UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingeniería

Evaluación de Saponinas de Quinua, Haba y Chocho como agentes emulsificantes en la microencapsulación por emulsificación y evaporación de solvente.

Kattia Isabel Rodriguez Riofrio

Ingeniería Química

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
INGENIERO QUÍMICO

Quito, 09 de mayo de 2025

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingeniería

HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

Evaluación de Saponinas de Quinua, Haba y Chocho como agentes emulsificantes en la microencapsulación por emulsificación y evaporación de solvente.

Kattia Isabel Rodriguez Riofrio

Nombre del profesor, Título académico **José Francisco Álvarez Barreto, Ph.D.**

Quito, 09 de mayo de 2025

DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Nombres y apellidos:	Kattia Isabel Rodriguez Riofrio
Código:	00216023
Cédula de identidad:	2200302228
Lugar y fecha:	Quito, 09 de mayo de 2025

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en http://bit.ly/COPETheses.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around these publishing available on http://bit.ly/COPETheses.

RESUMEN

Las saponinas naturales representan una alternativa sostenible para reemplazar surfactantes sintéticos en procesos de microencapsulación, ofreciendo potenciales actividades biológicas. En esta investigación se evaluó el potencial de las saponinas extraídas de haba (*Vicia faba*), chocho (*Lupinus mutabilis)* y quinua (*Chenopodium quinoa*), como agentes emulsificantes en la formación de micropartículas lipídicas a partir de manteca de cacao, mediante el método de emulsificación y evaporación de solvente. La extracción de saponinas se realizó por maceración en etanol al 96% durante 48 horas, evidenciándose que la quinua presentó la mayor concentración de saponinas, seguida del haba y el chocho. Sin embargo, en los ensayos de capacidad emulsificante y estabilidad, las saponinas de chocho demostraron un mejor desempeño, manteniendo una mayor estabilidad en el tiempo. En cuanto a la obtención de micropartículas, se formaron estructuras de morfología esférica con diámetros promedio entre (2.7 y 2.9) µm. No obstante, las micropartículas elaboradas con saponinas de chocho mostraron una distribución de tamaño más homogénea y concentrada en áreas pequeñas, lo que se correlaciona con su mayor estabilidad emulsificante observada. Estos resultados sugieren que no solo la concentración de saponinas, sino también su estructura y la posible interacción con proteínas presentes en los extractos, influyen en la formación y estabilidad de las micropartículas. La investigación concluye que las saponinas de chocho son una fuente prometedora para aplicaciones en sistemas de liberación controlada, promoviendo además el aprovechamiento de cultivos andinos y el desarrollo de tecnologías más limpias.

Palabras clave: Saponinas, emulsificación, surfactantes, microencapsulación, cultivos andinos

ABSTRACT

Natural saponins represent a sustainable alternative to replace synthetic surfactants in microencapsulation processes, offering potential biological activities. In this study, the potential of saponins extracted from fava bean (*Vicia faba*), lupin (*Lupinus mutabilis*), and quinoa (*Chenopodium quinoa*) was evaluated as emulsifying agents in the formation of lipid microparticles from cocoa butter, using the emulsification and solvent evaporation method. Saponin extraction was carried out by maceration in 96% ethanol for 48 hours, showing that quinoa had the highest saponin concentration, followed by fava bean and lupin. However, in the emulsifying capacity and stability tests, lupin saponins demonstrated better performance, maintaining greater stability over time. Regarding microparticle formation, spherical structures were obtained with average diameters between (2.7 and 2.9) μm. Nevertheless, the microparticles produced with lupin saponins exhibited a more homogeneous size distribution, concentrated in smaller areas, correlating with their higher observed emulsifying stability. These results suggest that not only the saponin concentration but also their structure and possible interaction with proteins present in the extracts influence microparticle formation and stability. The study concludes that lupin saponins are a promising source for applications in controlled release systems, while also promoting the use of Andean crops and the development of cleaner technologies.

Key words: Saponins, emulsification, surfactants, microencapsulation, Andean crops

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN 10
2. METODOLOGÍA 14
2.1. Extracción de saponinas. 14
2.1.1. Concentración de saponinas en el extracto. 14
2.1.2. Cuantificación de Proteínas. 15
2.1.3. Capacidad emulsificante 16
2.1.4. Análisis cromatográfico de saponinas por HPLC. 16
2.2. Elaboración de micropartículas. 17
2.2.1. Tamaño de Partículas. 18
2.3. Análisis estadístico. 18
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 19
3.1. Concentración de saponinas. 19
3.2. Análisis cromatográfico de saponinas por HPLC. 20
3.3. Cuantificación de proteínas. 22
3.4. Capacidad emulsificante. 24
3.5. Elaboración de micropartículas y tamaño de partículas. 25
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 29
5. REFERENCIAS 31
6. ANEXOS 36
6.1. ANEXO A: CURVA DE CALIBRACIÓN DE SAPONINAS 36
6.2. ANEXO B: CAPACIDAD EMULSIFICANTE 37
6.3. ANEXO C: RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) EN LA

CUANTIFICACIÓN DE SAPONINAS. 38

6.4. ANEXO D: RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) EN LA CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS..... 40

6.5. ANEXO E: RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) EN LA CAPACIDAD EMULSIFICANTE. 42

6.6. ANEXO F: RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) EN EL DIÁMETRO DE PARTÍCULA. 45

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diámetro promedio y distribución de área de micropartículas obtenidas de haba, chocho y quinua.. 27

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Concentración de saponinas en extracto sólido. Las letras diferentes estadísticamente significativas ($p < 0.05$). .....**¡Error! Marcador no definido.**

Figura 2. Cromatogramas de las soluciones estándar de saponinas de quillaja (0,2–1,0 mg/mL) obtenidos mediante HPLC. .....**¡Error! Marcador no definido.**

Figura 3. Cromatogramas de saponinas extraídas obtenidos mediante HPLC. (*) Pico correspondiente a la señal principal asociada a las saponinas detectadas en los extractos de haba, chocho y quinua. .....**¡Error! Marcador no definido.**

Figura 4. Análisis del porcentaje de proteína presente en los residuos sólidos tras la extracción de saponinas de las tres fuentes de estudio. Las letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). .....**¡Error! Marcador no definido.**

Figura 5. Capacidad espumante a diferentes tiempos usando manteca de cacao al 1% (p/v) y saponinas al 0.5% (p/v) de las tres fuentes de estudio.....**¡Error! Marcador no definido.**

Figura 6. Micrografías de micropartículas manteca de cacao elaboradas por el método de emulsión y evaporación de solvente, utilizando saponinas de: a) haba, b) chocho y c) quinua.**¡Error! Marcador no definido.**

1. INTRODUCCIÓN

La microencapsulación es una estrategia altamente efectiva para proteger y liberar de manera controlada compuestos bioactivos en industrias como la farmacéutica, alimentaria y cosmética. Este método, que consiste en encapsular un ingrediente activo dentro de una matriz, ayuda a mejorar su biodisponibilidad, aumentar su estabilidad frente a factores ambientales adversos, y dirigir su actividad hacia sitios específicos del organismo[1]. En el caso particular de formulaciones lipídicas, es decir, formulaciones basadas en grasas y aceites, fabricadas a través de métodos de emulsión, uno de los factores más determinantes para garantizar la estabilidad y funcionalidad del sistema es la selección del agente emulsificante, el cual permite estabilizar las fase orgánica y acuosa durante el proceso de emulsión, paso previo fundamental en la formación de micropartículas. Hoy en día, en los procesos de microencapsulación, se usan con frecuencia surfactantes sintéticos como el polisorbato 80 (conocido como Tween 80) , el alcohol polivinílico o el lauril sulfato de sodio , ya que ayudan a mezclar fases inmiscibles.

Estos compuestos logran estabilizar las emulsiones al disminuir la tensión entre ambas fases. Sin embargo, son fabricados de forma artificial, no son biodegradables, y su uso prolongado puede generar efectos negativos tanto en el cuerpo humano como en el ambiente, además de que no aportan beneficios biológicos[2]. Ante esta situación, tanto investigadores como sectores productivos han empezado a enfocarse en alternativas más sostenibles, especialmente en el desarrollo de surfactantes de origen natural que, además de cumplir con su función tecnológica, ofrezcan beneficios bioactivos, sean seguros para el uso humano y generen un menor impacto ambiental[3]. Desde este enfoque, las saponinas surgen como una estrategia sostenible ya que son compuestos anfifílicos de origen vegetal que han demostrado una destacada capacidad para formar espumas y estabilizar emulsiones [4]. Las saponinas están

formadas por una aglicona (sapogenina) de naturaleza lipofílica unida a cadenas de azúcares hidrofílicos, lo que les otorga su estructura tensoactiva característica[5]. Esta dualidad molecular no solo permite la estabilización de sistemas dispersos, sino que también les confiere un amplio espectro de actividades biológicas, incluyendo efectos antioxidantes, antiinflamatorios, inmunoestimulantes, antimicrobianos y citotóxicos[6]. Como resultado, las saponinas no solo estabilizan la emulsión, sino que pueden incrementar el valor funcional del producto final atribuyéndoles actividad biológica.

Estudios recientes han demostrado la viabilidad de utilizar saponinas en procesos de encapsulación. Por ejemplo, las saponinas de quillay (*Quillaja saponaria*) han sido utilizadas con éxito para estabilizar emulsiones de vacunas veterinarias, mientras que las de ginseng han sido empleadas en la formulación de nanoemulsiones de astaxantina, mostrando una buena estabilidad térmica y de tamaño[7] .En el caso de la quinua (*Chenopodium quinoa*), un cultivo ancestral andino ampliamente distribuido en Ecuador, se ha demostrado que sus saponinas, presentes principalmente en la cascarilla que se descarta durante el procesamiento, poseen excelente rendimiento como emulsificantes en la formación de micropartículas lipídicas[8]. Esta evidencia sugiere que las saponinas extraídas de la quinua y de otras fuentes antes mencionadas no solo son funcionales, sino que además permiten valorizar residuos agroindustriales, alineándose con los principios de economía circular y sostenibilidad [9]

A pesar del interés creciente en las saponinas, existen escasos estudios comparativos sobre otras fuentes vegetales locales igualmente ricas en estos compuestos, como el haba (*Vicia faba*) y el chocho *(Lupinus mutabilis).* Ambas leguminosas, al igual que la quinua, son cultivadas tradicionalmente en la región andina ecuatoriana, especialmente en provincias como Imbabura, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo y Pichincha[10]. Sin embargo, el potencial de sus saponinas como emulsificantes sigue siendo poco explorado, lo que limita su aprovechamiento tecnológico y su incorporación en formulaciones de alto valor agregado.

