peso de almidón	Peso de saponina extraído
5,0004	100	5	50	2,2077	76	0,7701	2,0226
5,0009	100	15	50	2,3101	71	0,6791	2,0117
5,0009	100	20	50	2,5676	78	0,4245	2,0088

Método asistido por microondas Repetición 3

Peso de mojuelo de quinua amarga (g)	Volumen de agua bidestilada (ml)	Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso final de mojuelo (g)	Volumen final (ml)	Peso de almidón	Peso de saponina extraído
5,0004	100	5	50	2,2077	75	0,7701	2,0226
5,0008	100	15	50	2,3101	70	0,6790	2,0117
5,0008	100	20	50	2,5676	78	0,4243	2,0089

Anexo G: Cálculo del rendimiento de saponina.

Método 1. Extracción por maceración por agitación.

Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso del mojuelo de quinua			Peso de crudo de saponina		
		Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
5	30	5,0004	5,0003	5,0003	1,7873	1,7874	1,7873
15	30	5,0005	5,0005	5,0004	1,7899	1,7898	1,7899
20	30	5,0006	5,0006	5,0007	1,8898	1,8898	1,8898
5	40	5,0001	5,0002	5,0001	1,5564	1,5563	1,5563
15	40	5,0003	5,0003	5,0004	1,6325	1,6324	1,6325
20	40	5,0004	5,0005	5,0005	1,77	1,7701	1,7701
5	50	5,0003	5,0002	5,0002	1,3574	1,3573	1,3573
15	50	5,0003	5,0002	5,0004	1,4447	1,4446	1,4446
20	50	5,0006	5,0005	5,0005	1,5021	1,5022	1,5021

Tiempo (min)	Temperatura °C	Promedio Peso de mojuelo de quinua	Desviación estándar	Promedio Peso de saponina	Desviación estándar
5	30	5,0003	,00006	1,7873	,00006
15	30	5,0005	,00006	1,7899	,00006
20	30	5,0006	,00006	1,8898	,00000
5	40	5,0001	,00006	1,5563	,00006
15	40	5,0003	,00006	1,6325	,00006
20	40	5,0005	,00006	1,7701	,00006
5	50	5,0002	,00006	1,3573	,00006
15	50	5,0003	,00010	1,4446	,00006
20	50	5,0005	,00010	1,5021	,00006

Cálculo del rendimiento:

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{rendimiento\ real\ g}{rendimiento\ teorico\ g} \times 100$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.7873\ g}{5.0003g} \times 100 = 35,74$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.7899\ g}{5.0005g} \times 100 = 35,79$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.8898\ g}{5.0006g} \times 100 = 37,79$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.5563\ g}{5.0001g} \times 100 = 31,12$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.6325\ g}{5.0003g} \times 100 = 33,05$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.7701\ g}{5.0005g} \times 100 = 35,40$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.3573\ g}{5.0002g} \times 100 = 27,14$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.4446\ g}{5.0003g} \times 100 = 28,89$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.5021\ g}{5.0005g} \times 100 = 30,04$$

Método 2. Extracción asistida por Ultrasonido

Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso del mojuelo de quinua			Peso de crudo de saponina		
		Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
5	30	5,0004	5,0005	5,0004	2,1755	2,1755	2,1756
15	30	5,0003	5,0002	5,0002	2,2990	2,2989	2,2989
20	30	5,0005	5,0005	5,0004	2,3241	2,324	2,3241
5	40	5,0005	5,0006	5,0006	2,1375	2,1375	2,1374
15	40	5,0005	5,0005	5,0004	2,2699	2,2698	2,2699
20	40	5,0003	5,0002	5,0002	2,1583	2,1584	2,1583
5	50	5,0008	5,0009	5,0008	1,8964	1,8964	1,8964
15	50	5,0005	5,0004	5,0004	1,9899	1,9898	1,9898
20	50	5,0008	5,0009	5,0008	1,9986	1,9986	1,9987

Tiempo (min)	Temperatura °C	Promedio Peso de mojuelo de quinua	Desviación estándar	Promedio Peso de saponina	Desviación estándar
5	30	5,0004	,00006	2,1755	,00006
15	30	5,0002	,00006	2,2989	,00006
20	30	5,0005	,00006	2,3241	,00006
5	40	5,0006	,00006	2,1375	,00006
15	40	5,0008	,00101	2,1583	,00006
20	40	5,0005	,00006	2,2699	,00006
5	50	5,0008	,00006	1,8964	,00006
15	50	5,0004	,00006	1,9898	,00000
20	50	5,0008	,00006	1,9986	,00006

Cálculo del rendimiento:

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{rendimiento\ real\ g}{rendimiento\ teorico\ g} \times 100$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.1755\ g}{5.0004g} \times 100 = 43,51$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.2989\ g}{5.0002g} \times 100 = 45,98$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.3241\ g}{5.0005g} \times 100 = 46,48$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.1375\ g}{5.0006g} \times 100 = 42,74$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.1583g}{5.0008g} \times 100 = 43,16$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.2699\ g}{5.0005g} \times 100 = 45,39$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.8964\ g}{5.0008g} \times 100 = 37,92$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.9898\ g}{5.0004g} \times 100 = 39,79$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{1.9986\ g}{5.0008g} \times 100 = 39,97$$

