



**Benemérita
Universidad Autónoma de Puebla**

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

**“Propuesta para el aprovechamiento y
disminución de desechos de Alfalfa (Medicago
Sativa) generados en el municipio de
Nealtican, Puebla”**

TESINA

Que para obtener el Título de:

Licenciatura en Ingeniería Ambiental

Presenta:

CASTRO RAMÍREZ VIOLETA JANIN

Director de Tesina:

M.A. TANIA MEZA GASPAR

Puebla, Pue.

Abril 2021.



Oficio No. FIQ/AC/096/2021
Asunto: Registro de Tema de Tesina

C. CASTRO RAMÍREZ VIOLETA JANIN
PASANTE DE LA LICENCIATURA EN
INGENIERÍA AMBIENTAL
P R E S E N T E

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesina de la Licenciatura en Ingeniería Ambiental cuyo título es el siguiente:

"Propuesta para el aprovechamiento y disminución de desechos de alfalfa (Medicago Sativa) generados en el municipio de Nealtican, Puebla"

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN


CAPÍTULO 1	ANTECEDENTES
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA

Directora de Tesina: M.A. Tania Meza Gaspar.

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **UNICAMENTE POR UN AÑO**.

Atentamente
"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"
H. Puebla de Z., a 22 de marzo de 2021


Dra. Valeria Jordana González Coronado
Secretaría Académica



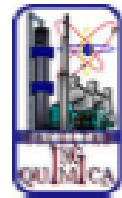
C.c.p. Directora de Tesina: M.A. Tania Meza Gaspar.
C.c.p. Archivo.

Facultad
de Ingeniería
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San
Miguel, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue, C.P. 72590
01 022 229 35 00
Cels. 7262 y 7263



**Benemérita
Universidad Autónoma de
Puebla**



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

CIUDAD UNIVERSITARIA

Mtra. María Elena Ruiz Velasco
Directora de la Administración Escolar
de la BUAP
Presente

ASUNTO:
AUTORIZACIÓN
IMPRESIÓN DE TESINA

Por este conducto me permito presentar a Ud. al C. pasante de la carrera de Ingeniería Ambiental.

CASTRO RAMÍREZ VIOLETA JANIN

Quién presenta como tema de registro de Tesina:

“Propuesta para el aprovechamiento y disminución de desechos de Alfalfa (*Medicago Sativa*) generados en el municipio de Nealtican, Puebla”

La cual ha sido debidamente revisada y se autoriza para su impresión correspondiente.

Sin otro particular y para los fines que se estimen conducentes reitero mi distinción.

ATENTAMENTE

“Pensar Bien, para Vivir Mejor”
H. Puebla de Z., a 02 de marzo de 2021.

Profra. Tania Meza Gaspar
Director de Tesina.

Índice

Introducción.....	1
Planteamiento del problema.....	3
Objetivos.....	4
General.....	4
Específico.....	4
Alcance y limitaciones.....	4
Justificación.....	5
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....	6
Antecedentes.....	6
Saponinas.....	7
Saponina de alfalfa (<i>Medicago Sativa</i>).....	12
Lugar y Producción de alfalfa.....	15
Tipos de extracción de Compuestos de Interés.....	16
Ensayos físico – químicos cuantitativos.....	20
CAPÍTULO II: METODOLOGÍA.....	22
Descripción del equipo y material usado.....	22
Pruebas preliminares.....	23
Metodología.....	25
Etapa I.....	26
Etapa II.....	27
Etapa III.....	28
CAPÍTULO III: CÁLCULOS Y RESULTADOS.....	29
Propuesta de aplicación para el municipio.....	39
CONCLUSIONES.....	41
Bibliografía.....	43

Índice de Imágenes

Imagen 1. Estructura de las saponinas más representativas.....	8
Imagen 2. Estructura de la digitonina.	10
Imagen 3. Flor de Alfalfa.....	13
Imagen 4. Ubicación de la procedencia de la materia prima.	29
Imagen 5. Alfalfa cortada en trozos y pesaje	30
Imagen 6. Secado de la Alfalfa.....	30
Imagen 7. Molienda y tamizado de la alfalfa.....	30
Imagen 8. Macerado de las muestras.....	32
Imagen 9. Filtrado del macerado de las muestra.....	32
Imagen 10. Evaporación de la solución.	33
Imagen 11. Muestra menor a 850 micrones.....	35
Imagen 12. Muestra mayor a 850 micrones.....	35
Imagen 13. Prueba afrosimétrica (concentración).	37

Índice de Tablas

Tabla 1. Contenido de Saponinas en plantas alimenticias.	9
Tabla 2. Actividades primarias	16
Tabla 3. Variables de control	23
Tabla 4. Evaluación de la prueba Afrosimétrico.....	28
Tabla 5. Cantidad de muestra obtenida por tamaño de partícula	31
Tabla 6. Resultados de la prueba afrosimétrica (tiempo y tamaño de partícula).	33
Tabla 7. Cantidad de muestra obtenida.....	35
Tabla 8. Preparación de muestras a macerar.....	36
Tabla 9. Resultados obtenidos (concentración)... ..	37
Tabla 10. Datos para obtener la cantidad de extracto.	38

Introducción

Uno de los problemas ambientales más trascendentales dentro del municipio de Nealtican, ubicado en el estado de Puebla, es a causa del uso de tensoactivos y fosfatos que contienen los productos de limpieza ya que son de uso cotidiano, sin embargo, provocan grandes impactos en el suelo y agua. Y de acuerdo con la revista Forbes el mercado de los detergentes en México es de un valor de 33,000 millones de pesos. (Salvatierra, 2016)

Antes de la segunda guerra mundial se tuvo la necesidad de sintetizar compuestos orgánicos (tensoactivos derivados del petróleo) que igualaran o mejoraran las características que presentan los jabones, pero durante los años cincuenta se descubrió que estos no eran biodegradables. (Cappetta, 2017)

Estudios demostraron que los productos de limpieza principalmente detergentes que contienen tensoactivos derivados del petróleo al mezclarse con los desinfectantes dentro de las plantas de tratamiento de aguas residuales forman sustancias que provocan un tipo de cáncer. Los expertos afirman que estas sustancias, llamadas nitrosaminas, podrían llegar al agua potable.

Algunos de estos surfactantes (tensoactivos) biodegradables son las saponinas las cuales pueden obtenerse de manera sintética o naturalmente de microorganismos como bacterias u hongos e incluso de algunas plantas, dentro de ellas están las siguientes: alfalfa, guaraná, saponaria y tomillo.

De los alimentos que contienen saponinas, las más comúnmente encontrada en México es la alfalfa producida principalmente en Puebla, Chihuahua, Hidalgo, Baja California, Coahuila, San Luis Potos, Sonora y Guanajuato. Cabe resaltar que el Estado de Puebla es uno de los nueve principales productores de alfalfa en todo el país, con sembradíos en las regiones de Tehuacán, Tecamachalco, Libres y Cholula (SAGARPA-SIAP , 2015). En la región de Cholula, específicamente el municipio de Nealtican tiene como actividades primarias la agricultura siendo la alfalfa verde, frijol y el grano de maíz los principales y la ganadería siendo los principales el ganado

bovino, porcino, ovino, ganado equino y la cunicultura (cría de conejos). Por lo tanto, en este proyecto se usarán residuos de alfalfa para la obtención de saponinas naturales, teniendo al municipio antes mencionado como proveedor conveniente para este desecho.

La ventaja de extraer las saponinas de alfalfa comparada con otros tensoactivos naturales como lo son los biotensoactivos los cuales son producidos por microorganismos como bacterias u hongos en ocasiones patógenos, es el método de extracción ya que el comúnmente empleado en alimentos o plantas es el de maceración o extracción sólido-líquido lo cual implica menos materiales y menos costo a diferencia de obtener los tensoactivos de una bacteria u hongo.

Dicho lo anterior, el presente trabajo pretende aportar información para ofrecer una alternativa al empleo de tensoactivos derivados del petróleo, responsables de producir espuma en los productos de limpieza, pero también de contaminar el agua. Al sustituir el uso de tensoactivos derivados del petróleo en los productos de limpieza por saponinas naturales tendrá un efecto menos agresivo al medio ambiente, gracias a la adición de un compuesto presente en las plantas. Además, se dará un valor añadido a un desecho generado dentro del municipio de Nealtican y de esta manera beneficiar a la comunidad en un futuro, aprovechando en su totalidad uno de los principales cultivos del área.

Planteamiento del problema

Una de las actividades primarias del municipio de Nealtican ubicado en el Estado de Puebla, es la agricultura y la ganadería, siendo los cultivos principales la alfalfa verde, frijol y maíz, y dentro del ganado principal se encuentran el ganado bovino, porcino, ovino, ganado equino y el conejo teniendo como alimento principal la alfalfa en sus distintas presentaciones, la mayoría del ganado consume totalmente la planta, sin embargo, ganado como el conejo en ocasiones no consumen la planta completa. Debido a que los conejos no consumen la Alfalfa completamente se producen los residuos de esta planta en los distintos hogares en el municipio de Nealtican, que los pobladores en ocasiones no desechan de manera correcta.