La revalorización de cultivos andinos como el haba, el chocho y la quinua representa una oportunidad estratégica para desarrollar productos funcionales que satisfagan la creciente demanda de ingredientes naturales y saludables por parte de la industria. Considerando lo expuesto, utilizar saponinas como emulsificantes naturales puede reducir significativamente la dependencia de surfactantes sintéticos, disminuir el impacto ambiental de los procesos industriales, y fomentar el desarrollo de tecnologías limpias, especialmente en sectores sensibles como el farmacéutico, alimentario o dermocosmético[11].

A nivel metodológico, se ha comprobado que la eficiencia del proceso de extracción de saponinas depende de varios factores, entre ellos el tipo de disolvente, el tiempo de extracción, la temperatura y la relación masa-volumen. La maceración en etanol al 96% durante 48 horas, método propuesto en [8], ha sido identificado como uno de los protocolos más eficientes para extraer saponinas de quinua con altos rendimientos y buena actividad emulsificante. A partir del procedimiento mencionado, se adoptaron las condiciones necesarias para aplicarlo a las otras dos fuentes vegetales objeto de análisis.

Pese a los avances mencionados, existe una brecha en la literatura científica sobre la comparación directa de saponinas de diferentes fuentes andinas bajo las mismas condiciones de extracción, emulsificación y microencapsulación. Esta carencia impide establecer cuál de estas especies ofrece el mejor desempeño como agente emulsificante natural, lo cual es clave para orientar futuras investigaciones, desarrollar productos más eficientes y tomar decisiones informadas en la industria.

Frente a este panorama, el presente trabajo propone un estudio integral orientado a evaluar las saponinas extraídas de quinua, haba y chocho como agentes emulsificantes en un proceso de microencapsulación por emulsificación y evaporación de solvente. Esta investigación permitirá no solo determinar la viabilidad técnica de cada fuente vegetal, sino también generar información valiosa para promover el uso de surfactantes naturales y potenciar

el aprovechamiento de recursos agroindustriales locales.

En este marco, el estudio se enfocará en la extracción y caracterización de saponinas de las tres fuentes vegetales mencionadas, el análisis de su capacidad espumante y emulsificante, así como la formulación de emulsiones y posterior microencapsulación utilizando manteca de cacao como fase lipídica. Por lo tanto, para este proyecto, se evaluarán parámetros como el diámetro y la estabilidad de las micropartículas obtenidas, permitiendo establecer comparaciones entre las distintas fuentes.

Finalmente, se evaluarán parámetros como el diámetro y la estabilidad de las micropartículas obtenidas, permitiendo establecer comparaciones entre las distintas fuentes. Además, se caracterizarán las propiedades fisicoquímicas de las saponinas extraídas, incluyendo su solubilidad, capacidad espumante y emulsificante. Posteriormente, se evaluará su desempeño en un proceso de producción de micropartículas lipídicas. Este enfoque integral busca aportar al desarrollo de formulaciones funcionales, sostenibles y de origen natural, promoviendo la valorización de cultivos andinos y fomentando el uso de tecnologías limpias dentro del campo de la ingeniería química y la bioingeniería de procesos.

2. METODOLOGÍA

2.1. Extracción de saponinas.

Las saponinas fueron extraídas de tres fuentes vegetales andinas: quinua (*Chenopodium quinoa*), haba (*Vicia faba*) y chocho (*Lupinus mutabilis)* . Las muestras de estas materias primas fueron proporcionadas por agricultores locales de la zona de Tumbaco (Quito, Ecuador), como parte del compromiso con los recursos agroindustriales de origen regional. Para la extracción se empleó el protocolo adaptado en el estudio de Álvarez [8], quien mencionó que las condiciones más apropiadas para maximizar el rendimiento y tener una alta funcionalidad del extracto se debía realizar una maceración con etanol al 96% (v/v) durante 48 horas , utilizando una proporción de 1:9 (p/v) entre la masa vegetal y el volumen de solvente con una agitación constante de 60rpm a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo de extracción, cada mezcla fue filtrada inicialmente con papel filtro de café (tamaño de poro de 20-30 μm) para eliminar partículas vegetales de mayor tamaño, seguida de una filtración al vacío con el fin de purificar el extracto. La fase líquida obtenida fue concentrada en un rotaevaporador a 60 °C y 80, rpm, durante 50, minutos, permitiendo la eliminación del etanol sin comprometer la estabilidad de los compuestos activos (extracto de saponinas). Finalmente, el concentrado fue congelado y, liofilizado, obteniéndose un extracto sólido rico en, saponinas, el cual fue almacenado en el congelador para las futuras pruebas de caracterización.

2.1.1. Concentración de saponinas en el extracto.

La concentración de saponinas presentes en los extractos obtenidos de quinua, haba y chocho fue determinada mediante espectroscopía UV-Vis, utilizando el método propuesto por Vicente [12], el cual se basa en la reacción de coloración del reactivo de Liebermann-Burchard.

Este método consiste en una interacción química que genera un cambio de color entre las saponinas y el reactivo, que permite cuantificarlas espectrofotométricamente. Para ello, se preparó el reactivo mezclando ácido sulfúrico concentrado y ácido acético en proporción 5:1 (v/v), manteniéndose en reposo en refrigeración durante al menos una hora antes de su uso para garantizar la estabilidad de la mezcla.

Para este análisis, se colocó 1 ml del extracto de saponinas disuelto en etanol en un tubo falcon, al cual se le agregaron 3.5 ml. del reactivo de Liebermann-Burchard. La mezcla fue agitada utilizando un homogeneizador vortex durante 30 minutos, con intervalos de agitación regulares, hasta que se desarrolló una coloración violeta característica de la presencia de saponinas. Posteriormente, se midió la absorbancia de la solución a una longitud de onda de 528 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific™), utilizando etanol más reactivo como blanco. La concentración de saponinas en cada muestra fue calculada a partir de una curva de calibración previamente establecida (ANEXO A), que fue utilizada empleando el mismo criterio para las tres fuentes vegetales analizadas.

2.1.2. Cuantificación de proteínas.

Para la determinación del contenido de proteína total presente en los extractos de saponinas de quinua, haba y chocho, se aplicó el método Kjeldahl , el cual permite cuantificar el nitrógeno orgánico como indicador del contenido proteico[13]. Para ello, se pesaron 0,5 g de extracto liofilizado de cada fuente vegetal, a los cuales se agregaron 12 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Este procedimiento se realizó por triplicado para cada una de las tres fuentes.

La solución fue sometida a destilación mediante una unidad de destilación Kjeldahl, en presencia de hidróxido de sodio (NaOH) para liberar el amoníaco. Este fue arrastrado con vapor hacia una solución de ácido bórico (H_3BO_3), donde fue capturado, formando un complejo estable. Finalmente, se realizó una titulación con ácido clorhídrico (HCl) para cuantificar el nitrógeno recuperado, lo cual permitió calcular el porcentaje de proteínas mediante el factor de conversión

correspondiente, con las siguientes ecuaciones 2 y 3.

$$\%\ Nitrógeno = \frac{(V_{HCl})(0.2N)(14.007)}{P_{muestra\ (mg)}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\%\ Proteína = \%\ Nitrógeno \times 6.25 \quad (2)$$

2.1.3. Capacidad emulsificante.

La capacidad emulsionante de los extractos de saponinas obtenidos de quinua, haba y chocho fue determinada utilizando el método descrito por Nkafamiya [14], el cual se basa en la medición de la altura de la emulsión formada entre la fase orgánica y fase acuosa, en este caso manteca de cacao. Para ello, se prepararon soluciones al 0.05% (p/v) de saponinas disueltas en agua destilada y se mezclaron con una solución de manteca de cacao al 1% (p/v) previamente disuelta en acetato de etilo.

De cada solución, se tomaron 5 ml y se mezclaron mediante agitación manual utilizando una jeringa plástica de 10 ml. El procedimiento consistió en succionar y expulsar rápidamente la mezcla dentro de la jeringa durante 10 minutos, continuos, con el objetivo de generar una emulsión estable. Posteriormente, la mezcla fue transferida a jeringas de 10 ml en la que se dejó reposar por un tiempo de 0,1,3,5,10,24 y 48 horas. La altura de la emulsión formada fue medida en centímetros y utilizada como indicador de la capacidad emulsificante del extracto.

Este procedimiento fue realizado por triplicado para cada una de las tres fuentes, vegetales, bajo las mismas condiciones de concentración, volumen y tiempo. La capacidad emulsificante fue calculada en función de la altura de la emulsión formada inmediatamente después de la mezcla, utilizando la ecuación:

$$Capacidad\ Emulsificante(\%) = \left(\frac{Altura\ de\ la\ emulsión\ (cm)}{Altura\ total\ de\ la\ mezcla\ (cm)}\right) \times 100 \quad (3)$$

2.1.4. Análisis cromatográfico de saponinas por HPLC.

De acuerdo con el método de Rani [15] primero se elaboró una curva estándar utilizando saponinas de *Quillaja*; se realizó una cromatografía líquida de alta resolución (HPLC-DAD) utilizando un sistema Ultimate 3000 THERMO SCIENTIFIC, equipado con una columna Agilent

Zorbax Eclipse Plus C18 (150 mm × 4,6 mm, 5 µm). La separación se llevó a cabo en modo isocrático, empleando una fase móvil compuesta por 65% de agua ultrapura y 35% de acetonitrilo (grado HPLC), a un flujo constante de 1,0 mL/min y una temperatura de columna mantenida a 20 °C. El volumen de inyección fue de 10 µL y se utilizó detección por arreglo de diodos (DAD) monitoreando dos longitudes de onda, 203 nm y 235 nm, para una mejor sensibilidad y especificidad en la detección de saponinas. La calibración del método se efectuó mediante la inyección de soluciones de las tres fuentes naturales (haba, chocho y quinua) en concentraciones de 0,2 a 1,0 mg/mL. El tiempo de retención promedio para las saponinas fue de aproximadamente 1,9 minutos.