Método 3. Extracción por microondas

Tiempo (min)	Temperatura °C	Peso del mojuelo de quinua			Peso de crudo de saponina		
		Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
5	30	5,0005	5,0004	5,0005	2,3247	2,3247	2,3247
15	30	5,0007	5,0006	5,0006	2,4021	2,4021	2,402
20	30	5,0008	5,0008	5,0008	2,4627	2,4628	2,4627
5	40	5,0006	5,0006	5,0006	2,4014	2,4015	2,4014
15	40	5,0008	5,0008	5,0008	2,4096	2,4096	2,4095
20	40	5,0008	5,0008	5,0008	2,4111	2,411	2,411
5	50	5,0005	5,0004	5,0004	2,0225	2,0226	2,0226
15	50	5,0008	5,0009	5,0008	2,0118	2,0117	2,0117
20	50	5,0008	5,0009	5,0008	2,0089	2,0088	2,0089

Tiempo (min)	Temperatura °C	Promedio Peso de mojuelo de quinua	Desviación estándar	Promedio Peso de saponina	Desviación estándar
5	30	5,0005	,00006	2,3247	,00000
15	30	5,0006	,00006	2,4021	,00006
20	30	5,0008	,00000	2,4627	,00006
5	40	5,0006	,00000	2,4014	,00006
15	40	5,0008	,00000	2,4096	,00006
20	40	5,0008	,00000	2,4110	,00006
5	50	5,0004	,00006	2,0226	,00006
15	50	5,0008	,00006	2,0117	,00006
20	50	5,0008	,00006	2,0089	,00006

Cálculo del rendimiento:

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{rendimiento\ real\ g}{rendimiento\ teorico\ g} \times 100$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.3247\ g}{5.0005g} \times 100 = 46,49$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.4021\ g}{5.0006g} \times 100 = 48,04$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.4627\ g}{5.0008g} \times 100 = 49,25$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.4014\ g}{5.0006g} \times 100 = 48,02$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.4096\ g}{5.0008g} \times 100 = 48,18$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.4110\ g}{5.0008g} \times 100 = 48,21$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.0226\ g}{5.0004g} \times 100 = 40,45$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.0117\ g}{5.0008g} \times 100 = 40,23$$

$$\%Rendimiento\ de\ saponina = \frac{2.0089\ g}{5.0008g} \times 100 = 40,17$$

Método 2	Tiempo (min)	Temperatura °C	Distancia recorrida de la muestra		Distancia recorrida del solvente	Rf de la mancha 1	Rf de la mancha 2
			Mancha 1	Mancha 2			

Anexo H: Cálculo de los Rf.

$$Rf = \frac{\text{distancia recorrida de la muestra}}{\text{distancia recorrida del solvente}}$$

Método 1	Tiempo (min)	Temperatura °C	Distancia recorrida de la muestra		Distancia recorrida del solvente	Rf de la mancha 1	Rf de la mancha 2
			Mancha 1	Mancha 2			
			5	30			
15	30	5,6	6,5	8	0,70	0,81	
20	30	5	5,8	7	0,71	0,83	
5	40	5,5	6	7,5	0,73	0,80	
15	40	6	7	8,5	0,71	0,82	
20	40	5,6	6,5	8	0,70	0,81	
5	50	5,6	5,8	7	0,71	0,83	
15	50	5,6	5,8	7	0,71	0,83	
20	50	5	6	7,5	0,73	0,80	
						Promedio=0,71±0,01	Promedio=0,81±0,01

5	30	5,6	5,8	7	0,71	0,83
15	30	5,5	6	7,5	0,73	0,80
20	30	5	5,8	7	0,71	0,83
5	40	5,6	5,8	7	0,71	0,83
15	40	5	6	7,5	0,73	0,80
20	40	5	5,8	7	0,71	0,83
5	50	5,5	6	7,5	0,73	0,80
15	50	5	5,8	7	0,71	0,83
20	50	5,5	6	7,5	0,73	0,80
					Promedio= 0,72±0,01	Promedio= 0,82±0,02

