

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAEL SARACHO
FACULTAD DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA
CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

PROYECTO DE GRADO



**OBTENCIÓN DE EXTRACTO DE SAPONINA A PARTIR DEL FRUTO
DE TIMBOY (*Enterolobium Contortisiliquum*), DEL DEPARTAMENTO
DE TARIJA**

Por:

ABIGAIL GUTIÉRREZ QUITO

**Modalidad de graduación (Proyecto de Grado: Investigación Aplicada)
presentado a consideración de la “UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN
MISAEL SARACHO”, como requisito para optar el Grado Académico
de Licenciatura en Ingeniería Química.**

Octubre de 2019
TARIJA-BOLIVIA

VºBº

M. Sc. Ing. Ernesto Álvarez Gozalvez
DECANO
Facultad de Ciencias y Tecnología

M. Sc. Lic. Elizabeth Castro Figueroa
VICEDECANA
Facultad de Ciencias y Tecnología

APROBADO POR:

TRIBUNAL:

Ing. Ignacio Edwin Velásquez Soza
TRIBUNAL

Ing. Gustavo Moreno López
TRIBUNAL

Ing. Mirtha Wilma Segovia Torrez
TRIBUNAL

ADVERTENCIA

El tribunal calificador del presente trabajo, no se solidariza con la forma, términos, modos y expresiones vertidas en el mismo, siendo éstas responsabilidad de la autora.

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a mi familia; a mis padres Froilan Gutiérrez M. y Virginia Quito H., y a mis hermanos Breiner y Sarai.

AGRADECIMIENTO

A Dios por su cuidado, bendición quien hizo realidad uno de mis anhelos y por todo lo que me dio.

A mis padres que con su ejemplo me enseñaron a ser perseverante, por todo el apoyo, amor incondicional, y por su confianza en mis decisiones.

A mi novio Luis, por su amor, apoyo, paciencia y por hacerme sonreír a pesar de todo.

A mis hermanos por alegrarme y divertirme con sus ocurrencias.

A mis compañeras Jakeline y Evelin, por su amistad que a lo largo de la carrera compartimos divertidos y alegres momentos.

A mis tribunales el Ing. Gustavo Moreno, el Ing. Ignacio Velázquez y a la Ing. Mirtha Segovia por dedicar su tiempo en la revisión y evaluación de este proyecto.

A mi tutor el Ing. Juan Carlos Vega por su apoyo, orientación y guía en la realización del proyecto.

Al Instituto de Investigaciones Químicas (I.I.Q.) por brindar el servicio en los análisis, en especial a

la M.Sc. Lic. Maribel Lozano, al Lic. Santiago Tarqui y a la Dra. Giovanna Almanza.

Al Ing. Jorge Tejerina por su disposición y colaboración.

A todos los Ingenieros que me han enseñado, guiado y apoyado en el desarrollo de mi carrera universitaria.

A todas las personas que de alguna manera colaboraron en la elaboración de este trabajo.

PENSAMIENTO

“Nunca consideres el estudio como un deber, sino como una oportunidad para penetrar en el maravilloso mundo del saber”.

Albert Einstein

ÍNDICE

	Página
Advertencia.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Pensamiento.....	v
Resumen.....	vi
Abreviatura y Simbología.....	xix

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

	Página
1.1. Antecedentes	1
1.1.1. Identificación del Problema del Proyecto.....	4
1.1.2. Mercado consumidor	5
1.1.3. Precios de la saponina.....	5
1.1.4. Mercado competidor	6
1.2. Objetivos.....	8
1.2.1. Objetivo General	8
1.2.2. Objetivos Específicos	8
1.3. Justificación del Proyecto	9
1.3.1. Justificación Económica	9
1.3.2. Justificación Tecnológica	10
1.3.3. Justificación Social	10

1.3.4.	Justificación Ambiental	10
--------	-------------------------------	----

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

	Página	
2.1.	Generalidades de la Saponina.....	11
2.1.1.	Definición de la Saponina.....	11
2.1.2.	Clasificación.....	13
2.1.2.1.	Saponinas Triterpénicas.....	13
2.1.2.2.	Saponinas Esteroidales	14
2.2.	Materia prima	15
2.2.1.	Taxonomía de Timboy.....	15
2.2.2.	Morfología del fruto de Timboy (Enterolobium Contortisiliquum)	16
2.3.	Extracto de Saponina del fruto de Timboy.....	17
2.3.1.	Contenido de Saponinas en diferentes plantas	20
2.3.2.	Componentes del extracto de Saponina.....	20
2.3.3.	Análisis Fitoquímico.....	21
2.3.3.1.	Fracción Polisacárido.....	21
2.3.3.2.	Fracción de proteína.....	22
2.3.3.3.	Aceites Esenciales.....	24
2.3.4.	Actividad Biológica	24
2.3.4.1.	Evaluación citotóxica.....	24
2.3.4.2.	La actividad antimicrobiana	24
2.4.	Métodos de extracción de Saponina	25

2.4.1.	Extracción sólido-líquido	25
2.4.2.	Extractos etanólicos	25
2.4.3.	Extracción de saponina mediante agitación	25
2.4.4.	Extracción de saponinas mediante Soxhlet	25
2.4.5.	Extracción mediante maceración	27
2.4.6.	Selección del método para la extracción de Saponina a partir del fruto de Timboy.....	27
2.4.7.	Variables que influyen en el proceso de extracción.....	31
2.4.7.1.	Tipo de solvente	31
2.4.7.2.	Tamaño de la partícula.....	32
2.4.7.3.	Tiempo de extracción.....	32
2.5.	Métodos para la determinación de Saponina.....	32
2.5.1.	Métodos Cualitativos	32
2.5.1.1.	Método de Coloración	32
2.5.1.2.	Método Cromatografía en Capa Delgada C.C.D.	33
2.5.1.3.	Método de Espuma	34
2.5.2.	Métodos Cuantitativos	35
2.5.2.1.	Método espectrofotométrico.....	35
2.5.2.2.	Método Cromatografía Líquida de Alta Presión HPLC	35
2.6.	Usos y aplicaciones de la saponina	37

CAPÍTULO III

PARTE EXPERIMENTAL

	Página
3.1.	Descripción y análisis de materias primas.....
	39

3.1.1.	Caracterización físicas de la Materia Prima: fruto de Timboy (Enterolobium contortisiliquum) del departamento de Tarija	39
3.2.	Descripción del método de investigación	40
3.3.	Diseño Experimental del Proceso Tecnológico de obtención de Extracto de Saponinas a partir del fruto de Timboy	41
3.3.1.	Planteamiento de la Hipótesis	41
3.3.1.1.	Diseño Factorial	41
3.3.2.	Factores de estudio.....	42
3.4.	Procedimientos y técnicas empleados para la obtención de los resultados.	45
3.4.1.	Material de Laboratorio	45
3.4.2.	Solvente	46
3.4.2.1.	Etanol.....	46
3.4.2.2.	Agua Desionizada	48
3.5.	Descripción del diagrama de bloques del Proceso Experimental de Obtención de Extracto de Saponinas a partir del fruto de Timboy (Enterolobium contortisiliquum).....	49
3.5.1.	Recolección de la materia prima: Fruto de Timboy.....	51
3.5.2.	Lavado	51
3.5.3.	Secado.....	52
3.5.4.	Triturado y Molienda del fruto.....	53
3.5.5.	Extracción mediante Maceración en dos etapas con solvente.....	55
3.5.5.1.	Preparación del solvente	55
3.5.5.2.	Maceración	56
3.5.6.	Filtración.....	58

3.5.7.	Concentración.....	60
3.5.8.	Segunda extracción de maceración con solvente recuperado	61
3.5.9.	Producto Obtenido	62
3.6.	Determinación de saponinas por Cromatografía Líquida de Alta Presión HPLC	63
3.7.	Diagrama de Flujo del Proceso de Extracción de saponina.....	65
3.8.	Balance de Materia y Energía	67
3.8.1.	Balance de Materia	67
3.8.1.1.	Balance de materia en secado del fruto Timboy	69
3.8.1.2.	Balance de materia en Trituración y Molienda	70
3.8.1.3.	Balance de materia en Mezclado y Maceración.....	71
3.8.1.4.	Balance de materia en Filtración.....	72
3.8.1.5.	Balance de materia en Concentración en el Rota-evaporador.....	74
3.8.2.	Balance de Energía	75
3.8.2.1.	Balance de energía en el Secador.....	75
3.8.2.2.	Balance de energía en el Molino	77
3.8.2.3.	Balance de energía en el Rota-evaporador	77
3.8.2.4.	Balance en el baño del Rota-evaporador	78
3.8.2.5.	Balance en el condensador del Rota-evaporador	80
3.9.	Cálculos y resultados del balance de materia y energía.....	81

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

	Página
4.1.	Análisis Físicoquímicos de la Materia Prima: Fruto de Timboy
	83

4.2.	Análisis Cualitativos del extracto de Saponina de Timboy	84
4.3.	Análisis de Cuantificación por Cromatografía HPLC del Extracto de Saponina	86
4.4.	Análisis Físicos de los extractos concentrados de Saponina de Timboy	87
4.5.	Resultados del proceso de obtención del Extracto de Saponina	88
4.6.	Comparación del contenido de extracto de Saponina del Timboy con otros extractos de saponina de diferentes plantas naturales.	90
4.7.	Análisis estadísticos del diseño experimental	91
4.7.1.	Cálculo del análisis de varianza	92
4.8.	Análisis estimativo de costos para la obtención del extracto de Saponina del Timboy.....	97

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

	Página
5.1. Conclusiones	103
5.2. Recomendaciones	104
BIBLIOGRAFÍA	106
ANEXOS	110

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I- 1 Contenido de saponina de Quinoa Real sin procesar.....	2
Tabla I- 2 Precio de saponina	6
Tabla I- 3 Importaciones de tensioactivos sintéticos sulfatos en miles \$us.....	7
Tabla I- 4 Principales afecciones de los tensoactivos al medio ambiente	8
Tabla II- 1 Taxonomía de la planta Timboy.....	15
Tabla II- 2 Comparación de porcentaje de saponina en la materia prima.....	20
Tabla II- 3 Los rendimientos de extractos sucesivos y fracciones del pericarpio de Enterolobium contortisiliquum	21
Tabla II- 4 Cromatografía líquido - gaseosa de hidrolizado de polisacárido del fruto de Enterolobium Contortisiliquum	22
Tabla II- 5 Composición de aminoácidos de la proteína aislada del fruto de Enterolobium contortisiliquum	23
Tabla II- 6 Escala de Calificación por Puntuación del 1 al 10	28
Tabla II- 7 Selección del proceso de extracción de Saponina	28
Tabla II- 8 Matriz de decisión para el tipo de proceso de extracción de Saponina	30
Tabla III- 1 Propiedades del fruto y semilla del fruto de Timboy.....	39
Tabla III- 2 Niveles de variación de los factores.....	41
Tabla III- 3 Codificación de las variables.....	42
Tabla III- 4 Diseño factorial para el Proceso de Extracción de Saponina	43
Tabla III- 5 Diseño factorial con sus valores bajos y altos	44
Tabla III- 6 Equipos y materiales empleados para la extracción.....	45
Tabla III- 7 Descripción del Etanol.....	47
Tabla III- 8 Propiedades físicas, químicas y termodinámicas del Etanol	47

Tabla III- 9 Identificación de riesgos de Etanol	48
Tabla III- 10 Descripción del Agua Desionizada	49
Tabla III- 11 Propiedades físicas y químicas del Agua Destilada	49
Tabla III- 12 Concentraciones y volúmenes requeridos para la disolución	56
Tabla III- 13 Parámetros del Rota-evaporador	61
Tabla III- 14 Lista de Equipos	66
Tabla III- 15 Corrientes del proceso de extracción	66
Tabla III- 16 Datos del proceso de obtención de Extracto de saponina	68
Tabla III- 17 Resultados del Balance de Materia	81
Tabla III- 18 Resumen del Balance de Energía	82
Tabla IV- 1 Análisis Físicoquímico de la Materia Prima: fruto de Timboy	83
Tabla IV- 2 Análisis Preliminares del Extracto de Saponina a partir del fruto de Timboy	85
Tabla IV- 3 Análisis fitoquímico preliminar de los Extractos de saponina de Timboy ..	85
Tabla IV- 4 Análisis semi-cuantitativo de Saponina por Cromatografía Líquida de Alta Presion HPLC	86
Tabla IV- 5 Densidad de los extractos concentrados	87
Tabla IV- 6 pH a 20 °C de los extractos concentrados	87
Tabla IV- 7 Viscosidad de los extractos concentrados	88
Tabla IV- 8 Extracción 48 % a 48 h	88
Tabla IV- 9 Extracción 48 % a 72 h	88
Tabla IV- 10 Resultados Promedios al 48 %	89
Tabla IV- 11 Extracción 96 % a 48 h	89
Tabla IV- 12 Extracción 96 % a 72 h	89

Tabla IV- 13 Resultados Promedios al 96 %	90
Tabla IV- 14 Comparación de contenido del extracto de saponina del timboy con otros extractos de diferentes materias primas naturales	90
Tabla IV- 15 Variables experimentales	91
Tabla IV- 16 Factores inter-sujetos	92
Tabla IV- 17 Pruebas de efectos inter-sujetos	92
Tabla IV- 18 Variables entradas/eliminadasa.....	93
Tabla IV- 19 Resumen del modelo b	93
Tabla IV-20 ANOVAa	94
Tabla IV- 21 Coeficientes a	94
Tabla IV- 22 Rendimientos	96
Tabla IV- 23 Detalle de Servicios Directos	98
Tabla IV- 24 Detalle de Servicios Indirectos	99
Tabla IV- 25 Detalle de Materia Prima y Reactivos	99
Tabla IV- 26 Detalle de Materiales.....	100
Tabla IV- 27 Detalle de Material de Escritorio	101
Tabla IV- 28 Detalles de Consumo de Energía en los Equipos	101
Tabla IV- 29 Costo Total.....	102

ÍNDICE DE GRÁFICA

Gráfica IV- 1 Problema normal de regresión, Regresión estandarizado.....	95
Gráfica IV- 2 Rendimiento Observado y Rendimiento Modelo	96
Gráfica IV- 3 Error entre el rendimiento observado y rendimiento modelo	97

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1- 1 Planta Timboy (<i>Enterolobium contortisiliquum</i>) mostrando las hojas, flor, fruto y corteza.....	3
Figura 1- 2 Semillas del fruto de Timboy.....	4
Figura 2- 1 Estructura general de la saponina. Se indica el enlace entre la aglicona y un glucósido 11	
Figura 2- 2 Estructuras químicas de compuestos (1-5) aislados del fruto de <i>Enterolobium contortisiliquum</i>	12
Figura 2- 3 Enterolosaponina	13
Figura 2- 4 Ejemplo de saponina Triterpenica	14
Figura 2- 5 Ejemplo de Saponina Esteroidal	15
Figura 2- 6 Morfología del fruto Timboy	16
Figura 2- 7 Fruto maduro de Timboy.....	17
Figura 2- 8 Estructuras químicas de compuestos aislados del <i>Enterolobium contortisiliquum</i>	19
Figura 2- 9 Extracción con Soxhlet en el momento que se produce el sifonamiento del solvente	26
Figura 2- 10 Técnicas de extracción utilizadas en la obtención de saponinas a partir de materiales vegetales	31
Figura 2- 11 Esquema del proceso de Cromatógrafo en Capa Delgada	34
Figura 2- 12 Esquema del equipo de Cromatografía Líquida de Alta Presión.....	36

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍA

Fotografía 3- 1 Árbol Timboy para la recolección, fruto maduro en el árbol	51
Fotografía 3- 2 Lavado del fruto Timboy	52
Fotografía 3- 3 Fruto en la estufa	53
Fotografía 3- 4 Fruto triturado y separado de las semillas.....	54
Fotografía 3- 5 Molino de bolas	54
Fotografía 3- 6 Fruto después de la molienda	55
Fotografía 3- 7 Proceso de maceración.....	57
Fotografía 3- 8 Proceso de Maceración	57
Fotografía 3- 9 Después del proceso de maceración.....	58
Fotografía 3- 10 Filtración a Vacío	59
Fotografía 3- 11 Después del filtrado.....	59
Fotografía 3- 12 Rota-evaporador con la muestra en el matraz	60
Fotografía 3- 13 Conexión del Rota-evaporador para la concentración del extracto.....	61
Fotografía 3- 14 Segunda extracción con solvente el recuperado	62
Fotografía 3- 15 Extractos obtenidos según el diseño experimental.....	62
Fotografía 3- 16 Extractos combinamos para ser analizados	63

ÍNDICE DE DIAGRAMA

Diagrama III- 1 Etapas del proceso de extracción	40
Diagrama III- 2 Diagrama de bloques del proceso de Obtención de Extracto de saponina del fruto de Timboy	50
Diagrama III- 3 Flujo del proceso de obtención de Extracto de Saponina a partir del Fruto de Timboy.....	65

ABREVIATURA Y SIMBOLOGÍA

<i>m</i>	Masa
kg	Kilogramo
g	Gramo
mg	Miligramo
V	Volumen
l	Litro
ml	Mililitro
μl	Micro litro
t	Tiempo
h	Hora
min	Minuto
cm	Centímetro
mm	Milímetro
μm	Micrómetro
nm	Nanómetro
rpm	Revoluciones por minuto
T	Temperatura
°C	Grados Centígrados
K	Grados Kelvin
P	Presión
atm	Atmósfera
KPa	Kilo Pascales
Po	Potencia

KW	Kilo Vatio
W	Vatio
Hz	Hertz
A	Amper
GL	Grados Gay Lussac
R	Rendimiento
%	Porcentaje
Bs	Bolivianos
\$us	Dólares
β	Beta
α	Alfa
UV	Ultravioleta
KJ	Kilo Joule
Kcal	Kilo calorías
Q_{Sensible}	Calor requerido para llegar al punto de ebullición
Q_{Latente}	Calor requerido para evaporar el agua
$\Delta H_{\text{vap. etanol}}$	Entalpia de vaporización del etanol
Cp_{agua}	Calor específico del agua
Cp_{etanol}	Calor específico del etanol
CAS	Chemical Abstracts Service
CCI	Cámara de Comercio Internacional
CCD	Cromatografía de Capa Delgada
HPLC	High Pressure liquid Chromatography. Cromatografía líquida de alta presión.

LOU	Laboratorio de Operaciones Unitarias
CEANID	Centro de Análisis Investigación y Desarrollo
IIQ	Instituto de Investigaciones Químicas
UAJMS	Universidad Autónoma Juan Misael Saracho
UMSA	Universidad Mayor de San Andrés

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene por objetivo la Obtención de Extracto de Saponina a partir del fruto de Timboy (*Enterolobium Contortisiliquum*), del departamento de Tarija, está dirigido al aprovechamiento del fruto de Timboy.

Para la obtención de extracto de saponina se necesitó realizar un análisis de la materia prima y ver su contenido de Humedad, Ceniza, Grasa, Proteína, Fibra, Azúcares Totales, Densidad y pH.

Para las pruebas experimentales se utiliza un diseño factorial de 2^2 tomando dos variables a dos niveles: el tiempo de maceración de 48 y 72 horas, el volumen del solvente 500 ml de H₂O desionizada con 500 ml de Etanol a 96 % y 1000 ml de Etanol a 96% a temperatura ambiente, los ensayos se realizaron cada uno con sus repeticiones.

La ejecución de la parte experimental se realiza en el Laboratorio de Operaciones Unitarias (L.O.U.), el cual, se constituye de varias etapas, con previo acondicionamiento de lavado y limpieza del fruto, luego se seca en el secador de tiro forzado; a continuación se trituran en un mortero y en el molino de bolas, se separaran las semillas del fruto, en seguida se toman 100 gramos del fruto seco y molido para hacer una extracción al cual se le añade 1000 ml de solvente, una con una mezcla de etanol con agua y otra con etanol puro, se deja macerar por un tiempo de 48 o 72 horas; posterior a eso, se filtran los extractos a vacío, se concentran en un rota-evaporador. Con el residuo sobrante de la filtración se procede a una segunda extracción, realizando el mismo procedimiento, dando como resultado extractos concentrados, los cuales, se almacenan en frascos pequeños y conservan a baja temperatura (-2°C).

Al producto obtenido se lo analiza en el Instituto de Investigaciones Químicas (I.I.Q.) de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA) de la ciudad de La Paz. En dicho laboratorio se realiza un análisis preliminar fitoquímico cualitativo para determinar la presencia de los metabolitos: Saponina, Fenoles, Alcaloides, Triterpenos, Azúcares, Taninos, Proteínas y Flavonoides; asimismo se realiza un análisis semicuantitativo en Cromatografía Líquida de Alta Presión HPLC, el cual da un resultado satisfactorio

dándonos como mayor resultado 9,3 % de saponina en una extracción con etanol puro 96 %, con un tiempo de maceración de 48 horas. Además se determinó en el Laboratorio de Operaciones Unitarias LOU la viscosidad, el pH y la densidad de los extractos concentrados.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

Antes de que el hombre creara la gran industria del jabón se usaban jabones naturales, llamados saponinas, nombre derivado del latín sapo = jabón. Muchas raíces, frutos y follaje de plantas tienen la propiedad de limpiar y hacer espuma con el agua por eso se han utilizado desde la antigüedad para lavar ropa, por sus propiedades detergentes por lo cual tienen un sabor amargo. (Moreno M., 2003).

Las saponinas son compuestos glicosidados de glucosa, galactosa o pentosas. Los contenidos de estos metabolitos varían del 0,1% al 5 % en muchos vegetales. Después de una hidrólisis se obtienen sapogeninas, triterpénicas o esteroidales.

Bastantes proyectos similares o parecidos de la extracción de saponina se realizaron en varios países. A nivel internacional se realizaron trabajos de investigación para la fabricación de jabón de los contenidos que están en el interior del fruto del Timboy. Una de las investigaciones se llevó a cabo en la provincia de San Salvador de Jujuy, estudiando las propiedades que permiten la fabricación de jabón, los métodos de extracción de la saponina fueron los de observación y experimentación siguiendo los respectivos procedimientos obteniéndose exitosamente un jabón en todos sus conceptos y que cumplen su función limpiadora y aromatizante. (Aramayo J., 2008). Otros trabajos de investigación se efectuaron en Brasil, estudios que permitieron identificar componentes principales como: la fracción de saponina, el extracto crudo, fracción fenólica, polisacárido, materia insaponificable y ácidos grasos. (Matloub A., 2018). Particularmente a nivel nacional y regional no se realizaron trabajos de investigación de extractos de saponina del fruto de Timboy.

Las saponinas se obtienen de muchas plantas una de ellas es la quinua. Las saponinas de la quinua son glicósidos que se enlazan a un aglicón o sapogenina, el aglicón es de naturaleza triterpénica.

Se han identificado varios tipos de saponinas, con diferencias, provenientes de la quinua blanca y la de color (amarillo y rosado), tal como se observa en la tabla I-1 el contenido de saponina en la quinua. (Subieta C. et al, 2011).

Tabla I- 1 Contenido de saponina de Quinua Real sin procesar

Quinua Real	Concentración de Saponina (mg/l)	Porcentaje en peso de Saponina (%)
Blanca	57,02	0,23
Amarilla	64,50	0,26
Rosada	68,24	0,29

Fuente: Subieta C., et al, 2011.

Asimismo se obtiene de la planta Boliche (*Sapindus Saponaria L.*), sus frutos son drupas esféricas con pericarpio amarillo y translúcido que tienen saponinas triterpenoidales, taninos, gomas, azúcares y aceites que sirven para fabricar un detergente biodegradable, por el contenido de saponinas presentes, en un 0,55 % en el extracto hidrolizado. (Tomás G., et al, 2010).

Por otra parte, se extrae saponina del Quillay (*Quillaja saponaria*), los extractos de quillay contiene saponinas, polifenoles, taninos, otras sales y azúcares, la concentración de saponina en cada componente del Quillay son: 11,6% de la Corteza, 10,0% de las ramas con corteza, 8,8% de la Madera y 6,1% de las Hojas. (Correa C., et al, 2013).

En particular, que es el caso de la presente investigación, se puede obtener saponinas del fruto de Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*). El Timboy recibe diferentes nombres que varían de un país a otro como: Arariba, Cambanambi, Chimbo, Tamboi, Timbauba, Ximbiuva, Ximbo (Brasil); Toco, Timboy, Oreja de Mono (Bolivia); Oreja de Negro (Argentina); Timbó Colorado (Paraguay); Pacará, Timbó (Uruguay). (Salazar R., 2001).

El Timboy es un árbol de copa amplia, follaje verde claro con ramificación cimosa, de corteza color gris claro pardo grisáceo. Las hojas son compuestas bipinnadas, alternas de foliolos verde claro, borde entero. La flor, inflorescencia en cabezuelas es de color blanco verdosas. (Burkat A., 1978).

Figura 1- 1 Planta Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*) mostrando las hojas, flor, fruto y corteza



Fuente: Reserva Natural Educativa, 2001.

Es un fruto seco, en forma de legumbre indehisciente, coriácea y leñosa, encorvado en círculo, superficie lisa y de color pardo oscuro cuando madura. Sus semillas son de tegumento liso y muy duro, de color castaño oscuro, se encuentran dentro del fruto y hay 10 semillas o más en promedio. Sus semillas numerosas, de color castaño oscuro, ovoideo-comprimidas de 1 cm de largo por 0,5 cm de ancho lisas y duras dispuestas en compartimentos transversales. (Burkat A., 1978).

Figura 1- 2 Semillas del fruto de Timboy



Fuente: Elaboración propia, 2018.

Los frutos de Timboy son ricos en saponina, una sustancia que hace espuma en contacto con el agua. El mismo compuesto lo convierte en un excelente desinfectante, de igual forma se lo utiliza como jabón de piel, champú y para diferentes tejidos textiles incluyendo lanas, también tiene usos medicinales, como analgésico, antiséptico, cicatrizante, para el tratamiento y prevención de la gonorrea y de la caspa, y como tonificante capilar. (Plantas medicinales, 2013).

1.1.1. Identificación del Problema del Proyecto

Actualmente existen muchos detergentes sintéticos que se han posicionado en el campo de la industria por sus beneficios, múltiples usos y bajo precio, pero frente a esto, luego de su uso dejan residuos que contaminan al medio ambiente, como también resultan abrasivas para la piel provocando su sequedad e irritación, lo cual no solo plantea una problemática global, sino que necesita un compromiso a nivel industrial y del consumidor final.

Debido a la problemática causada por la contaminación de estos detergentes sintéticos, la sociedad empieza a concientizar de los efectos que provocan al medio ambiente; en

especial a la contaminación hídrica por lo tanto buscan detergentes de limpieza ecológicos que son favorables con la naturaleza. (Pajuelo R., 2016).

El interés en estos compuestos de saponinas se debe a sus propiedades tensioactivas, detergentes, humectantes, emulsificantes, espumantes, insecticidas, antibióticas, fungicidas y farmacológicas. En este sentido las saponinas son una fuente importante, para generar ingresos adicionales.

Es así que para reducir el consumo de estos productos químicos se tienen disponibles las plantas que por su naturaleza son biodegradables tal es el caso del fruto de Timbo para el cual se busca su aprovechamiento, darle un valor agregado, ya que actualmente el fruto es desechado; una vez maduros caen del árbol y se encuentran depreciosos y distribuidos por el suelo siendo alimento para insectos y pájaros.

1.1.2. Mercado consumidor

Las saponinas se están posicionando en el mercado de la cosmética, y los detergentes que están en búsqueda de ingredientes naturales (tanto por su efecto espumante como de principios activos), determinada por la preferencia cada vez más pronunciada a favor de agentes espumantes que no contengan insumos químicos como los sulfatos, sino más bien tener tensioactivos naturales que se obtienen a partir de materias primas renovables, reducen el potencial de irritación, totalmente biodegradables. Algunos extractos de saponina tienen un costo elevado, además de algunas plantas su explotación es criticada por la deforestación que ocasiona y procesos de extracción complejos y costosos. (Pajuelo R., 2016).

Existe una creciente demanda de surfactantes biodegradables a base de plantas.