Otra de la problemática en el municipio es la contaminación de agua y suelo principalmente por detergentes. Este tipo de productos contienen tensoactivos artificiales los cuales al mezclarse con desinfectantes forman nitrosaminas, y estas a su vez afectan a la salud de la población provocando cáncer. (National Geographic, 2012)

Antes de la segunda guerra mundial se comenzaron a sintetizar compuestos orgánicos (tensoactivos derivados del petróleo) que igualaran o mejoraran las características que presentan los jabones, pero durante los años cincuenta se descubrió que estos no eran biodegradables. (Cappetta, 2017) A partir de 1965, se empezaron a obtener detergentes biodegradables, aunque su preparación es más costosa que la de los no biodegradables, tienen beneficios sobre el medio ambiente contribuyendo a la preservación de los recursos naturales los cuales son mucho

Algunos de estos tensoactivos biodegradables son las saponinas las cuales pueden obtenerse de manera sintética o naturalmente de algunas plantas, como: alfalfa, guaraná, saponaria y tomillo. De los alimentos que contienen saponinas, la más comúnmente encontrada en el Estado de Puebla es la alfalfa, siendo uno de los nueve principales productores en todo el país, con sembradíos en las regiones de Tehuacán, Tecamachalco, Libres y Cholula (Nealtican). (SAGARPA-SIAP , 2015).

Objetivos

General.

- ✓ Aprovechar los desechos de Alfalfa (*Medicago Sativa*) mediante la obtención de saponinas (materia prima) como alternativa para reducir el impacto ambiental ocasionado por el consumo de tensoactivos artificiales en el municipio de Nealtican.

Específico.

- ✓ Recolectar los desechos de Alfalfa que se generan.
- ✓ Extraer y cualificar saponina mediante maceración en solución de etanol-agua.
- ✓ Semicuantificar la saponina por método afrosimétrico.
- ✓ Proponer el uso de las saponinas para distintos productos usados en la comunidad.

Alcance y limitaciones

En este proyecto se realiza una propuesta de metodología sustentable aplicada para la obtención de saponinas naturales proveniente de los desechos de alfalfa que se producen en el municipio de Nealtican ubicado en el estado de Puebla, para así dar un aprovechamiento total de la planta y emplear las saponinas como materia prima alterna en el uso de productos de limpieza sin dañar el medio ambiente.

Justificación

Los problemas ambientales más trascendentales son a causa del uso de tensoactivos y fosfatos en la fabricación de productos de limpieza ya que son de uso cotidiano, sin embargo, provocan grandes impactos en el suelo y agua. Y de acuerdo con la revista Forbes el mercado de los detergentes en México es de un valor de 33,000 millones de pesos. (Salvatierra, 2016)

En este proyecto se usarán desechos de alfalfa (*Medicago Sativa*) para la obtención de saponinas naturales, teniendo al municipio de Nealtican con ubicación en la región de Puebla, un proveedor conveniente para este desecho. La alfalfa tiene como característica compuestos antinutritivos para el ganado, entre los que destacan las saponinas y los taninos solubles, además de que las saponinas se encuentran en mayor cantidad en la alfalfa comparado con otros alimentos, aunado a esto, no se genera un impacto negativo al aprovechar los residuos agrícolas.

La ventaja de extraer las saponinas de alfalfa comparando con otros tensoactivos naturales como lo son los biotensoactivos, producidos por microorganismos como bacterias u hongos en ocasiones patógenos, es el método de extracción, ya que el comúnmente empleado en alimentos o plantas es el de maceración o extracción sólido-líquido, lo que implica menos materiales y menor costo a diferencia de obtener los tensoactivos de una bacteria u hongo.

Dicho lo anterior, el presente trabajo pretende aportar información para ofrecer una alternativa ecológica y sustentable al empleo de tensoactivos derivados del petróleo, quienes son responsables de producir espuma en los productos de limpieza, pero también de contaminar el agua. Al sustituir el uso de tensoactivos derivados del petróleo en los productos de limpieza por saponinas naturales tendrá un efecto menos agresivo al medio ambiente, gracias a la adición de un compuesto extraído en las plantas. Además de que se le dará un valor añadido a un desecho generado dentro del municipio de Nealtican y de esta manera beneficiar a esta comunidad en un futuro, aprovechando en su totalidad uno de los principales cultivos del área.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.

Antecedentes

Debido a la escasez de grasa antes de la segunda guerra mundial se tuvo la necesidad de sintetizar compuestos orgánicos que igualaran o mejoraran las características que presentan los jabones, naciendo así el primer detergente en polvo llamado “Dreft “. No obstante, durante los años cincuenta se descubrió que dichos detergentes no eran biodegradables.

A partir de 1965, se empezaron a obtener detergentes biodegradables, aunque la preparación de éstos es más costosa que la de los no biodegradables, tienen beneficios sobre el medio ambiente y la preservación de los recursos naturales.

La biodegradación es un proceso biológico mediante el cual los microorganismos descomponen a formas más simples la materia orgánica como parte de su metabolismo.

Desde sus inicios la sociedad ha hecho uso de una gran variedad de productos de higiene, sin embargo, no fue hasta el siglo pasado que se creó la industria química orientada a mejorar la acción y efectos de dichos productos. Actualmente la sociedad tiene a volver nuevamente al uso de productos naturales, independiente de la edad que se tenga, esto debido a que dichos productos suelen ser orgánicos, inocuos y no nocivos para la salud: además de generar una nueva conciencia ecológica mediante la optimización y aprovechamiento de los recursos naturales. (Allauca, 2013).

Los productos empleados en higiene han sido los mismos que se han descrito a través de la historia y sólo en este siglo se ha desarrollado una avanzada tecnología en la limpieza en específico del cabello y cuero cabelludo. (Felipe Ochoa y Asociados, S.C)

Saponinas

Las saponinas (del latín *sapo*, "jabón") son un grupo de glucósidos oleosos, los cuales son solubles en agua produciendo espumosis cuando las soluciones son agitadas son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamadas así por sus propiedades semejantes a las del jabón: cada molécula está constituida por un elemento soluble en lípidos (el esteroide o el triterpenoide) y un elemento soluble en agua (el azúcar). Estas sustancias presentan una serie de características, tales como no ser nutritivas, además de ofrecer protección frente a agentes externos. Son nutrientes no esenciales, lo que significa que no son requeridos por el cuerpo humano para mantener la vida.

Las saponinas esteroides o esteroidales, reciben esta denominación debido a que su estructura molecular se puede identificar con la de hormonas esteroides del cuerpo, por ejemplo, estrógenos y testosterona. En este sentido, introducir como suplemento este tipo de saponinas podría ayudar a optimizar el entorno hormonal de nuestro cuerpo estimulando el crecimiento muscular y elevando los niveles de testosterona, y apoyar, por tanto, el rendimiento físico. Estos principios activos están relacionados con las esterinas vegetales, su característica principal es la de contener muchos grupos hidroxilos y uniones de tipo éter y lactónicas. Son metabolitos secundarios vegetales que tienen un interés farmacológico por sus acciones terapéuticas.

En la imagen 1 se representa la estructura básica de las saponinas triterpenoides y de las saponinas esteroides donde R representa el hidrato de carbono, en general xilosa, arabinosa, galactosa, glucosa y ácido glucurónico. La naturaleza anfifílica de las saponinas (regiones polares y no polares en la misma molécula) les otorga la propiedad emulsionante y la habilidad de formar espumas como el jabón, de allí su nombre.

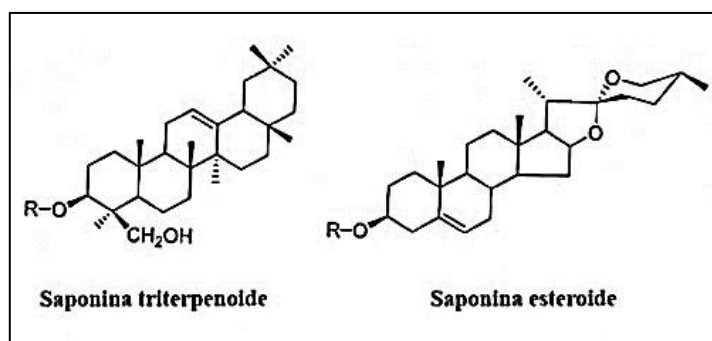


Imagen 1. Estructura de las saponinas más representativas.

Nota: Tomado de Giraudo, M &Ugarie M (junio 2010).

Las saponinas esteroidales derivan de un esqueleto hexacíclico de 27 átomos de carbono que es el núcleo epirostanano. Algunas de estas saponinas son de gran interés e importancia por su relación con compuestos como las hormonas sexuales cortisona esteroides diuréticos vitamina D y heterósidos cardíacos. Por lo tanto, algunos son utilizados como material de partida para la síntesis de estos compuestos. (M.T., 2001) Se encuentran principalmente en las familias de la clase monotiledónea, 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, tipogenina y clorogenina. (Hernández, 2005)

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 considerado como el precursor natural de esta familia: tetracíclicas como el panaxadiol y entacíclicas 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 amirina), ambos no están presentes en los forrajes y los de tipo oleanano (derivado de la β -amirina) presentes en estos últimos. (Hernández, 1997)

Sus estructuras únicas y su actividad superficial no sólo son las responsables de sus efectos biológicos, sino que, además, convierten a las saponinas en tóxicas.