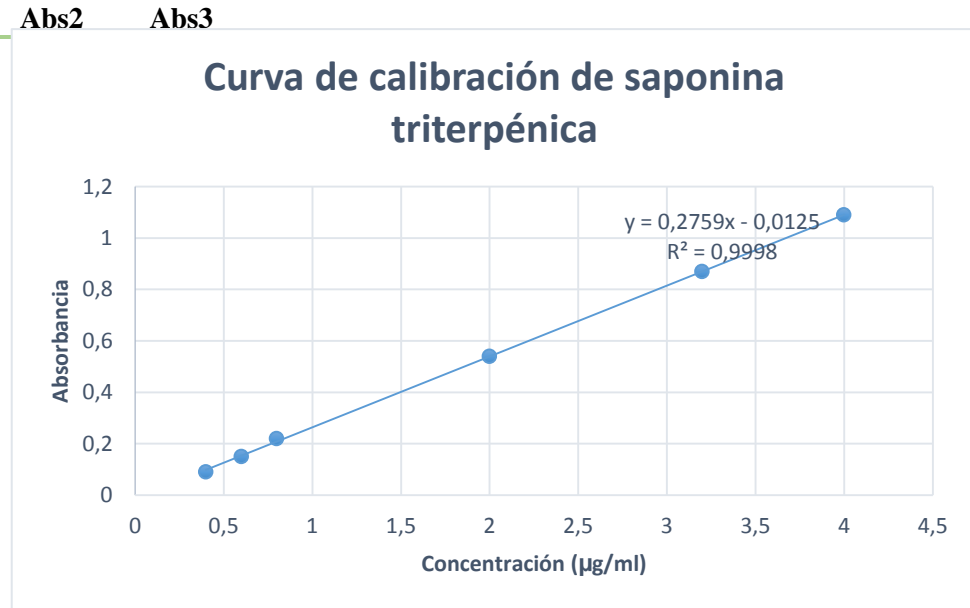
Método 3

Tiempo (min)	Temperatura °C	Distancia recorrida de la muestra		Distancia recorrida del solvente	Rf de la mancha 1	Rf de la mancha 2
		Mancha 1	Mancha 2			
		5	30			
15	30	5,6	6,4	8	0,70	0,80
20	30	5,9	6,8	8,5	0,69	0,80
5	40	5,6	6,4	8	0,70	0,80
15	40	5,6	6,4	8	0,70	0,80
20	40	5,2	6	7,5	0,69	0,80
5	50	5,6	6,4	8	0,70	0,80
15	50	5,2	6	7,5	0,69	0,80
20	50	5,2	6	7,5	0,69	0,80
					Promedio= 0,70±0,01	Promedio= 0,80±0,00

Método	Temperatura	Tiempo	Absorbancia	Promedio	Cx	g /g crudo de saponina	% Saponina
1	°C	min			µg/ml		

Anexo I. Cálculo

Concentración	Abs
0,4	0,09
0,6	0,15
0,8	0,22
2	0,54
3,2	0,87
4	1,09



$$Cx = \frac{Abs - b}{m}$$

$$\% Saponina = \frac{Cx}{C \text{ muestra}}$$

30	5	0,587	0,620	0,646	0,6177±0,03	2,2697	0,3783	21,17
30	15	0,586	0,576	0,695	0,6190±0,07	2,2744	0,3791	21,18
30	20	0,596	0,678	0,687	0,6537±0,05	2,4001	0,4000	21,17
40	5	0,484	0,547	0,538	0,5230±0,03	1,9264	0,3211	20,63
40	15	0,482	0,548	0,563	0,5310±0,08	1,9554	0,3259	19,96
40	20	0,587	0,545	0,548	0,5600±0,02	2,0605	0,3434	19,54
50	5	0,408	0,496	0,419	0,4410±0,09	1,6292	0,2715	20,00
50	15	0,474	0,423	0,512	0,4697±0,03	1,7332	0,2889	20,00
50	20	0,425	0,514	0,427	0,4553±0,06	1,6810	0,2802	18,65

$$Cx = \frac{0.6177+0.0085}{0.2759} = 2,2697 \mu\text{g/ml}$$

$$2,2697 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,3783 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{0.6190+0.0085}{0.2759} = 2,2744 \mu\text{g/ml}$$

$$2,2744 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,3791 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{0.6537+0.0085}{0.2759} = 2,4001 \mu\text{g/ml}$$

$$2,4001 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,4000 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{0.5230+0.0085}{0.2759} = 1,9264 \mu\text{g/ml}$$

$$1,9264 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,3211 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{0.5310+0.0085}{0.2759} = 1,9554 \mu\text{g/ml}$$

$$1,9554 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,3259 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{0.5600+0.0085}{0.2759} = 2,0605 \mu\text{g/ml}$$

$$2,0605 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,3434 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{0.4410+0.0085}{0.2759} = 1,6292 \mu\text{g/ml}$$

$$Cx = \frac{0.4697+0.0085}{0.2759} = 1,7332 \mu\text{g/ml}$$

$$Cx = \frac{0.4553+0.0085}{0.2759} = 1,6810 \mu\text{g/ml}$$

$$1,6292 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,2715 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$1,7332 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,2889 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$1,6810 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,2802 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{\text{crudo de saponina real g}}{\text{crudo de saponina teorico g}} \times 100$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.3783 \text{ g}}{1.7873 \text{ g}} \times 100 = 21,17$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.3791 \text{ g}}{1.7899 \text{ g}} \times 100 = 21,18$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.4000 \text{ g}}{1.8898 \text{ g}} \times 100 = 21,17$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.3211 \text{ g}}{1.5563 \text{ g}} \times 100 = 20,63$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.3259 \text{ g}}{1.6325 \text{ g}} \times 100 = 19,96$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.3459 \text{ g}}{1.7701 \text{ g}} \times 100 = 19,54$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.2715 \text{ g}}{1.3573 \text{ g}} \times 100 = 20,00$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.2889 \text{ g}}{1.4446 \text{ g}} \times 100 = 20,00$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.2802 \text{ g}}{1.5021 \text{ g}} \times 100 = 18,65$$

Método 2 Temperatura °C Tiempo min Absorbancia Promedio Cx µg/ml g /g crudo de saponina % Saponina

			Abs1	Abs2	Abs3				
	30	5	1,063	1,052	1,075	1,2433±0,31	4,5372	0,7562	32,89
	30	15	1,118	1,256	1,126	1,1667±0,08	4,2595	0,7099	32,63
	30	20	1,215	1,369	1,278	1,2873±0,08	4,6966	0,7828	33,68
	40	5	0,967	1,120	0,987	1,0247±0,08	3,7448	0,6241	28,92
	40	15	0,999	1,002	1,006	1,0023±0,00	3,6636	0,6106	26,90
	40	20	1,023	1,012	1,032	1,0223±0,01	3,7361	0,6227	29,13
	50	5	0,786	0,985	0,965	0,9120±0,11	3,3364	0,5561	27,95
	50	15	0,867	0,752	0,986	0,8683±0,12	3,1780	0,5297	28,08
	50	20	0,965	0,842	0,869	0,8920±0,06	3,2639	0,5440	27,22