1.1.3. Precios de la saponina

Los precios estimados de comercialización de la saponina, en dólares americanos en sólido y en dólares americanos por litro se muestra en la Tabla I-2. Estos datos pueden variar según los proveedores que lo comercializan, de la materia prima de donde se extrae la misma y de la concentración que contiene.

Tabla I- 2 Precio de saponina

Precio de la Saponina	(\$us / kg)	(\$us / l)
	2,5 - 100	4 - 91,3

Fuente: Quiminet, 2016.

1.1.4. Mercado competidor

En Tarija hay diferentes productos de limpieza o detergentes sintéticos que se encuentran en el mercado. Estos productos mayormente llegan de países vecinos como Argentina, Chile y Perú, así también hay productos de limpieza o detergentes sintéticos que se fabrican en el departamento de Santa Cruz y Cochabamba, pero en la ciudad de Tarija no se fabrican estos productos.

Según las estadísticas de Aduanas de la Cámara de Comercio Internacional (CCI), dentro de los tensioactivos sintéticos preferidos por la industria del cuidado personas, el más conocido el Lauryl Sulfato de Sodio, cuyo uso es masivo debido principalmente a su bajo precio. En la tabla I-3 se muestran las importaciones de tensioactivos sintéticos en miles de dólares.

Tabla I- 3 Importaciones de tensioactivos sintéticos sulfatos en miles \$us

Importadores	Valor importado en 2011	Valor Importado en 2012	Valor importado en 2013	Valor importado en 2014	Valor importado en 2015
China	146149	152171	140345	138399	141857
Francia	186718	175468	157710	167729	131769
Estados Unidos	131215	138210	140270	128885	120808
Alemania	126162	123128	110858	120217	105219
Canadá	110978	120076	116517	124040	103745
Malasia	112564	95907	92412	93120	94939
Países Bajos	89342	90574	89009	89373	79033
India	30871	48114	47983	75301	70690
Italia	95940	88320	88252	77785	66904
Brasil	76187	84430	83661	86661	66556
Rusia	56198	73053	60749	61510	64283

Fuente: Pajuelo R., 2016

Existen en el mercado una gran variedad de detergentes que facilitan la eliminación de la suciedad y se dispersan en el agua. Estos detergentes son sintéticos o también llamados tensioactivos, surfactantes que son sustancias que se utilizan para cambiar la tensión superficial del agua y facilitar el lavado, su función es la humectación de superficies, formando espuma y originando una emulsión.

El uso de tensoactivos puede causar problemas si no son tratadas de acuerdo a la ley del medio ambiente, afectando a la calidad de agua que son eliminados por medio de alcantarillado a los cuerpos de río; los principales impactos ambientales que causan se señalan en la tabla I-4.

Tabla I- 4 Principales afecciones de los tensoactivos al medio ambiente

Problemas ambientales causados por los tensoactivos
Aumento de pH en aguas residuales más de 12.
Presencia de cloro y organocloros en el agua (de carácter tóxico y carcinógeno).
El oxígeno del ambiente es utilizado para degradar los tensoactivos causando condiciones anóxicas en el ambiente.
Son compuestos tóxicos para microorganismos.
Tienen efectos de coagulación y sedimentación.
Los tensoactivos aniónicos precipitan y acumulan sales alcalino-térreas en diferentes matrices ambientales.

Fuente: Cantero, 2010, et Trujillo N., 2017

Por lo tanto la tendencia actual, hacia el uso de productos ecológicos, muestra un gran interés por parte de las industrias nacionales e internacionales en la producción de detergentes y espumantes, para adoptar a la saponina como materia prima en sus procesos. En consecuencia parece necesario realizar un proceso industrial que permita obtener saponinas para satisfacer esta demanda potencial.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

- Obtener a nivel experimental, extracto de saponina a partir del fruto de Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*) del departamento de Tarija.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar la materia prima: fruto de Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*) del departamento de Tarija, para la obtención de extracto de saponinas.

- Seleccionar el método del proceso tecnológico experimental de obtención de extracto de saponina del fruto de Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*).
- Ejecutar la fase experimental del proceso tecnológico de obtención de extracto de saponina del fruto de Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*).
- Caracterizar el producto a obtener extracto de saponina del fruto de Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*).
- Determinar el rendimiento en el proceso tecnológico de obtención de extracto de saponina del fruto de Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*).
- Analizar y discutir los resultados del proceso tecnológico experimental de obtención de extracto de saponina del fruto de Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*) del departamento de Tarija.

1.3. Justificación del Proyecto

El Timboy se encuentra en el departamento de Tarija y en la región tropical y subtropical de Bolivia, su aprovechamiento es fundamental para la extracción de saponina que son requeridos para los productos de limpieza y detergentes, además en los fármacos, y al aporte de la industria nacional ya que los productos son importados del exterior.

Antiguamente en nuestro departamento cuando no se gozaba y no eran conocidos los productos de limpieza se usaba agua con el fruto (trozado) lo agitaban y les servía como limpiador de trajes, champú o jabón.

Se busca un aprovechamiento sostenible de estos frutos que buscan nichos de mercados como estrategia de diversificación comercial.

1.3.1. Justificación Económica

La actividad generará desarrollo económico, sustituirá parte de las importaciones de saponina y de los productos de limpieza o detergentes, cubrirá parte de la demanda nacional de calidad a menores precios y así potenciar la productividad del sector de producción de líquidos concentrados de saponina en Tarija.

La extracción de saponina del fruto de timboy no es de mucha inversión económica ya que se tiene la disponibilidad de la materia prima, los materiales y equipos disponibles.

1.3.2. Justificación Tecnológica

En el ámbito tecnológico se espera implementar la disponibilidad de la tecnología adecuada para el proceso de extracción sólido-líquido mediante maceración y con el uso de solvente orgánico, para extraer la saponina del fruto del Timboy, sin grandes inversiones para su producción y así poder aprovechar la materia prima que actualmente se desecha ya que estos frutos ya maduros se caen del árbol sin ser utilizados.

1.3.3. Justificación Social

Se establecerán más fuentes laborales para las personas que habitan en la región, generar atribución económica para la ciudad; se ofertarán productos nuevos, diversificando los productos existentes en el mercado a base de saponinas.

1.3.4. Justificación Ambiental

El uso de recursos renovables y naturales para obtener productos biodegradables que tienden a minimizar el impacto ambiental y sobre todo la reducción de la contaminación hídrica que es desechada sin ser tratada en los ríos, aguas de desecho, etc., así gestando a conceptos de sostenibilidad; los tensioactivos naturales como la saponina son de origen vegetal apto para cosmética o detergentes naturales, ya que se obtiene a partir de materias primas renovables, son totalmente biodegradables, reducen el potencial de irritación de otros tensioactivos comunes en el mercado. (Rodríguez J., 2017).

Como también se puede aprovechar los residuos que resultan del proceso de extracción como abono para la tierra, y con las semillas con un proceso de germinación se pueden plantar árboles, sin desperdiciar nada del fruto de Timboy.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

CAPÍTULO II

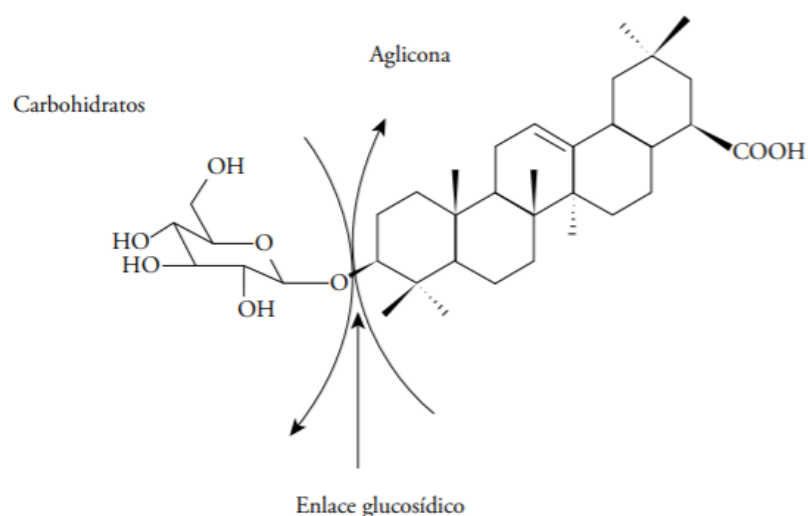
MARCO TEÓRICO

2.1. Generalidades de la Saponina

2.1.1. Definición de la Saponina

Se denomina saponina a sustancias de tipo heterósido que tienen propiedades comunes. Se caracterizan por producir espuma persistente y bajar la tensión superficial. Las saponinas están formados por una *aglicona* o porción no sacárida de la molécula de saponina denominada sapogenina o genina, que puede ser un esteroide o un alcaloide esteroidal o un triterpeno y con *glucosídicos* que son azúcares. (Gianna V., 2013).

Figura 2- 1 Estructura general de la saponina. Se indica el enlace entre la aglicona y un glucósido



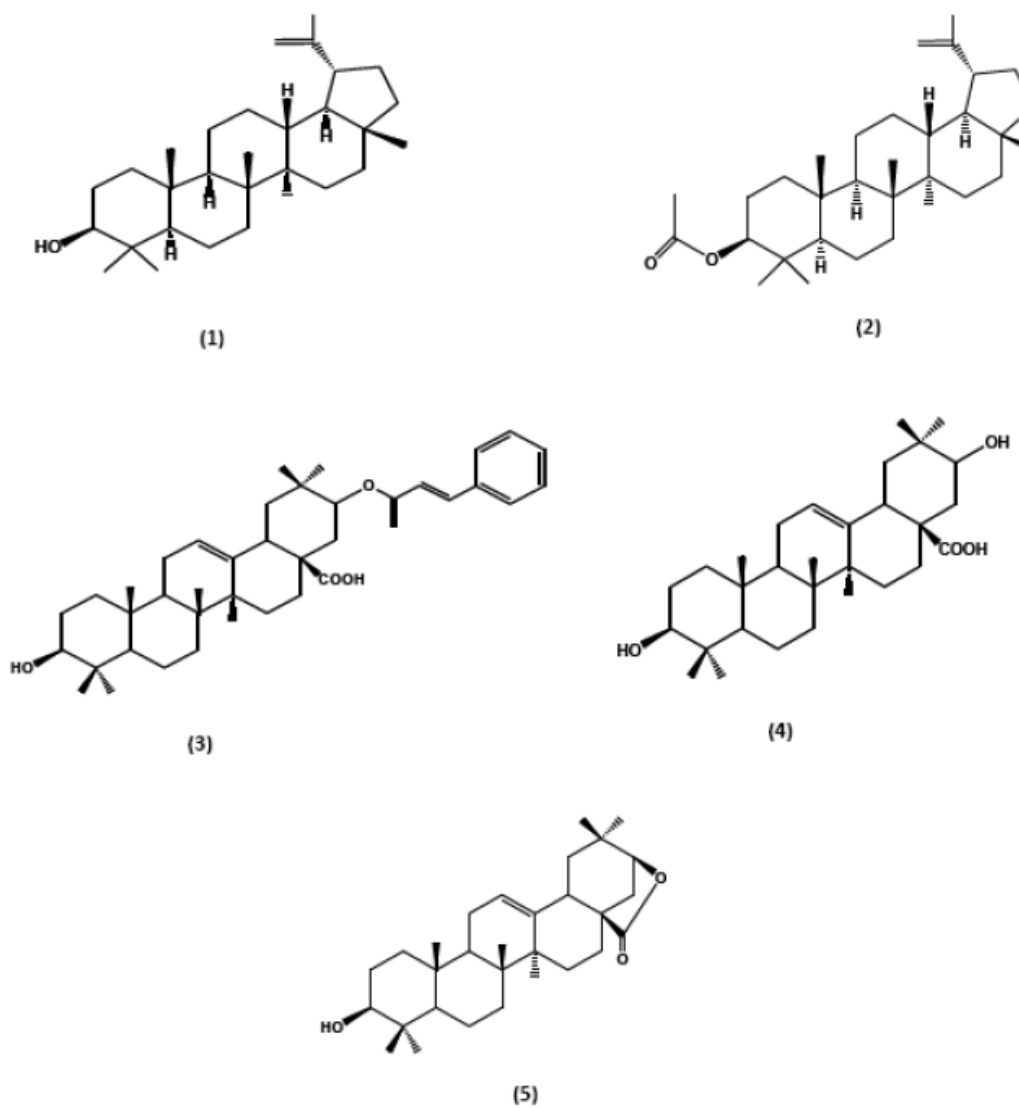
Fuente: Ahumada A., et al., 2016.

La mayoría de las saponinas se ajustan a la formula general: $C_nH_{2n-8}O_{10}$.

Las saponinas del Timboy (*Enterolobium Contortisiliquum*) son de agliconas triterpénicas y éstas a lo largo del tiempo se estudiaron, en el año 1963 se aislaron lupeol (1) y acetato de lupeyl (2) de la fracción de hexano ;en el año 1967 se aislaron el triterpeno del tipo β -amirina, la lactona del ácido machaerénico, por Marx y Trusch, Delgado et al., 1984, aislaron los triterpenos ácido 3β -hidroxi-21 β -ecinamoil-oxioleo-12-en-20-oico, 3β , 21 β ácido dihidroxioleano-12-en-28-oico (ácido machaerénico) (4)

y su lactona 3 β -hydroxyolean-12-en-21 β \rightarrow 28-lacton (5) de los frutos de *Enterolobium Contortisiliquum*. Los ésteres metílicos y etílicos del ácido 3 β , 21 β -dihidroioleano-12-en-oico se aislaron y se caracterizaron como artefactos (3) como se muestra en la Figura 2-2.

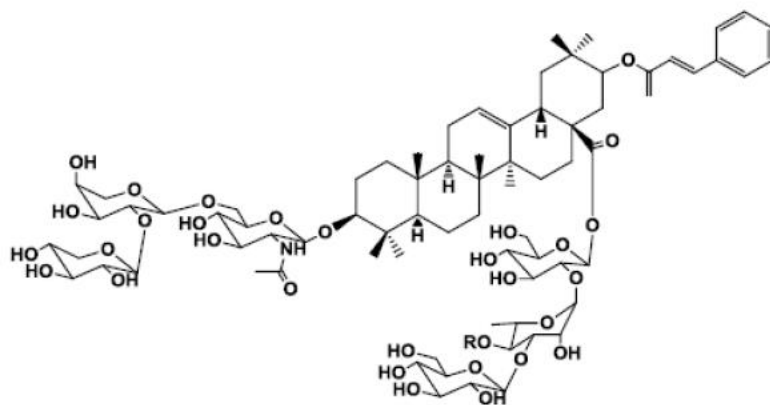
Figura 2- 2 Estructuras químicas de compuestos (1-5) aislados del fruto de *Enterolobium contortisiliquum*



Fuente: Gamal M., et al, 2017.

Mimaki et al., en el 2003, aislaron dos bisdesmosidos triterpénicos, denominados Enterolosaponina A (6) y B (7), de la fracción soluble en n-butanol del extracto acuoso de los pericarpios de *E. contortisiliquum* como se muestra en la Figura siguiente.

Figura 2- 3 Enterolosaponina



*Compound 6 (R= α -l-arabino-furanosyl group), Compound 7(R= H)

Fuente: Gamal M., et al, 2017.

2.1.2. Clasificación

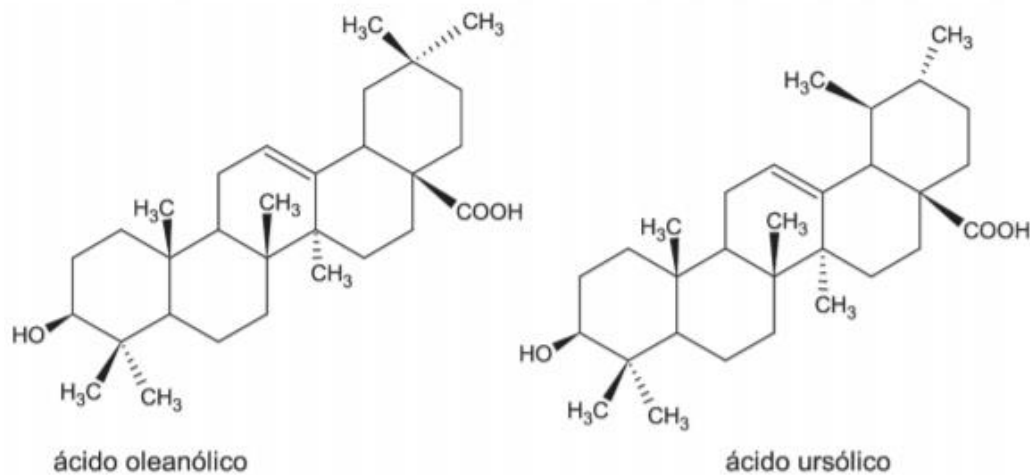
El aglicón puede ser de naturaleza triterpénica o esteroidal y en función de esto las saponinas se clasifican en saponinas triterpénicas y saponinas esteroidales respectivamente.

2.1.2.1. Saponinas Triterpénicas

Las sapogeninas triterpénicas están ampliamente distribuidas en el reino vegetal y se presentan en 3 estructuras químicas diferentes (30-45 carbonos): *acíclicas* como el escualeno; *tetracíclicas* como el panaxadiol y *pentacíclicas* como la estallogenina. Estas sustancias pueden presentarse en sus fuentes naturales: en forma libre, formando ésteres, o como parte de un glicósido (saponina). Las sapogeninas pentacíclicas se subdividen a su vez en 3 grupos: tipo lupano; tipo ursano (derivado de la a amirina), ambos no están presentes en los forrajes y los de tipo oleanano (derivados de la β

amirina) presentes en estos últimos. Entre los más conocidos están: el ácido oleanólico y la hederagenina. Son de reacción ligeramente ácida y su sabor es menos amargo que en las saponinas esteroidales. (Usiña K., 2017).

Figura 2- 4 Ejemplo de saponina Triterpenica

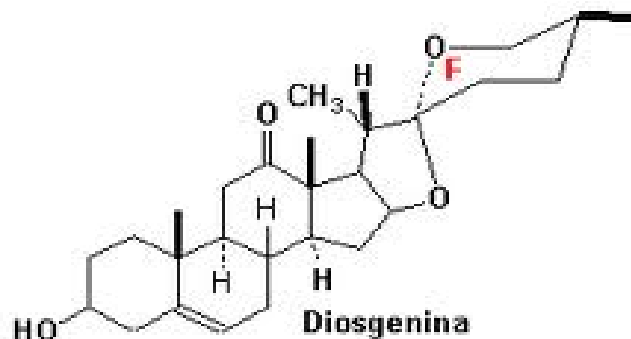


Fuente: Serrano C., et al, 2016.

2.1.2.2. Saponinas Esteroidales

Estas saponinas poseen una aglicona que corresponde a un grupo esteroideal de 27 átomos de carbono que es un núcleo espiroetano. Son menos abundantes en la naturaleza, de carácter neutro. Se encuentran por lo general en familias de la clase monocotiledónea, como son; Liliacea (Agavaceae), Dioscoreaceae y Amaryllidaceae. En las dicotiledóneas, se les ha encontrado en las familias Solanaceae y Scrofulariaceae. En el género *Agave* se han identificado varias sapogeninas como: hecogenina, manogenina, yucagenina, agavogenina, sarsapogenina, texogenina, esmilagenina, gitogenina, tigogenina y clorogenina. (Usiña K., 2017).

Figura 2- 5 Ejemplo de Saponina Esteroidal



Fuente: Waizel J., 2009.

2.2. Materia prima

2.2.1. Taxonomía de Timboy

En la siguiente tabla se muestra la taxonomía de la planta Timboy.

Tabla II- 1 Taxonomía de la planta Timboy

Reino:	Vegetal
Phylum:	Telemophytae
División:	Tracheophytae
Subdivisión:	Anthophyta
Clase:	Angiospermae
Subclase:	Dicotyledoneae
Grado Evolutivo:	Archichlamydeae
Grupo de Órdenes:	Corolinos
Orden:	Rosales
Familia:	Leguminosae
Subflia.:	Mimosoideae

Nombre científico: *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong

Nombre común: Timboy – timbo- pacará – oreja de negro

Fuente: Acosta I., Encargado Herbario de la UAJMS, 2018.

2.2.2. Morfología del fruto de Timboy (*Enterolobium Contortisiliquum*)

El pericarpio consta de tres partes: exocarpio o epicarpio, mesocarpio y endocarpio. El epicarpio: deriva de la epidermis externa del carpelo, puede ser glabro o pubescente glanduloso, membranoso, también puede ser seco. El mesocarpio: deriva del mesofilo del carpelo, puede ser carnoso y grueso o seco y delgado. El endocarpio: deriva de la epidermis interna del carpelo, puede ser carnoso, papiráceo, leñoso, esclerificado, duro. (Morfología Vegetal, 2015).

Figura 2- 6 Morfología del fruto Timboy



Fuente: Elaboración propia, 2019.

Caracterización morfológica del fruto

El fruto es del tipo legumbre indehiscente que no se abren a la madurez, bacoide, simple, seco, indeseable, retorcido, reniforme, polispérmico (12 a 15 semillas); la longitud media es de 4,17 cm (varía de 2,15 a 4,79 cm), una anchura media de 7,87 cm (variando de 5,11 a 9,18 cm) y un espesor medio de 1,62 cm (que varía de 0,56 a 1,85 cm). El pericarpio consta de: a) epicarpio rugoso, poco pulido a opaco, glabro, esponjoso-coriáceo, con estrías verticales, variando entre el marrón rojo-goya en negro, presenta ondulaciones a lo largo de su longitud, evidenciando la división de los falsos

septos; extremo auriculiforme, borde ondulado, estipulado, de pedúnculo liso y estriado verticalmente; b) mesocarpio alvacento, esponjoso, de consistencia pegajosa y de coloración amarillenta y c) endocarpio blanco, fibroso, formando falsos septos. (Barbosa S., et al, 2011).

Figura 2- 7 Fruto maduro de Timboy



Fuente: Elaboración propia, 2019.

2.3. Extracto de Saponina del fruto de Timboy

Los extractos acuosos de saponina de la fracción soluble en n-butanol demostraron que tienen saponinas triterpénicas bisdesmosídicas a las que se les dio los nombres triviales contortisiliosidas A-G. (Mimaki Y. et al., 2004).

Contortisiliosida A: β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 3) - α -L-ramnopiranosilo- (1 \rightarrow 2) - β -D-glucopiranosilo 21 β -[[(E) -3-fenilprop-2-enoil) oxi] -3 β - [(β -D-xilopiranosil- (1 \rightarrow 2) - α -L-arabinopiranosil- (1 \rightarrow 6) - [β -D-glucopiranosilo- (1 \rightarrow 2)] - β -D-glucopyranosyl) oxy] olean-12-en-28-oate.

Contortisiliosida B: β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 3) - [α -L-arabinofuranosil-(1 \rightarrow 4)] - α -L-ramnopiranosil- (1 \rightarrow 2) - β -D-glucopyranosyl 21 β - [[(E)-3-phenylprop-2-

enoyl) oxy] -3 β - [(β -D-xylopiranosil- (1 \rightarrow 2) - α -L-arabinopiranosil - (1 \rightarrow 6) - [β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 2)] - β -D- glucopiranosil) oxi] olean-12-en-28-oato.

Contortisiliosida C: β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 3) - [α -L-arabinofuranosil- (1 \rightarrow 4)] - α -L-ramnopiranosilo-(1 \rightarrow 2) - β -D- glucopiranosilo 21 β - [((E) -3-fenilprop-2-enoyl) oxi] - 3 β - [(β -D-xilopiranosil- (1 \rightarrow 2) - β -D-galactopiranosilo- (1 \rightarrow 6) - [β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 2)] - β -D- glucopiranosil) oxi] olean-12-en-28-oato.

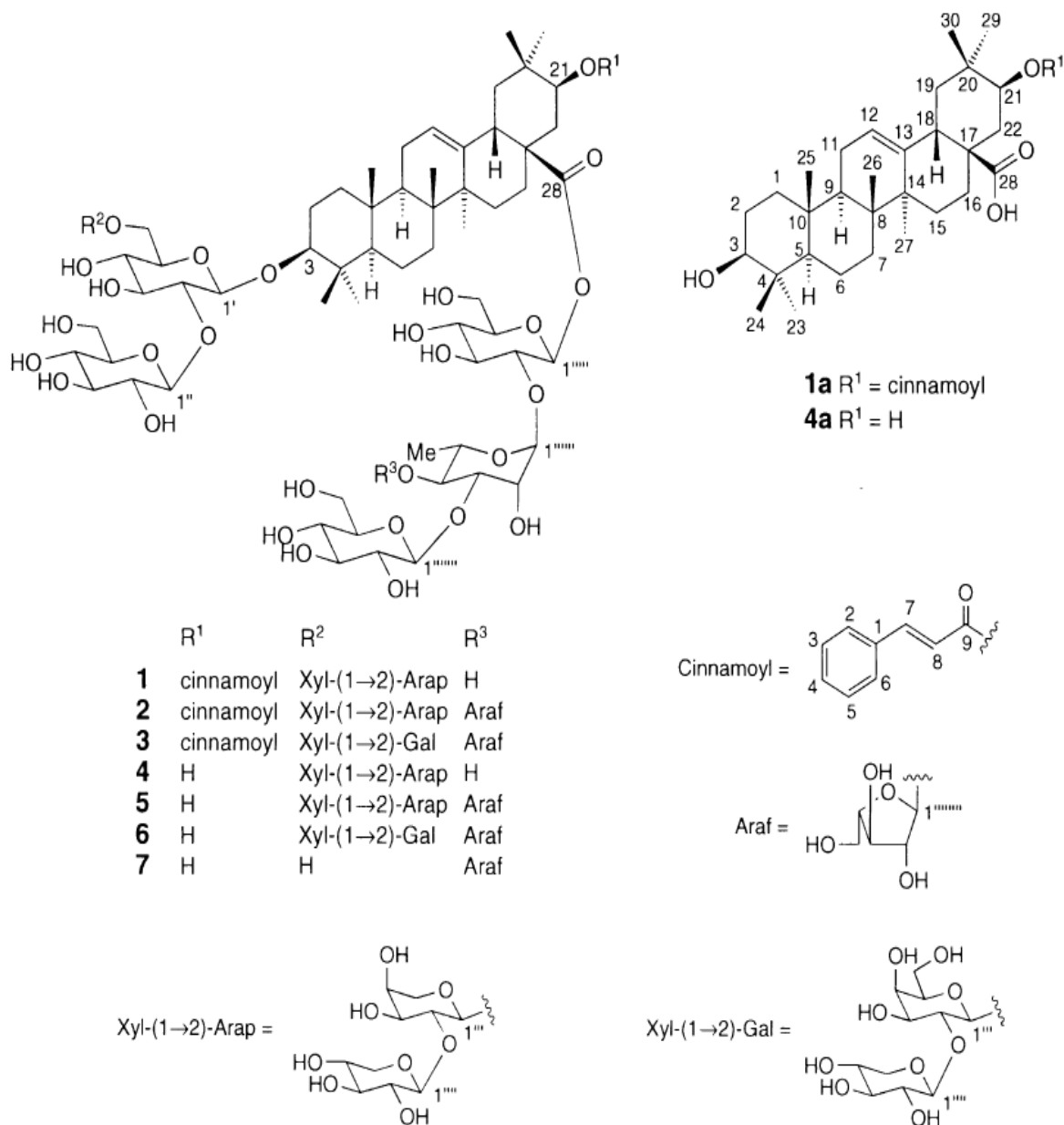
Contortisiliosida D: β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 3) - α -L-ramnopiranosil- (1 \rightarrow 2) - β -D-glucopiranosilo 21 β -hidroxi-3 - [(β -D-xilopiranosil- (1 \rightarrow 2) - α -L-arabinopiranosil- (1 \rightarrow 6) - [β -D-glucopiranosilo- (1 \rightarrow 2)] - β -D-glucopiranosilo)oxi]olean-12-en-28-oato.

Contortisiliosida E: β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 3) - [α -L-arabinofuranosil- (1 \rightarrow 4)] - α -L-ramnopiranosilo (1 \rightarrow 2) - β -D-glucopiranosilo 21 β -hidroxi-3 β - [(β -D-xilopiranosilo- (1 \rightarrow 2) - α -L-arabinopiranosilo- (1 \rightarrow 6) - [β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 2)] - β -D-glucopiranosil) oxi] olean-12-en-28-oato.