Algunas de ellas son fuertemente hemolíticas y tóxicas en ciertos peces y animales de sangre fría. Su sabor amargo en altas concentraciones está relacionado con su propiedad anti nutricional. De todos modos, las saponinas tradicionalmente consumidas por el hombre y otros mamíferos son seguras, por lo que, se debe tener presente que saponinas de fuentes desconocidas o administradas en forma pura, pero en altas dosis pueden producir efectos indeseables.

Las saponinas están presentes en muchas plantas siendo particularmente abundantes en legumbres, hortalizas y alfalfa como se puede apreciar en la Tabla I. El contenido de saponinas depende de diversos factores tales como el tipo de cultivo, edad de la planta, estado fisiológico la localización geográfica o el órgano vegetal. (Bauman, 2000).

Tabla 1. Contenido de Saponinas en plantas alimenticias.

Alimento (Peso neto crudo)	Total de saponinas (g/100 g de porción comestible)
Brotos de alfalfa	8.0
Espárragos	1.5
Lentejas secas	0.5
Avena	1.3
Porotos bayos secos	4.1
Porotos de soja secos	5.6
Espinaca	4.7
Remolacha azucarera	5.8

Nota: Tomada de Giraudo, M., & Ugarte M., S. T. (Junio 2010).
Actualización: alimentos que reducen la absorción del colesterol.
Actualización en NUTRICION, 128 -139

La digitonina es una saponina típica que con la colessterina (un 3β - hidroxisteroide) forma un compuesto de adición de muy baja solubilidad a lo cual puede atribuirse la inhibición de su acción hemolítica. La digitonina es un glucósido formado por un pentasacárido y el esteroide digitogenina (Ver Imagen 2).

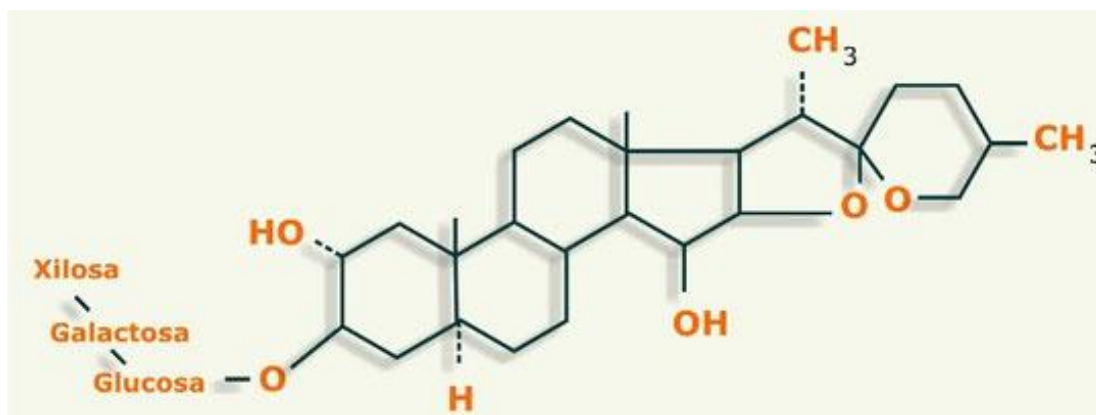


Imagen 2. Estructura de la digitonina.

Nota: Tomada de Harrison Sport Nutrition.

Al tratarse de componentes de origen natural, no sintético, no van a ocasionar ningún tipo de efecto secundario o poner en peligro nuestra salud.

Las saponinas poseen unas propiedades que debido a su estructura química se caracterizan por la habilidad de crear una espuma jabonosa cuando se agitan en una solución formando una especie de “detergente”. Este comportamiento propicia la unión a nivel molecular, con el agua y otras sustancias, tales como el colesterol y las grasas. Además, presentarán un comportamiento tal como un agente espumante o emulsionante.

Las saponinas poseen un grupo de características que sirven de base para su identificación rápida: 1) producción de espuma al ser agitadas en soluciones acuosas; 2) producción de hemólisis de los glóbulos rojos por la mayoría de ellas, propiedad que se aprovecha en las técnicas en que se cuantifica la potencia de estas sustancias; 3) toxicidad en animales poiquilotérmicos en especial los peces (sapotoxinas), a los cuales provocan parálisis de las agallas; 4) producción de una reacción positiva en la prueba de Lieberman -Burchard. Por lo general, las

sustancias esteroidales en esta prueba manifiestan colores que van desde el azul hasta el verde y las triterpénicas, rosado, rojo o violeta. Además, la mayoría de las saponinas son solubles en diferente grado en soluciones de etanol al 80%, propiedad que se emplea en diversas técnicas para su extracción y purificación. (Hernández, 1997)

Las saponinas de las plantas pueden contribuir a mejorar la salud, dentro de los beneficios que provee a la salud humana se encuentran las siguientes propiedades:

- ✓ Diuréticas
- ✓ Expectorantes
- ✓ Anticatarrales
- ✓ Antiinflamatorias
- ✓ Antiespasmódicas
- ✓ Antioxidantes
- ✓ Cardioprotectoras
- ✓ Optimizadoras de niveles hormonales
- ✓ Hepatoprotectoras
- ✓ Adaptógenas

En el organismo, las saponinas en grandes cantidades ocasionan dolor estomacal, náuseas, ligera diarrea y problemas en la digestión puesto que la fase jabonosa producida al mezclarse con el agua y al ser agitada por los movimientos peristálticos de las vísceras, hace que se rompan las fuerzas de tensión superficial de las fases líquidas que intervienen en el proceso de digestión. Parte de estos tóxicos también puede ser asimilada por el organismo, teniendo que pasar por el hígado para ser biotransformados en formas menos tóxicas y así propiciar un proceso de desintoxicación. (Forturbel, 2003)

Algunas de las plantas que contienen una gran cantidad de saponinas son las siguientes:

- **Alfalfa:** Es una especie herbácea perteneciente a la familia de las leguminosas, nativa de Irán y cultivada en todo el mundo por sus propiedades nutritivas en la alimentación de los animales y en la dieta humana.

- **Guaraná:** Es una planta trepadora (enredadera), perenne, siempre verde de unos 10 m de largo que se desarrolla en medio de la selva. En la forma cultivada es más arbórea.
- **Saponaria:** La saponaria o jabonera es una hierba perenne, perteneciente a la familia Cariofiláceas, con tallos florales erectos, de hasta 90 cm de longitud.
- **Tomillo:** El Tomillo es un arbusto perenne perteneciente a la familia de las Labiadas que alcanza unos 15-30 cm de altura.

Saponina de alfalfa (*Medicago Sativa*)

En este proyecto se usarán residuos (tallos y hojas) de alfalfa para la obtención y semicuantificación de saponina ya que es fácil de adquirir siendo sus características las siguientes:

La alfalfa (*Medicago sativa*) es uno de los principales forrajes producidos en el área mediterránea. Puede ser consumida por el ganado en forma fresca, ensilada, henificada o deshidratada. Los dos últimos procesos mencionados son los de mayor interés para la industria de piensos compuestos. La henificación es un secado natural del forraje que requiere de un cierto tiempo (24 a 70 horas en función de la temperatura y humedad relativa) para reducir su contenido en humedad, lo que provoca pérdidas de hojas y del valor nutritivo (proteína y vitaminas) y mayores riesgos de contaminación por tierra. Además, la humedad inherente al proceso, bien por lluvia o por el rocío, aumenta la posibilidad de contaminaciones microbianas y fúngicas, sin embargo, la deshidratación reduce al mínimo estos problemas, dando lugar a un producto de mayor calidad.

Al igual que otras leguminosas, la alfalfa tiene compuestos antinutritivos, entre los que destacan las saponinas y los taninos solubles. Las saponinas se definen químicamente como triterpenos unidos a uno o más grupos azúcar. Este compuesto da un sabor amargo y tienden a formar jabones estables en solución acuosa. Su presencia en las plantas se relaciona con su efecto protector frente a hongos e

insectos fitófagos. Las saponinas resultan especialmente tóxicas en animales de sangre fría (peces, caracoles, anfibios) y tienen efectos hemolíticos en animales superiores. Forman micelas indigestibles con los ácidos biliares, por lo que se ha investigado su uso en alimentación humana para reducir la absorción de colesterol. (FEDNA, 2010).



Imagen 3. Flor de Alfalfa.

Nota: Tomada de Laura Flores, 2014

La alfalfa es una planta perennifolia, vivaz y de porte erecto, que puede crecer entre 30 y 60 cm de altura. Su color es verde grisáceo. Sus “rasgos” son bien definidos, y pueden describirse de la siguiente manera:

- **Raíz.** Su raíz principal es pivotante, robusta, larga y profunda, con numerosas raíces secundarias, que le permiten captar los minerales alejados de la superficie.
- **Tallos.** Son delgados y erectos. Soportan muy bien el peso de las hojas y de las inflorescencias, y son muy estables, lo que hace que la planta sea muy propicia para la siembra.
- **Hojas.** Sus hojas son ovaladas, trifoliadas, aunque las primeras hojas verdaderas son unifoliadas. Las orillas son lisas y con los bordes superiores levemente dentados.