$$Cx = \frac{1.2433+0.0085}{0.2759} = 4,5372 \text{ µg/ml}$$

$$4,5372 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,7562\text{g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1.1667+0.0085}{0.2759} = 4,2595 \text{ µg/ml}$$

$$4,2595 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,7099 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1.2873+0.0085}{0.2759} = 4,6966 \text{ µg/ml}$$

$$4,6966 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,7828 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1.0247+0.0085}{0.2759} = 3,7448 \text{ µg/ml}$$

$$3,7448 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,6241 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1.0023+0.0085}{0.2759} = 3,6636 \text{ µg/ml}$$

$$3,6636 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,6106 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1.0223+0.0085}{0.2759} = 3,7361 \text{ µg/ml}$$

$$3,7361 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,6227 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{0.9120+0.0085}{0.2759} = 3,3364 \mu\text{g/ml}$$

$$Cx = \frac{0.8683+0.0085}{0.2759} = 3,1780 \mu\text{g/ml}$$

$$Cx = \frac{0.8920+0.0085}{0.2759} = 3,2639 \mu\text{g/ml}$$

$$3,3364 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,5561 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$3,1780 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,5297 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$3,2639 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,5440 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{\text{crudo de saponina real g}}{\text{crudo de saponina teorico g}} \times 100$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.7562 \text{ g}}{2.2989 \text{ g}} \times 100 = 32,89$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.7099 \text{ g}}{2.1755 \text{ g}} \times 100 = 32,63$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.7828 \text{ g}}{2.3241 \text{ g}} \times 100 = 33,68$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.6241 \text{ g}}{2.1583 \text{ g}} \times 100 = 28,92$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.6106 \text{ g}}{2.2699 \text{ g}} \times 100 = 26,90$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.6227 \text{ g}}{2.1375 \text{ g}} \times 100 = 29,13$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.5561 \text{ g}}{1.9898 \text{ g}} \times 100 = 27,95$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.5297 \text{ g}}{1.8864 \text{ g}} \times 100 = 28,08$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.5440 \text{ g}}{1.9986 \text{ g}} \times 100 = 27,22$$

Método	Temperatura °C	Tiempo min	Absorbancia			Promedio	Cx µg/ml	g /g crudo de saponina	% Saponina
3			Abs1	Abs2	Abs3				
	30	5	1,636	1,712	1,623	1,6570±0,05	6,0366	1,0061	43,28
	30	15	1,756	1,745	1,895	1,7987±0,08	6,5509	1,0918	45,45
	30	20	1,896	1,785	1,888	1,8563±0,06	6,7590	1,1265	45,74
	40	5	1,598	1,548	1,598	1,5913±0,01	5,7985	0,9664	40,24
	40	15	1,475	1,489	1,510	1,4913±0,02	5,4360	0,9060	37,60
	40	20	1,456	1,589	1,526	1,5237±0,07	5,5535	0,9256	38,39
	50	5	1,120	1,206	1,278	1,2013±0,04	4,3849	0,7308	36,13
	50	15	1,136	1,322	1,109	1,1890±0,05	4,3403	0,7234	36,00
	50	20	1,019	1,026	1,089	1,0447±0,06	3,8173	0,6362	31,67

$$Cx = \frac{1,6570+0,0085}{0,2759} = 6,0366 \mu\text{g/ml}$$

$$6,0366 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0,150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 1,0061 \text{g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1,7987+0,0085}{0,2759} = 6,5509 \mu\text{g/ml}$$

$$6,5509 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0,150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 1,0918 \text{g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1,8563+0,0085}{0,2759} = 6,7590 \mu\text{g/ml}$$

$$6,7590 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0,150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 1,1265 \text{g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1,5913+0,0085}{0,2759} = 5,7985 \mu\text{g/ml}$$

$$5,7985 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0,150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,9664 \text{g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1,4913+0,0085}{0,2759} = 5,4360 \mu\text{g/ml}$$

$$5,4360 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0,150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,9060 \text{g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1,5237+0,0085}{0,2759} = 5,5535 \mu\text{g/ml}$$

$$5,5535 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0,150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,9256 \text{g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1,2013+0,0085}{0,2759} = 4,3849 \mu\text{g/ml}$$

$$4,3849 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{2,5\text{ml}}{0,5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0,150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,7308 \text{g/g crudo de saponina}$$

$$Cx = \frac{1.1890+0.0085}{0.2759} = 4,3403 \mu\text{g/ml}$$

$$Cx = \frac{1.0447+0.0085}{0.2759} = 3,8173 \mu\text{g/ml}$$

$$4,3403 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,7234 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$3,8173 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \times \frac{25\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{2.5\text{ml}}{0.5\text{ml}} \times \frac{100\text{ml}}{0.150\text{g crudo de saponina}} \times \frac{1\text{g}}{1 \times 10^6 \mu\text{g}} = 0,6362 \text{ g/g crudo de saponina}$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{\text{crudo de saponina real g}}{\text{crudo de saponina teorico g}} \times 100$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{1.0061\text{g}}{2.3247\text{g}} \times 100 = 43,28$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{1.0918\text{g}}{2.4021\text{g}} \times 100 = 45,45$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{1.1265\text{g}}{2.4627\text{g}} \times 100 = 45,74$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.9664\text{g}}{2.4014\text{g}} \times 100 = 40,24$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.9060\text{g}}{2.4096\text{g}} \times 100 = 37,60$$