2.2.Elaboración de micropartículas.

La obtención de micropartículas se llevó a cabo mediante el método de emulsificación y evaporación de solvente[16], el cual consiste en generar una emulsión entre una fase acuosa (que contiene saponinas disueltas en agua) y una fase orgánica (compuesta por manteca de cacao disuelta en acetato de etilo), seguida de un proceso de agitación prolongada que permite la evaporación del disolvente orgánico y la formación de las micropartículas.

La fase acuosa consistió en una solución de saponinas 0.005% (p/v), con un volumen total de 100 ml. La fase orgánica se preparó disolviendo 0.2 g de manteca de cacao en 20 ml de acetato de etilo, bajo agitación constante a 40 °C, para obtener una completa disolución del lípido. Una vez listas ambas fases, se procedió a la emulsificación, vertiendo lentamente la fase orgánica sobre la fase acuosa mientras esta se mantenía en agitación dentro de un homogeneizador YEIPOWER-HIGH SPEED a 1200 rpm durante 1 minuto.

Posteriormente, la emulsión obtenida se dejó en agitación continua durante 24 horas a temperatura ambiente, permitiendo la evaporación del solvente orgánico y la formación de las micropartículas lipídicas. Este procedimiento se aplicó a las saponinas extraídas de las tres fuentes vegetales (quinua, haba y chocho), siguiendo las mismas condiciones para permitir la comparación

entre formulaciones.

2.2.1. Tamaño de partículas.

Para el análisis morfológico y de tamaño de las micropartículas obtenidas, se utilizaron imágenes capturadas con un microscopio óptico LEICA DM, 500, empleando el software incorporado Leica Application Suite (LAS EZ). En este estudio, se trabajó exclusivamente con un aumento de 40X , **e**l cual permitió observar con mayor detalle la forma y el tamaño de las partículas**.** Mientras que para la caracterización morfológica se utilizó el programa Image J. Este programa permitió realizar una medición automática del diámetro de las micropartículas a partir de las imágenes obtenidas anteriormente. Adicionalmente se evaluó la distribución del área de las partículas en cada muestra para poder obtener un mejor análisis de la dispersión y homogeneidad de tamaño en las micropartículas generadas.

2.3.Análisis estadístico.

Para todas las variables cuantificadas en este estudio como la concentración de saponinas, capacidad emulsificante y contenido de proteínas se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) con el fin de identificar diferencias significativas entre las fuentes evaluadas. Las comparaciones múltiples se realizaron mediante la prueba de Tukey, utilizando un nivel de confianza del 95 % ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las saponinas de haba, chocho y quinua son alternativas prometedoras para la sustitución de surfactantes sintéticos en proceso de microencapsulación por la técnica de emulsión y evaporación del solvente. Considerando el aporte de agentes bioactivos que poseen cada una de las fuentes, los resultados obtenidos permiten establecer las comparaciones, y sentar las bases para su aplicación en procesos de microencapsulación. Además, la variabilidad del tipo de saponina presente en las diferentes fuentes, vegetales podría ser un factor determinante en la eficiencia de la emulsificación y en la morfología de las micropartículas formadas, de acuerdo con los resultados presentados a continuación.

3.1.Concentración de saponinas.

En la figura 1 se observa que los resultados obtenidos muestran diferencias notables en la concentración de las saponinas extraídas de las tres fuentes. El extracto de quinua presentó el mayor contenido de saponinas ($p < 0.05$) con un valor de $(1.975 \pm 0.002)\%$, seguido por el haba con $(0.887 \pm 0.001)\%$ y finalmente el chocho con $(0.379 \pm 0.003)\%$. Estos resultados podrían atribuirse a las características que posee cada materia prima, como la concentración natural de saponinas en su composición, el tipo de tejido vegetal y la accesibilidad de los compuestos al solvente durante la extracción [17]Estos resultados son coherentes con estudios previos que indican que la cascarilla de quinua posee altos niveles de este compuesto, alcanzando valores de hasta 4.93% [8]. En la quinua, las saponinas se localizan principalmente en la cascarilla y cumplen un rol defensivo contra patógenos y herbívoros, razón por la cual su concentración es elevada [18]. En el caso del haba, diversos estudios demuestran que la concentración de saponinas es moderada y depende de factores como la variedad genética y las condiciones de cultivo. Hernández- Bolívar et al., reportaron, que la harina de haba contiene aproximadamente 0.6% de saponinas [19], respaldando así el valor obtenido en este estudio.

Finalmente, para el chocho, en estudios realizados por Berti et al., [20] esta fuente presenta concentraciones de 0.14% a 0.36% de saponinas, debido a los compuestos bioactivos predominantes de los alcaloides amargos. Entonces, se comprobó que el contenido de saponinas varia, siendo la quinua la que mayor concentración presenta, tanto en estudios previos como en el presente.

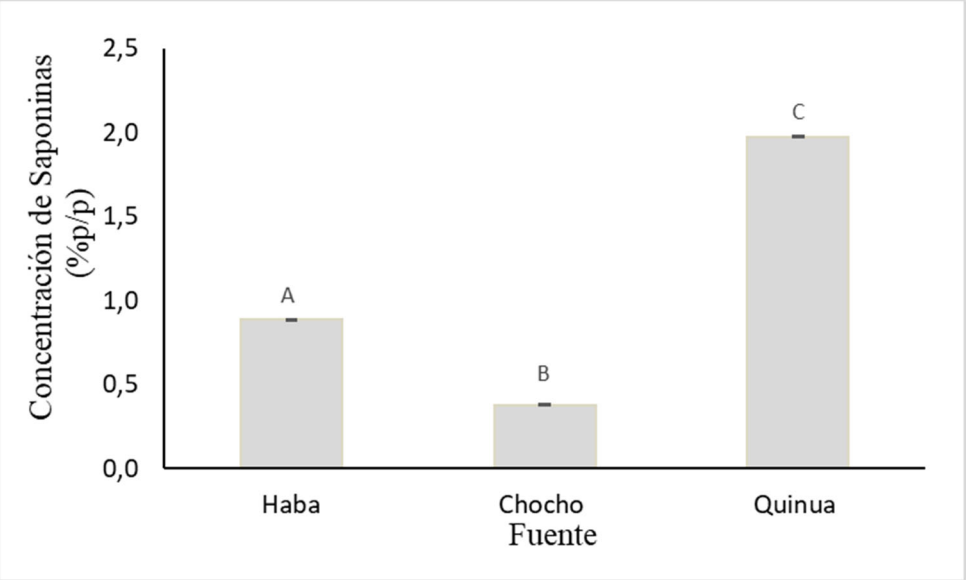


Figura 1. Concentración de saponinas en extracto sólido. Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

3.2.Análisis cromatográfico de saponinas por HPLC.

En la figura 2, se muestran los cromatogramas obtenidos mediante HPLC, se observó un pico prominente a un tiempo de retención de aproximadamente 1.2 minutos, correspondiente a la saponina estándar *(Quillaja saponaria)*, con un incremento proporcional en la señal conforme aumentaba la concentración. Estos resultados obtenidos no tuvieron como finalidad calcular la concentración de las saponinas, sino confirmar su presencia a partir de la comparación del tiempo de retención del pico principal. Esto debido a que los cromatogramas también presentaban otros picos secundarios, los cuales, de acuerdo con estudios previos pueden corresponder a otras estructuras como compuestos fenólicos, flavonoides u otras moléculas bioactivas presentes naturalmente en los extractos de saponina[21]

Mientras que en la figura 3, en donde se presentan los cromatogramas para los extractos, se observa igual un pico principal compartido alrededor de 1.2 minutos en las muestras de haba, chocho

y quinua, confirmando la presencia de saponinas en concordancia con el tiempo de retención de la saponina de *Quillaja* estándar. Se observó que las tres fuentes presentan otros picos similares. Anteriormente, se han identificado, múltiples saponinas en haba, chocho y quinua, lo que contribuye a la aparición de varios picos en el cromatograma [22]. Estos picos se atribuyen a la presencia de saponinas triterpénicas tipo oleanano, específicamente derivadas del ácido oleanólico, una sapogenina lipofílica que constituye el núcleo de muchas saponinas presentes en estas especies[23]; en este caso, la sapogenina, al ser de tipo triterpénico determina en gran medida el comportamiento de las moléculas en el sistema de HPLC, incluyendo su polaridad y tiempo de retención [24].

En haba *(Vicia faba),* se han identificado saponinas triterpénicas tipo oleanano basadas en ácido oleanólico, así como la presencia de compuestos secundarios como vicianina y convicina, los cuales pueden originar picos adicionales en el cromatograma [25]. En el chocho *(Lupinus mutabilis),* predominan las saponinas triterpénicas, también derivadas de estructuras oleanánicas, que presentan propiedades similares de polaridad y tiempo de elución [26]. Por su parte, en la quinua *(Chenopodium quinoa),* se ha reportado una variedad de saponinas triterpénicas, incluyendo aquellas basadas en ácido oleanólico, hederagenina y ácido fitolacagénico, que, dependiendo de su combinación con diferentes azúcares, resultan en la generación de múltiples picos cromatográficos [27]. Podemos identificar que las tres fuentes tienen presente en su estructura las saponinas triterpénicas.