- **Flores.** Son pequeñas y crecen en racimos que nacen en las axilas de las hojas. Son de un hermoso color violeta pálido (lavanda), aunque ocasionalmente se muestran con tonalidades rojas o blancas (Ver imagen 3)
- **Fruto.** Es una legumbre que no se abre espontáneamente al llegar a la adultez, para liberar las semillas. No posee espinas y contiene entre 2 y 6 semillas amarillentas, arriñonadas y con una longitud de 1.5 a 2.5 mm.

La alfalfa tiene un ciclo de vida de cinco a doce años, aunque puede llegar a vivir dos décadas, dependiendo de las condiciones climatológicas.

Es una especie autotóxica, una condición que dificulta la reproducción de su semilla en plantaciones existentes. Es por ello, que se recomienda rotar los cultivos con variedades como maíz o trigo, antes de sembrar.

Calificada por algunos como soberana de las leguminosas, la alfalfa demanda climas secos y altas temperaturas en verano. (Laura Flores, 2014)

En regiones cálidas y praderas de secano, la siembra se realiza en otoño, pues el riesgo de heladas tempranas es muy reducido; además la planta desarrolla su sistema radicular, almacena las reservas y a partir de la primavera siguiente la explotación está en un nivel alto de producción.

Se aconsejan las siembras primaverales en zonas frías de secano. En cultivos de regadío la siembra se realizará en primavera, aun teniendo en cuenta que su mayor inconveniente es la presencia de malas hierbas. (Info Agro, 2012)

Lugar y Producción de alfalfa

Aunque actualmente la alfalfa se puede encontrar en casi todo el mundo, es originaria del Imperio Persa, abarcando países como Turquía, Siria, Irán, Irak, Afganistán parte de Pakistán y Cachemira. Los persas la cultivaban para dar de comer a los caballos.

Existen escritos romanos que relatan con abundante detalle, la importancia, cultivo y forma de explotación de la alfalfa, pues era un complemento de gran relevancia para el mantenimiento de los animales. No obstante, al caer el Imperio Romano, la siembra desapareció de Europa.

Fueron los árabes quienes de nuevo la transportaron de Persia a España, donde se ha comercializado durante muchísimo tiempo.

A través del Pacífico llegó, en 1519, al continente americano, primero a México y luego a Perú y Chile. A partir de allí, y por vía terrestre, se trasladó a Argentina y a los Estados Unidos, en el año 1860.

El cultivo de alfalfa en México ha ocupado en los últimos 10 años un promedio de 376 182.26 hectáreas anuales bajo condiciones de riego, mientras que la modalidad de temporal alcanzó 1 404.76 hectáreas, lo que representa apenas 0.37 % de la superficie total de este cultivo. Los principales estados productores son: Guanajuato, Chihuahua, Hidalgo, Baja California, Coahuila, San Luis Potosí, Sonora y Puebla, representando en conjunto 73 % del total de la superficie nacional sembrada, con una producción en verde de 20 359 316.08 millones de toneladas y un valor de \$5, 707,422.75 millones de pesos para 2015. Puebla es uno de los nueve principales productores de alfalfa en todo el país, con aproximadamente 18 717.50 mil hectáreas sembradas en las regiones de Tehuacán, Tecamachalco, Libres y Cholula, aportando 88.33 %, con un rendimiento de 5 126.5 ton/ha (SAGARPA-SIAP , 2015).

De acuerdo con cifras del INEGI, para el año 2011 la producción agrícola en el Municipio de Nealtican se basaba principalmente en los siguientes productos: alfalfa

verde, frijol y maíz grano, de acuerdo con la superficie y volúmenes que se muestran en la siguiente tabla. (Véase Tabla 2. Actividades primarias).

Tabla 2. Actividades primarias

Actividades primarias, 2009	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Volumen de la producción (Ton)
Total	2841	2586	--
Alfalfa Verde	20	20	1180
Frijol	200	95	125
Maíz grano	2560	--	2540
Resto de cultivos nacionales	481	61	--

Nota: Tomada de INEGI. México en cifras, disponible en: <http://www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx>.

Tipos de extracción de Compuestos de Interés

Los principales “activos” contenidos en un material vegetal pueden ser extraídos mediante diversas técnicas extractivas, o bien pueden ser dispuestos tal y como se encuentran en el material vegetal fresco una vez triturado o previo tratamiento de secado.

El objetivo de la extracción es el aprovechamiento de los subproductos orgánicos para la obtención de compuestos naturales de alto valor añadido para la industria alimentaria, cosmética y/o farmacéutica por sus características funcionales, antimicrobianas o antioxidantes.

Se puede decir que la materia prima empleada posee una serie de compuestos solubles (principio activo) en el líquido extractante que son los que se pretende obtener y concentrar.

La extracción es un proceso químico, que utiliza diferentes disolventes (más o menos polares), dependiente del tipo de extracto a conseguir. El agua es uno de los disolventes más utilizados, pero tiene un poder extractivo relativamente pequeño, comparada con otros disolventes también empleados. Uno de ellos y el más usado es el alcohol en diversas graduaciones.

Además, el método de extracción a utilizar depende del tipo de material (caracteres organolépticos) y de la concentración de los principios activos.

En general, los métodos y técnicas operatorias a seleccionar para realizar la extracción y/o aislamiento de principios activos de un material vegetal dependen de varios factores, como son:

- **Naturaleza del disolvente:** agua, etanol, mezclas hidroalcohólicas, propilenglicol y disolventes orgánicos
- **Cantidad de disolvente.** Cuanto mayor sea la cantidad, más elevado será el agotamiento de los principios activos.
- **Temperatura:** El calor favorece y acelera la extracción, pero puede descomponer los principios activos.
- **Tiempo de extracción:** Depende de las características de la materia prima (dureza, grado de división) y de la naturaleza de los principios activos (volátiles, hidrolizables, oxidables, entre otros).

Cuando lo que se va a analizar es materia vegetal con destino farmacológico, el control de calidad es muy importante en el muestreo, y seguir las normas establecidas por la Organización Mundial de la Salud y tener en cuenta una serie de parámetros, como por ejemplo el grado de división que presenta el material vegetal, el espesor del lote el número de contenedores etc., y las determinaciones se deben hacer a partir de una muestra que sea representativa del lote completo.

Existen algunas diferencias entre los aceites esenciales y los extractos de un material vegetal y por lo tanto existe diferencia entre los métodos de extracción de ambos.

Los aceites esenciales constituyen la fracción volátil de los principios activos contenidos en una planta, y, por tanto, se obtienen mediante técnicas de destilación, en la que se volatilizan estos principios por calor, se condensan en frío y se recogen (aunque hemos visto que en ocasiones se emplean otras técnicas como la expresión o el *enfleurage*).

Los extractos consisten en la fracción no volátil de los principios activos, es decir, aquellos que por no ser volatilizables o ser inestables con la temperatura, no se pueden obtener mediante destilación, sino que se obtienen mediante diversas técnicas de extracción descritas a continuación.

Una técnica de obtención de aceites esenciales es la destilación, la cual consiste en la separación de los componentes de una muestra en función de la diferencia de presión de vapor y punto de ebullición.

Cuando la destilación separa los componentes dando lugar a dos fases no miscibles se llama hidrodestilación, y se llevará a cabo en destilador de cristal cuando el peso de la muestra sea inferior a un kilogramo (a escala de laboratorio) y en caldera de acero inoxidable cuando sea superior.

La ventaja de este método de extracción es la baja inversión inicial necesaria para adquirir los equipos y accesorios. Se trata de un proceso simple, versátil y flexible, que permite trabajar con grandes volúmenes de materia prima en cada ciclo, incluso sin tratamiento previo. No se altera el tiempo de extracción, pero lo hace el rendimiento.

Los inconvenientes con los que nos encontramos son que se produce degradación térmica en el aceite esencial obtenido, es decir, se inducen cambios químicos e indeseables, como oxidación, hidrólisis y oligomerización y que tiene altos costes operativos por carga de materia prima, a causa de la necesidad de energía para producir el vapor de agua. (Agrupal, life, CTC, CSIC, 2013)

Los procesos extractivos más convencionales para los extractos vegetales son los de arrastre de vapor, los de extracción por solución y los de extracción por centrifugación.

La extracción por solución precisa una mayor inversión que la extracción por arrastre de vapor, pero genera un rendimiento casi duplicado respecto a los sistemas anteriores, además de obtenerse prácticamente todos los compuestos presentes en la matriz herbácea: volátiles, grasas, ceras, pigmentos, etc. Se lleva a cabo una extracción con disolventes orgánicos, que penetran en la materia vegetal y disuelven las sustancias, que son evaporadas y concentradas a baja temperatura. Después, se elimina el disolvente, obteniendo la fracción deseada. La selección del disolvente pretende que sea capaz de disolver rápidamente todos los principios y la menor cantidad de materia inerte, que tenga un punto de ebullición bajo y uniforme que permita eliminarlo rápidamente, pero evitando pérdidas por evaporación, no soluble en agua, químicamente inerte, para no reaccionar con los componentes de los aceites no inflamable y barato.

La extracción puede ser sólido-líquido o líquido-líquido en función del estado de la muestra.