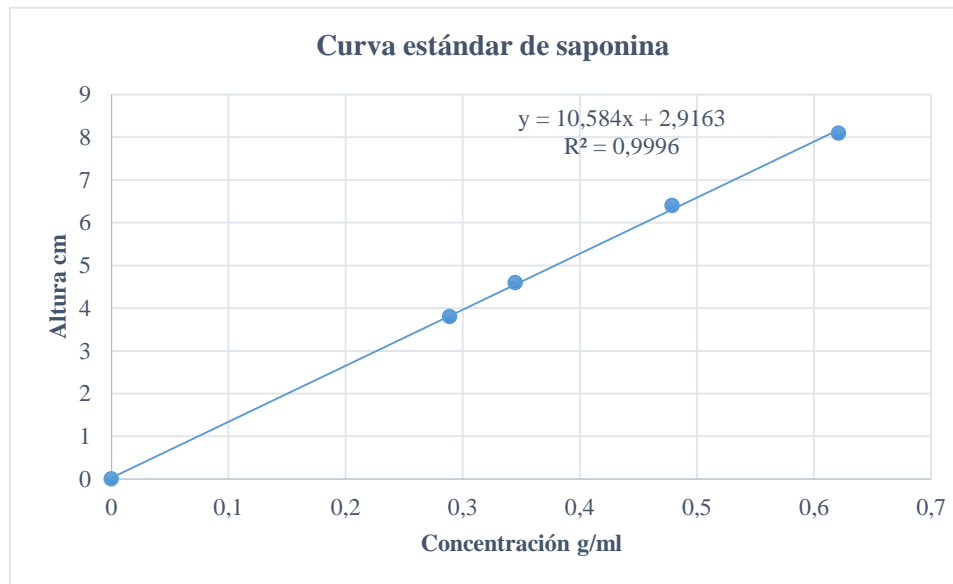
$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.9256\text{g}}{2.4110\text{g}} \times 100 = 38,39$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.7308\text{g}}{2.0226\text{g}} \times 100 = 36,13$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.7234\text{g}}{2.0117\text{g}} \times 100 = 36,00$$

$$\% \text{ Saponina} = \frac{0.6362\text{g}}{2.0089\text{g}} \times 100 = 31,67$$

Ane	Concentración	Altura
no J:	0	0
Cálculo	0,289	3,8
de	0,345	4,6
concentración	0,479	6,4
	0,621	8,1



de saponina por el Método del Índice afrosimétrico.

$$Z = \frac{x}{W} * 100$$

Método 1	Temperatura °C	Tiempo min	Altura			Promedio	X g	W g	Z%
			A1	A2	A3				
	30	5	3,8	3,6	3,5	3,7±0,10	0,3702	1,7873	20,71

30	15	3,9	3,8	3,7	3,8±0,10	0,4175	1,7899	23,32
30	20	3,9	3,9	3,9	3,9 ±0,00	0,4647	1,8898	24,59
40	5	3,7	3,7	3,5	3,6±0,11	0,3230	1,5563	20,75
40	15	3,8	3,6	3,6	3,7±0,11	0,3702	1,6325	22,68
40	20	3,8	3,7	3,6	3,7±0,10	0,3702	1,7701	20,92
50	5	3,7	3,6	3,6	3,6±0,06	0,3230	1,3573	23,80
50	15	3,7	3,6	3,6	3,6±0,06	0,3230	1,4446	22,36
50	20	3,7	3,6	3,6	3,6±0,06	0,3230	1,5021	21,50

$$Y=10,584x+2,9163$$

$$x = \frac{3,7-2,9163}{10,584} = 0,0740$$

$$\frac{0,0740g}{ml} * 5ml = 0,3702g$$

$$Z = \frac{0,3702}{1,7873} * 100 = 20,71$$

$$x = \frac{3,8-2,9163}{10,584} = 0,0835$$

$$\frac{0,0835g}{ml} * 5ml = 0,4175g$$

$$Z = \frac{0,4175}{1,7899} * 100 = 23,32$$

$$x = \frac{3,9-2,9163}{10,584} = 0,0929$$

$$\frac{0,0929g}{ml} * 5ml = 0,4647g$$

$$Z = \frac{0,4647}{1,8898} * 100 = 24,59$$

$$x = \frac{3,6-2,9163}{10,584} = 0,0646$$

$$\frac{0,0646g}{ml} * 5ml = 0,3230g$$

$$Z = \frac{0,3230}{1,5563} * 100 = 20,75$$

$$x = \frac{3,7-2,9163}{10,584} = 0,0740$$

$$\frac{0,0740g}{ml} * 5ml = 0,3702g$$

$$Z = \frac{0,3702}{1,6325} * 100 = 22,68$$

$$x = \frac{3,7-2,9163}{10,584} = 0,0740$$

$$\frac{0,0740g}{ml} * 5ml = 0,3702g$$

$$Z = \frac{0,3702}{1,7701} * 100 = 20,92$$

$$x = \frac{3,6-2,9163}{10,584} = 0,0646$$

$$\frac{0,0646g}{ml} * 5ml = 0,3230g$$

$$Z = \frac{0,3230}{1,3573} * 100 = 23,80$$

Método 2	Temperatura °C	Tiempo min	Altura			Promedio	X g	W g	Z%
			A1	A2	A3				
	30	5	4,7	4,7	4,5	4,6±0,12	0,7954	2,2989	34,60
	30	15	4,6	4,4	4,4	4,5±0,12	0,7482	2,1755	34,39
	30	20	4,7	4,7	4,6	4,7±0,06	0,8426	2,3241	36,26
	40	5	4,5	4,3	4,2	4,3±0,16	0,6537	2,1583	30,29
	40	15	4,5	4,3	4,2	4,3±0,16	0,6537	2,2699	28,80
	40	20	4,5	4,3	4,2	4,3±0,16	0,6537	2,1375	30,58
	50	5	4,2	4,1	4,1	4,1±0,06	0,5592	1,9898	28,10
	50	15	4,3	4,2	4,1	4,2±0,10	0,6064	1,8964	31,98
	50	20	4,2	4,1	4,1	4,1±0,06	0,5592	1,9986	27,98