Contortisiliosida F: β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 3) - [α -L-arabinofuranosil- (1 \rightarrow 4)] - α -L-ramnopiranosilo-(1 \rightarrow 2) - β -D- glucopiranosilo 21 β -hidroxi-3 β - [(β -D-xilopiranosilo- (1 \rightarrow 2) - β -D- galactopiranosilo- (1 \rightarrow 6) - [β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 2)] - β -D-glucopiranosil) oxi] olean-12-en-28-oato.

Contortisiliosida G: β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 3) - [α -L-arabinofuranosil- (1 \rightarrow 4)] - α -L-ramnopiranosilo-(1 \rightarrow 2) - β -D- glucopiranosilo 3 β - [(β -D-glucopiranosil- (1 \rightarrow 2) - β -D-glucopiranosil) oxi] -21 β -hidroxioléina-12-en-28-oate. (Mimaki Y.et al. 2004).

Figura 2- 8 Estructuras químicas de compuestos aislados del *Enterolobium contortisiliquum*



Fuente: Mimaki Y., et al, 2004.

2.3.1. Contenido de Saponinas en diferentes plantas

En la Tabla II- 2, se muestra el porcentaje de contenido de saponina en la materia prima de diferentes plantas naturales.

Tabla II- 2 Comparación de porcentaje de saponina en la materia prima

Materia Prima utilizada para la extracción		Porcentaje de saponinas	Fuente
Quinoa Real	Blanca	4,88 %	Subieta C., et al, 2011.
	Amarilla	6,18 %	
	Rosada	5,75 %	
Quentu (<i>Rumex acetosella</i>)		12,16 %	Guzmán B., et al, 2013.
Cañihua (<i>Chenopodium pallidicaule</i> A)		0,87- 4,32 %	
Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>)		3,61 %	
Hojas de la Cabuya (<i>furcraea andina</i>)		1,52 %	Quizhpe G., et al, 2017.
Quinoa de Recuay (<i>Chenopodium quinoa</i>)		0,28%	Ahumada et al., 2016.

Fuente: Elaboración propia, 2019.

2.3.2. Componentes del extracto de Saponina

En la tabla siguiente, se detallan los extractos en porcentaje peso/peso extraídos de la fracción de metanol, y agua/n- butanol.

Tabla II- 3 Los rendimientos de extractos sucesivos y fracciones del pericarpio de *Enterolobium contortisiliquum*

Extractos y rendimientos de fracciones	(% p/p de polvo seco)
Extracto de crudo	71,46
Extracto de metanol	35,00
Fracción De Saponina	3,50
Fracción fenólica	11,00
Fracción del polisacárido	7,49
Fracción de proteína	4,50

Fuente: Matloub A. et al., 2018.

2.3.3. Análisis Fitoquímico

El análisis fitoquímico consiste en la obtención de extractos de plantas con solventes apropiados, para determinar la existencia de un tipo de compuesto químico. En este tipo de análisis se realiza reacciones de coloración, espectrometría, cromatografía y otros métodos.

2.3.3.1. Fracción Polisacárido

El análisis en cromatografía líquido-gaseosa del derivado de hidrolizado de fracción de polisacárido permitió identificar 9 azúcares como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla II- 4 Cromatografía líquido - gaseosa de hidrolizado de polisacárido del fruto de *Enterolobium Contortisiliquum*

Azúcares	Rendimiento	% Relativo
Arabinosa	7,454	11,52
Xilosa	7,562	7,38
Ribosa	7,817	0,62
Rhamnose	8,355	10,15
Manitol	9,690	1,15
Sorbitol	9,812	0,60
Fructosa	10,00	0,56
Galactosa	10,77	8,84
Glucosa	10,927	59,17
Ácido galactourónico	11,791	-
Ácido glucorónico	14,469	-

Fuente: Matloub A. et al., 2018.

2.3.3.2. Fracción de proteína

Con respecto a la fracción de la proteína, se identificaron dieciséis aminoácidos en proteínas hidrolizadas utilizando un analizador de aminoácidos.

Tabla II- 5 Composición de aminoácidos de la proteína aislada del fruto de *Enterolobium contortisiliquum*

Aminoácidos	g / 100 g de aislados proteína
<i>Aminoácidos esenciales:</i>	
Treonina	0,148
Valina	0,187
Metionina	0,004
Isoleucina	0,160
Leucina	0,404
Fenilalanina	0,354
Lisina	0,252
Total	1,509
<i>Aminoácidos no esenciales:</i>	
Ácido aspártico	0,338
Ácido glutámico	0,614
Serina	0,309
Glicina	0,100
Histidina	0,163
Arginina	0,160
Alanina	0,376
Proline	0,321
Tirosina	0,250
Total	2,631
<i>Contenido total de aminoácidos</i>	4,140

Fuente: Matloub A. et al., 2018.

2.3.3.3. Aceites Esenciales

Las semillas de *Enterolobium contortisiliquum* se someten a destilación al vapor para obtener un aceite esencial amarillo claro con un rendimiento de 3 ml/kg de semillas. Los componentes principales del aceite que se identifican mediante Cromatografía de Gases/Espectrometría de masas son: Furfural, Limoneno, Linalool, Estragol, Carvona y Apiole, la Carvona representa más del 50% de la composición total. (Shahat et al., 2006. Gamal M. et al., 2017).

2.3.4. Actividad Biológica

2.3.4.1. Evaluación citotóxica

El extracto de alcohol acuoso de *Enterolobium contortisiliquum* exhibe una potente actividad citotóxica contra diferentes líneas celulares de cáncer humano. Los inhibidores tienen distintos espectros de inhibición y muestran diferentes niveles de eficacia para inhibir el crecimiento de líneas celulares tumorales en cultivo.

Las enterolosaponinas aisladas del fruto *Enterolobium Contortisiliquum* muestran actividad citotóxica contra macrófagos de ratón, células de linfoma de ratón, y fibroblastos de ratón. (Gamal M. et al., 2017).

2.3.4.2. La actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de diferentes fracciones de extracto de fruta de *Enterolobium contortisiliquum*, se determina frente a varias cepas bacterianas, Gram-positivas (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*) y dos bacterias Gram-negativas (*Klebsiella pneumoniae*, *Serratia Marcescens*) y patógenas fúngicas utilizando la difusión en el pozo de agar. La actividad antibacteriana se estima midiendo el diámetro de la zona clara de inhibición del crecimiento en mm.

El aceite esencial inhibe el crecimiento de todas las bacterias analizadas, es más efectivo contra las bacterias grampositivas. (Gamal M. et al., 2017).

2.4. Métodos de extracción de Saponina

2.4.1. Extracción sólido-líquido

La extracción es una operación de transferencia de materia basada en la disolución de uno o varios de los componentes de una mezcla (líquida o que formen parte de un sólido) en un disolvente selectivo. Aprovechándose, la diferencia de solubilidades de los componentes de la mezcla en el disolvente añadido. Se hace la distinción entre la extracción líquido-líquido y la extracción sólido-líquido (llamada también lixiviación) según que la materia a extraer esté en un líquido o en un sólido respectivamente. Un problema importante lo constituye la selección del disolvente extractor. En la extracción sólido-líquido se acostumbra a trabajar por cargas o en semicontinuo por la dificultad de manipulación del sólido que hay que someter a extracción. Uno de los extractores sólido-líquido más usados a escala de laboratorio es el extractor Soxhlet. (Gomis, 1998, Zarate S., 2016).

2.4.2. Extractos etanólicos

Extracto con olor característico, obtenido a partir de materia prima desecada de origen vegetal, por maceración o percolación en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico. Estos procesos pueden ser sometidos a determinadas operaciones para eliminar algunos de sus componentes y así mejorar notablemente la calidad del producto deseado.

2.4.3. Extracción de saponina mediante agitación

En el año 2016, Zarate S. planteó la extracción de saponina del afrecho del polvillo de la quinua mediante agitación durante 30 a 80 minutos a 800 rpm con solvente alcohol, posterior a esta operación se procedió al filtrado a vacío, se centrifugó la mezcla para poder separarla de la solución.

2.4.4. Extracción de saponinas mediante Soxhlet

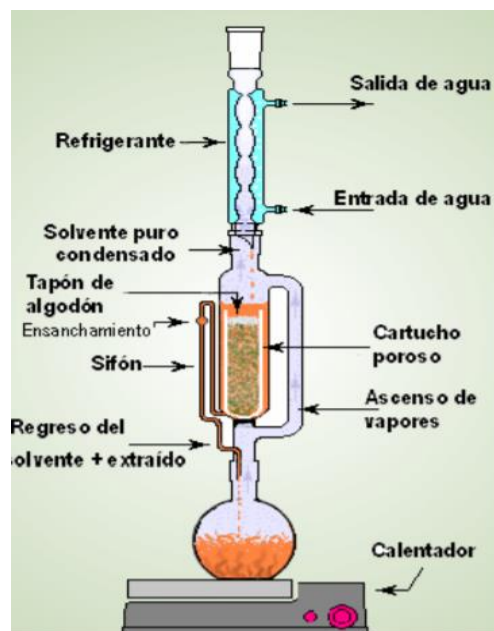
Es un método de extracción continuo, que se utiliza en materiales sólidos. Consiste en colocar el material a extraer, previamente molido y pesado, en un cartucho de celulosa

que se introduce en la cámara de extracción, conectada por una parte a un balón que se calienta a ebullición, un refrigerante.

El disolvente contenido en el balón se calienta a ebullición, el vapor asciende por el tubo lateral y se condensa en el refrigerante, cayendo sobre el material. Cuando alcanza el nivel conveniente sifona por el tubo regresando al balón. El proceso se repite hasta conseguir el agotamiento deseado del material y se concentran en el disolvente. (Núñez C., 2008).

En el año 2016, Rodríguez A. realizó la extracción de saponinas mediante el Soxhlet a partir de la *Furcraea hexapétala* donde tomó el material vegetal seco y lo colocó en el cartucho con diferentes solventes como: éter de petróleo, cloroformo y n-butanol saturado en agua durante 4 horas cada uno.

Figura 2- 9 Extracción con Soxhlet en el momento que se produce el sifonamiento del solvente



Fuente: Núñez C., 2008.

2.4.5. Extracción mediante maceración

Es una extracción sólido-líquido que consiste en humedecer el material vegetal, debidamente seco y molido en un solvente (agua o etanol) hasta que éste penetre y disuelva las porciones solubles. Se puede utilizar cualquier recipiente con tapa que no sea atacado con el disolvente.

En el recipiente se coloca el material vegetal con el disolvente y tapado se deja en reposo por un período de 2 a 14 días dependiendo de lo que se quiere extraer, luego se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto. (López C., 2010).

El proceso de maceración genera dos productos que pueden ser empleados, el sólido ausente de esencias o el propio extracto. Generalmente se realiza a temperatura ambiente pero existen dos métodos de maceración de acuerdo a la temperatura, caliente y frío.

La maceración en frío tiene la ventaja de extraer la mayoría de las propiedades de los que se macera, prácticamente en su totalidad sin alterarla por efectos de temperatura.

La maceración con calor tiene la desventaja de no extraer totalmente pura la esencia del producto, destruye algunas propiedades ya sean compuestos termolábiles que se ven afectados por la temperatura.

En el 2018, Matloub A. et al., realizaron un estudio fitoquímico y biológico para la extracción de saponina a partir del pericarpio seco de Timboy mediante maceración con etanol a 80 % por 24 horas, luego se filtró, concentró a vacío a 45 °C en un evaporador rotatorio.

2.4.6. Selección del método para la extracción de Saponina a partir del fruto de Timboy

Considerando que los procesos de extracción mencionados anteriormente no corresponden para la materia prima fruto del Timboy, se hará una selección del proceso que se adecúe a la materia prima en función al rendimiento de extracción, y el solvente utilizado. Para esto se construye una tabla que se le asigna una calificación de acuerdo

a una escala predeterminada de cero a diez.

Tabla II- 6 Escala de Calificación por Puntuación del 1 al 10

ESCALA DE PUNTUACIÓN	PUNTUACIÓN
Excelente	10
Muy Buena	7
Buena	5
Regular	3
Mala	1

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Tabla II- 7 Selección del proceso de extracción de Saponina

Factor evaluado	Comentarios del evaluado					
	Extracción sólido- líquido mediante agitación	Calificación	Extracción de solido-liquido mediante Soxhlet	Calificación	Extracción sólido-líquido mediante maceración	Calificación
Disponibilidad de información y aplicabilidad	La información para este método se encuentra por la fuente secundaria, tiene un buen porcentaje de extracción debido a la agitación pero es en un menor tiempo.	7	Se encuentra información para este proceso pero no tiene un buen porcentaje de extracción	5	Se encuentra disponible la información para la extracción mediante maceración, se obtiene de manera más eficiente los extractos de saponina no es un método muy complicado	10

Uso de solventes	Utiliza solventes orgánicos como etanol, butanol, agua.	7	El uso de solventes que utiliza es fundamental, son solventes orgánicos derivados de los alcoholes.	7	Los solventes utilizados son orgánicos como el etanol- agua.	7
Tiempo se extracción	En el proceso de extracción se realiza en un tiempo menor, aprox. 30 min.	10	El tiempo que tarda el proceso de extracción es alrededor de 4 horas.	5	Es un tiempo de extracción más largo se encuentra de 24 – 48 horas.	7
Calidad de extracción	El proceso alcanza una mayor concentración de extracción en comparación con el método mediante soxhlet.	7	Tiene un porcentaje de extracción menor a los dos anteriores.	5	Alcanza un mayor porcentaje de extracción ya que tiene más tiempo en contacto sólido-líquido.	10
Costos	Debido a la accesibilidades de los equipos y solventes se encuentran en el laboratorio de LOU.	7	Se tiene disponible el equipo de soxhlet en el laboratorio de Química y solventes se encuentran disponibles.	7	Los materiales, los equipos y solventes para este proceso se encuentran disponibles en LOU.	7

Fuente Elaboración propia, 2018.

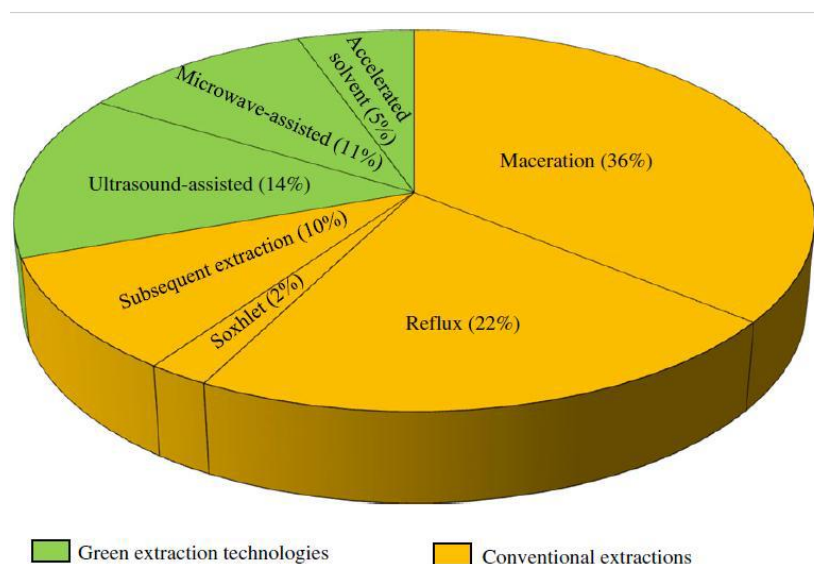
Tabla II- 8 Matriz de decisión para el tipo de proceso de extracción de Saponina

Factores	Selección del Proceso para la extracción saponina del Fruto de Timboy									
	Valoración Porcentual %	Extracción sólido-líquido mediante agitación			Extracción sólido-líquido mediante Soxhlet			Extracción sólido-líquido mediante maceración		
		Calif	Calif /10	Pond	Calif	Calif /10	Pond	Calif	Calif /10	Pond
Disponibilidad de información y aplicabilidad	30	7	0,7	21	5	0,5	15	10	1	30
Uso de solventes	20	7	0,7	14	7	0,7	14	7	0,7	14
Tiempo se extracción	20	10	1	20	5	0,5	10	7	0,7	14
Calidad de extracción	20	7	0,7	14	5	0,5	10	10	1	20
Costos	10	7	0,7	7	7	0,7	7	7	0,7	7
Total	100			76			56			85

Fuente: Elaboración Propia, 2018.

De acuerdo a lo expuesto, el método de extracción que permite un porcentaje de extracción mayor al resto de métodos es la maceración. (Choon Y., 2014).

Figura 2- 10 Técnicas de extracción utilizadas en la obtención de saponinas a partir de materiales vegetales



Fuente: Yoong Ch., 2014.

2.4.7. Variables que influyen en el proceso de extracción

Las propiedades de cada variables del proceso extracción son diversas, por eso es importante el estudio de dichas variables para determinar un proceso óptimo de extracción.

2.4.7.1. Tipo de solvente

El solvente seleccionado depende de los parámetros técnicos y económicos como: el alto límite de saturación, selectividad respecto al soluto para extraer, capacidad para producir el material extraído con calidad no alterada, estabilidad química en condiciones de proceso, temperatura de ebullición no demasiado elevada, baja viscosidad, baja presión de vapor, baja toxicidad, baja densidad, baja tensión superficial, facilidad y economía de recuperación dela corriente de extracto y costo. (Instituto Tecnológico de Oaxaca, 2017).

Los solventes más utilizados son los hidrocarburos alifáticos: eter de petróleo, hexano, propano, butano; asimismo se utilizan disolventes halogenados, alcohólicos sobre todo el etanol; soluciones ácidas o alcalinas y el agua.

2.4.7.2. Tamaño de la partícula

El tamaño de la partícula sólida adecuada tiene gran importancia de tal manera que la reducción aumenta el área de contacto, sobre todo en sólidos de baja porosidad, pero si es muy pequeño o polvos finos se impedirá una buena separación, manipulación e impidiendo una buena solubilidad ya que no puede entrar con facilidad. Pasa lo mismo si el tamaño de la partícula es grande.

2.4.7.3. Tiempo de extracción

Es un factor importante para la extracción y debe ser suficiente para permitir la separación de los compuestos de interés, tampoco debe ser excesivo por eso se debe determinar el tiempo óptimo ya que está relacionado con el tamaño de la partícula y el tipo de solvente.

2.5. Métodos para la determinación de Saponina

Para la determinación de la saponina se utilizan métodos cualitativos y cuantitativos.

2.5.1. Métodos Cualitativos

Se efectúa un estudio preliminar para determinar la presencia de saponinas.

2.5.1.1. Método de Coloración

Ensayo de Liebermann- Burchard, permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides. Un ensayo positivo se presenta por un cambio de coloración. Las estructuras esteroidales producen coloraciones azules o azules verdosas, mientras que para las triterpénicas se observan colores rosado, rojo o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos y xantofilas que pueden estar presentes en la muestra. (Delporte C. 2014).

2.5.1.2. Método Cromatografía en Capa Delgada C.C.D.

El proceso de cromatografía de adsorción se basa en la separación de un soluto entre una fase sólida de absorbente y una fase móvil.

En esta técnica se tienen consideraciones especiales que constan de cinco etapas principales:

Armado de la placa: implica la disposición espacial que adoptará la fase estacionaria

Siembra: se refiere al contacto inicial de la mezcla a separar con la fase estacionaria, para su posterior desarrollo.

Desarrollo: es el pasaje de la fase móvil a través de la fase móvil

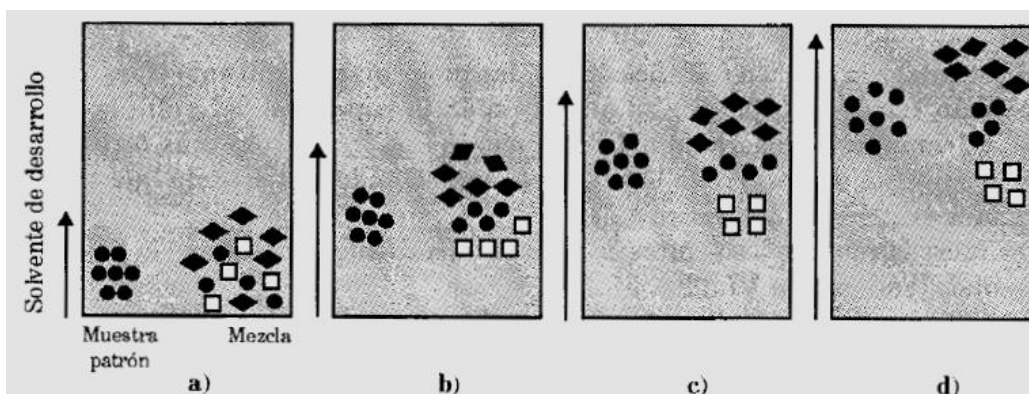
Revelado: implica la localización de las zonas en que se encuentran los compuestos ya separados, cuando estos no poseen color intrínseco.

Elución: se utiliza cuando se intenta remover los solutos de la fase estacionaria. (Galagovsky L., 2001).

La técnica de cromatografía en capa delgada es de aplicación analítica, se utiliza comúnmente para seguir el desarrollo de una reacción (aparición de productos o desaparición de reactivos), y para analizar el número aproximado de componentes de una muestra.

Las placas se preparan con absorbente de tamaño granulado entre 10 y 40 micrones. Para cubrir el soporte con la capa se puede suspender el absorbente en un solvente volátil donde se sumerge la placa y luego se seca al aire, o también se puede utilizar capas de absorbentes ya preparadas, sobre láminas de poliéster o sobre láminas de aluminio, las cuales pueden cortarse del tamaño deseado y luego usarse y revelarse, una vez localizadas las manchas de los compuestos (revelado), se determinará el solvente óptimo de desarrollo. (Galagovsky L., 2001).

Figura 2- 11 Esquema del proceso de Cromatógrafo en Capa Delgada



Fuente: Galagovsky L., 2001.

En el anterior esquema se muestra una mezcla y el patrón de un posible componente, a una corta distancia del borde inferior de la capa absorbente, a la derecha y a la izquierda respectivamente; luego se sumerge el borde inferior en el solvente de desarrollo que asciende por capilaridad, desorbiendo selectivamente a los distintos componentes de la mezcla.

2.5.1.3. Método de Espuma

Este método es semicuantitativo y está basado en la propiedad de las saponinas de disminuir la tensión superficial del agua, donde la cantidad de espuma que se forma es linealmente proporcional a la concentración de saponinas en solución acuosa, en un rango determinado, Norma Boliviana NB 683.

Se construye una curva de calibración, altura de espuma (mm) versus concentración de saponinas (mg/l), a partir de una solución patrón, estando el rango de la curva de calibración. Se coloca 20 ml de cada solución en un tubo de ensayo de base plana, se agita de manera continua por 1 minuto y se deja en reposo por 15 minutos, posteriormente se mide la altura de espuma. (Subieta C. et al., 2011).

Cálculos:

$$\text{mg saponina/peso fresco} = \frac{0.646 * (\text{altura de espuma en cm}) 0.104}{\text{peso de la muestra en g}}$$

$$\% \text{ saponinas} = \frac{0.646 * (\text{altura de espuma en cm}) 0.104}{(\text{peso de la muestra en g}) * 10}$$

2.5.2. Métodos Cuantitativos

2.5.2.1. Método espectrofotométrico

Este método es cuantitativo y está basado en la propiedad de las saponinas de reaccionar con algunos compuestos químicos, acompañado de un desarrollo de color, cuya intensidad es proporcional a la concentración de saponinas. La curva de calibración, absorbancia versus concentración de saponinas (mg/l), se construye a partir de una solución patrón.

Para la determinación del contenido de saponinas, correspondientes a la curva de calibración y las muestras, se usa un reactivo de color que es una mezcla de anhídrido acético y ácido sulfúrico en una proporción de 1:5 (16,67 %). La muestra se mezcla con el reactivo de color en una proporción de 1:3,5 (22,23 %).

Después de un barrido espectral entre 400 y 600 nm, se determina que la máxima absorbancia corresponde a una longitud de onda de 527,5 nm, fijándose este valor para la medición de las absorbancias de las muestras, en un Espectrofotómetro Shimadzu UV-1601.

Las lecturas se realizan a los 60 minutos después de haber añadido el reactivo de color a la muestra, las mediciones se hacen por duplicado. Los valores determinados corresponden al total de las saponinas presentes en la muestra.

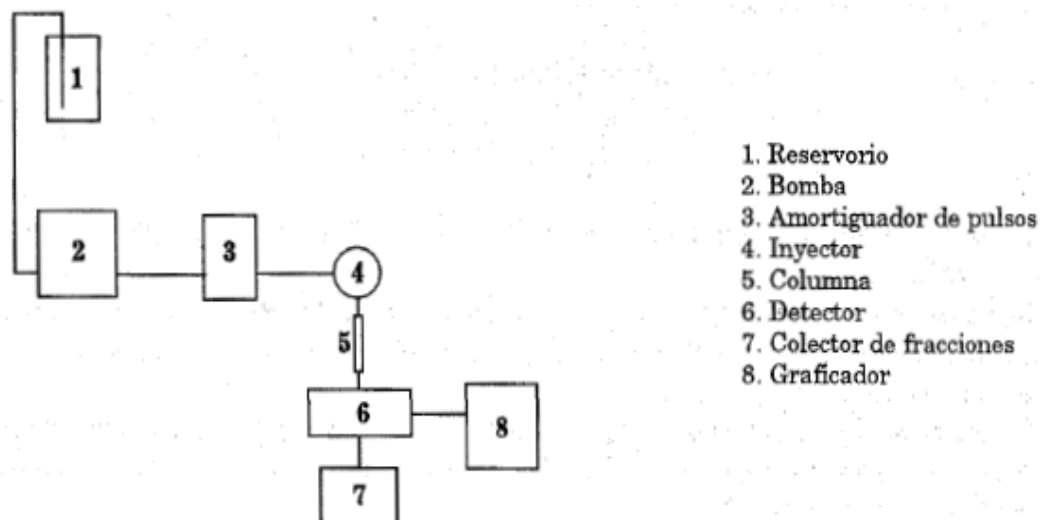
El color leído corresponde a la suma de colores debido a: la reacción del reactivo de color con las saponinas (vino tinto). (Subieta C., et al, 2011).

2.5.2.2. Método Cromatografía Líquida de Alta Presión HPLC

La Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC), es la técnica analítica de separación ampliamente utilizada por las razones de sensibilidad. Su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, es ideal para la separación de especies no volátiles o termolábiles y consta de dos fases: la fase móvil es un líquido y la fase estacionaria es

una columna. (Galagovsky L., 2001).

Figura 2- 12 Esquema del equipo de Cromatografía Líquida de Alta Presión



Fuente: Galagovsky L., 2001.

Reservorio del solvente: es importante desmasificar el solvente antes de introducir en el reservorio ya que las burbujas se disolverán dentro del aparato arruinando la señal del detector, y filtrarlo para eliminar cualquier impureza sólida.

Sistema de Bombeo: el solvente que atraviesa la columna debe tener alta presión, continua y sin pulsos, para ello se utiliza bombas que sean capaces de entregar 20 ml/min de solvente a una presión de 300 a 400 atm.

Cámara de inyección: el diseño de los sistemas de inyección debe ser cuidadoso porque debe resistir altas presiones, tener un volumen pequeño, y sus cavidades deben ser fácilmente lavables por la fase móvil.

Las Columnas: están construidas de material inerte, generalmente acero inoxidable, que sean herméticas a altas presiones de trabajo. Las formas de las columnas están en relación al tamaño y dimensión del termostato que se utiliza, las dimensiones varían entre 15 cm y varios metros de largo y 2mm hasta 9 mm o más de diámetro para aplicaciones preparativas.

Las Fases Estacionarias: los materiales de relleno deben ser estables a altas presiones

Termostato: es un dispositivo optativo en los equipos, ya que la mayoría de los análisis se realizan a temperatura ambiente.

Recolección de Fracciones: en cromatografía líquida existe la facilidad de recolectar los componentes de la muestra analizada y hay recolectores manuales y automáticos.