Estudios previos de análisis de extractos de plantas medicinales ricas en saponinas, como *Bacopa monnieri*, han reportado ventanas de retención entre 0.9 y 1.4 minutos [28], mientras que en especies como *Hedera helix* se han observado tiempos de retención entre 1.2 y 1.4 minutos [29]. Estos datos sustentan que el pico principal detectado en las muestras analizadas corresponde a saponinas triterpénicas oleanánicas derivadas principalmente del ácido oleanólico.

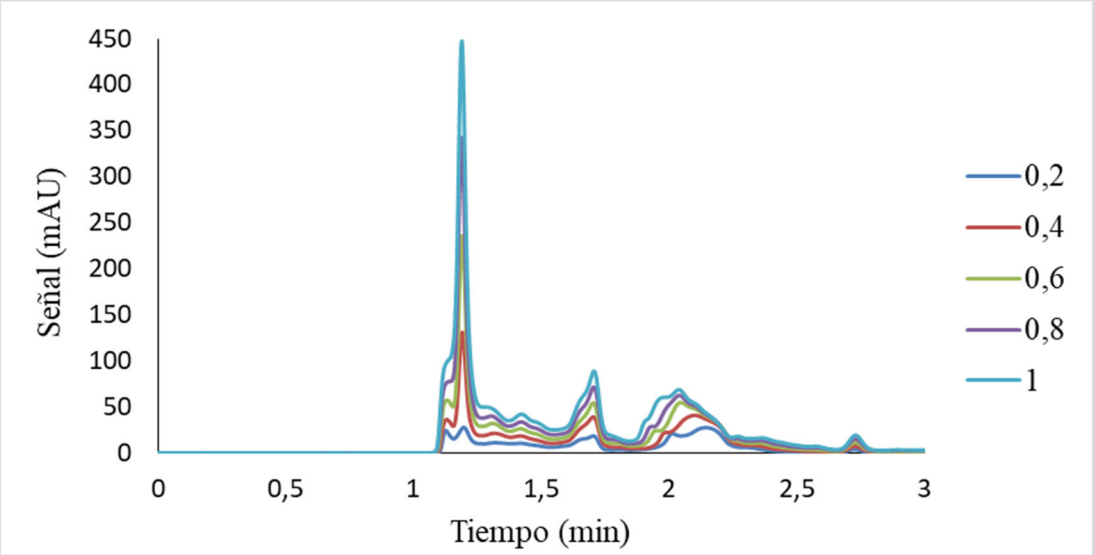


Figura 1. Cromatogramas de las soluciones estándar de saponinas de quillaja (0,2–1,0 mg/mL) obtenidos mediante HPLC.

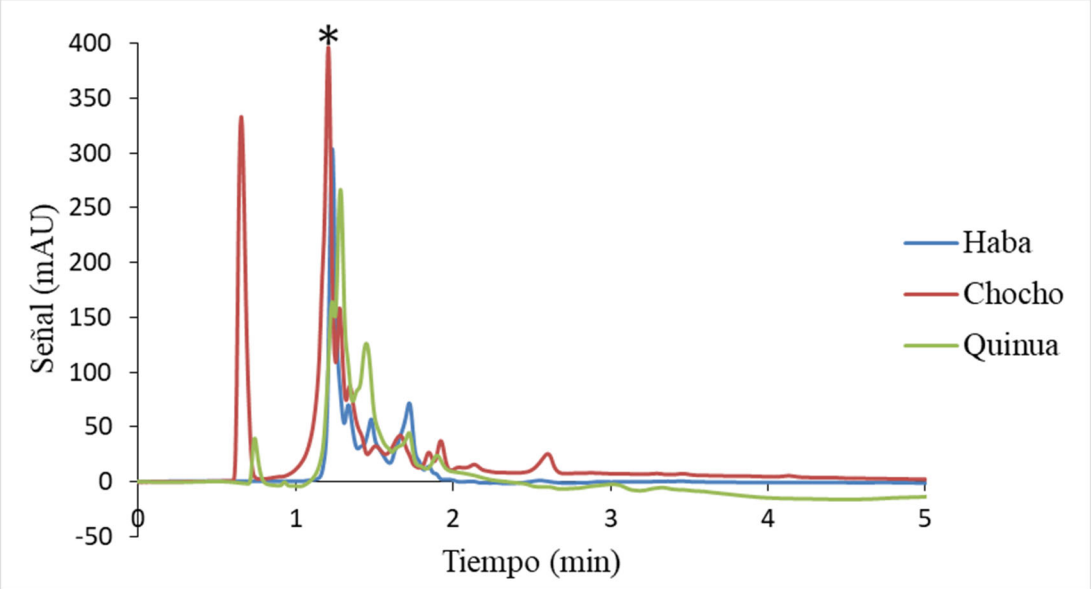


Figura 2. Cromatogramas de saponinas extraídas obtenidos mediante HPLC. (*) Pico correspondiente a la señal principal asociada a las saponinas detectadas en los extractos de haba, chocho y quinua.

3.3.Cuantificación de proteínas.

La cuantificación de proteínas en estos residuos resulta relevante ya que además de las saponinas, las leguminosas poseen proteínas con propiedades emulsificantes naturales debido a su estructura anfifílica [30]. En la figura 4, se muestra el contenido de proteínas presentes en los extractos de saponinas de las tres fuentes. No hubo diferencias significativas en la concentración de proteínas, con valores para haba de (4.01 ± 0.86)%, chocho de (4.12 ± 0.59)% y quinua de (4.81

± 0.00)%. Estos valores obtenidos se deben al arrastre que puede existir en la extracción. Un ejemplo de esto son las proteínas aisladas de soya (*Glycine max*). Estas proteínas se obtienen comúnmente mediante un proceso de extracción alcalina, donde el pH se ajusta a valores entre 8 y 9 para solubilizar las proteínas presentes en la harina de soya. El producto final, conocido como aislado de proteína de soya, contiene más del 90% de contenido proteico [31].

La importancia de estas proteínas radica en su estructura anfipática: poseen regiones hidrofílicas e hidrofóbicas, reduciendo la tensión superficial y estabilizando emulsiones; de forma similar, las proteínas extraídas de quinua (*Chenopodium quinoa*) también han mostrado propiedades emulsificantes destacables[32]. Estudios han demostrado que las proteínas de quinua, al igual que las de soya, presentan una estructura anfipática capaz de estabilizar emulsiones, aunque su rendimiento puede verse afectado por factores como la desnaturalización térmica y la composición en aminoácidos [33]. Esto abre posibilidades para el desarrollo de nuevos sistemas emulsionados sostenibles utilizando fuentes proteicas alternativas.

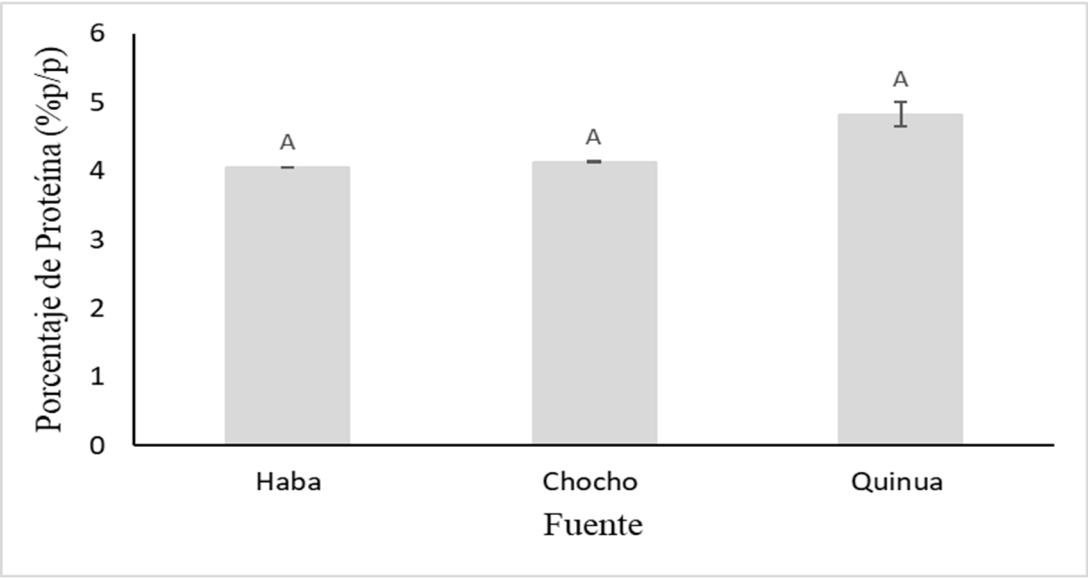


Figura 3. Análisis del porcentaje de proteína presente en los residuos sólidos tras la extracción de saponinas de las tres fuentes de estudio. Las letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

3.4.Capacidad emulsificante.

En la figura 5, se muestra la evolución de la capacidad emulsificante de las saponinas de las tres fuentes de estudio a lo largo de 48 horas. Se observó que, en el tiempo de inicial, todas las fuentes presentaron una alta capacidad emulsificante, superior al 80%. Con la ayuda del análisis estadístico de ANOVA se pudo comprobar de mejor manera estos resultados. Con la prueba de Tukey, se mostró que, inicialmente, en el tiempo 0 horas, no existieron diferencias significativas entre las tres fuentes. Sin embargo, conforme avanzó el tiempo a las 10 horas haba y chocho si son diferentes significativamente, mientras que no hubo diferencias significativas entre quinua y chocho. A las 48 horas, el chocho mantuvo una mejor capacidad emulsificante, agrupándose en niveles superiores, mientras que el haba presentó una disminución moderada y la quinua la mayor pérdida de capacidad. Estos resultados sugieren que no solamente la cantidad de saponinas influye en la capacidad emulsificante, sino también su calidad estructural. Es posible que el tipo de saponinas presentes en el chocho, particularmente aquellas derivadas de estructuras oleanánicas, posean una mayor afinidad por la interfase aceite-agua o generen una capa más resistente alrededor de las gotas, favoreciendo la estabilidad [34]. Asimismo, el contenido de proteínas puede haber influido, ya que se ha reportado que las proteínas vegetales, por su naturaleza anfipática, contribuyen también a la estabilización de emulsiones [35]. De este modo, una interacción sinérgica entre saponinas y proteínas en el extracto de chocho podría haber fortalecido la película interfacial y lo contrario para la quinua. Estos resultados indican que, bajo condiciones evaluadas, las saponinas de chocho ofrecen una mayor estabilidad de la emulsión formada, y la quinua la menor estabilidad (ANEXO B).