$$x = \frac{3,6-2,9163}{10,584} = 0,0646$$

$$\frac{0,0646g}{ml} * 5ml = 0,3230g$$

$$Z = \frac{0,3230}{1,4446} * 100 = 22,36,$$

$$Y = 10,584x + 2,916$$

$$x = \frac{4,6-2,9163}{10,584} = 0,1591$$

$$\frac{0,1591g}{ml} * 5ml = 0,7954g$$

$$Z = \frac{0,7954}{2,2989} * 100 = 34,60$$

$$x = \frac{4,5-2,9163}{10,584} = 0,1496$$

$$\frac{0,1496g}{ml} * 5ml = 0,7482g$$

$$Z = \frac{0,7482}{2,1755} * 100 = 34,39$$

$$x = \frac{4,7-2,9163}{10,584} = 0,1685$$

$$\frac{0,1685g}{ml} * 5ml = 0,8426g$$

$$Z = \frac{0,8426}{2,3241} * 100 = 36,26$$

$$x = \frac{4,3-2,9163}{10,584} = 0,1307$$

$$\frac{0,1307g}{ml} * 5ml = 0,6537g$$

$$Z = \frac{0,6537}{2,1583} * 100 = 30,29$$

$$x = \frac{4,3-2,9163}{10,584} = 0,1307$$

$$\frac{0,1307g}{ml} * 5ml = 0,6537g$$

$$Z = \frac{0,6537}{2,2699} * 100 = 28,80$$

$$x = \frac{4,3-2,9163}{10,584} = 0,1307$$

$$\frac{0,1307g}{ml} * 5ml = 0,6537g$$

$$Z = \frac{0,6537}{2,1375} * 100 = 30,58$$

$$x = \frac{4.1-2.9163}{10.584} = 0,1118$$

$$\frac{0.1118g}{ml} * 5ml = 0,5592g$$

$$Z = \frac{0.5592}{1.9898} * 100 = 28.10$$

$$x = \frac{4.2-2.9163}{10.584} = 0,1213$$

$$\frac{0.1213g}{ml} * 5ml = 0,6064g$$

$$Z = \frac{0.6064}{1.8964} * 100 = 31.98$$

$$x = \frac{4.1-2.9163}{10.584} = 0,1118$$

$$\frac{0.1118g}{ml} * 5ml = 0,5592g$$

$$Z = \frac{0.5592}{1.9986} * 100 = 27,98$$

Método 3	Temperatura °C	Tiempo min	Altura			Promedio	X g	W g	Z%
			A1	A2	A3				
	30	5	5,2	5,1	5,1	5,1±0,06	1,0316	2,3247	44,38
	30	15	5,4	5,3	5,2	5,3±0,16	1,1261	2,4021	46,88

	30	20	5,5	5,2	5,2	5,4±0,17	1,1733	2,4627	47,64
	40	5	5,2	5,1	5,1	5,1±0,06	1,0316	2,4014	42,96
	40	15	4,9	4,9	4,8	4,9±0,06	0,9371	2,4096	38,89
	40	20	5,1	5,1	4,9	5±0,12	0,9844	2,4110	40,83
	50	5	4,6	4,4	4,4	4,5±0,12	0,7482	2,0226	36,99
	50	15	4,5	4,2	4,2	4,4±0,17	0,7009	2,0117	34,84
	50	20	4,4	4,3	4,2	4,3±0,16	0,6537	2,0089	32,54