Detectores: un detector debe generar una respuesta proporcional a la concentración de la muestra. Los tipos de uso más generalizado son dos:

- Detector de índice de refracción: mide los índices de refracción del solvente más puro y de la solución que emerge de la columna, es sensible a los cambios de flujo y temperatura.
- Detector de luz ultra violeta: se basa en la absorción de luz que pasa a través de la solución emergente de la columna, se detectan los compuestos que absorban la luz de la longitud de onda a la que opera el detector, es sensible a los cambios de flujo y temperatura. (Galagovsky L., 2001).

2.6. Usos y aplicaciones de la saponina

- **Agroquímicos:** El mecanismo funcional de la saponina es en la Tensión superficial. Es utilizado en polvo soluble o líquidos de herbicidas para mejorar la eficacia, como un plaguicida biológico, insecticida, fungicida, nematocida, como agente de limpieza de los estanques. El insecticida que contiene saponina, mata los gusanos, lombrices nematodos etc. (Castedo J., CCBOLGROUP, 2008).
- **Acuicultura:** Es ampliamente utilizado en la acuicultura para eliminar los peces no deseados, los insectos nocivos en los peces y estanques de camarones. Desintoxica rápidamente el agua, no son perjudiciales para el ganado. En la ganadería, se puede reducir el nivel de colesterol en el interior de los animales y desarrollar productos de bajo contenido de colesterol de los animales. No dejan residuos nocivos acumulativos. (Castedo J., CCBOLGROUP, 2008).
- **Química:** La saponina se puede utilizar para la producción de champú para el lavado de cabello ya que tiene buenos efectos como protección, desinflamación y la eliminación de la caspa. La Saponina también se puede utilizar como detergente

para lavar la ropa ya que no reduce el color, no encogen y no pierde brillo por lo tanto sirve de mucho en la industria textil. (Zarate S., 2016).

- **Medicina:** La Saponina tiene características antiinflamatorias. Durante el período primario de la inflamación, puede normalizar los vasos capilares; regular el contenido de azúcar en sangre, reduce el colesterol, previene las enfermedades cardiovasculares, puede aliviar la tos y curar la bronquitis y los edemas pulmonares, también puede eliminar las bacterias y restringir el albicans blanco, y escherichia coli, puede incluso frenar la absorción del alcohol, la disolución del alcohol en la embriaguez después estar borracho. (Ahumada A., 2016)
- **Bebidas:** La Saponina en el vino, puede evitar que la levadura actué, y obtener una calidad estable. También se puede utilizar en los vinos espumantes. (Castedo J., CCBOLGROUP, 2008).
- **Limpieza:** La saponina es uno de los surfactantes no iónicos más natural, tienen una mejor función de emulsificación, en la limpieza, la dispersión y la espuma. Cuando se utiliza como detergente para lavar ropa, jersey de lana y tela, etc., posee la facultad de limpiar la suciedad con grasa. (Zarate S., 2016).
- **Minería y Petróleo:** La saponina como resultado de la función de la tensión superficial, se puede usar para la explotación petrolera. En la minería, puede ser un excelente agente y mejora la eficiencia de flotación. En los procesos de recuperación del cobre, evitando la contaminación de gases tóxicos. (Castedo J., CCBOLGROUP, 2008).
- **Fotografía y copias:** Para procesar papel de copia, se puede aumentar la claridad y calidad. Como también para hacer la película fotográfica, se puede mejorar significativamente la calidad de imagen y brillo. (Castedo J., CCBOLGROUP, 2008).
- **Contra incendios:** La saponina tiene una capacidad de espuma muy fuerte, y tiene buena función retardante de fuego. Puede convertirse en agente de lucha contra incendios. (Castedo J., CCBOLGROUP, 2008).

CAPÍTULO III
PARTE EXPERIMENTAL

CAPÍTULO III

PARTE EXPERIMENTAL

El presente trabajo de investigación aplicada se ha desarrollado en instalaciones del Laboratorio de Operaciones Unitarias (L.O.U.), que es dependiente del Departamento de procesos Industriales Biotecnológicos y Ambientales (D.P.I.B.A.), de la Facultad de Ciencias y Tecnología de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho (U.A.J.M.S.).

3.1. Descripción y análisis de materias primas

3.1.1. Caracterización físicas de la Materia Prima: fruto de Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*) del departamento de Tarija

Tabla III- 1 Propiedades del fruto y semilla del fruto de Timboy

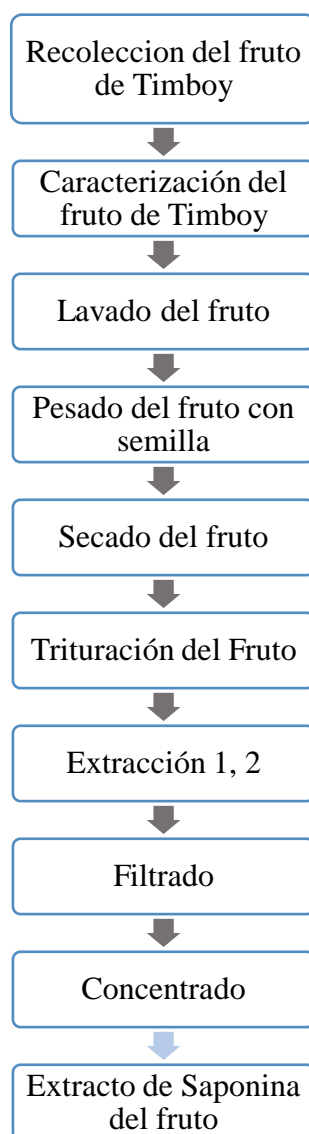
Propiedades	Fruto
Color	Café oscuro
Olor	Característico
Sabor	Amargo
Forma	Vaina plana
Textura	Lisa
Peso (g)	12-20
Longitud (cm)	3-12
Ancho (cm)	3-8
Número de semillas	10
Tactibilidad del endocarpio y mesocarpio	Sensación jabonosa, pegajosa
pH (20 °C)	4,85

Fuente: Elaboración propia, 2019

3.2. Descripción del método de investigación

La metodología a emplear, para esta finalidad de trabajo de grado, será la obtención de extracto de saponinas, que se llevará a cabo de manera experimental; por lo tanto se establecen un conjunto de pasos o etapas basadas en el proceso productivo para su extracción.

Diagrama III- 1 Etapas del proceso de extracción



Fuente: Elaboración propia, 2018.

3.3. Diseño Experimental del Proceso Tecnológico de obtención de Extracto de Saponinas a partir del fruto de Timboy

El diseño experimental es una técnica estadística, que tiene por objetivo definir el número de pruebas que se van a realizar en una investigación manipulando dos o más variables, independiente del problema en estudio, de tal manera que sea posible observar los cambios que se producen en la variable respuesta,

3.3.1. Planteamiento de la Hipótesis

Se determinan las dos variables principales que se deben controlar en el Proceso de extracción de Saponina, las cuales son:

- **Tiempo de Extracción**

El tiempo de extracción es una variable que se controla porque se busca el tiempo óptimo de extracción para así poder lograr la mayor separación de la saponina del fruto del Timboy.

- **Volumen de solvente**

La cantidad del solvente es la variable que se controla porque ejerce un efecto significativo en la concentración de saponinas presentes en los crudos obtenidos

3.3.1.1. Diseño Factorial

Es el conjunto de puntos experimentales o tratamientos que puede formarse considerando todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores. Permite el estudio de la interacción entre los factores

Tabla III- 2 Niveles de variación de los factores

Factores	Nivel		
	Unidad	Bajo	Alto
Tiempo de Extracción	Horas	48	72
Volumen del solvente	Mililitros	500/500	1000

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Tabla III- 3 Codificación de las variables

Nivel	Factor A Tiempo de extracción (h)	Factor B Concentración (ml)
1	1	1
2	-1	1
3	1	-1
4	-1	-1

Fuente: Elaboración propia, 2018.

3.3.2. Factores de estudio

El número de experimentos a realizar son:

$$2^k$$

Donde:

2: Niveles

K= Número de factores = 2

El número de experiencias es: $2^2 = 4$

Número de experimentos: $4 * 2 = 8$ experimentos.

Tabla III- 4 Diseño factorial para el Proceso de Extracción de Saponina

N° de Exp.	Tiempo (horas)	Volumen solvente (ml)	% Extracción
1	+1	+1	Y ₁
2	-1	+1	Y ₂
3	+1	-1	Y ₃
4	-1	-1	Y ₄
5	+1	+1	Y ₅
6	-1	+1	Y ₆
7	+1	-1	Y ₇
8	-1	-1	Y ₈

Fuente: Elaboración propia, 2018.

En la tabla anterior, se muestran las 8 pruebas con las dos variables independientes con sus valores bajos y altos.

Tabla III- 5 Diseño factorial con sus valores bajos y altos

N° de Exp.	Tiempo (horas)	Volumen solvente (mL)	% Extracción
1	48	500 et /500 H ₂ O	Y ₁
2	72	500 et /500 H ₂ O	Y ₂
3	48	1000 et	Y ₃
4	72	1000 et	Y ₄
5	48	500 et /500 H ₂ O	Y ₅
6	72	500 et /500 H ₂ O	Y ₆
7	48	1000 et	Y ₇
8	72	1000 et	Y ₈

Fuente: Elaboración propia, 2018.

En la tabla anterior, se muestran las variables con sus respectivos datos para el diseño factorial en el proceso de extracción.

3.4. Procedimientos y técnicas empleados para la obtención de los resultados.

3.4.1. Material de Laboratorio

Tabla III- 6 Equipos y materiales empleados para la extracción

EQUIPO	FUNCIÓN	ESPECIFICACIONES	CANTIDAD
Estufa de Tiro Forzado	Para quitar el contenido de humedad del fruto.	Margen de Temperatura: 20-80 °C Potencia Nominal: 2000 W Frecuencia: 50 Hz Voltaje: 220 V	1
Rota-evaporador	Para concentrar la extracción	Potencia de calefacción: 1300 W Margen de Temperatura en el baño: 20-180 °C Velocidad: 20-270 rpm	1
Molino de Bolas	Para moles los frutos trozados	Velocidad: 227 rpm (en el cilindro motor) Potencia: 250 W Frecuencia: 50 Hz Voltaje: 230 Trifásico Corriente eléctrica: 2.3 A	1
MATERIAL	FUNCIÓN	ESPECIFICACIONES	CANTIDAD
Recipientes de vidrio	Para macerar o almacenar la materia prima y el producto.	Grandes 3000 ml	4
		Pequeños 200 ml	
Recipientes de Plástico	Para almacenar la materia prima.	Medianos de 500 ml	4
Probetas	Para medir volúmenes de forma aproximada	1000 ml	1
		500 ml	
		25 ml	

Balanza Analítica	Para pesar las muestras	500 g	1
Termómetro	Para medir las temperaturas	200 °C	1
Alcoholímetro	Para medir el grado alcohólico del solvente	100 ° GL	1
Varilla	-	-	1
Espátula	-	-	1
Mortero y maso	-	500 g	1
Papel filtro	Necesario cuando se realice la filtración.	Media filtración (pliegue)	2

Fuente: Elaboración propia, 2018.

3.4.2. Solvente

Un Solvente es la sustancia que forma parte y está en mayor cantidad en una solución.

La solución es compuesta por la combinación y tratamiento de un soluto (en menor cantidad, por lo general sólido o líquido pero con mayor concentración) y un solvente (líquido con propiedades propicias para que ese soluto se disuelva correctamente).

3.4.2.1. Etanol

El etanol es un líquido incoloro, volátil, con un olor característico y sabor picante, inflamable, también se conoce como alcohol etílico.

En las siguientes tablas se describen las siguientes especificaciones del etanol

Tabla III- 7 Descripción del Etanol

Sinónimos	Etanol – Alcohol Absoluto – Etil Hidróxido – Metil Carbinol – Etil Hidrato.
Fórmula Química	$C_2H_6O_2$
Peso molecular	46,10
Grupo Químico	Compuesto Orgánico - Alcohol
Número CAS	64-17-5
Número NU	1170

Fuente: Winkler, 2007.



Tabla III- 8 Propiedades físicas, químicas y termodinámicas del Etanol

Estado Físico	Líquido
Apariencia	Incoloro
Olor	Olor característico fragante – umbral del olor: 100 a 180 ppm
pH	No reportado
Temperatura de Ebullición	78,3 °C
Temperatura de Fusión	-114,1 °C
Densidad (20 °C)	0,789 kg/l
Presión de Vapor (20 °C)	44, 3 mm Hg
Densidad de Vapor	1,59 g/ml
Índice de refracción	1,361
Temperatura de Ignición	363 °C
Calor específico (20 °C)	2,42 J/g °C
Conductividad térmica	0,17 W/m K
Temperatura crítica	243,1 °C.

Presión crítica	63,116 atm
Volumen crítico	0,167 l/mol
Solubilidad	Miscible con agua en todas proporciones, éter, metanol, cloroformo, acetona y benceno.

Fuente: Winkler, 2007.

Tabla III- 9 Identificación de riesgos de Etanol

Riesgo Principal	Inflamable
Riesgos Secundarios	Nocivo - Irritante y Reactivo leves
Rótulo	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>Rótulo NFPA</p>  </div> <div style="text-align: center;"> <p>Rótulos UN</p>  </div> </div>

Fuente: Winkler, 2007

3.4.2.2. Agua Desionizada

El agua desionizada o desmineralizada es llamada así porque se le han quitado, mediante resinas de intercambio iónico de lecho mixto, los cationes, como los de sodio, calcio, hierro, cobre y aniones como el carbonato, fluoruro, cloruro, etc.. Esto significa que al agua se le han quitado todos los iones excepto el H^+ , o más rigurosamente H_3O^+ y el OH^- , pero puede contener pequeñas cantidades de impurezas no iónicas como compuestos orgánicos. (Gil I., 2014).

Tabla III- 10 Descripción del Agua Desionizada

Sinónimos	Óxido hidrogenado, agua desmineralizada
Fórmula molecular	H ₂ O
Peso molecular	18.02
Familia química	Óxidos
Número CAS	7732-18-5
Número UN	N/A

Fuente: Meyer Reactivos Química, 2008.

Tabla III- 11 Propiedades físicas y químicas del Agua Destilada

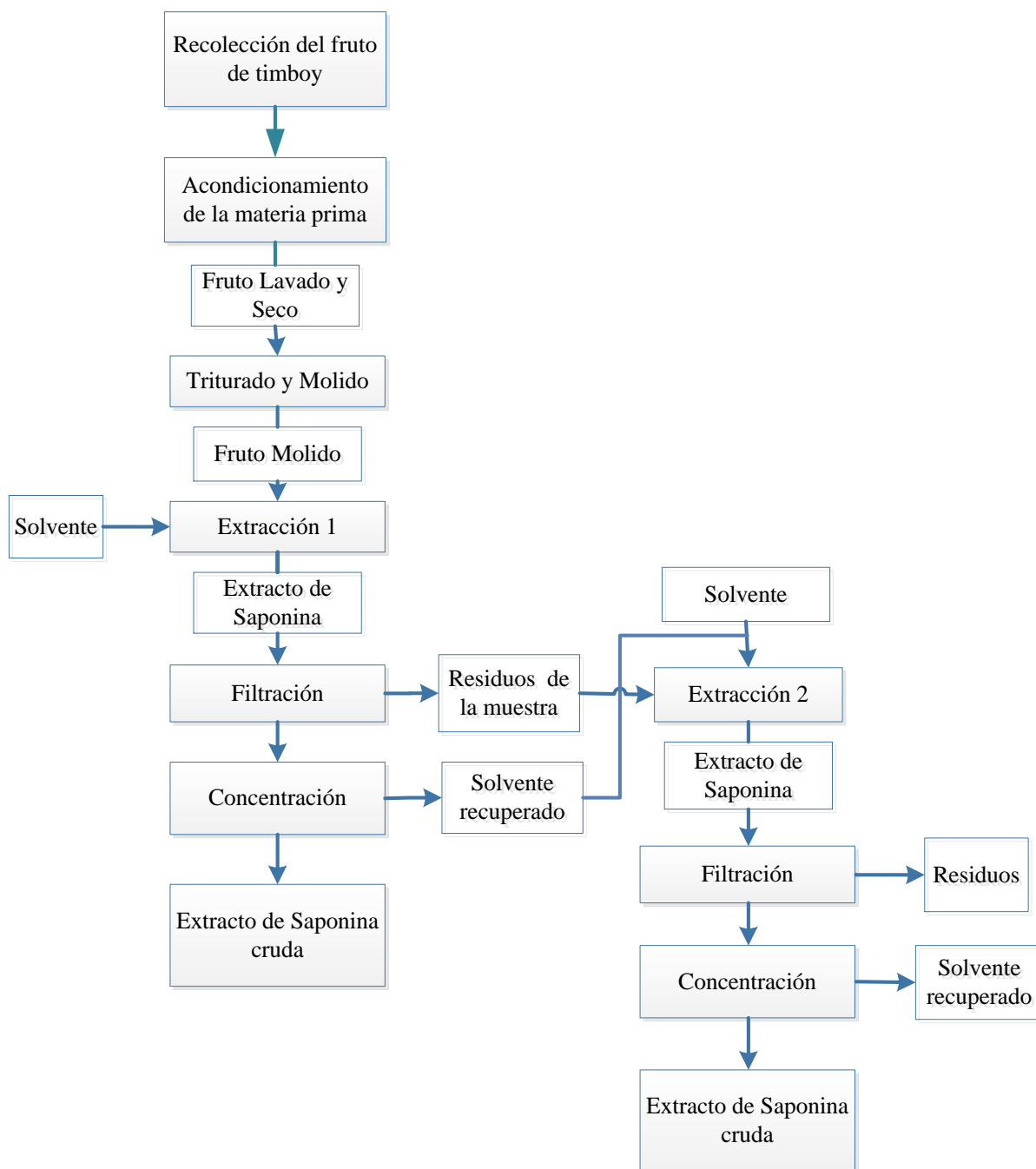
pH	5-7
Conductividad	10 μS / cm.
Aspecto	Transparente/ incoloro
Olor	Inodoro
Peso específico	1
Presión de vapor (20°C)	17.5 mm Hg
Punto de fusión	0 °C
Punto de ebullición	100 °C

Fuente: Meyer Reactivos Química, 2008.

3.5. Descripción del diagrama de bloques del Proceso Experimental de Obtención de Extracto de Saponinas a partir del fruto de Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*)

Para comprender el proceso que se selecciona primero se realiza un diagrama de bloques detallado y luego se hace una explicación de cada etapa del proceso experimental para la obtención de extracto de saponina a partir del Fruto de Timboy.

Diagrama III- 2 Diagrama de bloques del proceso de Obtención de Extracto de saponina del fruto de Timboy



Fuente: Elaboración propia, 2018

3.5.1. Recolección de la materia prima: Fruto de Timboy

Para iniciar el proceso, se recolecta la materia prima que es el fruto de la planta Timboy.

Una vez alcanzada su madurez el fruto tienden a tener un color café oscuro y seco, se los recogió de los árboles Timboy provenientes del barrio El Tejar ubicados en la avenida Víctor Paz de la ciudad de Tarija.

Para la recolección de los frutos se utilizó una escalera, recipientes y bolsas; posteriormente se los traslada al Laboratorio de Operaciones Unitarias LOU para la respectiva extracción.

Fotografía 3- 1 Árbol Timboy para la recolección, fruto maduro en el árbol



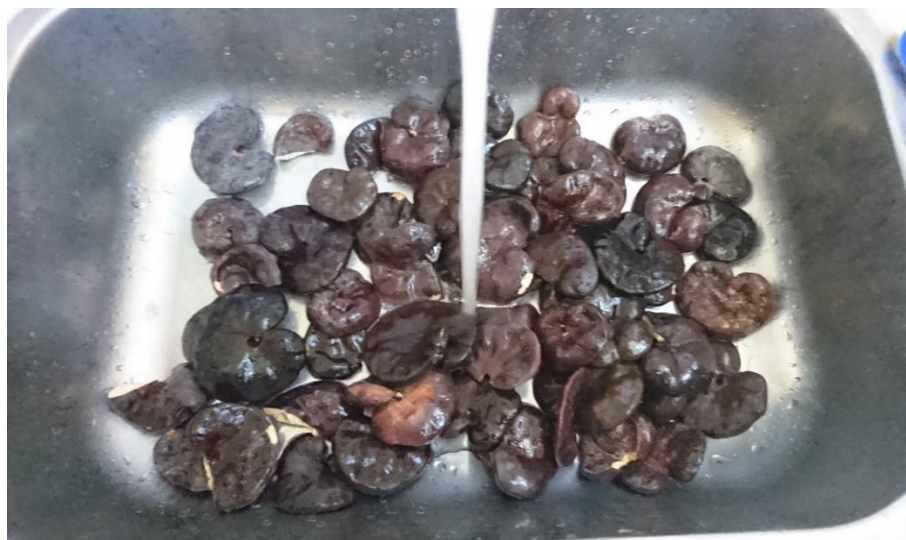
Fuente: Elaboración propia, 2019.

3.5.2. Lavado

Se acondiciona la materia prima, haciendo la selección de los frutos que están aptos para la extracción y los dañados o defectuosos.

Posterior a esto se procede a lavar los frutos para la limpieza y así eliminar los restos de tierra y suciedad que están presentes en el fruto.

Fotografía 3- 2 Lavado del fruto Timboy



Fuente: Elaboración propia, 2019

3.5.3. Secado

Inicialmente el fruto de Timboy seco y maduro contiene 8.10 % de Humedad.

Al momento que se lava el fruto aumenta su porcentaje de humedad, por lo cual se lleva a secar el fruto de Timboy a una estufa de tiro forzado a 85 °C de temperatura, para eliminar el agua del lavado y así reducir la humedad.

Inicialmente se dejó en la estufa 90 min, pasado ese tiempo cada 15 min se procedió a sacar la muestra para pesarla hasta que el peso del fruto se mantenga constante y poder trabajar con la materia prima acondicionada para mejorar el triturado del fruto para el proceso de extracción, este proceso se efectúa en el L.O.U.

Fotografía 3- 3 Fruto en la estufa



Fuente: Elaboración propia, 2019.

3.5.4. Triturado y Molienda del fruto

El fruto de Timbo entero y seco debe ser triturado y molido.

Primero se tritura con un mortero para separar las semillas del fruto ya que solo se emplea el pericarpio (epicarpio, mesocarpio y endocarpio) para la extracción.

También se necesita una rejilla para cernir las semillas del fruto triturado y pasar al proceso de molienda, este proceso se efectúa en el L.O.U.

Fotografía 3- 4 Fruto triturado y separado de las semillas



Fuente: Elaboración propia, 2019.

Las partículas trituradas anteriormente tienen distintos diámetros y para que alcancen un tamaño uniforme y homogéneo se realiza la molienda en el molino de bolas que se encuentra en el L.O.U., por un tiempo de 20 min con bolas de diferente tamaño y peso; posterior a eso se retiró las bolas del cilindro y el fruto molido.

Fotografía 3- 5 Molino de bolas



Fuente: Elaboración propia, 2019.

Fotografía 3- 6 Fruto después de la molienda



Fuente: Elaboración propia, 2019.

Este proceso se hace para tener mejor manipulación de la materia prima y mayor contacto con el solvente para la extracción.

3.5.5. Extracción mediante Maceración en dos etapas con solvente

Se realiza la extracción de saponina del fruto de Timboy por el método de maceración con doble extracción recuperándose el solvente.

La concentración del solvente y el tiempo de extracción son fundamentales para obtener un mayor rendimiento de extracto de Saponina.

3.5.5.1.Preparación del solvente

Para extracción se necesita preparar el solvente de dos formas, de acuerdo con la concentración de alcohol que se requiere en los experimentos.

Para la disolución se utilizó la siguiente fórmula:

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

Donde:

C_1 = Concentración de la solución inicial que tenemos (96 %)

V_1 = Volumen que utilizamos para la dilución (ml)

C_2 = Concentración que se desea obtener (%)

V_2 = Volumen final de la dilución (ml)

En la tabla consecutiva se especifica la concentración y el volumen del solvente cuando se utiliza alcohol puro.

Concentración y volumen del solvente puro

C₁ (%)	V₁ (ml)
96	1000

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Para los extractos que requerían una disolución de agua desionizada y alcohol, se detalla en la siguiente tabla.

Tabla III- 12 Concentraciones y volúmenes requeridos para la disolución

C₁ (%)	V₁ (ml)	C₂ (%)	V₂ (ml)
96	500	48	1000

Fuente: Elaboración propia, 2019.

3.5.5.2. Maceración

Según el diseño experimental para el proceso de maceración se requiere un tiempo de 48 y 72 horas, utilizándose frascos de vidrio de 3 litros aproximadamente con tapas de plástico.

La materia prima seca y molida es pesada en cantidades iguales a 100,1 gramos cada una y disueltas en 1 litro de solvente con distintas concentraciones. Se tapa muy bien y se recubren los frascos con papel estañado y se los deja macerar a temperatura ambiente.

Fotografía 3- 7 Proceso de maceración



Fuente: Elaboración propia, 2019.

Después del proceso de mezclado el fruto seco y molido con el solvente correspondiente, se rotula cada frasco, se los recubre y se almacenan en un lugar fresco a temperatura ambiente.

Fotografía 3- 8 Proceso de Maceración



Fuente: Elaboración Propia, 2019.

Pasado el tiempo de maceración los sólidos se asientan en el fondo de los recipientes de vidrio y para ser más fácil el proceso de filtración, se mide la temperatura que oscila entre 20 - 21 °C; también se mide el grado alcohólico de las muestras con un alcoholímetro, este proceso se efectúa en el L.O.U.

Fotografía 3- 9 Después del proceso de maceración



Fuente: Elaboración Propia, 2019.

3.5.6. Filtración

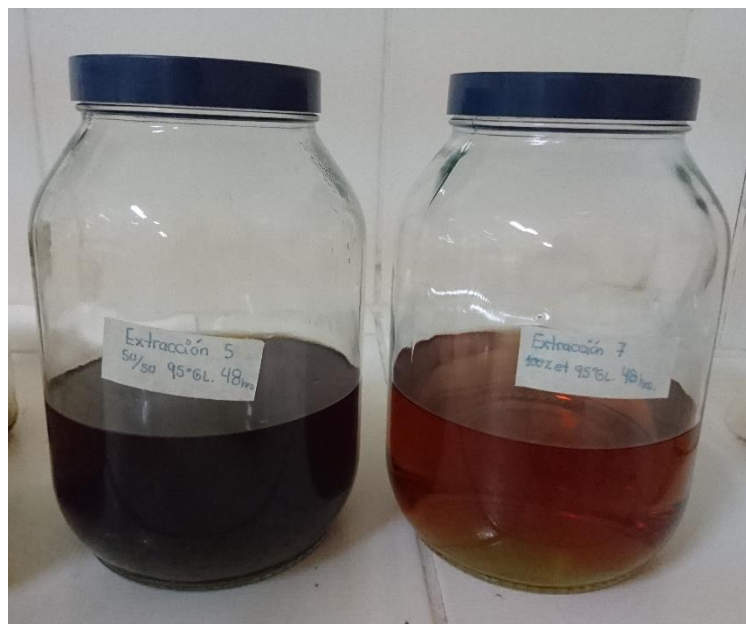
Una vez obtenida la solución del extracto de saponina se debe filtrar a vacío para eliminar los posibles residuos y partículas pequeñas que puedan quedar para que no puedan perjudicar el proceso de extracción.

Fotografía 3- 10 Filtración a Vacío



Fuente: Elaboración Propia, 2019

Fotografía 3- 11 Después del filtrado



Fuente: Elaboración propia, 2019

3.5.7. Concentración

En un Rota-evaporador existente en el L.O.U., con vacío se concentran los extractos crudos de saponina, hasta formar una solución lo más concentrada posible, asimismo se recupera por evaporación el solvente en el matraz de recuperado y se mide su grado alcohólico, para luego ser reutilizado en la segunda extracción.

Para tener un buen funcionamiento de la bomba se le agrega aceite ya que este tiende a calentarse.

Fotografía 3- 12 Rota-evaporador con la muestra en el matraz



Fuente: Elaboración propia, 2019.

