

**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 Triterpélicas	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 (<i>Enterolobium Contortisiliquum</i>)	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

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

3.1.1.	Caracterización físicas de la Materia Prima: fruto de Timboy (<i>Enterolobium contortisiliquum</i>) 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 (<i>Enterolobium contortisiliquum</i>).....	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 Fisicoquímicos 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 Quinua 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 <i>Enterolobium contortisiliquum</i>	21
Tabla II- 4 Cromatografía líquido - gaseosa de hidrolizado de polisacárido del fruto de <i>Enterolobium Contortisiliquum</i>	22
Tabla II- 5 Composición de aminoácidos de la proteína aislada del fruto de <i>Enterolobium</i> <i>contortisiliquum</i>	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 Fisicoquímico 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 Presión 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/eliminadas.....	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 Liquida 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 Despues 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
μ l	Microlitro
t	Tiempo
h	Hora
min	Minuto
cm	Centímetro
mm	Milímetro
μ m	Micrómetro
nm	Nanómetro
rpm	Revoluciones por minuto
T	Temperatura
$^{\circ}$ 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
$C_p \text{ agua}$	Calor específico del agua
$C_p \text{ etanol}$	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