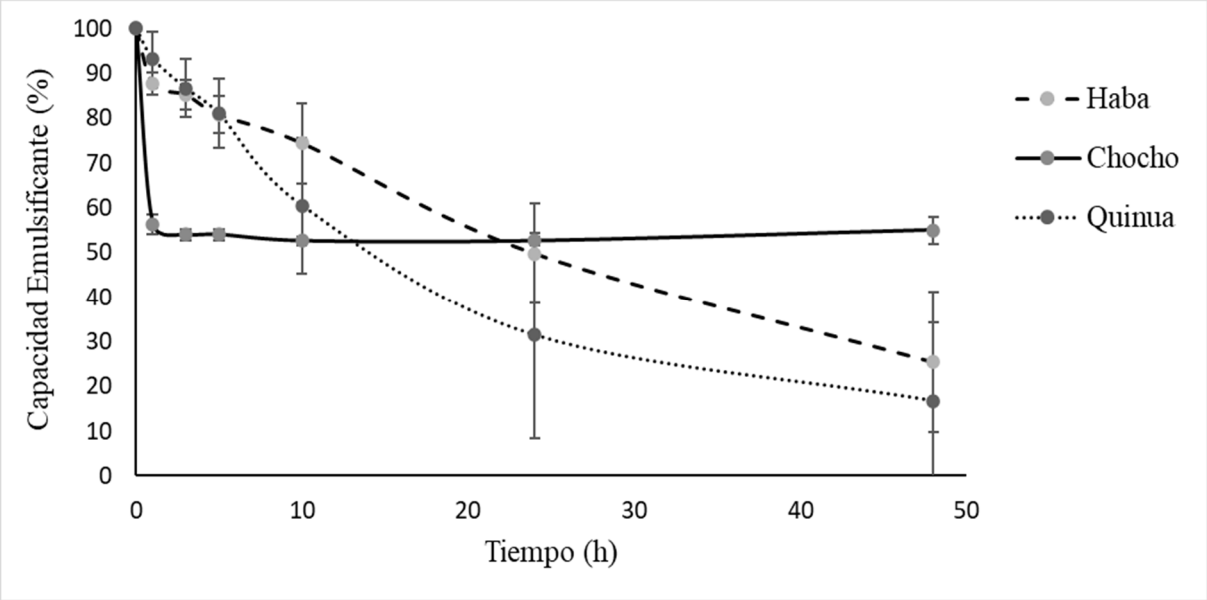


Figura 4. Capacidad espumante a diferentes tiempos usando manteca de cacao al 1% (p/v) y saponinas al 0.5% (p/v) de las tres fuentes de estudio.

3.5.Elaboración de micropartículas y tamaño de partículas.

En la figura 6, se observan las micropartículas obtenidas por el método de emulsión y evaporación de solvente, utilizando saponinas de haba (a), chocho (b) y quinua (c) como agentes emulsificantes, las cuales parecieron presentar forma esférica. A simple vista, se observó la diferencia en la distribución de las partículas formadas, los cuales se correlacionan con los valores obtenidos en la Tabla 1. El análisis cuantitativo de la Tabla 1 muestra que el diámetro de las micropartículas de haba fue de (2.922 ± 1.529) µm, mientras que para el chocho fue (2.735 ± 1.126) µm, seguido de la quinua con (2.886 ± 1.189) µm. Se pudo comprobar con ayuda de ANOVA, que no se encontraron diferencias significativas en el diámetro de las micropartículas de las tres fuentes analizadas ($p > 0.05$). Sin embargo, en cuanto a los histogramas correspondientes, las micropartículas de haba muestran una distribución relativamente amplia y dispersa; se observó que los valores de área de partículas se distribuyen de forma más heterogénea, con una mayor variabilidad en tamaños. Para las micropartículas de chocho, el histograma exhibe una distribución más sesgada hacia partículas de área pequeña, concentrándose la mayoría de las partículas en las menores dimensiones, lo que resulta en una distribución más homogénea. Esto sugiere, una emulsificación más eficiente y controlada en

comparación con haba. Y para las micropartículas de quinua el histograma también muestra una concentración importante de partículas en áreas pequeñas, pero presenta una ligera dispersión.

Estos resultados de distribución de micropartículas se relacionan directamente con los valores de capacidad emulsificante obtenidos anteriormente. En particular, el extracto de chocho, que presentó micropartículas con tendencia a un menor tamaño y más homogéneas, también mostró la mayor estabilidad emulsificante a lo largo de las 48 horas. Esta uniformidad en el tamaño de partículas favorece una película interfacial más densa y continua, contribuyendo a la estabilidad del sistema [36]. En cambio, el haba, con una distribución más dispersa, presentó una disminución moderada de su capacidad emulsificante en el tiempo, mientras que la quinua, que evidenció una dispersión ligeramente mayor, registró la mayor pérdida de capacidad emulsificante. De este modo, se evidencia que una emulsificación inicial más eficiente y homogénea se traduce en un mejor comportamiento de estabilidad de emulsiones a largo plazo, vinculando la morfología de las micropartículas con la capacidad emulsificante bajo las condiciones evaluadas. Estudios previos han demostrado que las saponinas, debido a su naturaleza anfifílica, pueden reducir la tensión interfacial y estabilizar emulsiones, lo que es coherente con los resultados obtenidos [34]. Los resultados obtenidos sugieren que, aunque todas las fuentes mostraron capacidad para formar emulsiones estables, las micropartículas a partir de saponinas de chocho tienden a ser ligeramente más pequeñas y uniformes; y podría estar relacionado con la estructura molecular y la conformación de las saponinas, como se ha observado en otros estudios ya analizados [34]

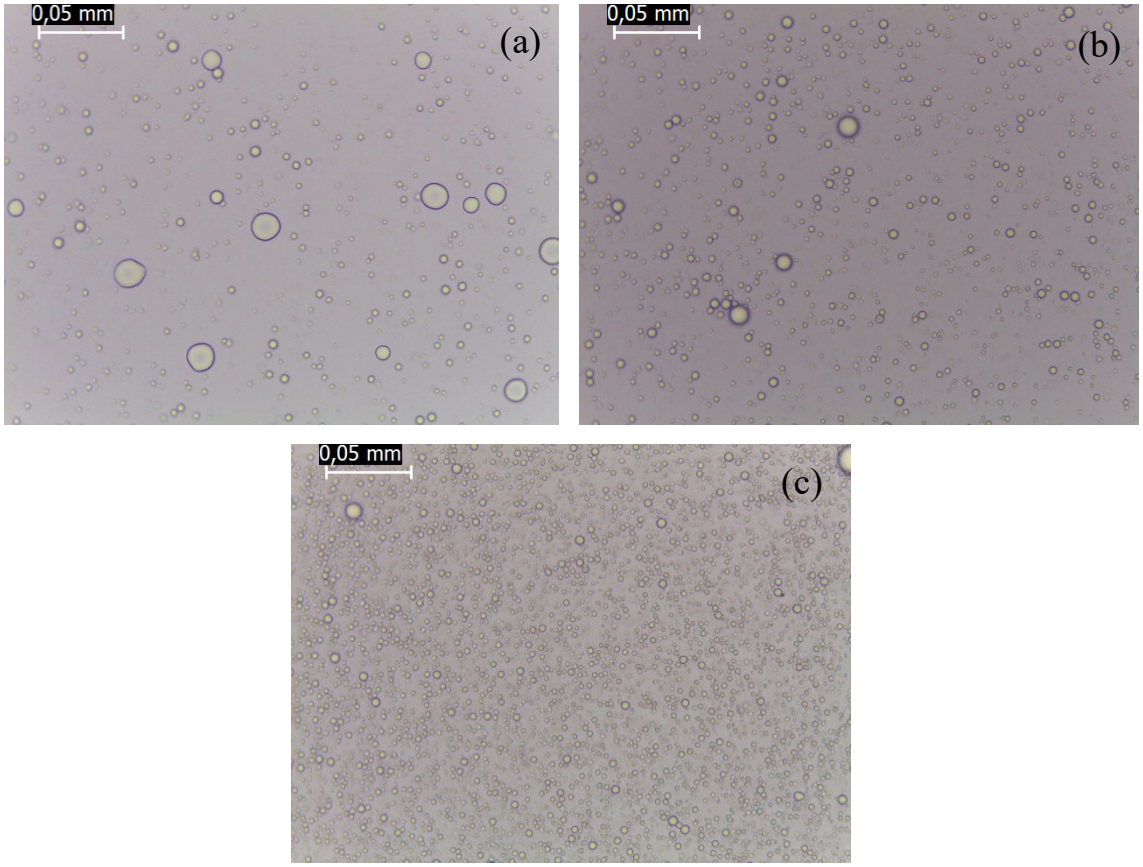
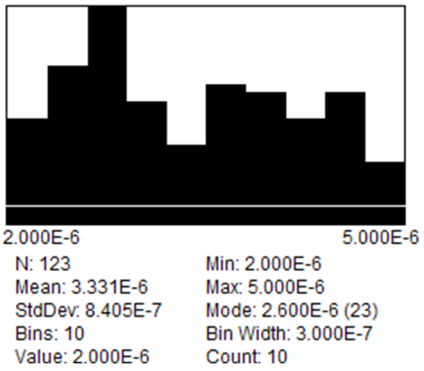
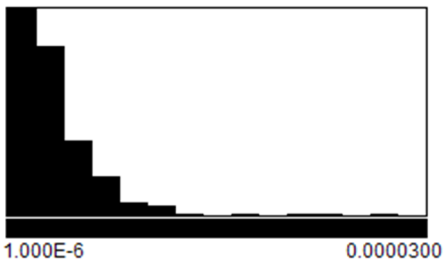
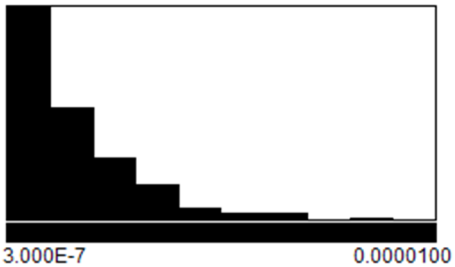


Figura 6. Micrografías de micropartículas manteca de cacao elaboradas por el método de emulsión y evaporación de solvente, utilizando saponinas de: a) haba, b) chocho y c) quinua.