Fotografía 3- 13 Conexión del Rota-evaporador para la concentración del extracto



Fuente: Elaboración propia, 2019.

En la siguiente tabla se detallan los parámetros y especificaciones de control del Rota-evaporador para la respectiva concentración.

Tabla III- 13 Parámetros del Rota-evaporador

Parámetros	Especificaciones
Temperatura del baño	40 °C
Velocidad de Rotación	30 rpm
Presión de Vacío	79,9 KPa

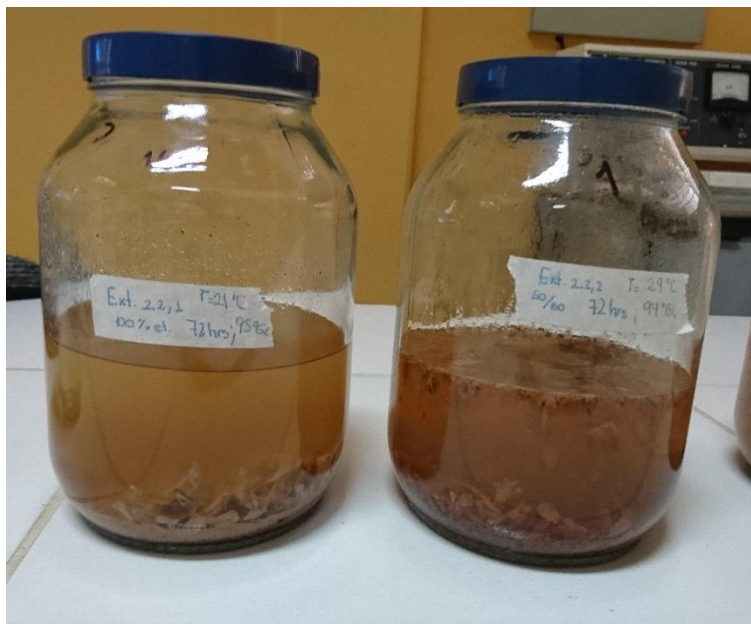
Fuente: Elaboración Propia, 2019.

3.5.8. Segunda extracción de maceración con solvente recuperado

La segunda extracción de saponinas se realiza con el reflujo o residuo sobrante del filtrado correspondiente a cada extracción y se reutiliza el solvente recuperado de la concentración del mismo, dejándose macerar según el tiempo planteado en el diseño experimental.

Pasado el tiempo de maceración se procede a filtrar a vacío y concentrar cada muestra tal hecho como los pasos anteriores.

Fotografía 3- 14 Segunda extracción con solvente el recuperado

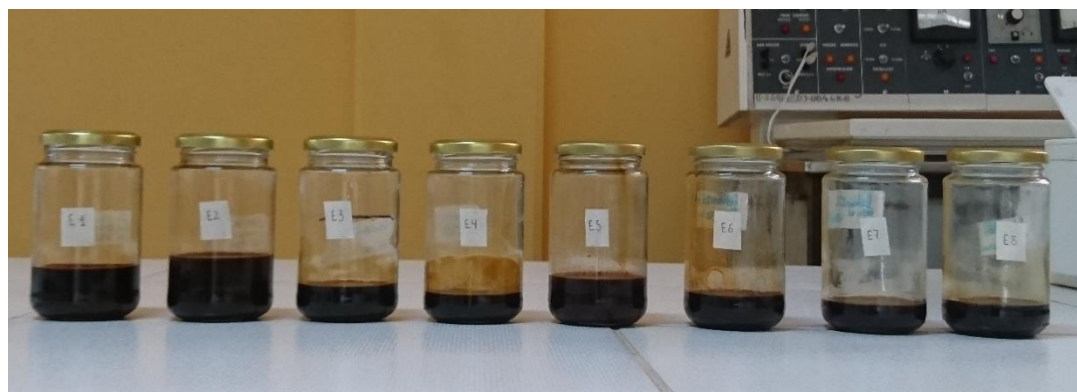


Fuente: Elaboración propia, 2019.

3.5.9. Producto Obtenido

El producto obtenido de extracto se almacena en pequeños frascos de vidrio cerrados manteniéndolos a temperaturas bajas (-2°C), hasta su caracterización y análisis respectivo.

Fotografía 3- 15 Extractos obtenidos según el diseño experimental



Fuente: Elaboración propia, 2019.

Fotografía 3- 16 Extractos combinamos para ser analizados



Fuente: Elaboración propia, 2019.

3.6. Determinación de saponinas por Cromatografía Líquida de Alta Presión HPLC

Para el análisis de saponinas mediante el HPLC se acondiciona un método en base a los métodos desarrollados por Madl T., Sterk H., *et al.* El análisis es realizado en un equipo HPLC Agilent 1100 series, que se encuentra en el I.I.Q., del departamento de La Paz, que consta de 4 módulos: el descalificador de solventes, la bomba cuaternaria, la columna reversa C18 y el detector de los compuestos. Las separaciones son corridas en una columna Zorbax Eclipse Plus C18 de 4,6 mm*150 mm d.i., 3,5 μ m a 23 °C y 210 nm. Se inyecta 25 μ l de muestra patrón de concentración 6 mg/ml, obtenido solamente del mesocarpio mediante una extracción de maceración y agitación con 50/50 etOH/H₂O. Se efectúa una segunda extracción con n-butanol donde se separa en dos fases acuosas y butanólica, esta última se concentra y liofiliza para tener un extracto seco.

Para la separación se emplea como fase móvil agua al 0,1 % en ácido fórmico como solvente “C” y Acetonitrilo como solvente “D”. Para la elución se trabaja con un sistema en gradiente lineal de 75 % a 65 % de solvente “A” con un flujo constante de 0,4 ml/min durante 40 min, luego en los siguientes 15 min con un gradiente lineal de 65 % a 55 % de solvente “A”, y a los 35 min con un gradiente lineal de 55 % de solvente “A” que se mantuvo constante hasta los 40 min.

Las muestras de los 4 extractos, previamente a la inyección al equipo, son preparadas

por disolución en agua grado HPLC, luego se pasan por un filtro para jeringa de 0,44 μm , en seguida se inyectan 25 μl de cada uno de los extractos para ser analizados y comparados con el patrón, todo este proceso se desarrolla en el I.I.Q., de la Facultad de Ciencias Puras y Naturales de la U.M.S.A. en el departamento de La Paz.

Fuente: Elaboración Propia, 2019.

Tabla III- 14 Lista de Equipos

Texto Mostrado	Descripción
E-1	Secador
E-2	Molino de Bolas
E-3	Recipiente Cerrado
E-4	Filtración
E-5	Rota-evaporador

Fuente: Elaboración Propia, 2019.

Tabla III- 15 Corrientes del proceso de extracción

Corriente	Especificación	Corriente	Especificación
C1	Fruto Timboy maduro	C10	Etanol condensado
C2	Masa de agua evaporada	C11	Extracto Concentrado
C3	Fruto Timboy seco	C12	Solvente 2
C4	Semillas separadas	C13	Solución del Extracto 2
C5	Fruto Timboy molido	C14	Residuos materia sólida 2
C6	Solvente	C15	Extracto líquido filtrado 2
C7	Solución del Extracto	C16	Etanol Condensado 2
C8	Residuos materia sólida 1	C17	Extracto Concentrado 2
C9	Extracto líquido filtrado		

Fuente: Elaboración propia, 2019.

3.8. Balance de Materia y Energía

3.8.1. Balance de Materia

El balance de materia se realiza a partir de 657 gramos del fruto de Timboy, el cual pasa por un proceso de acondicionamiento, secado y molido, asimismo para su respectivo análisis.

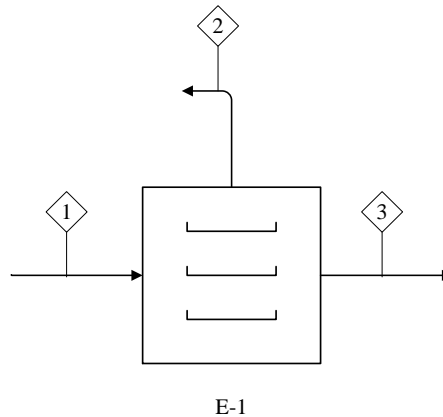
El proceso de extracción mediante maceración se realiza a partir de los 100,1 gramos del fruto seco y molido en condiciones más óptimas posibles, lo restante se utiliza para las posteriores extracciones, 1:1,10 soluto: solvente.

Tabla III- 16 Datos del proceso de obtención de Extracto de saponina

Secado	
Cantidad inicial de fruto húmedo	656,89 g
Cantidad final de fruto seco	620,018 g
Porcentaje de humedad	5,61%
Temperatura	85 °C
Tiempo de secado	4 h
Triturado y Molido	
Tiempo de molienda	30 minutos
Mezclado y Macerado	
Cantidad de fruto Timboy molido	100,100 g
Relación soluto solvente	01:10
Volumen del solvente	1000 ml
Concentración del etanol	96%
Tiempo de maceración	48 h
Densidad del etanol	0.804 g/ml
Concentración en el Rota-evaporador 4000	
Cantidad inicial de extracto líquido	691.440 g
Temperatura de baño	40 °C
Presión de vacío	79,9 KPa
Tiempo	2 h
Velocidad de rotación	30 rpm

Fuente: Elaboración propia, 2019.

3.8.1.1. Balance de materia en secado del fruto Timboy



Cálculo de cantidad de masa de agua evaporada.

Balance general:

$$C_1 = C_2 + C_3 \quad \text{Ec. 3. 1}$$

Despejando C_2 de la ecuación 3.1, la masa de agua evaporada es:

$$C_2 = C_1 - C_3$$

$$C_1 = 656,890 \text{ g}$$

$$C_3 = 620,018 \text{ g}$$

$$C_2 = 656,890 \text{ g} - 620,018 \text{ g}$$

$$C_2 = 36,872 \text{ g}$$

La humedad del producto final es $X_3 = 0,056$, entonces X_1

Balance por componente: Agua

$$C_1 * X_1 = C_2 * X_2 + C_3 * X_3 \quad \text{Ec. 3. 2}$$

Despejando X_1 de la ecuación 3.2, se tiene:

C_2 es el vapor de agua por lo que $X_2 = 1$

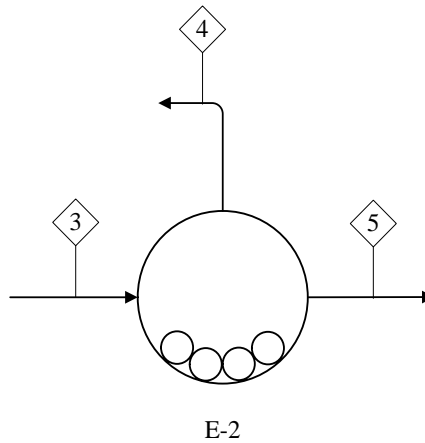
$$X_1 = \frac{C_2 * X_2 + C_3 * X_3}{C_1}$$

$$X_1 = \frac{(36,872 \text{ g} * 1) + (620,018 \text{ g} * 0,056)}{656,890 \text{ g}}$$

$$X_1 = 0,109$$

3.8.1.2. Balance de materia en Trituración y Molienda

En este proceso se reduce el tamaño de las partículas, y se calcula la cantidad de semillas separadas.



Balance General:

$$C_3 = C_4 + C_5$$

Ec. 3. 3

$$C_3 = 620,018 \text{ g}$$

$$C_5 = 471,214 \text{ g}$$

Despejando C_4 de la ecuación 3.3, se determina la cantidad en peso de las semillas:

$$C_4 = C_3 - C_5$$

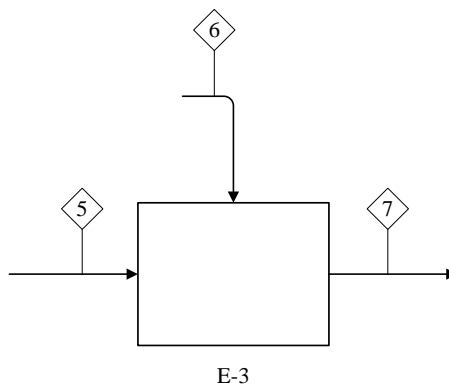
$$C_4 = 620,018 \text{ g} - 471,214 \text{ g}$$

$$C_4 = 148,804 \text{ g}$$

3.8.1.3. Balance de materia en Mezclado y Maceración

Para el proceso de mezclado se considera solo 100,100 g de la muestra para cada prueba, utilizando una relación 1:100 g/ml en etanol al 96 % utilizado como solvente, por 48 h de maceración.

Lo restante de 471,214 gramos de fruto molido y seco se utiliza para las demás pruebas experimentales.



$C_5 = 100,100$ g de fruto de Timboy

$C_6 = 1000$ ml de Etanol a 96 % de Concentración

Densidad del Etanol es: 0,804 g/ml, entonces:

$$C_6 = 1000 \text{ ml} * 0,804 \text{ g/ml} \quad E. 3. 4$$

$$C_6 = 804 \text{ g de etanol}$$

Balance General:

$$C_7 = C_5 + C_6 \quad E. 3. 5$$

$$C_7 = 100,100 \text{ g} + 804 \text{ g}$$

$$C_7 = 904,100 \text{ g de solución macerada}$$

Balance por componente: Saponina

Para calcular el porcentaje de saponina en la materia prima, se considera la masa total de extracto sobre masa de materia prima inicial utilizada, por el 100 % y este resultado

multiplíquelo por el porcentaje relativo analizado de saponina. Como resultado se tiene 46,515 %.

Entonces la composición de la saponina en la materia prima es: $X_5 = 0,465$

$X_6 = 0$ porque es el solvente puro.

$$C_7 * X_7 = C_5 * X_5 + C_6 * X_6 \quad E. 3. 6$$

Despejando de la ecuación 3.6, X_7 es:

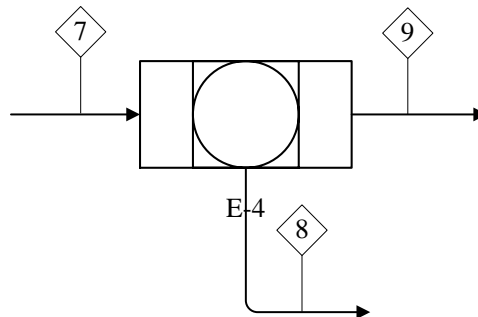
$$X_7 = \frac{C_5 * X_5 + C_6 * X_6}{C_7}$$

$$X_7 = \frac{100,1 \text{ g} * 0,465}{904,1 \text{ g}}$$

$$X_7 = 0,051$$

3.8.1.4. Balance de materia en Filtración

Es una operación en la que consiste la separación del extracto líquido de la fase sólida, obteniendo como resultado el residuo que posteriormente se volverá a utilizar para la segunda extracción. Se calcula el extracto líquido



Balance General:

$$C_7 = C_8 + C_9 \quad E. 3. 7$$

$C_7 = 904,100$ g de solución macerada

$C_8 = 156,976$ g residuo del extracto

Despejando C_9 de la ecuación 3.7, la masa de extracto líquido filtrado es:

$$C_9 = C_7 - C_8$$

$$C_9 = 904,100 \text{ g} - 156,976 \text{ g}$$

$$C_9 = 747,130 \text{ g de extracto líquido filtrado}$$

Considerando que la masa inicial del sólido no varía, la cantidad del solvente perdido es:

$$\textit{Pérdida} = C_8 - C_5 \quad \text{E. 3. 8}$$

$$\textit{Pérdida} = 156,976 \text{ g} - 100,100 \text{ g}$$

$$\textit{Pérdida} = 56,876 \text{ g}$$

Balance por componente: Saponina

$$C_7 * X_7 = C_8 * X_8 + C_9 * X_9 \quad \text{E. 3. 9}$$

La composición de la saponina en $X_7 = 0,051$

$X_9 = 0,0048$ es determinado en el balance de materia del Rota-evaporador.

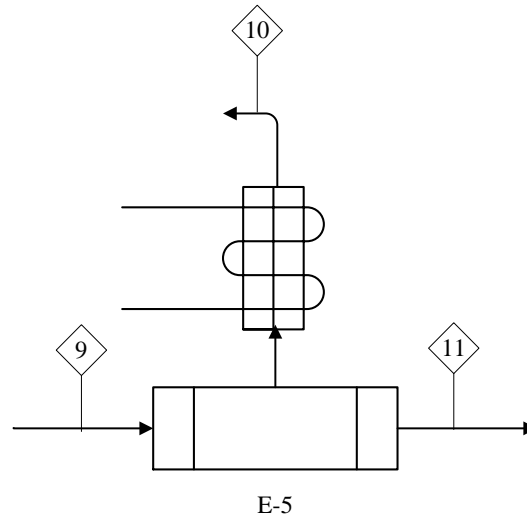
Entonces, despejando X_8 de la ecuación 3.9, tenemos:

$$X_8 = \frac{C_7 * X_7 - C_9 * X_9}{C_8}$$

$$X_8 = \frac{(904,100 \text{ g} * 0,051) - (747,130 \text{ g} * 0,0048)}{156,976 \text{ g}}$$

$$X_8 = 0,271$$

3.8.1.5. Balance de materia en Concentración en el Rota-evaporador



Balance General:

$$C_9 = C_{10} + C_{11} \quad E. 3. 10$$

$C_9 = 747,130$ g de extracto líquido filtrado

$C_{11} = 38,656$ g de concentrado

$$C_{10} = C_9 - C_{11}$$

$$C_{10} = 747,130 \text{ g} - 38,656 \text{ g}$$

$$C_{10} = 708,474 \text{ g de solvente recuperado}$$

Balance por componente: Saponina

$$C_9 * X_9 = C_{10} * X_{10} + C_{11} * X_{11} \quad E. 3. 11$$

Donde:

$X_{10} = 0$ por ser el recuperado del solvente puro

El porcentaje relativo de saponina que se determinó en el extracto es de 9,3 %, entonces la composición en $X_{11} = 0,093$ de saponina analizada, de mayor rendimiento.

$$X_9 = \frac{C_{10} * X_{10} + C_{11} * X_{11}}{C_9}$$

$$X_9 = \frac{(611,040 \text{ g} * 0) + (38,656 \text{ g} * 0,093)}{747,130 \text{ g}}$$

$$X_9 = 0,0048$$

El peso del extracto de saponinas del fruto de Timboy es 38,656 gramos, con volumen de 33,5 ml de extracto concentrado obtenido a partir de 96 ° GL de etanol, por lo tanto se puede determinar el rendimiento del proceso de extracción:

$$\text{Rendimiento} = \eta_e = \frac{\text{Masa del extrato obtenido}}{\text{Masa inicial del fruto timboy}} * 100 \quad \text{E. 3. 12}$$

$$\text{Rendimiento} = \frac{38,656 \text{ g}}{100,100 \text{ g}} * 100$$

$$\text{Rendimiento} = 38,617 \%$$

3.8.2. Balance de Energía

Se realizará el balance de energía para los procesos de Secado, Molino, Concentración y Evaporación en el rota- evaporador.

Considerando que la energía que se transfiere se comprende:

- Calor sensible cuando existe un cambio de temperatura
- Calor latente cuando existe un cambio de fase

3.8.2.1. Balance de energía en el Secador

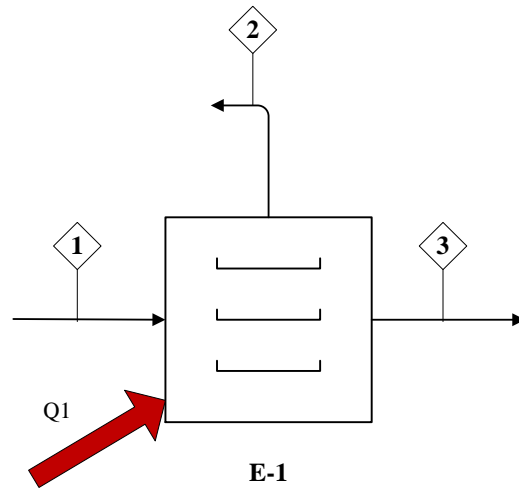
Las condiciones de secado de la materia prima son:

t = 4 horas Tiempo de secado

T = 85 °C Temperatura de secado

Po = 2000 W Potencia del secador

Costo de KW h en la ciudad de Tarija es 0,60 Bs.



$$\text{Energía} = P_o * t \quad E. 3. 13$$

$$\text{Energía} = 2 \text{ KW} * 4 \text{ h}$$

$$\text{Energía} = 8 \text{ KW h}$$

La energía consumida por la estufa es de 8 KW h y para encontrar el costo de la energía consumida se multiplica la energía consumida por el tiempo de trabajo de este:

$$\text{Costo} = 8 \text{ KW h} * \frac{0,60 \text{ Bs}}{\text{KW h}} \quad E. 3. 14$$

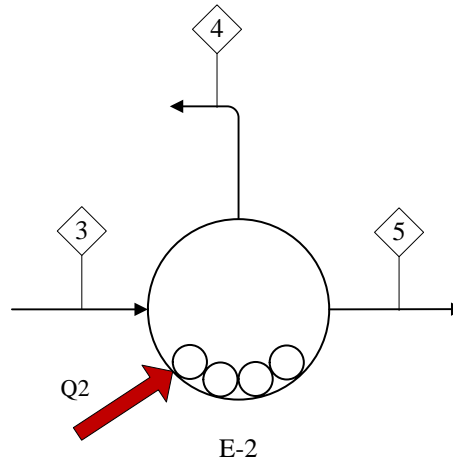
$$\text{Costo} = 4,8 \text{ Bs}$$

3.8.2.2. Balance de energía en el Molino

Las condiciones en la molienda son:

$t = 0.5$ h Tiempo de molienda

$P_o = 250$ W Potencia en el molino de bolas



$$\mathbf{Energía = P_o * t} \quad \mathbf{E. 3. 15}$$

$$\mathbf{Energía = 0.25 \text{ KW} * 0,5 \text{ h}}$$

$$\mathbf{Energía = 0,125 \text{ KW h}}$$

La energía consumida por el molino es de 0,125 KW h y para encontrar el costo de la energía consumida se multiplica la energía por el tiempo de trabajo de este:

$$\mathbf{Costo = 0,125 \text{ KW-h} * \frac{0,60 \text{ Bs}}{\text{KW-h}}}$$

$$\mathbf{Costo = 0,075 \text{ Bs}}$$

3.8.2.3. Balance de energía en el Rota-evaporador

Las condiciones en el rota-evaporador son:

$T_e = 313,15$ °K Temperatura de entrada

$T_{sist} = 295,15$ °K Temperatura del sistema

$T_{baño} = 311,15$ °K Temperatura en el baño

$C_p \text{ etanol} = 13,966$ KJ/ Kg K

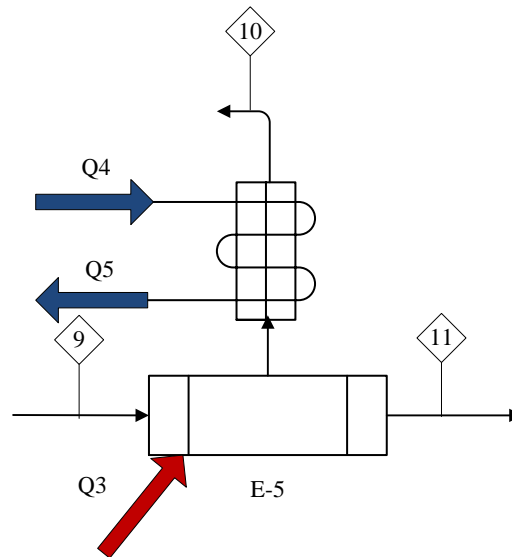
$PM \text{ etanol} = 40,069$ g/mol

$$C_9 = 691,440 \text{ g} \rightarrow 0,691 \text{ Kg}$$

$$P_{atm} = 101,3 \text{ KPa}$$

$$P_{bomba} = 79,9 \text{ KPa}$$

$$C_p \text{ agua} = 4,185 \text{ KJ/Kg K}$$



3.8.2.4. Balance en el baño del Rota-evaporador

$$Q_3 = Q_{Sensible} + Q_{vaporización} \quad \text{Ec. 3. 16}$$

Para calcular el calor sensible:

$$Q_{Sensible} = C_9 * C_{p\text{etanol}} * (T_s - T_e) \quad \text{Ec. 3. 17}$$

$$Q_{Sensible} = 0,691 \text{ kg} * 13,966 \frac{\text{KJ}}{\text{kg K}} * (311,15 - 295,15) \text{ K}$$

$$Q_{sensible} = 154,506 \text{ KJ}$$

Para calcular el calor de Vaporización del etanol:

$$Q_{vap.\text{etanol}} = C_9 * \Delta H_{vap.\text{etanol}} \quad \text{Ec. 3. 18}$$

Para determinar la entalpia de vaporización se debe considerar la presión del sistema con el que se trabaja, la bomba a una presión de 79,9 KPa y la presión atmosférica en la ciudad de Tarija es 103,1 KPa; por lo tanto la presión del sistema es:

$$P_{sistema} = P_{atmosférica} - P_{bomba} \quad \text{Ec. 3. 19}$$

$$P_{sistema} = 101,3 \text{ KPa} - 79,9 \text{ KPa}$$

$$P_{sistema} = 21,4 \text{ KPa}$$

A esta presión del sistema la entalpia de vaporización es:

$$\Delta H_{vap \text{ etanol}} = 94,147 \frac{\text{Kj}}{\text{Kg}}$$

Reemplazando la ecuación 3.18 tenemos:

$$Q_{vap. etanol} = 0,691 \text{ Kg} * 257,614 \frac{\text{KJ}}{\text{Kg}}$$

$$Q_{vap. etanol} = 65,097 \text{ KJ}$$

Reemplazando los valores obtenidos en la ecuación 3.16 tenemos:

$$Q_3 = 200,5406 \text{ KJ} - 178,125 \text{ KJ}$$

$$Q_3 = 89,409 \text{ KJ}$$

La potencia en el Rota-evaporador en el baño 1300 W, por lo tanto el tiempo mínimo será:

$$Q_3 = P_o * t \quad \text{Ec. 3. 20}$$

Despejando el tiempo de la ecuación 3.20 tenemos:

$$t = \frac{Q_3}{P_o}$$

$$t = \frac{2522,416 \text{ KJ}}{1,300 \frac{\text{KJ}}{\text{s}}}$$

$$t = 68,776 \text{ s}$$

3.8.2.5. Balance en el condensador del Rota-evaporador

$$Q_{\text{Cedido}} = Q_{\text{Ganado}}$$

Ec. 3. 21

$$Q_4 = Q_5$$

$$C_9 * \Delta H_{\text{vap. etanol}} + C_9 * C_{p\text{etanol}} * (T_e - T_s) = m_{\text{agua cond.}} * C_{p\text{agua}} * (T_{\text{ent.sist}} - T_s)$$

Despejando masa de agua condensada de la ecuación 3.21 tenemos:

$$m_{\text{agua cond.}} = \frac{C_9 * \Delta H_{\text{vap. etanol}} + C_9 * C_{p\text{etanol}} * (T_e - T_s)}{C_{p\text{agua}} * (T_{\text{ent sist}} - T_{\text{sal.}})}$$

$$m_{\text{agua cond.}} = \frac{0,691 \text{ Kg} * 94,147 \frac{\text{KJ}}{\text{kg}} + 0,691 \text{ Kg} * 13,996 \frac{\text{KJ}}{\text{kg K}} * (311,15 - 295,15) \text{ K}}{4,185 \frac{\text{KJ}}{\text{kg K}} * (311,15 - 295,15) \text{ K}}$$

$$m_{\text{agua cond.}} = 3,279 \text{ kg}$$

$$Q_4 = m_{\text{agua cond.}} * C_{p\text{agua}} * (T_{\text{ent sist}} - T_{\text{salida}}) = Q_5$$

$$Q_4 = 3,279 \text{ kg} * 4,185 \frac{\text{KJ}}{\text{kg K}} * (311,15 - 295,15) \text{ K}$$

$$Q_4 = 219,603 \text{ KJ}$$

3.9. Cálculos y resultados del balance de materia y energía

En la Tabla III-17 y Tabla III-18, se muestra los resultados obtenidos del balance de materia y de energía.