- **Extracción sólido – líquido:** Cuando se trata de una muestra sólida, se pulveriza y a continuación se extraen los analitos mediante un disolvente en el que sean muy solubles, que los diferencie de las sustancias presentes en la matriz, que han de ser muy insolubles en ese disolvente. Se suele hacer con agitación, temperatura o ultrasonidos para una mayor eficacia. Normalmente se somete a centrifugación tras la extracción para eliminar los sólidos que hayan podido quedar.
- **Extracción líquido - líquido:** Consiste en extraer los analitos de una muestra líquida mediante un disolvente inmiscible en ella, como puede ser una fase acuosa con un disolvente orgánico no miscible. El pH es fundamental para obtener buen rendimiento.

Los distintos procesos de extracción constan de distintas fases con una notable diferencia entre cada una. La primera fase es el pretratamiento de la biomasa, esta fase hace referencia a los distintos tratamientos que se le pueden o deben realizar a la materia vegetal para poder extraer los principios activos de interés dentro de los cuales pueden ser; secado para extracción con solventes orgánicos, cuando sea necesario, triturado o molienda según el tipo de materia prima y proceso, tratamiento térmico de la biomasa (mejora de los procesos de extracción).

La siguiente fase consta de procesos de extracción continua o batch con solvente (agua, etanol, acetato de etilo, etc.). Aunque actualmente la tecnología existente hace que el uso de dicha tecnología continua o batch sea en ocasiones obsoleta ya que actualmente se pueden utilizar estos u otros disolventes o la combinación de varios para aumentar el rendimiento de la extracción.

La siguiente etapa dentro del proceso de extracción abarca la purificación de los extractos por diferentes métodos como son la floculación y centrifugación, tratamiento con resinas filtración tangencial y la separación cromatográfica. Otra fase dentro de una extracción es la concentración y estabilización de los productos lo cual se puede llevar a cabo por concentración a vacío, secado en spray, entre muchos otros. La última etapa es la recuperación de los disolventes como el etanol o acetato para reintroducción a proceso o la recuperación de agua para minimizar el consumo, por mencionar alguno de los diferentes usos. (Agrupal, life, CTC, CSIC, 2013)

Ensayos físico – químicos cuantitativos

Se denominan así a los ensayos que se realizan a la planta entera, pulverizada o extractos de la planta. Estos son ensayos cualitativos o cuantitativos que permiten conocer la composición de la planta, caracterizar sus principios activos.

Se realizan con una finalidad cualitativa que significa identificar sustancias y a su vez la finalidad cuantitativa consiste en determinar su concentración (incluida la cualificación).

Los ensayos cuantitativos son los siguientes:

- Humedad
- Cenizas
- Índices químicos (acidez, saponificación, sobre todo para aceites esenciales)
- Índices de hinchamiento (para mucílagos)
- Índices de espuma (para saponinas)

Se entiende por humedad el agua libre que contiene el material vegetal. Para una buena conservación ha de ser inferior al 10%, para evitar los procesos enzimáticos, y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca. Existen varios métodos para la determinación de la humedad, como lo son el método gravimétrico, método volumétrico y el método Karl-fisher.

Las cenizas representan el contenido de sales minerales o en materia inorgánica de la planta. En condiciones rigurosas, es constante y nos permite descubrir falsificaciones por otras plantas, tierras u otros minerales. Las cenizas dan una idea del contenido de materia mineral de la planta, que suele ser alrededor del 5%. Su determinación es importante por que la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica (por ejemplo, las sales de potasio son responsables de la acción diurética del equiseto, diente de león y ortosifon). También si su contenido es elevado, puede ser indicador de contaminación por adición de materia mineral o tierra, especialmente en raíces.

El índice de hinchamiento es aplicable a plantas con mucílagos y se define como el volumen en mL ocupado por 1 gramo de la planta y mucílago después de su hinchamiento tras permanecer en contacto con un líquido acuoso. Por ejemplo, para el agar es >15, para la semilla de lino >4 si es planta entera y >4.5 si es en polvo.

Finalmente, el índice de espuma es aplicable a plantas que contienen saponinas y se lleva a cabo mediante el método afrosimétrico en el que se tienen que colocar las saponinas en agua y posteriormente agitarse para observar la formación de espuma.

CAPÍTULO II: METODOLOGÍA

Descripción del equipo y material usado

Para la determinación de datos experimentales se utilizaron los siguientes materiales y equipos:

Balanza Analítica Modelo PIONEER, Marca OHAUS

Horno de secado Boekel Scientific

Parrilla de calentamiento CIMAREC

Tamices MONT INOX de 850 micrones y 200 micrones

1 vidrio de reloj PYREX de 10 cm de diámetro

1 embudo de filtración

1 mortero de porcelana PIMSA

1 pistilo de porcelana PIMSA

1 matraz aforado PYREX de 25 mL

1 probeta KIMAX de 25 mL

1 agitador de vidrio

1 espátula

1 perilla de tres pasos BRAND

1 pipeta BRAND 10 mL

1 termómetro Brannan de 150°C

1 tubo de ensaye con tapa KIMAX

1 tazón de aluminio

2 vasos de precipitado PYREX de 50 mL

6 vasos de precipitados PYREX de 250 mL

El material y equipo anteriormente enlistado fue proporcionado por laboratorios de la Facultad de Ingeniería Química de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, así como también el espacio para trabajar.

Pruebas preliminares

Para el desarrollo experimental de este trabajo se tomaron tres variables de control principales, las cuales han sido definidas de acuerdo con las distintas bibliografías que fueron consultadas, así como también con el conocimiento adquirido a lo largo de los diferentes cursos, por consiguiente, las variables de control son las siguientes: tamaño de partícula, concentración del solvente y tiempo de macerado. La siguiente tabla muestra los diferentes valores asignados a las variables de control para el desarrollo experimental:

Tabla 3. Variables de control

Tiempo de Macerado (días)	Tamaño de partícula (μm)	Concentración $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$ (%)
1.0	≤ 200	65
3.0	> 200 y ≤ 850	75
1.0	> 850	85

El tamaño de partícula fue asignado de esa manera ya que de acuerdo con un estudio en el que se analiza cómo afectan los distintos tamaños de partículas en las extracciones se obtuvo como conclusión que: “Cuanto más pequeñas sean las partículas, mayor es la superficie interfacial y más corta la longitud de los poros, por lo tanto, mayor es la velocidad de transferencia de masa. Sin embargo, tamaños excesivamente pequeños pueden hacer que las partículas se apelmacen lo que dificulta la extracción.” (Danibett Ramírez Hernández, 2016)

La concentración de solvente fue determinada de esa manera ya que, de acuerdo con los siguientes trabajos, de Guzmán Bianca publicado en la revista Boliviana de Química, Enzo Foy Valencia publicado en la revista Biotempo, dos metodologías mostradas en el trabajo de T. Flores, publicado en la Revista Peruana de Química

e Ingeniería Química y finalmente en el artículo publicado por Lozano Maribel en la revista Boliviana de Química. Dentro de estos trabajos mencionados anteriormente se utilizan distintos porcentajes de concentración de etanol/agua, en donde se obtienen excelentes resultados en un rango de concentraciones de cincuenta a ochenta por ciento.

Y finalmente el tiempo de macerado se estableció de acuerdo con 2 trabajos encontrados en los que se realiza la extracción por macerado, los cuales son citados a continuación: las dos metodologías mostradas en el trabajo de T. Flores, publicado en la Revista Peruana de Química e Ingeniería Química y finalmente en el artículo publicado por Lozano Maribel en la revista Boliviana de Química. En el primer trabajo los tiempos de macerado son, en la primera metodología de dos días y en la segunda metodología de diez días, en el segundo trabajo se analizan en un rango de dos a cinco días de macerado.

Metodología

Una vez definidas las variables de control se procedió a llevar a cabo la parte experimental del presente trabajo, éste tiene un plan de trabajo que fue definido a partir de profundas investigaciones en el tema tratado, dicho plan de trabajo se adjunta a continuación en el diagrama 1, descrito a continuación.