Tabla 1. Diámetro promedio y distribución de área de micropartículas obtenidas de haba, chocho y quinua.

Fuente	**Diámetro de partícula (µm) ± Desviación Estándar**	**Distribuciones de área de partículas en el área ($m m^2$)**
Haba	2.922 ± 1,529	

Chocho	2,735 ± 1,126	
Quinua	2,886 ± 1,189	

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Entre las tres fuentes naturales analizadas, la opción potencialmente más apropiada para aplicaciones de microencapsulación fue las saponinas extraídas de chocho *(Lupinus mutabilis),* demostrando el mejor desempeño como agente emulsificante natural en un proceso de microencapsulación por emulsificación y evaporación de solvente. Este resultado se evidenció tanto en la capacidad de emulsificación estable a lo largo del tiempo, como en la formación de micropartículas de un tamaño moderado y homogéneas, indicando que el chocho podría ser una fuente de saponinas a emplear en aplicaciones donde se requiera alta eficiencia emulsificante. Aunque la quinua presentó mayor concentración de saponinas, el análisis de los resultados demostró que el rendimiento de extracción no está directamente relacionado con la capacidad emulsificante, por lo que es fundamental considerar no solo la cantidad sino también la funcionalidad de los extractos en futuras investigaciones en el "Laboratorio de Biomateriales". Por lo que se recomienda que en los estudios posteriores prioricen la evaluación funcional de los extractos más allá del simple porcentaje de las saponinas extraídas. Así mismo, se identificó que el proceso de extracción juega un papel importante para poder obtener resultados adecuados, ya que si no existe una buena eliminación del solvente durante la etapa de rotaevaporar la muestra puesta esta interferir en la eficiencia de la cuantificación de las saponinas y el resto de las pruebas realizadas. Por tanto, se recomienda optimizar las condiciones de operación del rotavapor, como la temperatura y el tiempo de evaporación. Además, durante la caracterización de los extractos de saponinas se detectó la presencia de proteínas; esto sugiere que no solo las saponinas podrían estar influyendo en la estabilidad de las emulsiones, por lo que se recomienda en futuros trabajos implementar técnicas de separación específicas, como la cromatografía líquida, que permita aislar y evaluar de manera independiente el efecto de las saponinas y las proteínas sobre las propiedades emulsificantes; de esta manera, se podría determinar de mejor manera el comportamiento observado.

Finalmente, como proyección de este análisis, se recomienda aplicar las saponinas de chocho

en la microencapsulación de un fármaco modelo, para evaluar no solo la eficiencia de encapsulación, sino también el perfil de liberación controlada. Esto permitirá validar la funcionalidad practica de las micropartículas obtenidas y ampliar sus aplicaciones.

5. REFERENCIAS

[1] S. Rios-Aguirre and M. A. Gil-Garzón, "Microencapsulación por secado por aspersión de compuestos bioactivos en diversas matrices: una revisión," *TecnoLógicas*, vol. 24, no. 51, p. e1836, May 2021, doi: 10.22430/22565337.1836.

[2] M. Á. García-Parra, N. Z. Plazas-Leguizamón, D. C. Carvajal Rodríguez, S. C. Ferreira Torrado, and J. D. Parra, "Descripción de las saponinas en quinua (Chenopodium quinoa willd) en relación con el suelo y el clima: Una revisión," *Informador Técnico*, vol. 82, no. 2, p. 241, Sep. 2018, doi: 10.23850/22565035.1451.

[3] S. Kaur and G. S. Dhillon, "The versatile biopolymer chitosan: potential sources, evaluation of extraction methods and applications," *Crit Rev Microbiol*, vol. 40, no. 2, pp. 155–175, May 2014, doi: 10.3109/1040841X.2013.770385.

[4] C. Y. Cheok, H. A. K. Salman, and R. Sulaiman, "Extraction and quantification of saponins: A review," *Food Research International*, vol. 59, pp. 16–40, May 2014, doi: 10.1016/j.foodres.2014.01.057.

[5] S. Rai, E. Acharya-Siwakoti, A. Kafle, H. P. Devkota, and A. Bhattarai, "Plant-Derived Saponins: A Review of Their Surfactant Properties and Applications," Dec. 01, 2021, *MDPI*. doi: 10.3390/sci3040044.

[6] K. A. G. Bustos *et al.*, "Saponin Molecules from Quinoa Residues: Exploring Their Surfactant, Emulsifying, and Detergent Properties," *Molecules*, vol. 29, no. 20, Oct. 2024, doi: 10.3390/molecules29204928.

[7] C. L. Reichert, H. Salminen, and J. Weiss, "Quillaja Saponin Characteristics and Functional Properties," *Annu. Rev. Food Sci. Technol*, vol. 10, pp. 43–73, 2025, doi: 10.1146/annurev-food-032818.

[8] K. Melissa Álvarez Narváez, "UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ Colegio de Ciencias e Ingeniería."

[9] J. Zhang, L. Liu, H. Liu, A. Yoon, S. S. H. Rizvi, and Q. Wang, “Changes in conformation and quality of vegetable protein during texturization process by extrusion,” *Crit Rev Food Sci Nutr*, vol. 59, no. 20, pp. 3267–3280, Nov. 2019, doi: 10.1080/10408398.2018.1487383.

[10] Damián Pazmiño, Jean Pier Zapata, Nelson Narváez, and Cynthia Chávez, “Semillas+andinas+ancestrales,” Jan. 2025, doi: https://doi.org/10.23857/dc.v11i1.4231.

[11] C. Y. Cheok, H. A. K. Salman, and R. Sulaiman, “Extraction and quantification of saponins: A review,” *Food Research International*, vol. 59, pp. 16–40, May 2014, doi: 10.1016/J.FOODRES.2014.01.057.

[12] Vicente Gianna, “Universidad Nacional de Córdoba,” 2013.

[13] P. Sáez-Plaza, M. J. Navas, S. Wybraniec, T. Michałowski, and A. G. Asuero, “An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish, and Quality Control,” *Crit Rev Anal Chem*, vol. 43, no. 4, pp. 224–272, Oct. 2013, doi: 10.1080/10408347.2012.751787.

[14] I. Nkafamiya, J. Honda, J. Eneche, and M. Haruna, “Extraction and Evaluation of a Saponin-base Surfactant from Cissus populnea Plant as an Emulsifying Agent,” *Asian Journal of Chemical Sciences*, vol. 4, no. 1, pp. 1–7, Mar. 2018, doi: 10.9734/ajocs/2018/39509.

[15] M. Rani, P. Choudhry, A. Kumar, and V. Chhokar, “Evaluation of saponins in Aloe vera by High-performance liquid chromatography and Fourier transform infrared spectroscopy,” *The Pharma Innovation Journal*, vol. 10, no. 9, pp. 1925–1933, 1925, [Online]. Available: http://www.thepharmajournal.com

[16] I. D. Rosca, F. Watari, and M. Uo, “Microparticle formation and its mechanism in single and double emulsion solvent evaporation,” *Journal of Controlled Release*, vol. 99, no. 2, pp. 271–280, Sep. 2004, doi: 10.1016/j.jconrel.2004.07.007.

[17] A. Carolina, H. Guzmán, V. Jeannette, and H. Carazo, “Efecto de la concentración de saponinas en la actividad hemolítica de extractos de ocho plantas de uso medicinal en

Guatemala."

[18] C. Triguero, Y. Rene, and M. Lozano, "CONCURSO PROINPA," Aug. 2021.

[19] G. Maribel Hernández-Bolívar *et al.*, "Nutritional Value of Bean Meal (Vicia faba L.) as Coporo fry Feedstuff," 2015.

[20] P. R. Berti, E. Villacrés, G. Segovia, N. Mazon, and E. Peralta, "Lupinus mutabilis Sweet, a traditional Ecuadorian grain: Fatty acid composition, use in the Ecuadorian food system, and potential for reducing malnutrition," 2013.

[21] Y. Wang *et al.*, "Recent Advances in Separation and Analysis of Saponins in Natural Products," Jul. 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/separations9070163.

[22] K. El Hazzam *et al.*, "An Insight into Saponins from Quinoa (Chenopodium quinoa Willd): A Review," *Molecules*, vol. 25, no. 5, p. 1059, Feb. 2020, doi: 10.3390/molecules25051059.

[23] O. L. Benavides, O. Arango, A. M. Hurtado, and M. C. Rojas, "Cuantificación de Sapogeninas del Jugo Fresco y Fermentado de Fique (Furcraea gigantea) mediante Cromatografía Liquida de Alta Resolución (HPLC-PDA)," *Información tecnológica*, vol. 23, no. 3, pp. 67–76, 2012, doi: 10.4067/S0718-07642012000300009.

[24] M. Penna, "Identificación de la sapogenina principal de una fracción de un crudo de sapogeninas de Quillaja saponaria Mol. Evaluación de su efecto sobre la expresión de COX-2 en células RAW 264.7," 2012.

[25] S. G. Sparg, M. E. Light, and J. van Staden, "Biological activities and distribution of plant saponins," *J Ethnopharmacol*, vol. 94, no. 2–3, pp. 219–243, Oct. 2004, doi: 10.1016/j.jep.2004.05.016.

[26] W. Oleszek and Z. Bialy, "Chromatographic determination of plant saponins—An update (2002–2005)," *J Chromatogr A*, vol. 1112, no. 1–2, pp. 78–91, Apr. 2006, doi: 10.1016/J.CHROMA.2006.01.037.