Tabla III- 17 Resultados del Balance de Materia

Corrientes		Gramos
C1	Fruto Timboy maduro	656,890
C2	Masa de agua evaporada	36,872
C3	Fruto Timboy seco	620,018
C4	Semillas separadas	148,804
C5	Fruto Timboy molido	471,214
C6	Solvente	804,000
C7	Solución del Extracto	904,100
C8	Residuos materia sólida 1	156,976
C9	Extracto líquido filtrado	747,130
C10	Etanol condensado	708,474
C11-C17	Extracto Concentrado	38,656

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla III- 18 Resumen del Balance de Energía

Corrientes		
Q1	Energía consumida en el Secador	8 KW h

Q2	Energía consumida en el Molino de Bolas	0,125 KW h
Q3	Energía consumida en el Rota-evaporador	89,409 KJ
Q4	Calor en el condensador del Rota-evaporador	219,603 KJ
Q5	Calor en el condensador del Rota-evaporador	219,603 KJ

Fuente: Elaboración propia, 2019.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis Fisicoquímicos de la Materia Prima: Fruto de Timboy

Los análisis fisicoquímicos de la materia prima del fruto de Timboy se efectúan en el Centro de Análisis Investigación y Desarrollo (CEANID) de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho (UAJMS), en la ciudad de Tarija.

En la tabla se presentan los resultados de los análisis Fisicoquímicos del Fruto de Timboy.

Tabla IV- 1 Análisis Fisicoquímico de la Materia Prima: fruto de Timboy

Parámetro	Resultados %
Azúcar Total	26,26
Ceniza	2,74
Fibra	41,89
Materia Grasa	1,00
Proteína (N*6,25)	14,25
Humedad	8,10
Hidratos de Carbono	32,02
Valor Energético (Kcal/100 g)	154,08
Densidad (g /cm ³)	0,67

Fuente: Elaboración propia, CEANID, 2019.

Se vuelve a mostrar la Tabla III-1 las características y propiedades físicas del fruto de Timboy, realizadas en el Laboratorio de Operaciones Unitarias (L.O.U.).

Tabla III-1 Propiedades físicas del fruto de Timboy

Propiedades	Fruto
Color	Café oscuro
Olor	Característico
Sabor	Amargo
Forma	Vaina plana
Textura	Lisa
Peso (g), rango promedio	12-20
Longitud (cm), rango promedio	3-12
Ancho (cm) rango promedio	3-8
Número de semillas, rango promedio	12-15
Tactibilidad del endocarpio y mesocarpio	Sensación jabonosa, pegajosa
pH (20 °C)	4,85

Fuente: Elaboración propia, 2019.

4.2. Análisis Cualitativos del extracto de Saponina de Timboy

Los análisis preliminares de los extractos de saponina se realizan en el Instituto de investigaciones Químicas (I.I.Q.) de la Universidad Mayor de San Andrés del departamento de La Paz.

Tabla IV- 2 Análisis Preliminares del Extracto de Saponina a partir del fruto de Timboy

Metabolitos Secundarios	Ensayos o Test Cualitativos
Saponinas	Espuma y Libermann-Burchard
Fenoles	Cloruro Férrico
Triterpenos	Libermann-Burchard
Alcaloides	Wagner
Azucars	Fehling
Taninos	Acetato de plomo
Proteínas	Nihindrina
Flavonoides	Shinoda

Fuente: Elaboración Propia, IIQ, 2019.

Tabla IV- 3 Análisis fitoquímico preliminar de los Extractos de saponina de Timboy

Metabolito	Extracto 1	Extracto 2	Extracto 3	Extracto 4
Saponinas	+++	+++	+++	+++
Fenoles	+++	+++	+++	+++
Alcaloides	---	---	---	---
Triterpenos	+++	+++	+++	+++
Azúcares	++-	++-	++-	++-
Taninos	++-	++-	++-	++-
Proteínas	+++	+++	+++	+++
Flavonoides	+--	+--	+--	+--

Fuente: Elaboración propia, IIQ, 2019.

En la tabla anterior se muestran los metabolitos determinados en cada extracto con los resultados, estos significan:

+++ → Altamente positivo existe el 100%

--- → Altamente negativo, no existe

++- → Contiene más del 50%

+-- → Contiene menos del 50%

4.3. Análisis de Cuantificación por Cromatografía HPLC del Extracto de Saponina

El análisis de semi-cuantitativo del extracto de Saponina a partir del fruto de Timboy se realizó en el High Performance Liquid Chromatography o Cromatografía Líquida de Alta Presión HPLC, en la ciudad de La Paz, en el Instituto de Investigaciones Químicas IIQ de la Universidad Mayor de San Andrés, la documentación se adjunta en los anexos.

Tabla IV- 4 Análisis semi-cuantitativo de Saponina por Cromatografía Líquida de Alta Presión HPLC

Muestras	% Relativo de saponina en extractos
Extracto 1	4,7
Extracto 2	4,5
Extracto 3	9,3
Extracto 4	8,7

Fuente: Elaboración propia, IIQ, 2019.

4.4. Análisis Físicos de los extractos concentrados de Saponina de Timboy

Los análisis físicos de los extractos concentrados de saponina son analizados en el Laboratorio de Operaciones Unitarias, perteneciente al DPIBA de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho de la ciudad de Tarija.

En las siguientes tablas se muestran los resultados de la densidad, pH a 20 °C y la viscosidad de los extractos obtenidos en la parte experimental.

Tabla IV- 5 Densidad de los extractos concentrados

n° Extractos	Densidad (g/ml)
Ext 1	1,24
Ext 2	1,28
Ext 3	1,15
Ext 4	1,10
Ext 5	1,22
Ext 6	1,24
Ext 7	1,15
Ext 8	1,08

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 6 pH a 20 °C de los extractos concentrados

n° Extractos	pH a 20°C
Ext 1	5,14
Ext 2	5,06
Ext 3	4,81
Ext 4	4,63
Ext 5	5,15
Ext 6	5
Ext 7	4,88
Ext 8	4,95

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 7 Viscosidad de los extractos concentrados

n° Extractos	Viscosidad (mPa)
Ext 1	580
Ext 2	570
Ext 3	410
Ext 4	440
Ext 5	550
Ext 6	530
Ext 7	400
Ext 8	430

Fuente: Elaboración propia, 2019.

4.5. Resultados del proceso de obtención del Extracto de Saponina

Porcentaje del Proceso de Extracción de Saponina a partir del fruto de Timboy

Tabla IV- 8 Extracción 48 % a 48 h

Extracto Líquido ml	Solvente Recuperado ml	Extracto Concentrado ml	% Rendimiento
1000	565	50,5	5,05
1000	588	58,5	5,85

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 9 Extracción 48 % a 72 h

Extracto Líquido ml	Solvente Recuperado ml	Extracto Concentrado ml	% Rendimiento
1000	680	51	5,1
1000	700	60,5	6,05

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 10 Resultados Promedios al 48 %

Características	Promedio a las 48 horas	Promedio a las 72 horas
Extracto Concentrado ml	54,5	55,75
Rendimiento Promedio %	5,45	5,575

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 11 Extracción 96 % a 48 h

Extracto Líquido ml	Solvente Recuperado ml	Extracto Concentrado ml	% Rendimiento
1000	708,474	38,656	3,86
1000	705,500	38,200	3,82

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 12 Extracción 96 % a 72 h

Extracto Líquido ml	Solvente Recuperado ml	Extracto Concentrado ml	% Rendimiento
1000	770	21,5	2,15
1000	782	26,6	2,66

Fuente: Elaboración propia, 2019

Tabla IV- 13 Resultados Promedios al 96 %

Características	Promedio a las 48 horas	Promedio a las 72 horas
Extracto Concentrado ml	38,4	24,05
Rendimiento Promedio %	3,84	2,405

Fuente: Elaboración propia, 2019.

4.6. Comparación del contenido de extracto de Saponina del Timboy con otros extractos de saponina de diferentes plantas naturales.

Tabla IV- 14 Comparación de contenido del extracto de saponina del timboy con otros extractos de diferentes materias primas naturales

Extractos de saponina		Porcentaje de saponinas	Fuente
Quillay (<i>Quillaja saponaria</i> Molina)		16 %	Silva D., 2019.
Quillay (<i>Quillaja saponaria</i>)	1000	20-25 %	Saponinas del Quillay, 2019.
	Ultra	65-70 %	
Mojuelo de Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>)		6,5 %	Carrasco C., 2015.
Quinoa Real (<i>Chenopodium quinoa willd</i>)		47,3 – 56,2 %	Lozano M., et al, 2012.
Fruto del Timboy (<i>Enterolobium Contortisiliquum</i>)		9,3 %	Gutiérrez A., 2019.

Fuente: Elaboración propia, 2019.

La tabla anterior indica la comparación de los porcentajes de extractos de saponinas que están presentes en diferentes plantas naturales lo cual indica también que la saponina del fruto de Timboy se encuentra dentro del rango de porcentajes.

4.7. Análisis estadísticos del diseño experimental

Para realizar el análisis estadístico del diseño experimental, se utiliza el programa IBM SPSS Statistics 25.0 (Statistical Package for the Social Sciences) que permite un tratamiento integrado de todas las fases en el análisis de datos obteniéndose resultados representativos y confiables.

En la tabla IV-14 se muestran los resultados obtenidos del proceso de extracción que son introducidos al programa SPSS, de acuerdo al diseño factorial de 2^2 con su respectiva réplica; con la influencia de los factores tiempo y volumen sobre la variable respuesta que es el rendimiento de saponina.

Tabla IV- 15 Variables experimentales

Variable Tiempo	Variable Volumen	Variable Rendimiento
1	1	4,7
-1	1	4,5
1	-1	9,3
-1	-1	8,7
1	1	4,6
-1	1	4,4
1	-1	9,26
-1	-1	8,64

Fuente: Elaboración propia, 2019.

4.7.1. Cálculo del análisis de varianza

Tabla IV- 16 Factores inter-sujetos

		Etiqueta de valor	N
Tiempo	-1,00	48	4
	1,00	78	4
Volumen	-1,00	1000	4
	1,00	500/500	4

Fuente: Elaboración propia, SPSS Statistics IBM 25, 2019.

Tabla IV- 17 Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Rendimiento					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	39,573 ^a	3	13,191	4187,656	0,000
Intersección	365,851	1	365,851	116143,254	0,000
Tiempo	0,328	1	,328	104,143	0,001
Volumen	39,161	1	39,161	12432,143	0,000
Tiempo * Volumen	0,084	1	0,084	26,683	0,007
Error	0,013	4	0,003	-	-
Total	405,437	8	-	-	-
Total corregido	39,586	7	-	-	-

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = ,999)

Fuente: Elaboración propia, SPSS Statistics IBM 25, 2019.

En la tabla anterior se observa las variables como: Tiempo, Volumen y Tiempo*Volumen influyen en el rendimiento debido a las colas de significancia ya que son menores 0,05 y se considera una confiabilidad del 95 %.

Tabla IV- 18 Variables entradas/eliminadas^a

Modelo	Variables entradas	Variables eliminadas	Método
1	TiemVol, Volumen, Tiempo ^b	-	Introducir
a. Variable dependiente: Rendimiento			
b. Todas las variables solicitadas introducidas.			

Fuente: Elaboración propia, SPSS Statistics IBM 25, 2019.

En la tabla IV-18 se muestran las variables introducidas y eliminadas a través del programa, pero al ser significativas (menor al 5 % o 0,05) todas las variables, no se eliminan ninguna variable ya que se utilizan para el modelo lineal matemático.

Tabla IV- 19 Resumen del modelo ^b

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación
1	1,000 ^a	1,000	0,999	0,05612
a. Predictores: (Constante), TiemVol, Volumen, Tiempo				
b. Variable dependiente: Rendimiento				

Fuente: Elaboración propia, SPSS Statistics IBM 25, 2019.

Tabla IV-20 ANOVA^a

Modelo	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Regresión	39,573	3	13,191	4187,656	0,000 ^b
Residuo	0,013	4	0,003		
Total	39,586	7			
a. Variable dependiente: Rendimiento					
b. Predictores: (Constante), TiemVol, Volumen, Tiempo					

Fuente: Elaboración propia, SPSS Statistics IBM 25, 2019

Tabla IV- 21 Coeficientes ^a

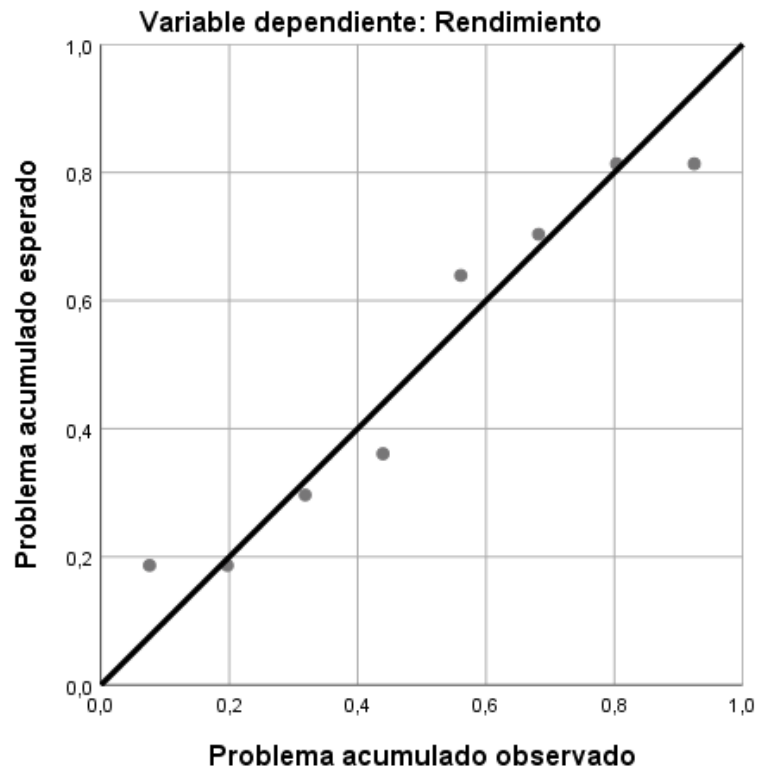
Modelo	Coef. no Estand.		Coef. Estand.	t	Sig.	95,0% intervalo de confianza para B	
	B	Desv. Error	Beta			Límite inf.	Límite sup.
(Constante)	6,763	0,020		340,798	0,000	6,707	6,818
Tiempo	0,203	0,020	0,091	10,205	0,001	0,147	0,258
Volumen	-2,213	0,020	-0,995	-111,500	0,000	-2,268	-2,157
Tiem*Vol	-0,103	0,020	-0,046	-5,166	0,007	-0,158	-0,047
a. Variable dependiente: Rendimiento							

Fuente: Elaboración propia, SPSS Statistics IBM 25, 2019.

Con los resultados obtenidos de la tabla IV-20 del sistema de análisis estadístico la ecuación del modelo lineal matemático ajustado para el proceso de obtención de saponina de Timboy es la siguiente:

$$\text{Rendimiento}_{\text{Saponina}} = 6,763 + 0,203 \text{ Tiempo} - 2,213 \text{ Volumen} - 0,103 \text{ Tiempo} * \text{Volumen}$$

Gráfica IV- 1 Problema normal de regresión, Regresión estandarizado



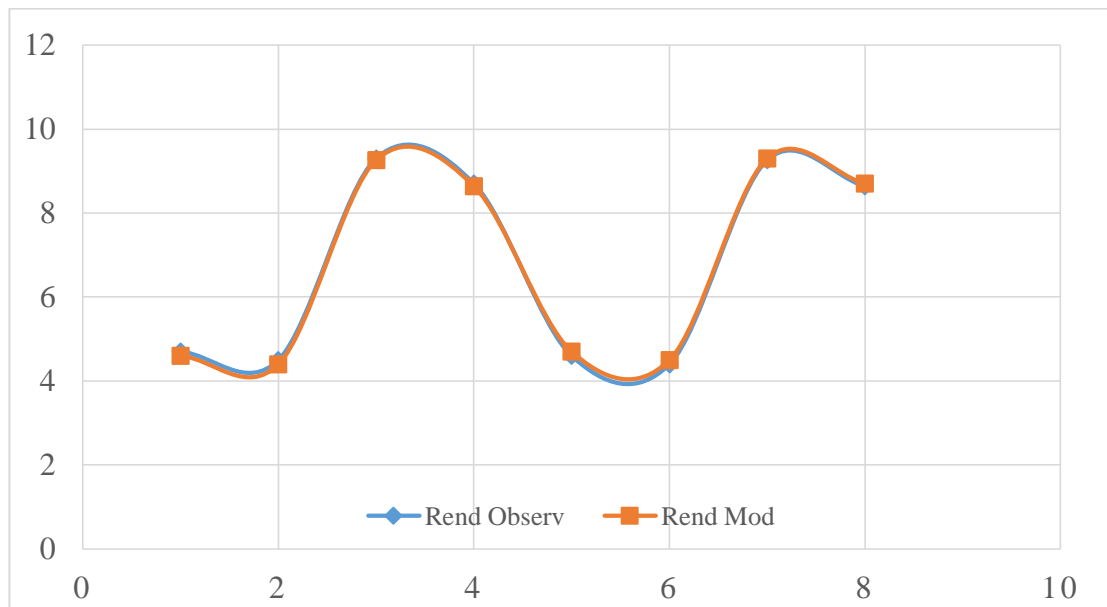
Fuente: Elaboración propia, SPSS Statistics IBM 25, 2019.

Tabla IV- 22 Rendimientos

Pruebas	Rendimiento Observado	Rendimiento Modelo	Error
1	4,7	4,60	0,10
2	4,50	4,40	0,10
3	9,30	9,26	0,04
4	8,70	8,64	0,06
5	4,60	4,70	0,10
6	4,40	4,50	0,10
7	9,26	9,30	0,04
8	8,64	8,70	0,06

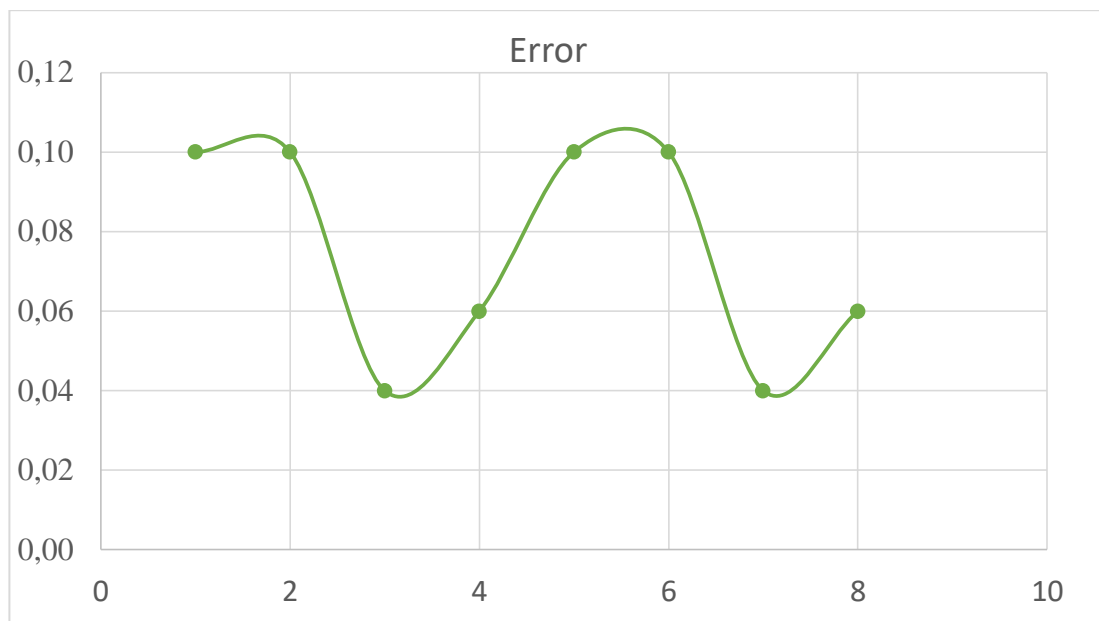
Fuente: Elaboración Propia, información del SPSS Statistics IBM 25, 2019.

Gráfica IV- 2 Rendimiento Observado y Rendimiento Modelo



Fuente: Elaboración Propia, información del SPSS Statistics IBM 25, 2019.

Gráfica IV- 3 Error entre el rendimiento observado y rendimiento modelo



Fuente: Elaboración Propia, información del SPSS Statistics IBM 25, 2019

En la gráfica IV-2 se observa la comparación entre los rendimientos obtenidos y los rendimientos esperados por el modelo de sistema lineal estadístico, ya que estas dos se encuentran parejas. Se hizo una segunda gráfica para comprobar que entre estas dos existe un error.

4.8. Análisis estimativo de costos para la obtención del extracto de Saponina del Timboy

Para determinar el estimativo de costos para la obtención de extracto de saponina a partir del fruto de Timboy, es necesario sumar los costos individuales más relevantes tales como los servicios varios, mano de obra, directa e indirecta, etc.

Los costos considerados se muestran en las siguientes tablas:

Tabla IV- 23 Detalle de Servicios Directos

Ítem	Descripción	Unidad	Cantidad	Costo Unitario (Bs)	Costo Total (Bs)
1	Análisis de Humedad en MP	análisis	1	12	12
2	Análisis de ceniza en MP	análisis	1	21	21
3	Análisis de proteína en MP	análisis	1	30	30
4	Análisis de grasa en MP	análisis	1	15	15
5	Análisis de fibra en MP	análisis	1	30	30
6	Análisis de azúcar total en MP	análisis	1	30	30
7	Análisis de Densidad en MP	análisis	1	12	12
8	Análisis de Hidratos de Carbono en MP	análisis	1	10	10
9	Análisis de Valor Energético en MP	análisis	1	10	10
10	Análisis de Extractos de Saponina	análisis	4	1400	5600
11	Mano de obra	día	200	100	20000
Costo Subtotal 1		25770 Bs			

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 24 Detalle de Servicios Indirectos

Ítem	Descripción	Unidad	Cantidad	Costo Unitario (Bs)	Costo Total (Bs)
1	Internet	horas	200	3	600
2	Transporte	pasajes	250	2	500
3	Transporte viaje	pasajes	4	130	520
Costo Subtotal 2		1620 Bs			

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 25 Detalle de Materia Prima y Reactivos

Ítem	Descripción	Unidad	Cantidad	Costo Unitario (Bs)	Costo Total (Bs)
1	Fruto Timboy	Kg	-	-	-
2	Agua desionizada	l	10	6	60
3	Alcohol al 96 %	l	10	8	80
4	Aceite para la bomba	l	1	20	20
Costo Subtotal 3		160 Bs			

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 26 Detalle de Materiales

Ítem	Descripción	Unidad	Cantidad	Costo Unitario (Bs)	Costo Total (Bs)
1	Frasco de vidrio grande	pieza	6	20	120
2	Frascos de vidrio pequeño	pieza	8	6	48
3	Recipientes de plástico	pieza	2	25	50
4	Bidón (20 lt)	pieza	1	25	25
5	Embudo	pieza	1	75	75
6	Mortero y maso	pieza	1	45	45
7	Papel filtro	pliegue	1	4	4
8	Repasadores	pieza	2	5	10
9	Detergente	pieza	1	5	5
Costo Subtotal 4		382 Bs			

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 27 Detalle de Material de Escritorio

Ítem	Descripción	Unidad	Cantidad	Costo Unitario (Bs)	Costo Total (Bs)
1	Papel Bond (resma)	hojas	1500	0,10	150
2	Fotocopias	hojas	20	0,2	4
3	Marcadores	unidad	2	5	10
4	Cinta adhesiva	unidad	1	6	6
5	Anillados	anillado	4	5	20
6	Tinta para impresora	cartucho	2	60	120
7	Empastado	unidad	3	60	180
Costo Subtotal 5		490 Bs			

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 28 Detalles de Consumo de Energía en los Equipos

Ítem	Descripción	Unidad	Tiempo	Potencia KW	Costo Total (Bs)
1	Secado	horas	4	2	4,8
2	Molienda	horas	0,50	0,25	0,075
3	Rotaevaporador	horas	2	1,3	1,56
Costo Subtotal 6		6,435 Bs			

Fuente: Elaboración propia, 2019.

Tabla IV- 29 Costo Total

Descripción	Costo Total (Bs)
Detalle de Servicios Directos	25770
Detalle de Servicios Indirectos	1620
Detalle de Materia Prima y Reactivos	160
Detalle de Materiales	382
Detalle de Material de Escritorio	490
Detalles de Consumo de Energía en los Equipos	6,435
Total	28 428,435

Fuente: Elaboración propia, 2019.

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y
RECOMENDACIONES

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

El estudio de investigación de acuerdo con el objetivo general, permitió obtener un extracto de Saponina a partir del fruto de Timboy (*Enterolobium contortisiliquum*).

De acuerdo a los objetivos planteados inicialmente en la investigación se concluye en:

- Se caracteriza la materia prima, los parámetros fisicoquímicos analizados en el laboratorio CEANID, estos dan como resultado: Humedad 8,10 %, Ceniza 2,74%, Fibra 41,89%, Grasa 1%, Proteína 14,25%, Azúcares totales 26,26% y Densidad 0.6 g/ml; asimismo se realizó un análisis de las propiedades físicas en los frutos de Timboy en el Laboratorio de Operaciones Unitarias, y se puede decir que los frutos son adecuados para la elaboración de extracto de saponina.
- Se realizó una hipótesis del proceso tecnológico, considerando el proceso más óptimo mediante una matriz de decisión, del cual se selecciona el proceso de maceración, considerando los parámetros: el tiempo de maceración y el volumen de solvente, utilizando solventes orgánicos como el alcohol y el agua porque influyen significativamente en el rendimiento y en la obtención de extracto. De esta manera se ejecutó la fase experimental en el Laboratorio de Operaciones Unitarias, de la Universidad Autónoma Juan Misal Saracho, teniendo en cuenta las anteriores consideraciones.
- El producto obtenido se lo analizó de manera cualitativa mediante un análisis preliminar fitoquímico, analizándose los metabolitos como: Saponina, Fenoles, Alcaloides, Triterpenos, Azúcares, Taninos, Proteínas y Flavonoides. Asimismo se realizó el análisis semi-cuantitativo en el equipo de Cromatografía HPLC en el laboratorio del Instituto de Investigaciones Químicas IIQ perteneciente a la Universidad Mayor de San Andrés UMSA, de la ciudad de la Paz.
- El rendimiento del proceso tecnológico se determinó mediante el análisis de cromatografía, al tratarse de una investigación que todavía no se han explorado en

la región y a nivel nacional, se tuvo que adaptar y basar en Madl T., Sterk H., *et al.*, (2006), para obtener un extracto patrón puro, y así determinar el porcentaje relativo de los extractos de saponina del Timboy, dando como resultado el mejor y mayor rendimiento de 9,3 % de saponinas con los parámetros de un tiempo de 48 horas y con un volumen de solvente de 1000 ml de etanol puro a 96 %; haciendo las respectivas comparaciones con diferentes porcentajes de extracto de saponina de diferentes plantas naturales se puede decir que el porcentaje del extracto de saponina del fruto de Timboy se encuentra dentro del rango de porcentajes de estos extractos.

- Los resultados del proceso tecnológico experimental para la obtención del Extracto de Saponina son satisfactorios según los análisis realizados, porque pude determinar la existencia de saponinas, aunque difieran un poco de los datos bibliográficos existentes, ya que se adecuó el proceso a las condiciones reales del medio.

5.2. Recomendaciones

En base a lo desarrollado en la presente investigación, se identifican distintos factores que mejoran y complementan la información obtenida, por lo que se presenta las siguientes recomendaciones:

- Realizar iniciativas para el cultivo sostenible de la planta de Timboy, pues actualmente es una planta silvestre que se produce en lugares húmedos y neutros.
- A futuros estudios, en el proceso de extracción se recomienda trabajar con el menor tiempo posible para tratar de extraer la mayor cantidad de saponina y no así los demás componentes que también son solubles en el solvente.
- Se recomienda realizar un desengrasado y eliminación de taninos, previamente a la extracción de saponinas.
- Se considera importante para el aislamiento y clarificación de las saponinas, trabajar con el mesocarpio y endocarpio, ya que el epicarpio tiene una coloración café oscuro que se debe a la presencia de taninos, opacando la visibilidad de las saponinas.