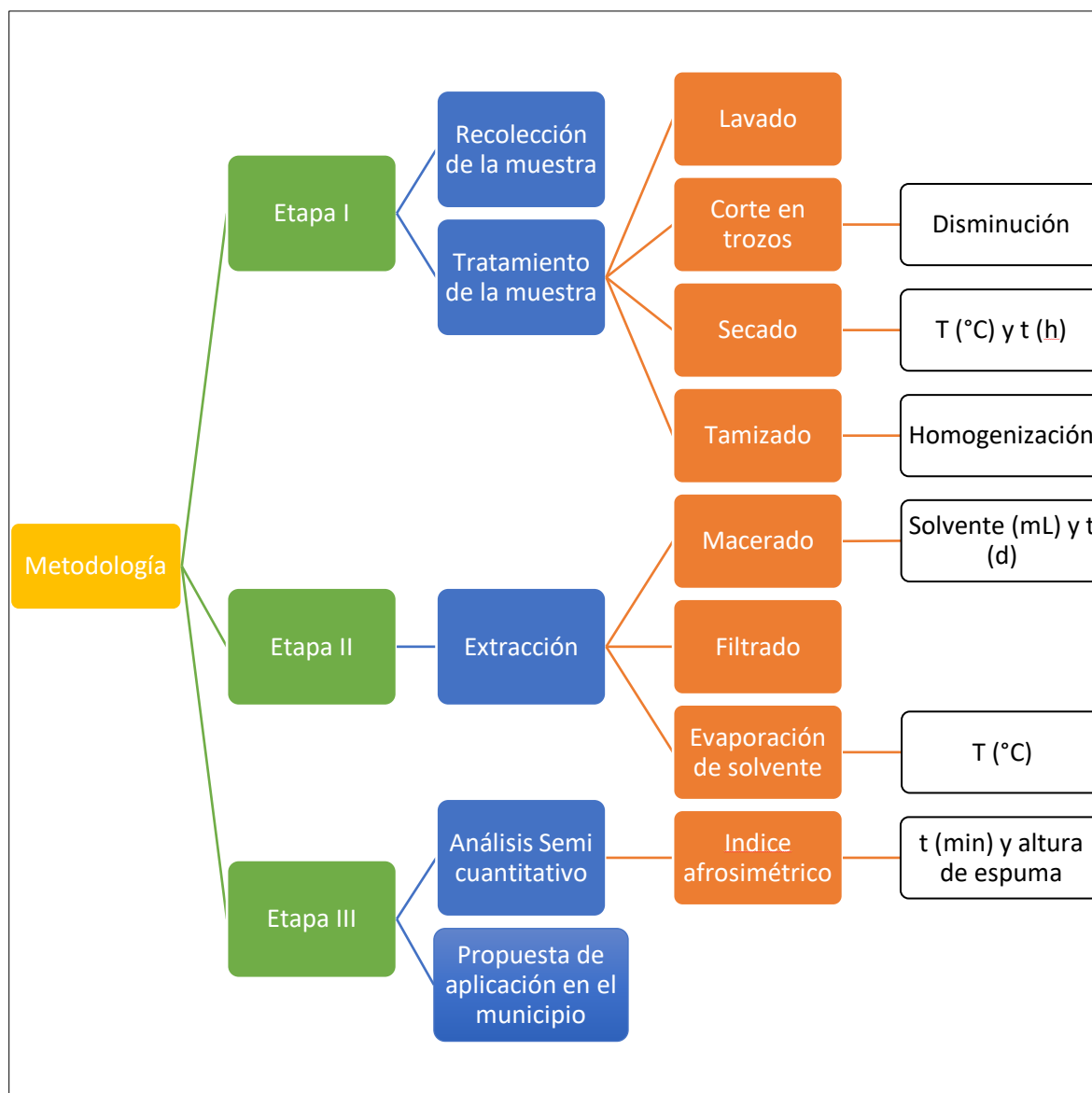


Diagrama 1. Plan de trabajo.

En lo que corresponde al desarrollo experimental que se lleva a cabo, se consideran tres etapas enunciadas como I, II y III, en las cuales se pueden visualizar de manera general en el Diagrama 1 y que a continuación son descritas de manera detallada.

Etapa I.

La etapa I consta de dos puntos principales, la recolección y el tratamiento de la muestra. La recolección de la muestra se lleva a cabo en el municipio Nealtican ya que el cultivo de alfalfa es uno de los principales dentro de este municipio como fue mencionado en el capítulo anterior; la muestra es obtenida de los desechos que se generan al servir como alimento para conejos, ya que en la mayoría de las ocasiones dejan gran parte de la planta al comerse únicamente la parte superior del tallo, las hojas y la flor, si es el caso.

El tratamiento de la muestra consiste en el corte en trozos pequeños para facilitar la molienda, posteriormente de la muestra en trozos se toman 100 gramos para después proceder a secar durante 5 horas a una temperatura de 70°C, se debe cuidar que la temperatura no aumente ya que las saponinas a una temperatura mayor de 90°C se degradan, y por lo tanto pierden sus propiedades.

Después del secado la muestra se pesa, para así poder determinar el rendimiento y el porcentaje de humedad de la planta (Ecuación 1 y 2).

Ecuación 1. Cálculo de rendimiento porcentual.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{masa final de la muestra}}{\text{masa total}} \times 100\%$$

Ecuación 2. Cálculo de porcentaje de humedad.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{g de muestra húmeda} - \text{g de muestra seca}}{\text{g de muestra húmeda}} \times 100\%$$

Se pasa a molienda el cual debe ser lo más fino posible ya que así se tiene una mayor área superficial y se obtiene un extracto con la mayor cantidad de saponinas posibles, por lo tanto, para tener un control del tamaño de partícula se tamiza la muestra una vez molida.

Etapa II.

En la etapa II se realiza la extracción de las saponinas, continuando así con lo ya realizado en la etapa I, después de haber tamizado se procede a realizar el macerado, para esto se preparan 3 soluciones con diferentes concentraciones pero realizando con anterioridad los cálculos correspondientes (Ecuación 3) dependiendo de la cantidad de solución que se utilizará en el macerado, las concentraciones de etanol/agua como fue mencionado anteriormente son: 65%, 75% y 85%, para así poder comparar los diferentes resultados y obtener la concentración óptima para la extracción.

Ecuación 3. Concentración porcentual v/v de una solución.

$$C\% = \frac{\text{volumen soluto}}{\text{volumen solución}} \times 100\%$$

De la muestra seca y tamizada se toman 4 gramos de cada tamaño de partícula y se agregan 50 mL de solución etanol/agua, esto para cada solución, después el macerado se deja reposar durante 1 día, 3 días y finalmente una semana, a temperatura ambiente y cubierta con papel aluminio, esto para obtener el tiempo óptimo de macerado.

Una vez pasado el tiempo del macerado se realiza un filtrado para separar la fase sólida de la líquida que se tiene en el macerado, después de la filtración la fase sólida se desecha y se mantiene el extracto etanoico (fase líquida). Dentro de la

fase líquida se tienen las saponinas y la solución etanol/agua, por lo tanto, para poder realizar los análisis cualitativos se tiene que evaporar el etanol. La evaporación del etanol se realiza en la parrilla a temperatura controlada de 60°C, durante aproximadamente 2 horas, finalmente el resultado de la evaporación del etanol es de aspecto semisólido y de color oscuro, se deja enfriar y se procede a realizar un cálculo (Ecuación 4) para conocer la cantidad de extracto obtenido.

Ecuación 4. Cantidad de extracto obtenido.

$$\text{extracto} = (\text{peso del vaso de pp} + \text{peso del extracto etanoico}) - \text{peso vaso de pp}$$

pp=precipitados

Etapa III.

Por último, para la etapa III, se realiza el análisis cualitativo para la identificación y semicuantificación de saponinas. El análisis que se realiza es la prueba afrosimétrica o método de espuma, el cual consiste en tomar una pequeña muestra del extracto obtenido, colocarlo en un tubo de ensaye y agregar 2 mL de agua destilada para posteriormente agitar el tubo de ensaye durante 1 minuto, dejarlo reposar en una gradilla, medir la altura de espuma alcanzada y tomar el tiempo que tarda en desaparecer la espuma. Después de haber realizado la prueba se le asigna un valor mostrado en la Tabla 4, el cual es mediante cruces.

Tabla 4. Evaluación de la prueba Afrosimétrico Nota: Tomada de Enzo Foy Valencia

Tiempo de espuma (min)	Cruces
5 – 20	(+)
20 – 25	(++)
30 – más	(+++)

CAPÍTULO III: CÁLCULOS Y RESULTADOS

Una vez llevado a cabo el plan de trabajo descrito en el Capítulo II, se procede a realizar los cálculos de cada etapa, si este los requiere, con las ecuaciones adjuntas en el capítulo anterior, para así poder obtener los resultados buscados y hacer un análisis de estos, además de hacer recomendaciones respecto a lo observado durante el desarrollo experimental y finalmente obtener una conclusión respecto al trabajo realizado.

En la etapa I, se inicia con la recolección y tratamiento de la muestra por lo cual se adjunta un mapa de donde es obtenida la materia prima (Imagen 7. Ubicación de la procedencia de la MP), la zona de donde proviene la alfalfa está marcada mediante un rectángulo rojo, la cual tiene las siguientes coordenadas 551790.43m E, 2104881.47m N, y una elevación de 2187m.



Imagen 4. Ubicación de la procedencia de la materia prima.

Ahora bien, en cuanto al tratamiento de la alfalfa consiste en el corte en trozos, pesaje (imagen 8), secado (imagen 9), molienda y tamizaje (imagen 10) de la misma, como fue mencionado en el capítulo anterior se utilizaron 100 gramos para llevar a cabo lo anterior y se obtuvieron los siguientes resultados de rendimiento porcentual de la muestra que se calcula mediante la Ecuación 1, y el cálculo del porcentaje de humedad mediante la Ecuación 2 del capítulo anterior.

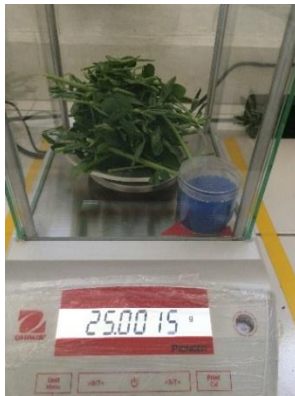


Imagen 5. Alfalfa cortada en trozos y pesaje



. Imagen 6. Secado de la Alfalfa.



Imagen 7. Molienda y tamizado de la alfalfa.