[27] M. Stuardo and R. San Martín, "Antifungal properties of quinoa (Chenopodium quinoa Willd)

alkali treated saponins against Botrytis cinerea," *Ind Crops Prod*, vol. 27, no. 3, pp. 296–302, May 2008, doi: 10.1016/J.INDCROP.2007.11.003.

[28] A. Dowell, G. Davidson, and D. Ghosh, "Validation of Quantitative HPLC Method for Bacosides in KeenMind," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2015, pp. 1–8, 2015, doi: 10.1155/2015/696172.

[29] M. Yu, Y. J. Shin, N. Kim, G. Yoo, S. J. Park, and S. H. Kim, "Determination of Saponins and Flavonoids in Ivy leaf extracts using HPLC-DAD," *J Chromatogr Sci*, vol. 53, no. 4, pp. 478–483, Apr. 2015, doi: 10.1093/chromsci/bmu068.

[30] C.-H. Tang, "Emulsifying properties of soy proteins: A critical review with emphasis on the role of conformational flexibility," *Crit Rev Food Sci Nutr*, vol. 57, no. 12, pp. 2636–2679, Aug. 2017, doi: 10.1080/10408398.2015.1067594.

[31] H. Hu, E. C. Y. Li-Chan, L. Wan, M. Tian, and S. Pan, "The effect of high intensity ultrasonic pre-treatment on the properties of soybean protein isolate gel induced by calcium sulfate," *Food Hydrocoll*, vol. 32, no. 2, pp. 303–311, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.01.016.

[32] A. Isaías, B. Lujan, and D. B. Acosta, "EXTRACCION Y PROPIEDADES TECNOFUNCIONALES DE PROTEINA DE QUINUA (Chenopodium quínoa willd) DE LAS VARIEDADES BLANCA JUNIN Y ROSADA JUNIN CAPÍTULO 1," 2022. [Online]. Available: https://orcid.org/0000-0002-3814-5251

[33] A. Vilotte, H. Bodiguel, K. Ako, D. Z. Gunes, C. Schmitt, and C. de Loubens, "Kinetic and structural characterization of whey protein aggregation in a millifluidic continuous process," *Food Hydrocoll*, vol. 110, p. 106137, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.foodhyd.2020.106137.

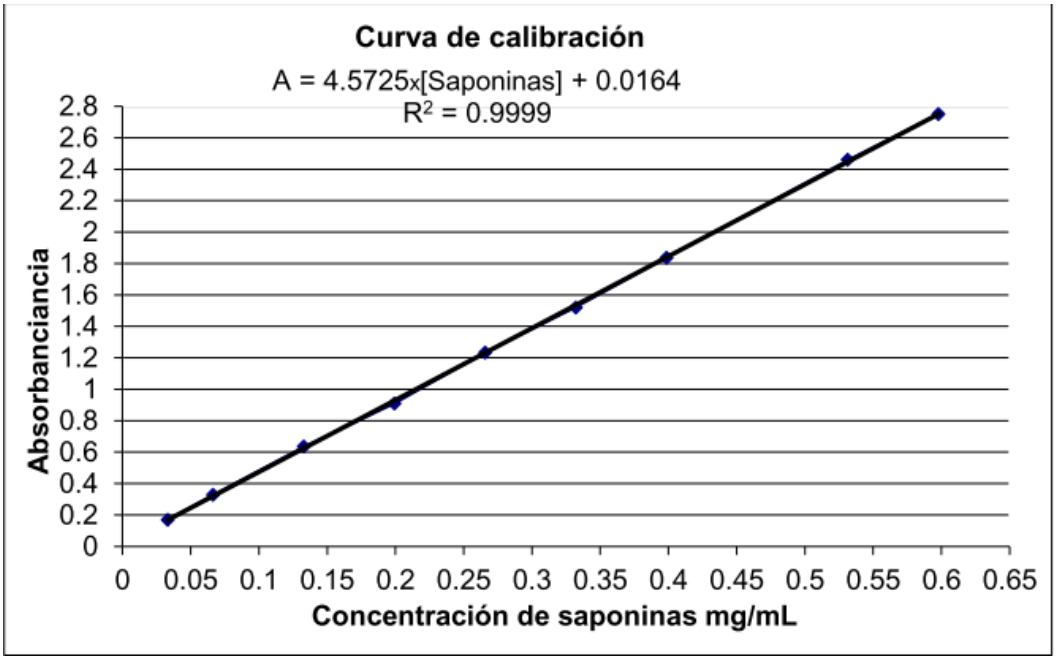
[34] G. J. Góngora Chi, J. Lizardi Mendoza, Y. López Franco, M. López Mata, and L. Quihui Cota, "Métodos de extracción, funcionalidad y bioactividad de saponinas de Yucca: una revisión," *Biotecnia*, vol. 25, no. 1, pp. 147–155, Dec. 2022, doi: 10.18633/biotecnia.v25i1.1800.

[35] C. De Biotecnología, “DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD EMULSIONANTE DE PROTEÍNA EXTRAÍDA DE LA ARVEJA (PISUM SATIVUM L.) PARA SU APROVECHAMIENTO Y VALORIZACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA,” 2022.

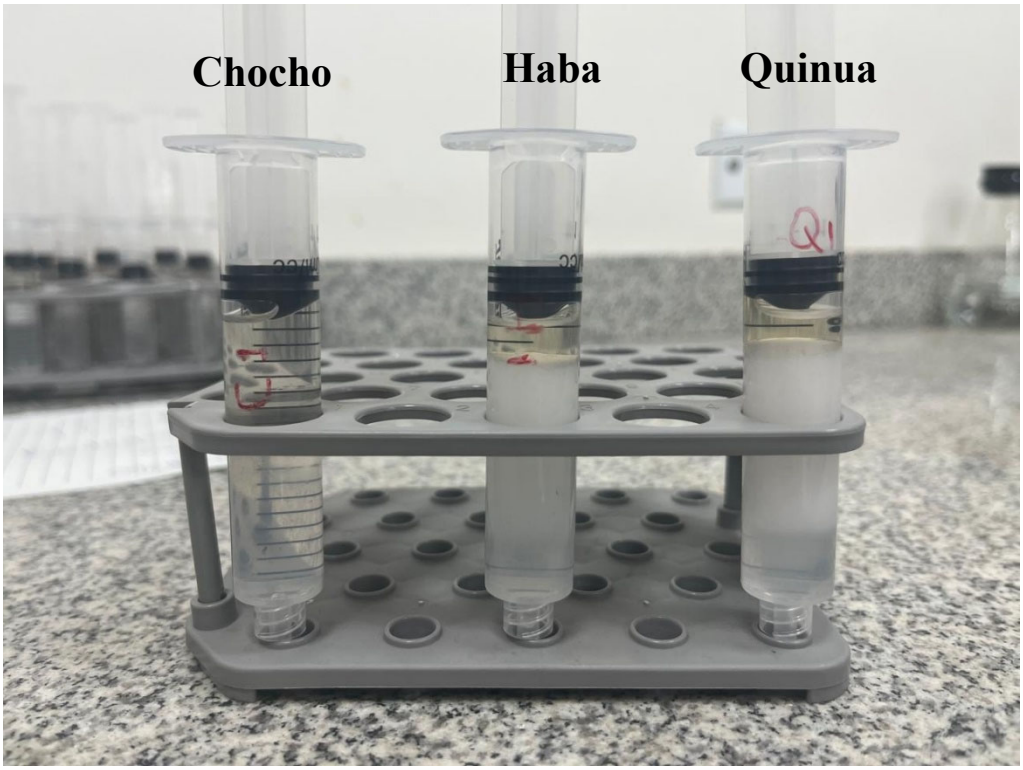
[36] L. Tolosa, “EMULSIONES ESTABILIZADAS con PARTICULAS (Emulsiones de PICKERING),” 2016.

6. ANEXOS

6.1.ANEXO A: CURVA DE CALIBRACIÓN DE SAPONINAS



6.2.ANEXO B: CAPACIDAD EMULSIFICANTE



6.3.ANEXO C: RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) EN LA CUANTIFICACIÓN DE SAPONINAS.

General Linear Model: % saponinas versus Fuente

Method

Factor coding (-1; 0; +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Fuente	Fixed	3	Chocho; Haba; Quinua

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Fuente	2	3,98740	1,99370	454898,96	0,000
Error	6	0,00003	0,00000		
Total	8	3,98742			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0020935	100,00%	100,00%	100,00%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	1,08044	0,00070	1548,28	0,000	
Fuente					
Chocho	-0,701018	0,000987	-710,33	0,000	1,33
Haba	-0,193547	0,000987	-196,12	0,000	1,33

Regression Equation

% saponinas = 1,08044 - 0,701018 Fuente_Chocho - 0,193547 Fuente_Haba
+ 0,894565 Fuente_Quinua

Comparisons for % saponinas

Tukey Pairwise Comparisons: Response = % saponinas, Term = Fuente

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Fuente	N	Mean	Grouping

Quinua 3 1,97501 A
Haba 3 0,88690 B
Chocho 3 0,37942 C

Means that do not share a letter are significantly different.

6.4.ANEXO D: RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) EN LA CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS.

General Linear Model: Proteína versus Fuente

Method

Factor coding (-1; 0; +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Fuente	Fixed	3	Chocho; Haba; Quinua

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Fuente	2	1,112	0,5561	1,51	0,294
Error	6	2,206	0,3676		
Total	8	3,318			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,606319	33,52%	11,36%	0,00%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	4,317	0,202	21,36	0,000	
Fuente					
Chocho	-0,193	0,286	-0,68	0,524	1,33
Haba	-0,300	0,286	-1,05	0,334	1,33

Regression Equation

Proteína = 4,317 - 0,193 Fuente_Chocho - 0,300 Fuente_Haba + 0,493 Fuente_Quinua

General Linear Model: Proteína versus Fuente

Method

Factor coding (-1; 0; +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values

Fuente Fixed 3 Chocho; Haba; Quinua

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Fuente	2	1,112	0,5561	1,51	0,294
Error	6	2,206	0,3676		
Total	8	3,318			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,606319	33,52%	11,36%	0,00%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	4,317	0,202	21,36	0,000	
Fuente					
Chocho	-0,193	0,286	-0,68	0,524	1,33
Haba	-0,300	0,286	-1,05	0,334	1,33

Regression Equation

Proteína = 4,317 - 0,193 Fuente_Chocho - 0,300 Fuente_Haba + 0,493 Fuente_Quinua

6.5.ANEXO E: RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) EN LA CAPACIDAD EMULSIFICANTE.