- Realizar trabajos de investigación e implementación de laboratorios para análisis y caracterización de saponinas, para que se pueda seguir estudiando a nivel de la región.
- Los resultados obtenidos motivan a recomendar un estudio más detallado de las saponinas y de los compuestos que tienen los extractos para el uso industrial como detergente.
- Estudiar nuevas aplicaciones en de la Saponina de Timboy para la industria de Fármacos.
- El presente trabajo de investigación brinda información importante para realizar en un futuro un estudio de factibilidad económica para una Planta Piloto al fin de promover el proceso a nivel industrial, asimismo el aprovechamiento de la materia prima fruto de Timboy.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Ahumada A., et al., (Noviembre 2016)** *Saponinas de quinua (Chenopodium quinoa Willd.): un subproducto con alto potencial biológico*. [Revista en línea]. Fecha consultada 23 de marzo del 2018. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v45n3/v45n3a06.pdf>
2. **Acosta I. (Agosto 2018)**. Herbario de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho UAJMS.
3. **Barbosa S. et al. (Octubre, 2010)**. *Aspectos morfológicos de frutos, sementes, plântulas e mudas de Leguminosae Mimosoideae: Anadenanthera colubrina (Vellozo) Brenan e Enterolobium contortisiliquum (Vellozo) Morong*. [Artículo en línea]. Fecha consultada 16 de abril del 2019. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v33n2/04.pdf>
4. **Burkart A. (1969-1978)**. *Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina), parte III. Dicotiledóneas Metaclamideas. A: Salicales a Rosales (Incluso Leguminosas)*. Editorial Instituto Nacional Agropecuaria. Colección Científica INTA. Buenos Aires, Argentina.
5. **Carrasco C., (2015)**. *Evaluación de las propiedades detergentes y capacidad formadora de espuma en lavavajillas preparado con saponina extraída de quinua*. [Artículo en línea]. Fecha consultada 16 de agosto del 2019. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/18149/M285.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. **Castedo J., CCBOLGROUP. (2008)**. *Saponina de la Quinoa – QSP*. [Artículo en línea]. Fecha consultada 8 de junio del 2018. Disponible en: <http://ccbol.tripod.com/saponina.html>
7. **Correa C., et al., (Marzo, 2013)** *Información Tecnológica De Productos Forestales No Madereros Del Bosque Nativo En Chile*. [Revista en línea]. Fecha consultada 5 de mayo del 2019. Disponible en:

http://www.gestionforestal.cl/pfnm/paqtecnologicos/quillay/informacion_quillay.pdf

8. **Curso de morfología vegetal, (2015).** *Morfología del fruto*. Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. [Artículo en línea]. Fecha consultada 10 de marzo del 2019. Disponible en: https://mvegetal.weebly.com/uploads/8/6/3/4/863437/16_el_fruto.pdf
9. **Das M. J. (2015).** *Timbó - Enterolobium contortisiliquum 80 semillas \$190*. Fecha consultada 14 de marzo del 2018. Disponible en: <https://sachabonsai.mercadoshops.com.ar/80-semillas-de-timbo-oreja-de-negro-107719885xJM>
10. **Delporte C. (2014).** *Guía de Trabajos Prácticos Farmacognosia*. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Departamento de Química, Farmacología y Toxicología, Laboratorio de Productos Naturales. Chile.
11. **Felder R., et al., (2004).** *Principios Elementales de los Procesos Químicos*. 4ª ed. Editorial Limosa S. A. de C.V. México D.F.
12. **Galagovsky, L., (2001).** *Química Orgánica Fundamentos teórico-prácticos para el laboratorio*. Editorial Universitaria de Buenos Aires UBA, 1ª. Edición Buenos Aires - Argentina.
13. **Gamal M., et al., (Enero, 2017).** *Genus Enterolobium: traditional uses, chemistry and biological activities.* . [Revista en línea]. Fecha consultada 20 de marzo del 2019. Disponible en: https://aps.journals.ekb.eg/article_10358_80a75cffbbc3e7b2d90c431a0af50635.pdf
14. **Gianna V., (2013)** “*Extracción, cuantificación y purificación de saponinas de semillas de chenopodium quinoa willd provenientes del noroeste argentino*”. Universidad Nacional de Córdoba Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales Doctorado en Ciencias de la Ingeniería.
15. **Gil I. (Septiembre, 2014).** *Brettis distribución industrial. Agua Desionizada*.

[Artículo en línea]. Fecha de consulta 20 de marzo de 2019. Disponible en: <https://www.brettis.com/Tutorial/Ficha%20tecnica%20agua%20desionizada.pdf>

16. **Guzmán B., et al, (Agosto, 2013).** *Cuantificación de saponinas en muestras de cañihua chenopodium pallidicaule aellen.* [Revista en línea]. Fecha consultada 18 de agosto del 2019. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602013000200004
17. **Instituto Tecnológico de Oaxaca, (Septiembre, 2017).** *Extracción sólido-líquido.* Departamento de ingeniería química y bioquímica instituto nacional de México. [Artículo en línea]. Fecha consultada 18 de agosto del 2018. Disponible en: <https://es.slideshare.net/JAlfredoVargas/extraccin-solido-liquido>
18. **López C., (2010).** *Métodos de extracción.* [Artículo en línea]. Fecha consultada 21 de abril del 2019. Disponible en: http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lpro/lopez_a_e/capitulo1.pdf
19. **Lozano M., et al., (Octubre, 2012).** *Cuantificación de saponinas en residuos de quinua real chenopodium quinoa willd.* [Revista en línea]. Fecha consultada 18 de junio del 2019. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602012000200002
20. **Madl T., et al., (Febrero, 2006).** *Tandem Mass Spectrometric Analysis of a Complex Triterpene Saponin Mixture of Chenopodium quinoa.* [Artículo en línea]. Fecha consultada 15 de abril del 2019. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/82555467.pdf>
21. **Matloub A., et al., (Abril, 2018).** *Phytochemical and Biological Studies on Enterolobium contortisiliquum (Vell.) Morong Pericarps.* [Revista en línea]. Fecha consultada 20 de marzo del 2019. Disponible en:

http://www.jmaterenvirosci.com/Document/vol9/vol9_N10/303-JMES-4214-Matloub.pdf

22. **Meyer Reactivos químicos. (Abril, 2008).** *Hoja de Datos de Seguridad Agua desionizada.* [Artículo en línea]. Fecha de consulta 15 de marzo de 2019. Disponible en: <https://www.brettis.com/Tutorial/Ficha%20tecnica%20agua%20desionizada.pdf>
23. **Mimaki Y. et al, (Julio. 2004).** *Contortisiliosides A-G: Isolation of Seven New Triterpene Bisdesmosides from Enterolobium contortisiliquum and Their Cytotoxic Activity.* [Artículo en línea]. Fecha de consulta 15 de mayo de 2019. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/230029263_Contortisiliosides_A-G_Isolation_of_Seven_New_Triterpene_Bisdesmosides_from_Enterolobium_contortisiliquum_and_Their_Cytotoxic_Activity
24. **Moreno M. (2003).** *Guía para procesos de cerería, jabonería y cremas.* [Artículo en línea]. Fecha de Consulta 17 de marzo 2018. Disponible en: https://books.google.com.bo/books?id=VacBRNEiNIAC&pg=PA10&lpg=PA10&dq=quienes+requieren+las+saponinas&source=bl&ots=FhNjx83eAm&sig=VpVdsCY8Kj7FndyhKJGfs3sI0ki&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwjm_I GnroTbAhWvwVkJHbwbDFcQ6AEIcDAG#v=onepage&q=quienes%20requieren%20las%20saponinas&f=false
25. **Pajuelo R. (Junio 2016).** *Posibilidades de la saponina de quinua en la industria cosmética.* Euroecotrade Lima, Perú. [Artículo en línea]. Fecha de Consulta 17 de marzo 2018. Disponible en: https://issuu.com/euroecotraderperu/docs/posibilidades_de_la_saponina_de_quinua
26. **Plantas Medicinales 2013.** *Aplicaciones del Timbó.* [Artículo en línea]. Fecha consultada 5 de mayo del 2018. Disponible en: <http://www.plantasmedicinales10.com/articulo/timbo.html>
27. **Perry, J.H., (1963).** *Chemical Engineers Handbook.* Editorial McGraw Hill Book

Company Inc., 4ª ed. New York.

28. **Quizhpe G., et al, (2017).** Determinación y cuantificación de saponinas en las hojas de la cabuya (*Furcraea andina*) para su posible uso como tenso activo en detergentes biodegradables. [Artículo en línea]. Fecha de Consulta 17 de agosto 2019. Disponible en: https://www.academia.edu/32870106/Determinaci%C3%B3n_y_cuantificaci%C3%B3n_de_saponinas_en_las_hojas_de_la_cabuya.docx?auto=download
29. **Salazar R., (2001).** *Manejo de semillas de 75 especies forestales de América Latina. Volumen II.* [Libro en línea]. CATIE (Centro Agronómico Tropical De Investigación y Enseñanza). Fecha de Consulta 17 de marzo 2018. Disponible en: <https://books.google.com.bo/books?id=gUYxSnfIE5AC&pg=PA7&lpg=PA7&dq=saponina+del+fruto+de+oreja+de+negro+en+bolivia&source=bl&ots=xHwVu21XIC&sig=enkLuIs4yCPTXQTsm1dW0ORCkwQ&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwiAlquZy4jaAhUB7VMKHU9zAloQ6AEIjAEwDA#v=onepage&q=saponina%20del%20fruto%20de%20oreja%20de%20negro%20en%20bolivia&f=false>
30. **Serrano C. et al. (Junio 2016).** *Cuantificación de ácido oleanólico, ácido ursólico y ácido rosmarínico en tres especies peruanas de Clinopodium (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae).* [Artículo en línea]. Fecha de Consulta 10 de mayo 2019. Disponible en: <http://journal.upao.edu.pe/Arnaldoa/article/viewFile/249/218>
31. **Silva D, (2019).** *Uso de las Saponinas en la formulación de lavalozas.* [Documento en línea]. Fecha de Consulta 27 septiembre 2019. Disponible en: http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portaIIG/home_10/recursos/general/pag_contenido/publicaciones/bistua_revista_ciencias_basica/2004/11082010/rev_bis_vol2_num2_art9.pdf
32. **Smith, Van Ness, Abbott, (1997).** *Introducción a la Termodinámica en Ingeniería Química.* Editorial, S.a. de C.V. 5ª ed. Mexico D.F.

33. **Subieta C., et al., (2011).** *Recuperación de residuos sólidos con alta concentración de saponinas en seco de granos de quinua amarga, mediante la aplicación de un lecho fluidizado de tipo surtidor (LFTS).* Universidad Privada Boliviana (UPB). [Revista en línea]. Fecha de Consulta 5 de mayo 2018. Disponible en: <http://www.upb.edu/revista-investigacion-desarrollo/index.php/id/article/view/55>
34. **Rodríguez A. (2016).** *Extracción de Saponinas a partir de la Furcraea hexapétala y estudio de sus propiedades como insecticida.* Investigación aplicada (Licenciado en Química) Universidad Central Marta Abreu de la Villas, Facultad de Química y Farmacia.
35. **Rodríguez J. (2017).** *Determinación y cuantificación de saponinas en las hojas de la cabuya (furcraea andina) para su posible uso como tensoactivo en detergentes biodegradables.* Investigación aplicada (Licenciado en Química y Farmacéutico) Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas.
36. **Tomás G., et al., (Noviembre, 2016)** *Extracción y clasificación de la saponina del (Sapindus Saponaria L.) Boliche.* [Revista en línea]. Fecha consultada 5 de mayo del 2018. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/373479820/EXTRACCION-Y-CLASIFICACION-DE-LA-SAPONINA-pdf>
37. **Universidad Nacional Autónoma de México, (Diciembre, 2007).** *Técnicas Cromatografías.* Facultad de Química- química Analítica Instrumental II. [Artículo en línea]. Fecha de consulta 3 de marzo de 2019 Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/M.Cromatograficos_6700.pdf
38. **Usiña K. (Octubre, 2017).** *Análisis de las propiedades surfactantes de saponinas obtenidas de los frutos de Sapindus Saponaria L.* Trabajo de Investigación. (Licenciado en Química Farmacéutica). Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas, Carrera de Química Farmacéutica. Ecuador.
39. **Waizel J. (Junio, 2009).** *The traditional use of the species of the genus*

Dioscorea. [Artículo en línea]. Fecha de consulta 23 de marzo de 2018. Disponible en: https://www.researchgate.net/figure/FIGURA-4-Estructuras-de-la-dioscina-y-su-sapogenina-la-diosgenina-Glc-glucoosa-Ram_fig2_287286582

40. **Winkler. (Noviembre, 2007).** *Ficha de seguridad química del Alcohol Etílico*. [Artículo en línea]. Fecha de consulta 15 de marzo de 2019. Disponible en: <http://www.lco.cl/operations/safety-and-health/technical-info/safety-data-sheets/Ficha%20seguridad%20Alcohol%20Etílico.pdf>
41. **Yoong Ch., H. A. (2014).** *Extraction and quantification of saponins: A review. Elsevier, 19-20.* [Artículo en línea]. Fecha consultada 4 de abril del 2018.
42. **Zarate S., (2016).** *Evaluación del método de extracción sólido – líquido de la Saponina de 5 cultivares de quinua (chenopodium quinoa willd), su encapsulamiento y utilización en la alimentación”.* [Artículo en línea]. Fecha consultada 14 de abril del 2018. Disponible en: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2432/Zarate_Sullca_Suzan_Erika.pdf?sequence=1&isAllowed=y

ANEXOS

ANEXO I

**ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LA
MATERIA PRIMA, ANÁLISIS PRELIMINAR
Y SEMICUANTITATIVO DEL PRODUCTO**

ANEXO 1

Análisis fisicoquímico de la Materia Prima

CEANID-FOR-88

Versión 01

Fecha de emisión: 2016-10-31



UNIVERSIDAD AUTONOMA "JUAN MISAEL SARACHO"
FACULTAD DE "CIENCIAS Y TECNOLOGIA"
CENTRO DE ANALISIS, INVESTIGACION Y DESARROLLO "CEANID"
Laboratorio Oficial del Ministerio de Salud y Deportes
Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos
Red Nacional de Laboratorios de Micronutrientes
Laboratorio Oficial del "SENASAG"



INFORME DE ENSAYO

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

Cliente:	Abigail Gutierrez Quito				
Solicitante:	Abigail Gutierrez Quito				
Dirección:	Calle Perú esquina Jorge Echazú				
Teléfono/Fax:	73490041	Correo-e	***	Código	MO 015/19

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Descripción de la muestra:	Fruto Timboy				
Código de muestreo:	*****	Fecha de vencimiento:	***	Lote:	***
Fecha y hora de muestreo:	2019-05-00				
Procedencia (Localidad/Prov/ Dpto)	Tarija - Cercado - Tarija Bolivia				
Lugar de muestreo:	Cercado				
Responsable de muestreo:	Abigail Gutierrez Quito				
Código de la muestra:	568 FQ 284	Fecha de recepción de la muestra:	2019-06-11		
Cantidad recibida:	300 g	Fecha de ejecución de ensayo:	De 2019-06-11 al 2019-06-28		

III. RESULTADOS

PARÁMETRO	TECNICA y/o MÉTODO DE ENSAYO	UNIDAD	RESULTADO	LIMITES PERMISIBLES		REFERENCIA DE LOS LIMITES
				Min.	Max.	
Azúcares totales	NB 38033:06	%	26,26	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Ceniza	NB 39034:10	%	2,74	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Densidad	NB 230:99	g/ml	0,67	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Fibra	Gravimétrico	%	41,89	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Grasa	NB 313019:06	%	1,00	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Hidratos de Carbono	Cálculo	%	32,02	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Humedad	NB 313010:05	%	8,10	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Proteina (Nx6,25)	NB/ISO 8968-1:08	%	14,25	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia
Valor energetico	Cálculo	Kcal/100 g	154,08	Sin Referencia	Sin Referencia	Sin Referencia

NB: Norma Boliviana
%: Porcentaje

ISO: Organización Internacional de Normalización
g: Gramos

Kcal: Kilocalorias
ml: Mililitros

- 1) Los resultados reportados se remiten a la muestra ensayada en el Laboratorio
- 2) El presente informe solo puede ser reproducido en forma parcial y/o total, con la autorización del CEANID
- 3) Los datos de la muestra y el muestreo, fueron suministrados por el cliente

Tarija, 28 de junio del 2019

Ing. Adalid Aceituno Cáceres
JEFE DEL CEANID



Original: Cliente

Copia: CEANID

Análisis Preliminar Fitoquímico y Semicuantitativo de la Saponina



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE CIENCIAS QUÍMICAS
LA PAZ - BOLIVIA



Instituto de Investigaciones Químicas

FCPN/CCQ/I.I.Q./ML001/2019
La Paz, 27 de Junio de 2019

Página 1 de 1

INFORME DE ANÁLISIS I.I.Q./S.A./ML001/2019

- Solicitante:** Univ. Abigail Gutiérrez Quito
- Análisis:** Análisis químico
- Número de muestras:** 4 muestras de extractos de TIMBOY
- Código laboratorio:** 25042019-1
- Resultados:** Análisis fitoquímico preliminar y cuantificación de Saponinas

1. Análisis fitoquímico preliminar

Metabolito	Extracto 1	Extracto 2	Extracto 3	Extracto 4
Saponinas	+++	+++	+++	+++
Fenoles	+++	+++	+++	++
Alcaloides	---	---	---	---
Triterpenos	+++	+++	+++	+++
Azúcares	+-	+-	+-	+-
Taninos	+-	+-	+-	+-
Proteínas	+++	+++	+++	+++
Flavonoides	+--	+--	+--	+--



AÑO
INTERNACIONAL
DE LA TABLA PERIÓDICA
2019 - BOLIVIA




2. Análisis semi-cuantitativo de saponinas por cromatografía HPLC

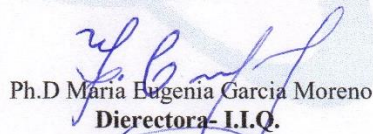
Muestras	% Relativo de Saponina en extractos
Extracto 1	4,7
Extracto 2	4,5
Extracto 3	9,3
Extracto 4	8,7

6. Observaciones:

- El muestreo y obtención de extractos fue realizado por la solicitante
- Los resultados de cuantificación de saponinas en los cuatro extractos de Timboy se reportan en la tabla como valores semi-cuantitativos debido a la complejidad de los extractos.

Es cuanto se informa para fines consiguientes.


M.Sc. Maribel Lozano Palacios
Analista


Ph.D María Eugenia García Moreno
Directora- I.I.Q.


Lic. Santiago Tarqui Tarqui
Analista



cc.correlativo IIQ y archivo Laboratorio





Instituto de Investigaciones Químicas

Servicio de Análisis

Información de la muestra

Número de Registro de Análisis ML001-2019
Nombre de la persona Abigail Gutierrez
Motivo Análisis
Fecha 25-04-2019
Tipo de Análisis Análisis Fitogénico y Cuantificación de Saponina
Lugar de Procedencia Tarija
Persona que realizó el muestreo -
Parámetros a analizar % de Saponina en 4 extractos de muestras de TIMBOY

Analista Responsable Maribel Lozano y Santiago T.

Información del Análisis

Fecha prevista de entrega 25-05-2019
Costo 1/1400 Bs. total 4/5600 BS
Número de Factura .1307
Observaciones -

Favor indicar en forma específica si las muestras pertenecen a algún proyecto, en ese caso, nombre del responsable, nombre del proyecto y resolución de aprobación

Persona que recibió la muestra
Maribel Lozano

Instituto de Investigaciones Químicas

Analista Responsable
Maribel Lozano.

ANEXO II

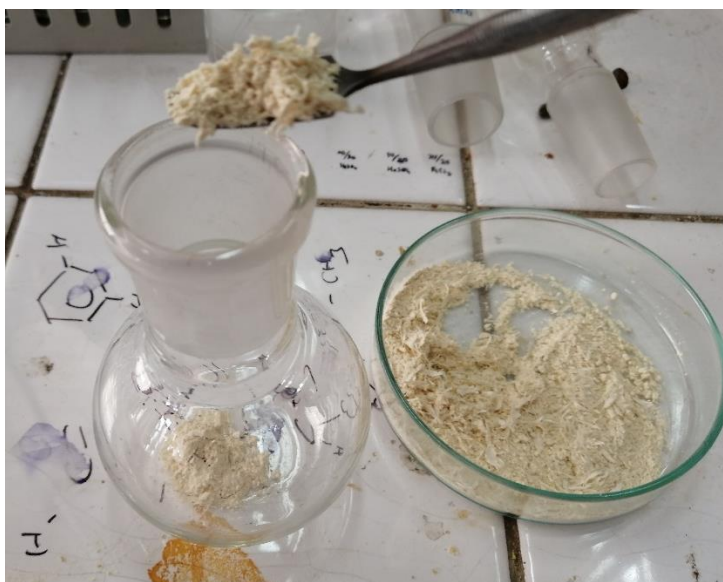
**PROCESO DE OBTENCION DEL PATRÓN
DE SAPONINA A PARTIR DEL
MESOCARPIO DEL FRUTO DEL TIMBOY**

ANEXO II

PROCESO DE OBTENCIÓN DEL PATRÓN DE SAPONINA A PARTIR DEL MESOCARPIO DEL FRUTO DEL TIMBOY

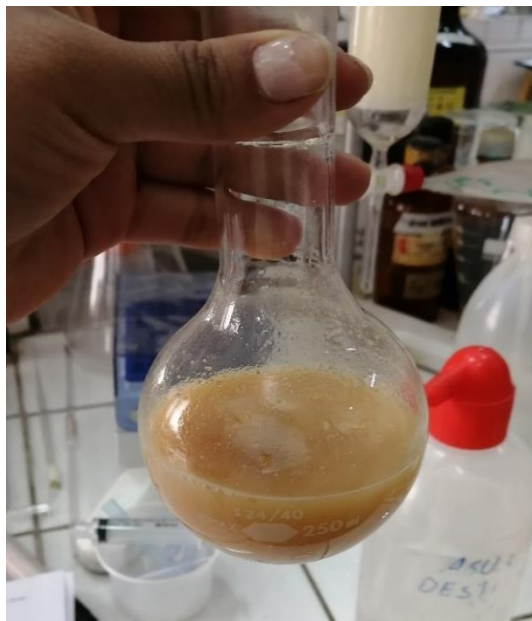
El proceso de obtención de un extracto patrón de saponina a partir del mesocaripo del fruto del Timboy, se realizó en el laboratorio de biorgánica de la facultad de Ciencias Puras y del Instituto de Investigaciones Químicas I.I.Q., perteneciente al Universidad Mayor de San Andres, del departamento de La Paz.

Del fruto del timboy se separó solamente la parte del mesocarpio, para elaborar la extraccion mediante maceración y agitación.



Fuente: Elaboracion porpia, Laboratorio de Biorgánica (UMSA), 2019.

Para la maceración se utilizó solventes orgánicos.



Fuente: Elaboracion porpia, Laboratorio de Biorgánica (UMSA), 2019.

El proceso de maceración se realizó con agitación y temperatura.



Fuente: Elaboracion porpia, Laboratorio de Biorgánica (UMSA), 2019.

Posterior a eso se procedió a al filtrado a vacío.



Fuente: Elaboracion porpia, Laboratorio de Biorgánica (UMSA), 2019.

En la siguiente figura se muestra los tres extractos de saponina aprovechando las tres partes del fruto.



Fuente: Elaboracion porpia, Laboratorio de Biorgánica (UMSA), 2019.

El extracto líquido acuoso se lo concentra en un rota evaporador a vacío.



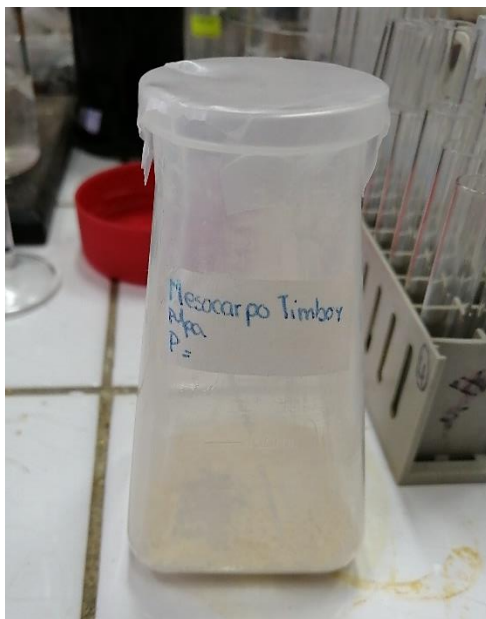
Fuente: Laboratorio de Biorgánica (UMSA), 2019.

Equipo liofilizador para tener un extracto solido seco.



Fuente: Laboratorio de Biorgánica (UMSA), 2019.

El producto del extracto seco del mesocarpio del fruto del Timboy

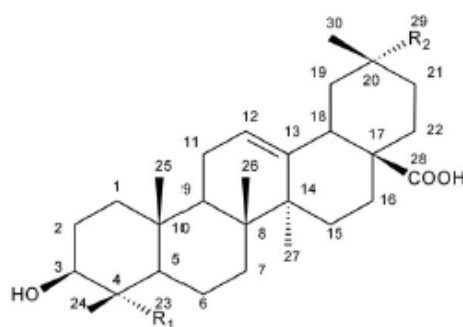


Fuente: Laboratorio de Biorgánica (UMSA), 2019.

Extracción y purificación de las Saponinas Triterpénicas por Madl T., Sterk H., et al., (2006),

796 MADL ET AL.

J Am Soc Mass Spectrom 2006, 17, 795-806



Aglycon	R ₁	R ₂
Oleanolic acid	CH ₃	CH ₃
Hederagenin	CH ₂ OH	CH ₃
Phytolaccagenic acid	CH ₂ OH	COOCH ₃
Serjanic acid	CH ₃	COOCH ₃

Scheme 1. Aglycones of reported *C. quinosa* triterpene saponins.

ification, branching [17–30], and deals with relative low amounts of sample, respectively. Due to the short analysis time (LC)-MSⁿ analysis was recommended prior the common way of natural product identification [20]. However, previous studies mainly focused on the analysis of known saponins rather than identification and complete profiling of novel compounds.

Here, we present the application of an nLC-MS/MS approach to the complex crude saponin extract of *C. quinosa* to resolve the chemical complexity by a complete profiling. Nineteen reported and more than 70 previously unknown components were identified and assigned according to their aglycones, saccharide sequences, compositions, and branching. A total number of nine different aglycones comprising the four aglycones mentioned above and five new aglycones were detected. To the best of our knowledge this is one of the most comprehensive assignments of saponins ever attempted. As an additional novelty fragmentation pathways were proposed based upon quantum chemical calculations using a hybrid Hartree-Fock density functional method. The presented strategy allows a rapid and complete analysis of saponin distribution and composition in *C. quinosa* and is particularly suitable for screening extracts designated for pharmaceutical, agricultural and industrial applications.

Experimental

Plant Material

C. quinosa seed coats were collected from *C. quinosa* plants cultivated in lower Austria (Leopold Pösch, Obergrafendorf, Lower Austria, Austria).