Por lo que el rendimiento y el porcentaje de humedad quedan sustituidos y calculados de la siguiente manera:

$$\text{Rendimiento} = \frac{24.0090 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{Rendimiento} = 24.0090 \%$$

$$\% \text{ Humedad} = \frac{100 \text{ g} - 24.0090 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\% \text{ de Humedad} = 75.991\%$$

Los resultados obtenidos después de haber tamizado fueron los siguientes:

Tabla 5. Cantidad de muestra obtenida por tamaño de partícula

Tamaño de Partícula	Muestra obtenida (g)
≤ 200 micrones	12.2367
> 200 micrones y ≤ 850 micrones	4.8895
> 850 micrones	6.2489

Al haber obtenido los resultados anteriores, se continua con la etapa dos dentro de la que se analizan, el tiempo de maceración y también con cuál de las partículas se obtiene la mayor cantidad de saponinas, por lo cual se mantuvo constante la concentración de la solución etanol/agua, y para esto se tomó el promedio (75%) de las tres concentraciones propuestas en el capítulo dos.

Para la preparación de la solución primero se realizan los cálculos mediante la ecuación 3, sin embargo, lo que necesitamos saber es el volumen de soluto a utilizar

en la solución ya que conocemos la concentración que queremos (C%) y el volumen de solución, por lo tanto, procedemos a realizar el despeje de la ecuación.

$$\text{volumen de soluto} = \left(\frac{C\%}{100\%} \right) (\text{volumen solución})$$

Una vez despejada la ecuación 3, se sustituyen los datos obteniendo así el siguiente resultado:

$$\text{volumen de soluto} = \left(\frac{75\%}{100\%} \right) (100 \text{ mL})$$

$$\text{volumen de soluto} = 75 \text{ mL}$$

A continuación se preparan los vasos de precipitado con la muestra y la solución para realizar la maceración para esto se prepararon de la siguiente manera: los 12.2367 gramos de la muestra con tamaño de partícula entre 200 y 850 micrones más 15 mililitros de solución, 4.8895 gramos de la muestra con tamaño de partícula de 200 micrones más 15 mililitros de solución y finalmente 6.2489 gramos de la muestra con tamaño de partícula mayor a 850 micrones más 50 mililitros de solución (ver imagen 11). Posteriormente, el macerado fue filtrado para únicamente quedarnos con el extracto (ver imagen 12), y después evaporar lo que quedó de la solución (ver imagen 13).



Imagen 8. Macerado de las muestras.

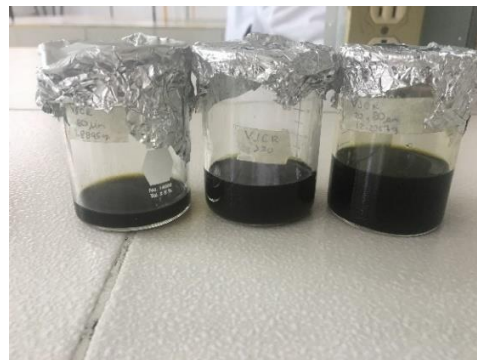


Imagen 9. Filtrado del macerado de las muestra.

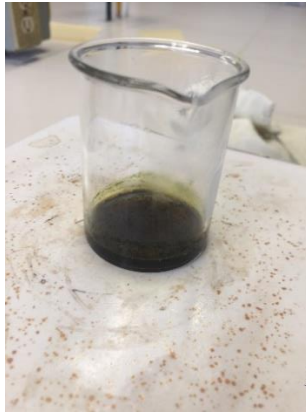


Imagen 10. Evaporación de la solución.

Para obtener un mejor análisis respecto al tiempo de macerado y el tamaño de partícula, se realizó la prueba afrosimétrica en la que como se mencionó anteriormente se mide la altura de espuma alcanzada después de haberse agitado una parte de la muestra disuelta en agua destilada, así como el tiempo que tarda en desaparecer la espuma, posteriormente a haber realizado dicha prueba se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 6. Resultados de la prueba afrosimétrica (tiempo y tamaño de partícula).

Tamaño de partícula (μm)	Tiempo de macerado (d)		
	1.0	3.0	7.0
≤ 200	5 mm (+++)	10 mm (+++)	15 mm (+++)
> 200 y ≤ 850	4 mm (++)	5 mm (++)	4 mm (++)
>850	3 mm (+)	3 mm (+)	3 mm (+)

La altura anotada de un día de macerado fue alcanzada diez segundos después de la agitación, la de tres días de macerado después de quince segundos, y la de siete días 30 segundos después de la agitación. De acuerdo con los resultados obtenidos observamos que se tiene mayor espuma y se mantiene por mayor tiempo en las partículas más pequeñas (200 micrones) además de que es mayor la espuma después de una semana de macerado.

Por lo tanto para el análisis de la concentración óptima de la solución se realiza con un macerado de siete días y el tamaño de partícula que se utilizó para el análisis fue menor e igual a 850 micrones para así aprovechar al máximo la muestra y desperdiciar la menor cantidad posible, por lo tanto se realizó lo mismo que en la etapa anterior se recolectó la muestra, se cortó en trozos, se secó, y finalmente se pasó a molienda y tamizado, y se obtuvieron los siguientes resultados:

$$\text{Rendimiento} = \frac{22.1641 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\text{Rendimiento} = 22.1641 \%$$

$$\% \text{ Humedad} = \frac{100 \text{ g} - 22.1641 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\%$$

$$\% \text{ de Humedad} = 77.8359\%$$

Así que los resultados después del tamizaje fueron los siguientes:

Tabla 7. Cantidad de muestra obtenida.

Tamaño de Partícula (μm)	Muestra obtenida (g)
≤ 850 (imagen 14)	17.1609
> 850 (imagen 15)	4.4171



Imagen 11. Muestra menor a 850 micrones.

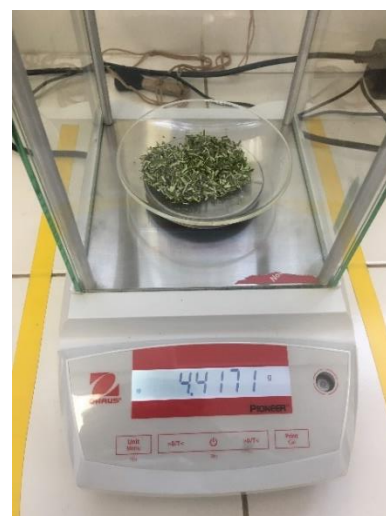


Imagen 12. Muestra mayor a 850 micrones.

Para la elaboración del macerado se utilizaron las tres concentraciones descritas en el capítulo dos, por lo tanto, para preparar las soluciones se realizaron los siguientes cálculos con la ecuación tres ya despejada anteriormente.

Para la mezcla del 65%:

$$\text{volumen de soluto} = \left(\frac{65\%}{100\%} \right) (25 \text{ mL})$$

$$\text{volumen de soluto} = 16.25 \text{ mL}$$

Para la mezcla de 75%:

$$\text{volumen de soluto} = \left(\frac{75\%}{100\%}\right) (25 \text{ mL})$$

$$\text{volumen de soluto} = 18.75 \text{ mL}$$

Para la mezcla del 85%:

$$\text{volumen de soluto} = \left(\frac{85\%}{100\%}\right) (25 \text{ mL})$$

$$\text{volumen de soluto} = 21.25 \text{ mL}$$

El macerado se preparó agregando dos gramos de alfalfa y de solución se agregaron veinticinco mililitros por cada 2.0 gramos, por lo tanto, la preparación de los macerados quedó de la siguiente manera:

Tabla 8. Preparación de muestras a macerar.

Muestra	Cantidad de alfalfa (g)
Ms-65%	2.0073
Ms-75%	2.0023
Ms-85%	2.0159

Después de haber pasado siete días se filtraron las muestras y posteriormente se secaron para obtener únicamente las saponinas.

Finalmente se realizó la prueba afrosimétrica para determinar la concentración con la que se obtiene una mayor cantidad de saponinas, obteniendo los siguientes resultados. (Ver imagen 19)

Tabla 9. Resultados obtenidos (concentración).

Autor: Propio

Muestra	Volumen obtenido (mL)	Altura (mm)	Tiempo (min)
Ms-65%	15.0	4.0	Más de 20 (++)
Ms-75%	16.0	3.0	6.10 (+)
Ms-85%	15.5	2.0	7.3 (+)



Imagen 13. Prueba afrosimétrica (concentración).

Podemos observar que la concentración de solución con la que se obtiene mayor cantidad de saponinas es con la de 65% ya que alcanza una mayor altura y se mantiene por más tiempo que las demás muestras.

Para concluir con la parte experimental realizamos el cálculo para saber la cantidad de extracto obtenido, mediante la ecuación 4 del capítulo anterior, teniendo los siguientes datos:

Tabla 10. Datos para obtener la cantidad de extracto.

Muestra	Peso del vaso con el extracto (g)	Peso del vaso de precipitados (g)
Ms-65%	49.2054	48.1455
Ms-75%	69.0957	68.2086
Ms-85%	49.2054	48.1720

Sustituyendo los datos de la Tabla 10 obtenemos los siguientes resultados:

Para la mezcla del 65%:

$$\text{extracto} = (49.2054 \text{ g}) - 48.1455$$

$$\text{extracto} (Ms_{65\%}) = \mathbf{1.0599 \text{ g}}$$

Para la mezcla del 75%:

$$\text{extracto} = (69.0957 \text{ g}) - 68.2086$$

$$\text{extracto} (Ms_{75\%}) = \mathbf{0.8871 \text{ g}}$$

Para la mezcla del 85%:

$$\text{extracto} = (49.2054 \text{ g}) - 48.1720$$

$$\text{extracto} (Ms_{85\%}) = \mathbf{1.0334 \text{ g}}$$

Obtención de materia prima natural y biodegradable (saponina) proveniente de desechos de Alfalfa para el uso en detergentes.