$$Y=10,584x+2,9163$$

$$x = \frac{5,1-2,9163}{10,584} = 0,2063$$

$$\frac{0,2063g}{ml} * 5ml = 1,0316 g$$

$$Z = \frac{1,0316}{2,3247} * 100 = 44,38$$

$$x = \frac{5,3-2,9163}{10,584} = 0,2252$$

$$\frac{0,2252g}{ml} * 5ml = 1,1261 g$$

$$Z = \frac{1,1261}{2,4021} * 100 = 46,88$$

$$x = \frac{5,4-2,9163}{10,584} = 0,2347$$

$$\frac{0,2347g}{ml} * 5ml = 1,1733g$$

$$Z = \frac{1,1733}{2,4627} * 100 = 47,64$$

$$x = \frac{5,1-2,9163}{10,584} = 0,2063$$

$$\frac{0,2063g}{ml} * 5ml = 1,0316g$$

$$Z = \frac{1,0316}{2,4014} * 100 = 42,96$$

$$x = \frac{4,9-2,9163}{10,584} = 0,1874$$

$$\frac{0,1874g}{ml} * 5ml = 0,9371g$$

$$Z = \frac{0,9371}{2,4096} * 100 = 38,89$$

$$x = \frac{5-2,9163}{10,584} = 0,1969$$

$$\frac{0,1969g}{ml} * 5ml = 0,9844g$$

$$Z = \frac{0,9844}{2,4110} * 100 = 40,83$$

$$x = \frac{4,5-2,9163}{10,584} = 0,1496$$

$$\frac{0,1496g}{ml} * 5ml = 0,7482g$$

$$Z = \frac{0,7482}{2,0226} * 100 = 36,99$$

$$x = \frac{4.4 - 2.9163}{10.584} = 0,1401$$

$$x = \frac{4.3 - 2.9163}{10.584} = 0,1307$$

$$\frac{0.1401g}{ml} * 5ml = 0,7009g$$

$$\frac{0.1307g}{ml} * 5ml = 0,6537g$$

$$Z = \frac{0.7009}{2.0117} * 100 = 34,84$$

$$Z = \frac{0.6537}{2.0089} * 100 = 32,54$$

Anexo K. Cálculos del ANOVA para cada método y $p < 0.05$.

Método 1. Extracción por maceración por agitación.

Representación gráfica de la influencia de los factores.

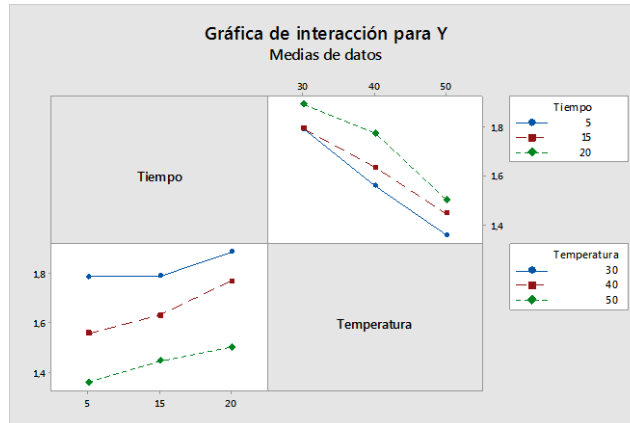


Tabla de ANOVA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Temperatura	2	0,679752	0,339876	1,14708E+08	0,000
Tiempo	2	0,109037	0,054518	18399971,38	0,000
Temperatura*Tiempo	4	0,013762	0,003441	1161185,75	0,000
Error	18	0,000000	0,000000		
Total	26	0,802551			

Si valor $p < \alpha$: Se Rechaza H_0

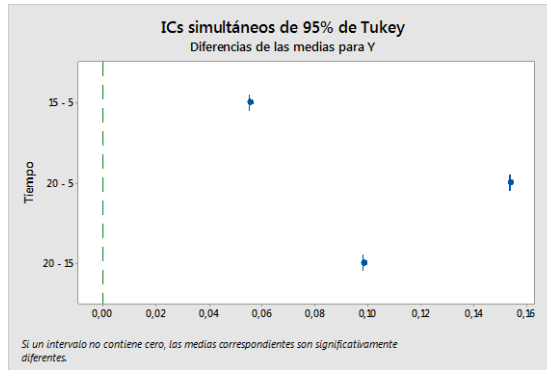
Prueba de Tukey

Comparaciones por parejas de Tukey: Tiempo

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tiempo	N	Media	Agrupación
20	9	1,72067	A
15	9	1,62232	B
5	9	1,56700	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

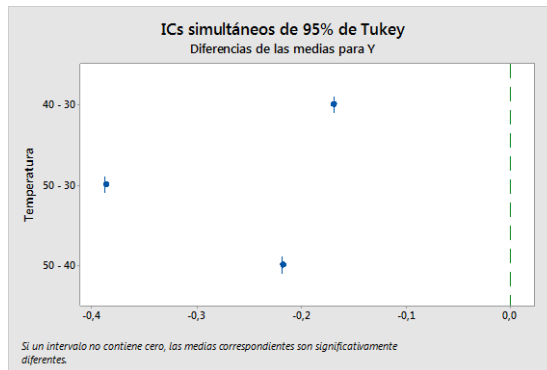


Comparaciones por parejas de Tukey: Temperatura

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Temperatura	N	Media	Agrupación
30	9	1,82233	A
40	9	1,65296	B
50	9	1,43470	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



Comparaciones por parejas de Tukey: Temperatura*Tiempo

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Temperatura*Tiempo	N	Media	Agrupación
30 20	3	1,88980	A
30 15	3	1,78987	B
30 5	3	1,78733	C
40 20	3	1,77007	D
40 15	3	1,63247	E
40 5	3	1,55633	F
50 20	3	1,50213	G
50 15	3	1,44463	H
50 5	3	1,35733	I

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Método 2. Extracción asistida por Ultrasonido

Representación gráfica de la influencia de los factores.