Extraction and Purification of Chemical Constituents

Seed hulls, 20.0 g, were treated with 300 ml water/ethanol (1:1), stirred for 3.5 h at 45 °C and centrifuged. The water/ethanol phase was decanted, the seed hulls were washed with 100 ml water/ethanol, centrifuged, decanted, and ethanol was removed under reduced pressure; 100 ml of distilled water were added to the water phase. Extraction of the saponins was performed with 100 ml 1-butanol each. The 1-butanol layers were merged, centrifuged, and lyophilized [yellowish product; yield: 9.2% (wt/wt)]. The saponins were further purified using silica gel column chromatography [150 g, chloroform/methanol/water (65/35/10, vol/vol/vol) used as eluent]. Five g crude saponin mixture obtained from several extractions under identical conditions was applied to the column. Fractions of 20 ml were collected and monitored by TLC [precoated plates, silica gel 60 F₂₅₄, 0.2 mm, Merck, Darmstadt, Germany; chloroform/methanol/water (65/35/10, vol/vol/vol) as eluent] as well as by LC-MS. Visualization of the saponins was performed by immersion of the TLC plate into methanol/glacial acetic acid/sulphuric acid/anisaldehyde (170/20/10/1, vol/vol/vol/vol) followed by heating the TLC plate (100 °C, 10 min). Fractions containing a novel saponin were merged and the solvent was removed (yellowish residue; yield 1.30 g). This purified residue was dissolved in chloroform/methanol/water (65/35/10, vol/vol/vol), applied to the column and rechromatographed as described above. Fractions containing the compound were merged and the solvent was removed (colorless residue; yield: 180 mg). Further purification of the saponins was done with semi-preparative HPLC on a Hewlett Packard (HP) 1100 Series HPLC system equipped with a variable wavelength detector set at 220 nm (HP, Palo Alto, CA). The isocratic separation (83% water, 17% acetonitrile at 5 ml/min) was carried out on a C₁₈ reversed-phase (RP) column (Lichrospher 100 RP-18, 250 × 10 mm, 10 μm, Merck, Germany). The saponin of interest was eluted as a single peak, the fractions were collected manually, combined, concentrated, and lyophilized (white amorphous powder; yield: 61 mg).

Acidic Hydrolysis

Twenty mg of the crude saponin extract were placed in a 20 ml headspace vial and diluted in 15 ml HCl (1 M). The headspace vial was sealed and placed in an oven at 90 °C for 2 h, cooled to room temperature, and its seal broken. Compounds were extracted with ethyl acetate, 500 mg calcium carbonate was added, and ethyl acetate was removed. To obtain monosaccharides, the aqueous layer was evaporated to dryness. For GC/MS measurements 200 μl MSTFA were added to each of the residues and incubated at 50 °C for 1 h.

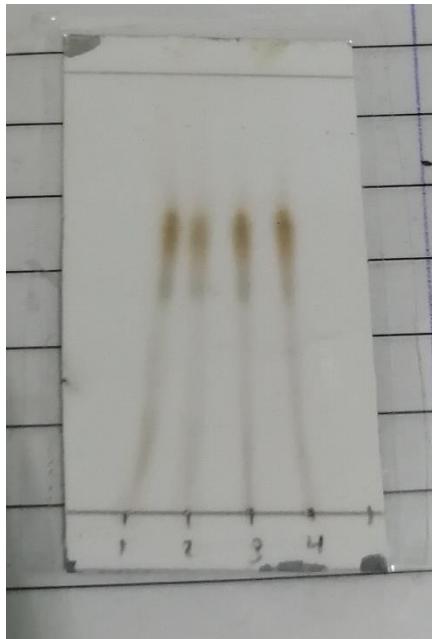
ANEXO III

**CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA,
EXTRACTOS PREPARADOS PARA EL
HPLC**

ANEXO III

CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA, EXTRACTOS PREPARADOS PARA EL HPLC

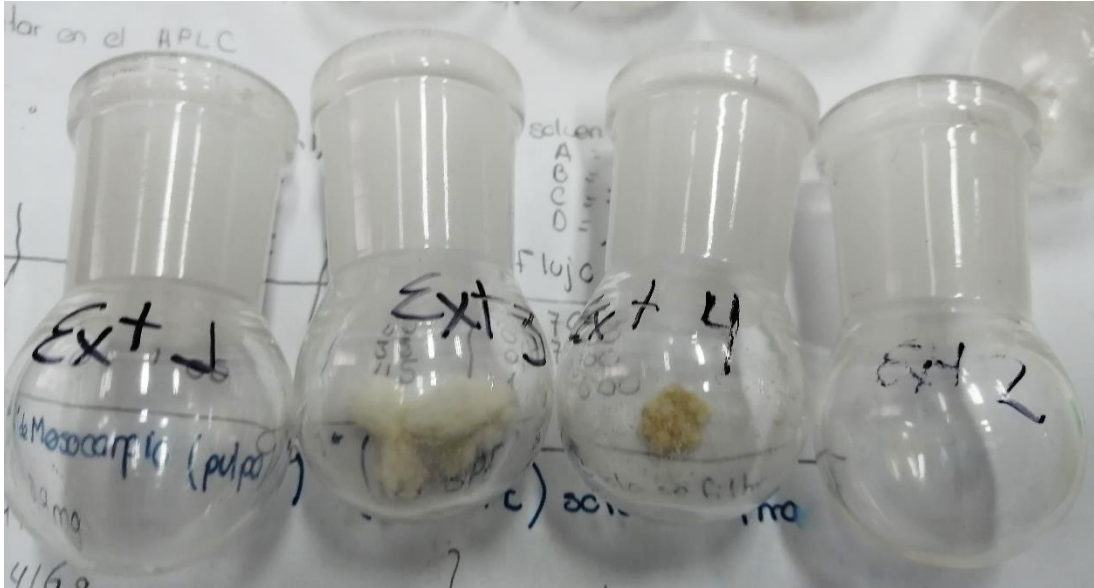
CCD para las pruebas preliminares fitoquímicas para los cuatro extractos de saponina



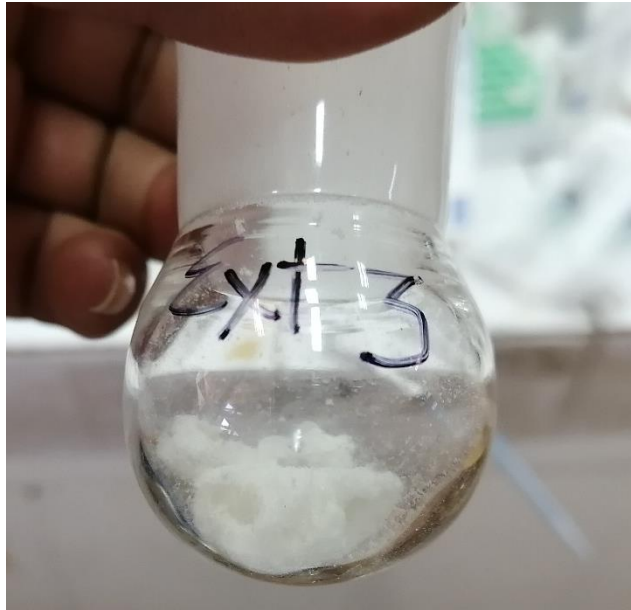
Prueba de la espuma en los extractos 1 y 2



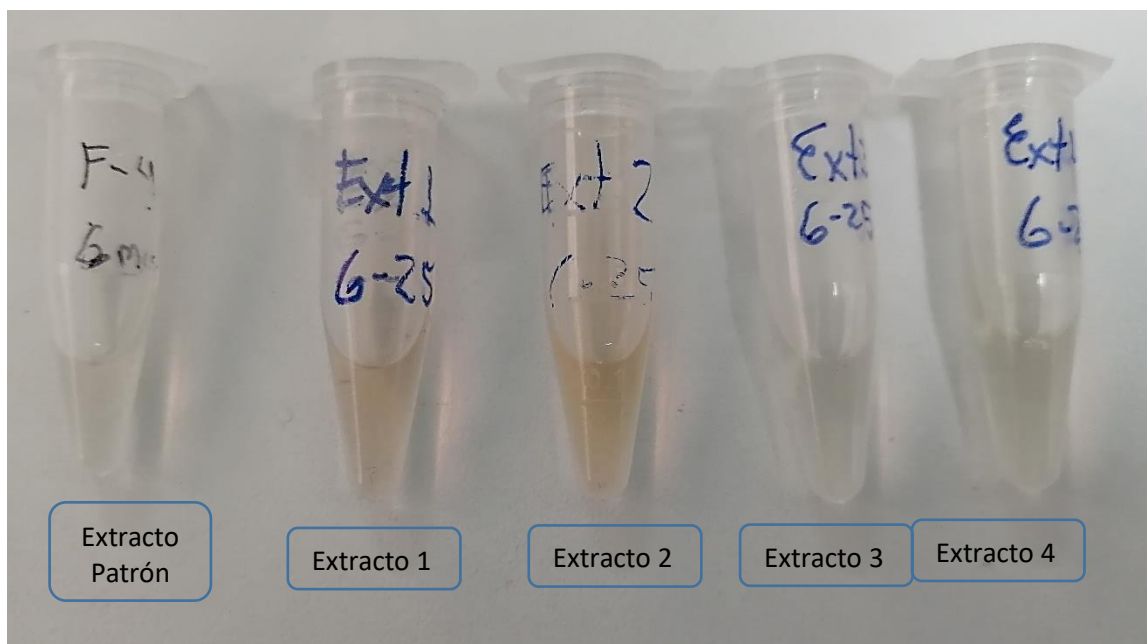
Extractos concentrados y liofilizados



Extracto 3 de saponina



Extractos de saponina preparados para ser inyectados al HLPC.

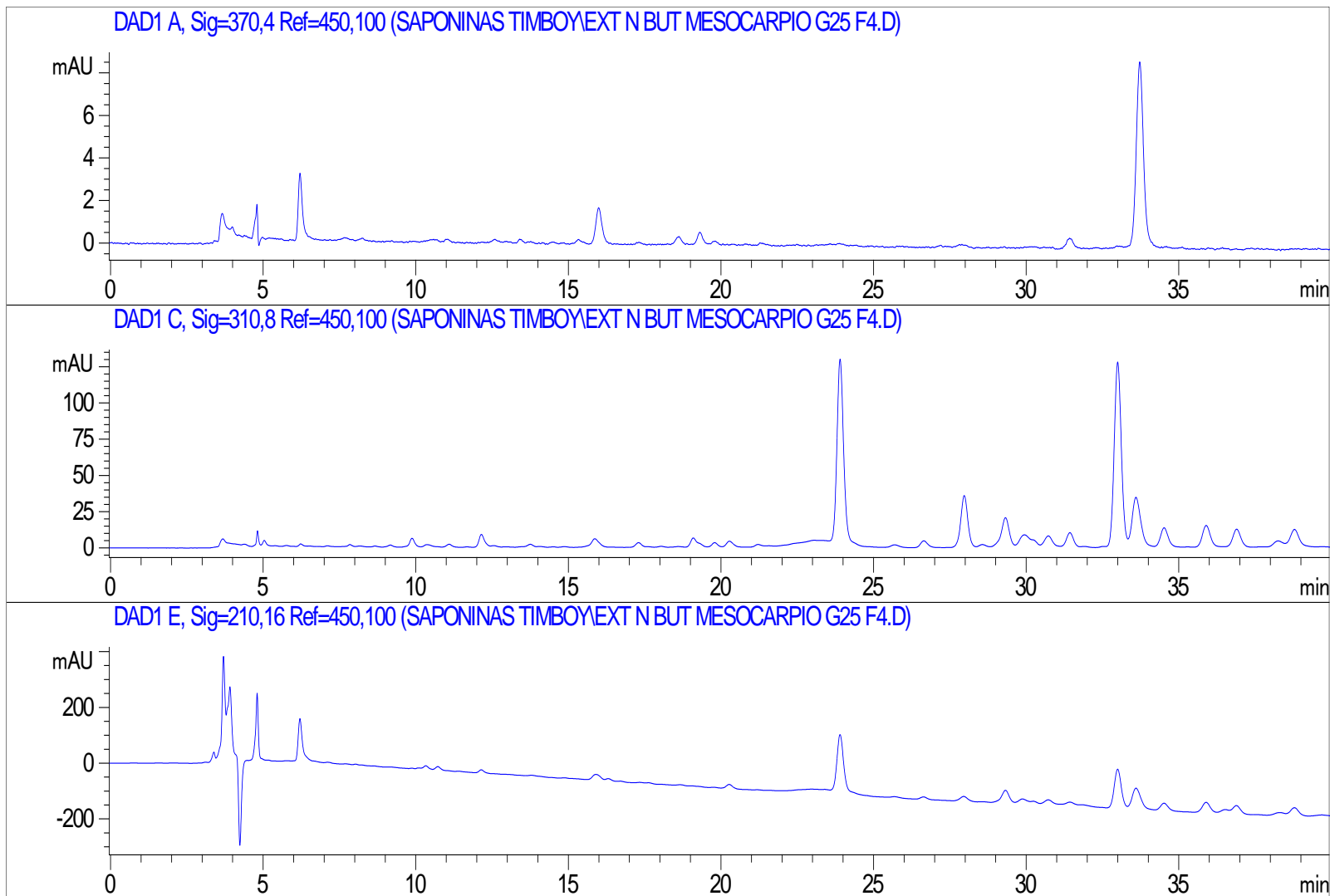


ANEXO IV

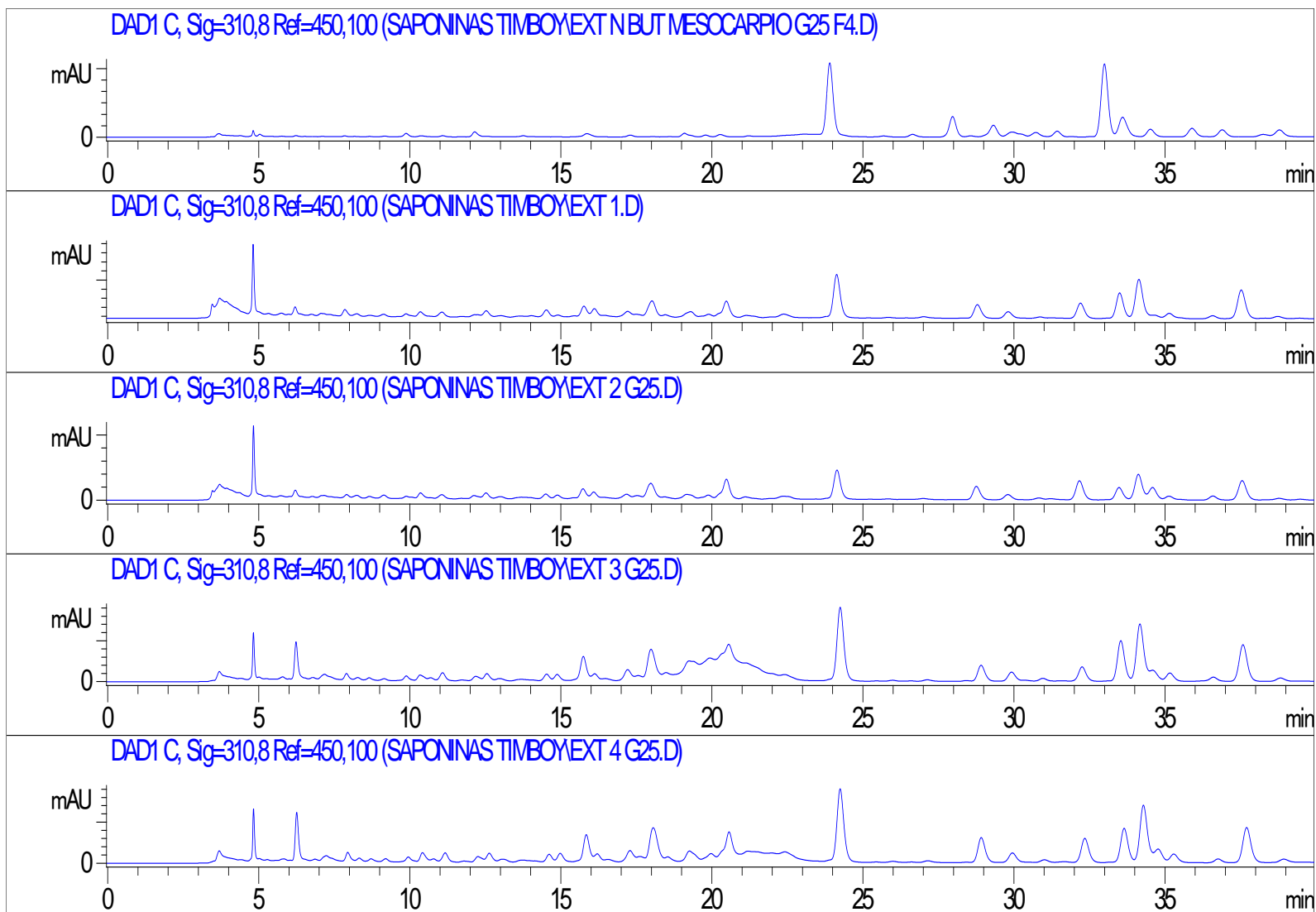
CROMATOGRAMAS REPORTADOS POR

EL HPLC

Cromatogramas del patrón a diferentes longitudes de onda



Cromatogramas del patrón y los cuatro extractos a 310 de longitud de onda



ANEXO V
TABLAS TERMODINÁMICAS

ANEXO V

TABLAS TERMODINÁMICAS

La tabla termodinámica pertenece al libro Introducción a la Termodinámica en Ingeniería Química, quinta edición del autor Smith Van Ness Abbott, apéndice C Capacidades Caloríficas y Cambios De Propiedades de Formación.

Tabla C.3: Capacidades caloríficas de líquidos[†]

Constantes para la ecuación $C_p/R = A + BT + CT^2$
 T de 273.15 a 373.15 K

Especie química	A	$10^3 B$	$10^6 c$
Amoniaco	22.626	-100.75	192.71
Anilina	15.819	29.03	-15.80
Benceno	-0.747	67.96	-37.78
1,3-Butadieno	22.711	-87.96	205.79
Tetracloruro de carbono	21.155	-48.28	101.14
Clorobenceno	11.278	32.86	-31.90
Cloroformo	19.215	42.89	83.01
Ciclohexano	-9.048	141.38	-161.62
Etanol	33.866	-172.60	349.17
Óxido de etileno	21.039	-86.41	172.28
Metanol	13.431	-51.28	131.13
n-Propanol	41.653	-210.32	427.20
Trióxido de azufre	-2.930	137.08	-84.73
Tolueno	15.133	6.79	16.35
Agua	8.712	1.25	-0.18

[†]Basado en las correlaciones presentadas por J. W. Miller, Jr., G. R. Schorry C. L. Yaws, *Chem, Eng.*, vol. 83(23), p. 129, 1976.

La tabla termodinamica pertenecen al libro Principios elementales de los Procesos Químicos, tercera edición del autor Felder Rousseau, apéndice B, Tablas de Propiedades Físicas.

Tabla B.2 Capacidades caloríficas^a

Forma 1: $C_p[\text{kJ/mol}\cdot^\circ\text{C}]$ o $[\text{kJ}/(\text{mol}\cdot\text{K})] = a + bT + cT^2 + dT^3$
 Forma 2: $C_p[\text{kJ/mol}\cdot^\circ\text{C}]$ o $[\text{kJ}/(\text{mol}\cdot\text{K})] = a + bT + cT^{-2}$

Ejemplo: $(C_p)_{\text{acetona(g)}} = 0.07196 + (20.10 \times 10^{-5})T - (12.78 \times 10^{-8})T^2 + (34.76 \times 10^{-12})T^3$, donde T está en $^\circ\text{C}$.

Nota: Las fórmulas para gases se aplican en forma estricta a presiones lo bastante bajas para que la ecuación de estado de los gases ideales sea válida.

Compuesto	Fórmula	Peso molecular	Estado	Forma	Unidad de temp.	$a \times 10^3$	$b \times 10^5$	$c \times 10^8$	$d \times 10^{12}$	Rango (unidades de T)	
Acetileno	C_2H_2	26.04	g	1	$^\circ\text{C}$	42.43	6.053	-5.033	18.20	0-1200	
Acetona	CH_3COCH_3	58.08	l	1	$^\circ\text{C}$	123.0	18.6			-30-60	
			g	1	$^\circ\text{C}$	71.96	20.10	-12.78	34.76	0-1200	
Ácido nítrico	HNO_3	63.02	l	1	$^\circ\text{C}$	110.0				25	
Ácido sulfúrico	H_2SO_4	98.08	l	1	$^\circ\text{C}$	139.1	15.59			10-45	
Agua	H_2O	18.016	l	1	$^\circ\text{C}$	75.4				0-100	
			g	1	$^\circ\text{C}$	33.46	0.6880	0.7604	-3.593	0-1500	
Aire		29.0	g	1	$^\circ\text{C}$	28.94	0.4147	0.3191	-1.965	0-1500	
			g	1	K	28.09	0.1965	0.4799	-1.965	273-1800	
Alcohol etílico (etanol)	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	46.07	l	1	$^\circ\text{C}$	103.1				0	
			l	1	$^\circ\text{C}$	158.8				100	
			g	1	$^\circ\text{C}$	61.34	15.72	-8.749	19.83	0-1200	
Alcohol metílico (metanol)	CH_3OH	32.04	l	1	$^\circ\text{C}$	75.86	16.83	-1.87	-8.03	0-700	
			g	1	$^\circ\text{C}$	42.93	8.301	-1.87	-8.03	0-1200	
Amoniaco	NH_3	17.03	g	1	$^\circ\text{C}$	35.15	2.954	0.4421	-6.686	0-1200	
Azufre	S	32.07	c	1	K	15.2	2.68			273-368	
			(Rómbico)								
			c	1	K	18.3	1.84				368-392
			(Monoclinico)								

Tablas de propiedades físicas

Activar

La tabla termodinamica pertenecen al libro Introducción a la termodinámica en Ingeniería Química, quinta edición del autor Smith Van Ness Abbott, apéndice F Tablas de Vapor.

Tabla. El: Vapor saturado, unidades SI (Continuación)

t °C	T K	P kPa	VOLUMEN ESPECÍFICO v			ENERGÍA INTERNA U			ENTALPÍA H			ENTROPÍA s		
			líq. sat.	evap.	vap. sat.	líq. sat.	evap.	vap. sat.	líq. sat.	evap.	vap. sat.	líq. sat.	evap.	vap. sat.
75	348.15	38.55	1.028	4133.1	4134.1	313.9	2182.1	2478.0	313.9	2321.5	2835.4	1.0154	8.8881	7.8835
76	349.15	40.19	1.027	3974.6	3975.7	318.1	2159.2	2477.3	318.1	2318.9	2837.1	1.0275	8.8418	7.8893
77	350.15	41.89	1.027	3823.3	3824.3	322.3	2158.3	2470.5	322.3	2318.4	2838.7	1.0395	8.8158	7.8551
78	351.15	43.85	1.028	3879.8	3879.8	328.5	2153.3	2479.0	328.5	2313.9	2840.4	1.0514	8.5898	7.8410
79	352.15	45.47	1.029	3540.3	3541.3	330.7	2150.4	2481.1	330.7	2311.4	2842.1	1.0834	8.5837	7.8271
80	353.15	47.38	1.029	3408.1	3409.1	334.9	2147.4	2482.3	334.9	2308.8	2843.8	1.0753	8.5380	7.8132
81	354.15	49.31	1.030	3281.8	3282.8	339.1	2144.5	2483.5	339.1	2308.3	2845.4	1.0871	8.5123	7.5995
82	355.15	51.33	1.031	3180.8	3181.8	343.3	2141.5	2484.8	343.3	2308.8	2847.1	1.0990	8.4888	7.5858
83	358.15	53.42	1.031	3044.8	3045.8	347.5	2138.8	2498.0	347.5	2301.2	2848.7	1.1108	8.4815	7.5722
84	357.15	55.57	1.032	2933.9	2935.0	351.7	2135.8	2487.3	351.7	2298.8	2850.4	1.1225	8.4382	7.5507
85	358.15	57.80	1.033	2827.0	2828.8	355.9	2132.8	2488.5	355.9	2296.1	2852.0	1.1343	8.4111	7.5454
86	359.15	60.11	1.033	2728.1	2727.2	360.1	2129.7	2489.7	360.1	2296.5	2853.8	1.1460	8.3961	7.5321
87	360.15	62.49	1.034	2828.8	2829.8	364.3	2128.7	2490.9	364.3	2290.9	2855.3	1.1577	8.3812	7.5189
88	381.15	84.95	1.035	2535.4	2538.5	368.5	2123.7	2492.2	368.5	2288.4	2858.9	1.1893	8.3385	7.5058
89	382.15	87.49	1.035	2448.0	2447.0	372.7	2120.7	2493.4	372.7	2285.8	2858.5	1.1809	8.3119	7.4928
90	383.15	70.11	1.038	2380.3	2381.3	378.9	2117.7	2494.6	378.9	2283.2	2860.1	1.1925	8.2873	7.4799
91	384.15	72.81	1.037	2278.0	2279.1	381.1	2114.7	2495.8	391.1	2280.8	2861.7	1.2041	8.2829	7.4870
92	385.15	75.81	1.038	2199.2	2200.2	385.3	2111.7	2497.0	385.4	2278.0	2863.4	1.2158	8.2387	7.4543
93	388.15	78.49	1.038	2123.5	2124.5	389.5	2108.7	2498.2	389.8	2275.4	2865.0	1.2271	8.2145	7.4418
94	387.15	81.48	1.039	2050.9	2051.9	393.7	2105.7	2499.4	393.8	2272.8	2868.8	1.2388	8.1905	7.4291
95	388.15	84.53	1.040	1961.2	1982.2	397.9	2102.7	2500.8	398.0	2270.2	2868.1	1.2501	8.1885	7.4188
96	389.15	87.89	1.041	1914.3	1915.3	402.1	2099.7	2501.8	402.2	2267.5	2869.7	1.2615	8.1427	7.4042
97	370.15	90.94	1.041	1850.0	1851.0	408.3	2098.8	2503.0	408.4	2264.9	2871.3	1.2729	8.1190	7.3919
98	371.15	94.30	1.042	1788.3	1709.3	410.5	2098.8	2504.1	410.8	2262.2	2872.9	1.2942	8.0954	7.3798
99	372.15	97.78	1.043	1729.0	1730.0	414.7	2090.8	2505.3	414.8	2259.8	2874.4	1.2958	8.0719	7.3875
100	373.15	101.33	1.044	1872.0	1873.0	419.0	2087.5	2508.5	419.1	2258.9	2878.0	1.3089	8.0485	7.3554
102	375.15	108.78	1.045	1564.5	1585.5	427.4	2081.4	2508.8	427.5	2251.8	2879.1	1.3294	8.0021	7.3315
104	377.15	118.88	1.047	1485.1	1488.2	435.8	2075.3	2511.1	435.9	2248.3	2882.2	1.3518	5.9580	7.3078
106	379.15	125.04	1.049	1373.1	1374.2	444.3	2069.2	2513.4	444.4	2240.9	2885.3	1.3742	5.9104	7.2845
108	381.15	133.90	1.050	1287.9	1289.9	452.7	2063.0	2515.7	452.9	2235.4	2888.3	1.3964	5.8851	7.2815
110	383.15	143.27	1.052	1208.9	1209.9	461.2	2058.8	2518.0	461.3	2230.0	2891.3	1.4185	5.8203	7.2388
112	385.15	153.18	1.054	1135.8	1138.8	469.8	2050.8	2520.2	469.8	2224.5	2894.3	1.4405	5.7758	7.2184
114	387.15	163.82	1.055	1087.5	1088.5	470.1	2044.3	2522.4	470.3	2219.0	2897.2	1.4624	5.7310	7.1942
118	389.15	174.85	1.057	1004.2	1005.2	486.6	2038.1	2524.6	486.7	2213.4	2700.2	1.4842	5.8881	7.1723
118	391.15	188.28	1.059	945.3	946.3	495.0	2031.8	2528.8	495.2	2207.9	2703.1	1.5080	5.8447	7.1507
120	393.15	198.54	1.081	890.5	891.5	503.5	2025.4	2529.0	503.7	2202.2	2708.0	1.5278	5.8017	7.1293
122	395.15	211.45	1.082	839.4	840.5	512.0	2019.1	2531.1	512.2	2196.8	2708.8	1.5491	5.5590	7.1082
124	397.15	225.04	1.064	791.0	792.8	520.5	2012.7	2533.2	520.7	2190.9	2711.8	1.5708	5.5187	7.0873
128	399.15	239.33	1.066	747.3	748.4	529.0	2008.3	2535.3	529.2	2185.2	2714.4	1.5919	5.4747	7.0888
128	401.15	254.35	1.068	705.8	708.9	537.5	1999.9	2537.4	537.8	2179.4	2717.2	1.6132	5.4330	7.0482

Presión de vapor del alcohol etílico -20°C a 150°C