General Linear Model: Capacidad Emulsificante versus Tiempo; Fuente

Method

Factor coding (-1; 0; +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Tiempo	Fixed	7	0; 1; 3; 5; 10; 24; 48
Fuente	Fixed	3	Chocho; Haba; Quinua

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tiempo	6	3,6561	0,609343	75,31	0,000
Fuente	2	0,1786	0,089289	11,04	0,000
Tiempo*Fuente	12	1,1296	0,094130	11,63	0,000
Error	63	0,5098	0,008091		
Total	83	5,4740			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0899521	90,69%	87,73%	83,44%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	0,66554	0,00981	67,81	0,000	
Tiempo					
0	0,3345	0,0240	13,91	0,000	1,71
1	0,1256	0,0240	5,23	0,000	1,71
3	0,0876	0,0240	3,64	0,001	1,71
5	0,0537	0,0240	2,23	0,029	1,71
10	-0,0404	0,0240	-1,68	0,098	1,71
24	-0,2194	0,0240	-9,12	0,000	1,71
Fuente					
Chocho	-0,0590	0,0139	-4,25	0,000	1,33
Haba	0,0535	0,0139	3,86	0,000	1,33
Tiempo*Fuente					
0 Chocho	0,0590	0,0340	1,74	0,087	2,29
0 Haba	-0,0535	0,0340	-1,57	0,120	2,29
1 Chocho	-0,1685	0,0340	-4,96	0,000	2,29
1 Haba	0,0322	0,0340	0,95	0,348	2,29
3 Chocho	-0,1541	0,0340	-4,53	0,000	2,29
3 Haba	0,0456	0,0340	1,34	0,184	2,29

5	Chocho	-0,1202	0,0340	-3,54	0,001	2,29
5	Haba	0,0351	0,0340	1,03	0,306	2,29
10	Chocho	-0,0402	0,0340	-1,18	0,242	2,29
10	Haba	0,0658	0,0340	1,94	0,057	2,29
24	Chocho	0,1388	0,0340	4,08	0,000	2,29
24	Haba	-0,0017	0,0340	-0,05	0,960	2,29

Regression Equation

Capacidad Emulsificante = 0,66554 + 0,3345 Tiempo_0 + 0,1256 Tiempo_1 + 0,0876 Tiempo_3
+ 0,0537 Tiempo_5 - 0,0404 Tiempo_10 - 0,2194 Tiempo_24
- 0,3416 Tiempo_48 - 0,0590 Fuente_Chocho + 0,0535 Fuente_Haba
+ 0,0055 Fuente_Quinua + 0,0590 Tiempo*Fuente_0 Chocho
- 0,0535 Tiempo*Fuente_0 Haba - 0,0055 Tiempo*Fuente_0 Quinua
- 0,1685 Tiempo*Fuente_1 Chocho + 0,0322 Tiempo*Fuente_1 Haba
+ 0,1364 Tiempo*Fuente_1 Quinua - 0,1541 Tiempo*Fuente_3 Chocho
+ 0,0456 Tiempo*Fuente_3 Haba + 0,1085 Tiempo*Fuente_3 Quinua
- 0,1202 Tiempo*Fuente_5 Chocho + 0,0351 Tiempo*Fuente_5 Haba
+ 0,0851 Tiempo*Fuente_5 Quinua - 0,0402 Tiempo*Fuente_10 Chocho
+ 0,0658 Tiempo*Fuente_10 Haba - 0,0256 Tiempo*Fuente_10 Quinua
+ 0,1388 Tiempo*Fuente_24 Chocho - 0,0017 Tiempo*Fuente_24 Haba
- 0,1370 Tiempo*Fuente_24 Quinua + 0,2853 Tiempo*Fuente_48 Chocho
- 0,1234 Tiempo*Fuente_48 Haba - 0,1618 Tiempo*Fuente_48 Quinua

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	Capacidad Emulsificante	Fit	Resid	Std Resid	
57	0,8077	0,6051	0,2026	2,60	R
60	0,4423	0,6051	-0,1627	-2,09	R
69	0,6154	0,3146	0,3007	3,86	R
72	0,0577	0,3146	-0,2569	-3,30	R
73	0,4468	0,2540	0,1928	2,48	R
76	0,0638	0,2540	-0,1902	-2,44	R
81	0,4286	0,1676	0,2610	3,35	R

R Large residual

Comparisons for Capacidad Emulsificante

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Capacidad Emulsificante, Term = Tiempo

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Tiempo	N	Mean	Grouping			
0	12	1,00000	A			
1	12	0,79117		B		
3	12	0,75316		B		
5	12	0,71923		B	C	
10	12	0,62516			C	
24	12	0,44619				D
48	12	0,32390				E

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Simultaneous 95% CIs

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Capacidad Emulsificante, Term = Fuente

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Fuente	N	Mean	Grouping
Haba	28	0,719064	A
Quinua	28	0,671043	A
Chocho	28	0,606526	B

Means that do not share a letter are significantly different.

6.6.ANEXO F: RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) EN EL DIÁMETRO DE PARTÍCULA.

General Linear Model: Diametro de particula versus Fuente

Method

Factor coding (-1; 0; +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Fuente	Fixed	3	Chocho; Haba; Quinua

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Fuente	2	0,000007	0,000003	2,13	0,119
Error	960	0,001487	0,000002		
Total	962	0,001494			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0012448	0,44%	0,24%	0,00%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	0,002847	0,000042	67,83	0,000	
Fuente					
Chocho	-0,000113	0,000055	-2,07	0,039	1,44
Haba	0,000075	0,000065	1,14	0,255	1,44

Regression Equation

Diametro de particula = 0,002847 - 0,000113 Fuente_Chocho + 0,000075 Fuente_Haba
+ 0,000038 Fuente_Quinua

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	Diametro de particula	Fit	Resid	Std Resid	
1	0,010000	0,002922	0,007078	5,70	R
2	0,010000	0,002922	0,007078	5,70	R
3	0,010000	0,002922	0,007078	5,70	R
4	0,010000	0,002922	0,007078	5,70	R
5	0,009000	0,002922	0,006078	4,89	R

6	0,009000	0,002922	0,006078	4,89	R
7	0,009000	0,002922	0,006078	4,89	R
8	0,008000	0,002922	0,005078	4,09	R
9	0,007000	0,002922	0,004078	3,28	R
206	0,010000	0,002735	0,007265	5,84	R
207	0,010000	0,002735	0,007265	5,84	R
208	0,009000	0,002735	0,006265	5,04	R
209	0,009000	0,002735	0,006265	5,04	R
210	0,009000	0,002735	0,006265	5,04	R
211	0,007000	0,002735	0,004265	3,43	R
212	0,006000	0,002735	0,003265	2,63	R
632	0,010000	0,002886	0,007114	5,72	R
633	0,010000	0,002886	0,007114	5,72	R
634	0,010000	0,002886	0,007114	5,72	R
635	0,008000	0,002886	0,005114	4,12	R
636	0,007000	0,002886	0,004114	3,31	R
637	0,006000	0,002886	0,003114	2,51	R

R Large residual

General Linear Model: Diametro de particula versus Fuente

Method

Factor coding (-1; 0; +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Fuente	Fixed	3	Chocho; Haba; Quinua

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Fuente	2	0,000007	0,000003	2,13	0,119
Error	960	0,001487	0,000002		
Total	962	0,001494			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0012448	0,44%	0,24%	0,00%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	0,002847	0,000042	67,83	0,000	
Fuente					
Chocho	-0,000113	0,000055	-2,07	0,039	1,44
Haba	0,000075	0,000065	1,14	0,255	1,44

Regression Equation

Diametro de particula = 0,002847 - 0,000113 Fuente_Chocho + 0,000075 Fuente_Haba
+ 0,000038 Fuente_Quinua

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	Diametro de particula	Fit	Resid	Std Resid	
1	0,010000	0,002922	0,007078	5,70	R
2	0,010000	0,002922	0,007078	5,70	R
3	0,010000	0,002922	0,007078	5,70	R
4	0,010000	0,002922	0,007078	5,70	R
5	0,009000	0,002922	0,006078	4,89	R
6	0,009000	0,002922	0,006078	4,89	R
7	0,009000	0,002922	0,006078	4,89	R
8	0,008000	0,002922	0,005078	4,09	R
9	0,007000	0,002922	0,004078	3,28	R
206	0,010000	0,002735	0,007265	5,84	R
207	0,010000	0,002735	0,007265	5,84	R
208	0,009000	0,002735	0,006265	5,04	R
209	0,009000	0,002735	0,006265	5,04	R
210	0,009000	0,002735	0,006265	5,04	R
211	0,007000	0,002735	0,004265	3,43	R
212	0,006000	0,002735	0,003265	2,63	R
632	0,010000	0,002886	0,007114	5,72	R
633	0,010000	0,002886	0,007114	5,72	R
634	0,010000	0,002886	0,007114	5,72	R
635	0,008000	0,002886	0,005114	4,12	R
636	0,007000	0,002886	0,004114	3,31	R
637	0,006000	0,002886	0,003114	2,51	R

R Large residual

Comparisons for Diametro de particula

Tukey Pairwise Comparisons: Response = Diametro de particula, Term = Fuente

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Fuente	N	Mean	Grouping
Haba	205	0,0029220	A
Quinua	332	0,0028855	A
Chocho	426	0,0027347	A

Means that do not share a letter are significantly different.