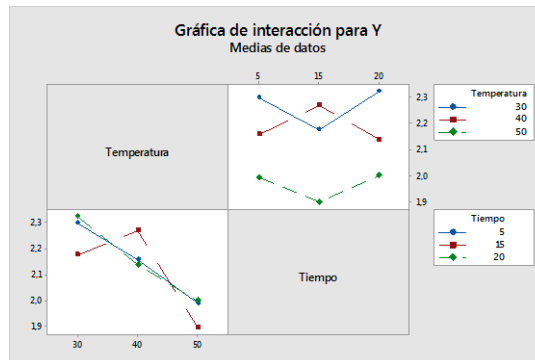


Tabla de ANOVA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tiempo	2	0,008423	0,004212	1421409,13	0,000
Temperatura	2	0,450834	0,225417	76078254,50	0,000
Temperatura*Tiempo	4	0,079162	0,019790	6679291,63	0,000
Error	18	0,000000	0,000000		
Total	26	0,538419			

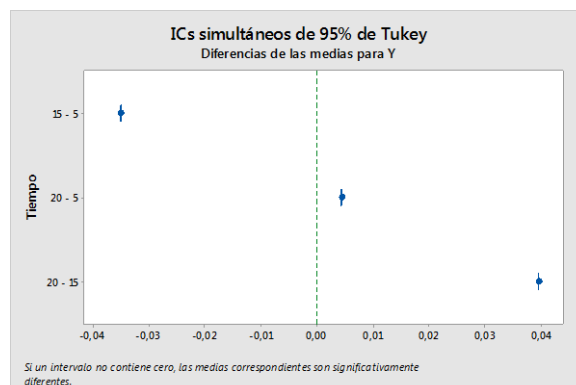
Prueba de Tukey

Comparaciones por parejas de Tukey: Tiempo

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tiempo	N	Media	Agrupación
20	9	2,15339	A
5	9	2,14903	B
15	9	2,11393	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



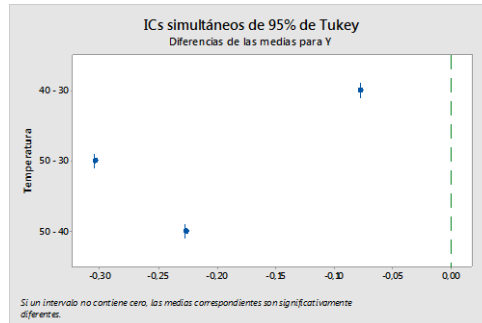
Comparaciones por parejas de Tukey: Temperatura

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Temperatura	N	Media	Agrupación
-------------	---	-------	------------

30	9	2,26618	A
40	9	2,18856	B
50	9	1,96162	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



Comparaciones por parejas de Tukey: Temperatura*Tiempo
Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Temperatura*Tiempo	N	Media	Agrupación
30 20	3	2,32407	A
30 5	3	2,29893	B
40 15	3	2,26987	C
30 15	3	2,17553	D
40 5	3	2,15833	E
40 20	3	2,13747	F
50 20	3	1,99863	G
50 5	3	1,98983	H
50 15	3	1,89640	I

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Método 3. Extracción por microondas

Representación gráfica de la influencia de los factores.

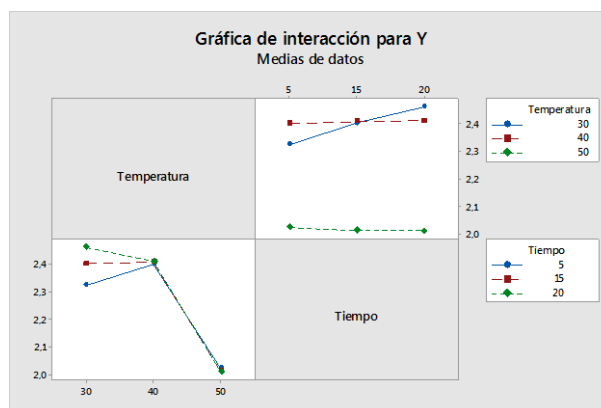


Tabla de ANOVA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tiempo	2	0,009009	0,004504	1520200,50	0,000
Temperatura	2	0,901622	0,450811	1,52149E+08	0,000
Temperatura*Tiempo	4	0,020184	0,005046	1703057,25	0,000
Error	18	0,000000	0,000000		
Total	26	0,930815			

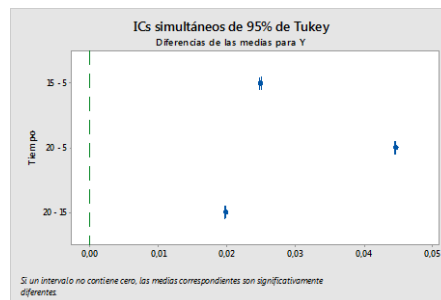
Prueba de Tukey

Comparaciones por parejas de Tukey: Tiempo

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tiempo	N	Media	Agrupación
20	9	2,29421	A
15	9	2,27446	B
5	9	2,24957	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

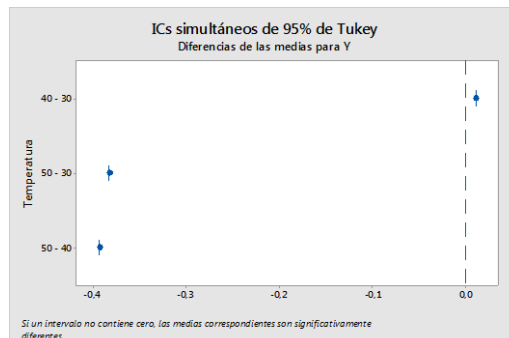


Comparaciones por parejas de Tukey: Temperatura

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Temperatura	N	Media	Agrupación
40	9	2,40734	A
30	9	2,39650	B
50	9	2,01439	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



Comparaciones por parejas de Tukey: Temperatura*Tiempo
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Temperatura*Tiempo	N	Media	Agrupación
30 20	3	2,46273	A
40 20	3	2,41103	B
40 15	3	2,40957	C
30 15	3	2,40207	D
40 5	3	2,40143	E
30 5	3	2,32470	F
50 5	3	2,02257	G
50 15	3	2,01173	H
50 20	3	2,00887	I

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.