Objetivo

Obtener un tensoactivo natural a partir de los desechos de alfalfa mediante una metodología de extracción convencional con etanol-agua, para ser usado principalmente en detergentes.

Materiales y Reactivos

Los materiales y reactivos utilizados en este proyecto son fáciles de obtener, así como de fácil manejo y almacenamiento, por lo que no representa ningún problema e inconveniente en su empleo.

Materiales

500 g de desechos de alfalfa

Balanza o bascula

Parrilla de calentamiento

Tamices, cernidores o malla

Embudo

Mortero o Procesador de alimentos

Espátula

Probeta, pipeta y perilla¹

Termómetro

Recipientes de vidrio de 1 L o mayor capacidad²

NOTA 1. Se pueden sustituir por recipientes caseros con capacidad para medir volumen.

NOTA2. Como opción pueden ser de plástico.

Reactivos

Alcohol etílico concentrado

Agua purificada

Procedimiento:

1. Lavar los desechos de alfalfa y posteriormente cortar en trozos

2. Secar la alfalfa en un horno o al aire libre cuidando la contaminación con insectos u hongos.
3. Triturar la alfalfa hasta quedar casi en polvo.
4. Colocar la alfalfa en polvo en un recipiente con capacidad superior a 1.0 litro.
5. Preparar 1.0 litro de solución de etanol-agua al 65% (mezclar 650 mililitros de etanol con 350 mililitros de agua).
6. Añadir la solución de etanol-agua a la alfalfa en polvo.
7. Dejar el preparado reposar durante 7 días con el recipiente tapado en un ambiente seco y fresco.
8. Una vez pasado el tiempo de reposo filtrar y desechar el residuo sólido y mantener el extracto.
9. Finalmente llevar a evaporación el extracto, colocándolo directamente sobre la parrilla de calentamiento, o a baño maría para evitar que el extracto se quemara, cuidar que la temperatura no sobrepase una temperatura mayor a 70°C.
10. Quitar del fuego cuando se note que el extracto no se mueve con facilidad en el recipiente, debido a lo espeso.
11. Para verificar la presencia de saponinas, agregar una pequeña porción del extracto de saponinas obtenido anteriormente en un recipiente que pueda ser agitado con facilidad, agregar 2 mL de agua y finalmente agitar durante 1 min., observando la formación de espuma.

Aplicación.

Las saponinas pueden ser usadas para sustituir el ingrediente que tienen todos los detergentes o jabones para hacer espuma, debido a que es obtenido de un producto natural será amigable con el ambiente evitando que la contaminación de agua y suelo por detergentes incremente. La porción a usar dependerá de la cantidad de espuma que se desee, es decir, si se pretende que el detergente forme mucha espuma se tendrá que agregar una mayor porción de saponinas.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede argumentar que los objetivos planteados fueron cumplidos satisfactoriamente ya que la obtención de saponinas de desechos de alfalfa se logró mediante la metodología seleccionada, sin embargo, una limitante inicial en este proyecto fue el no encontrar ninguna bibliografía o referencia en la que se empleara la alfalfa (*Medicago Sativa*) y mucho menos el desecho de esta. También es de relevancia mencionar que se logró la semicuantificación de la saponina presente en el desecho de la alfalfa obtenida en el municipio de Nealtican, que posteriormente podrá ser ejecutada en la localidad.

De las variables de control propuestas para la metodología se concluye lo siguiente:

- ✓ En la concentración de la solución agua-etanol con la cual se obtienen mejores resultados es la de 65% siendo que en las bibliografías consultadas los mejores resultados que se obtienen son mejores a mayor concentración de etanol, lo cual no aplica para este caso debido a que se trata de una muestra diferente a las de los artículos consultados por lo tanto podría tratarse de un tipo de saponina distinta o de diferentes concentraciones de la misma saponina.
- ✓ En cuanto al tamaño de partícula, el óptimo es el más pequeño comprobando así la conclusión que obtuvo el autor Danibett Ramírez Hernández, (Ver Capítulo II, pruebas preliminares) que menciona que entre menor sea el tamaño de partícula hay una mayor transferencia de masa lo cual se ve reflejado en una mayor cantidad de los principios activos, sin embargo para la metodología del presente trabajo no es factible utilizar la muestra con menor tamaño de partícula ya que es muy bajo el rendimiento de la muestra porque no se logra una molienda tan fina y recordemos que será propuesto para los pobladores del municipio, quienes tal vez opten por una molienda más práctica y sencilla.
- ✓ El análisis del tiempo de macerado con el que se obtuvo una mayor cantidad de espuma fue en el macerado de 7 días siendo que en la bibliografía

consultada el tiempo de macerado óptimo en la mayoría de los trabajos es de menos días, esto debido a que como fue mencionado en el Capítulo I, en el apartado de “Tipos de extracción de compuestos de interés” el agotamiento de los principios activos dependerá de la cantidad de disolvente así como del tiempo de macerado, por lo tanto mientras mayor sea el tiempo de macerado se agotarán completamente los principios activos.

Se deduce que los resultados obtenidos, fueron satisfactorios ya que a pesar de que la materia prima usada fue un desecho de comida de conejos, se lograron extraer saponinas, empleando una metodología amigable con el ambiente, aprovechando de esta manera en su totalidad uno de los cultivos principales en la comunidad de Nealtican. Además, teniendo en cuenta también que la metodología que se utilizó no fue encontrada para la alfalfa, fue posible obtener las variables de control óptimas para trabajar con dicha planta y sus desechos, que posteriormente, no solo podrán ser utilizadas nuevamente en un laboratorio, sino que además podrán ser implementadas en alguna localidad que produzca alfalfa. También los materiales usados son simples y fáciles de conseguir, como balanzas, termómetros y recipientes para medir volumen, etc.

Para finalizar, el mayor beneficio que aporta este proyecto es el total aprovechamiento de un recurso natural (alfalfa), que es en uno de los cultivos en los que se basa la principal producción agrícola en el municipio y que tiene como uso principal el ser usado como forraje, además de aportar información a la comunidad de las alternativas de usos y beneficios adicionales que nos ofrece dicho cultivo tales como diurético, antiinflamatorias y optimizadoras de niveles hormonales. La principal función de las saponinas, en general, en las plantas que lo contienen es el proteger a la planta de agentes externos, como insectos u hongos que puedan dañar a la planta, además de que tienen usos medicinales, así como estéticos que pueden ser usados a beneficio de la comunidad.

Bibliografía

- National Geographic. (21 de Septiembre de 2012). *National Geographic*. Obtenido de <https://www.nationalgeographic.es/ciencia/el-champu-y-los-cosmeticos-podrian-contribuir-la-formacion-en-los-suministros-de-agua-de>
- AGROINDUSTRIAL, T. E. (s.f.). DETERMINACIÓN DE SAPONINA. *ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL*.
- Agrupal, life, CTC, CSIC. (2013). Extracción de compuestos de interés. *AGRO WASTE*, 2-8.
- Allauca, L. J. (2013). Elaboración de un emulsionante cosmético a base de las saponinas del agua de lavado de Quinoa (*Chenopodium quinoa*) en ERPE. *Facultad de ciencias - Escuela de Bioquímica y farmacia*. Chimborazo, Riobamba, Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo.
- Bauman, E. S. (2000). Hemolysis in human erythrocytes with saponin affects the membrane structure. *Acta Histochemica*, 102, 21-35.
- Bisset, N. G., Bruneton, J., & Evans, W. C. (2001). Uso industrial de plantas aromáticas y medicinales. WB Saunders.
- Cappetta, M. E. (2017). Evaluación del pH de los champús vendidos en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y breve reseña. *Dermatología Argentina Vol. 23 N° 1 Marzo de 2017*, 13 -16.
- CEQ laboratorios. (agosto de 2018). *Que es un horno de secado para laboratorio*. Obtenido de guías y consejos/ accesorios y equipos: <https://aceqlaboratorios.com.co/guias-y-consejos/que-es-un-horno-de-secado-para-laboratorio/>
- Cimarec. (2016). *Científica SENNA*. Obtenido de Parrilla CIMAREC TM: <https://cientificasenna.com/producto/parrilla-cimarectm/>
- Danibett Ramírez Hernández, M. M. (2016). Influencia del tamaño de partícula y la velocidad de agitación sobre el rendimiento de pectina. *Revista Cubana de Farmacia*, 98 - 150.
- Enzio Foy Valencia, D. M. (2005). EXTRACCIÓN, IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE SAPONINAS EN *Agaricus bisporus*. *Biotempo*, Vol. 5 pp - 31-36.
- FEDNA. (2010). *Alfalfa en rama*. Obtenido de Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal: http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/alfalfa-en-rama
- Felipe Ochoa y Asociados, S.C. (s.f.). Shampoos. En S. Felipe Ochoa y Asociados, *Shampoos* (pág. 201).

- Forturbel, R. (2003). Problemática de la producción y comercialización de *Chenopodium quinoa* W. (Chenopodiaceae) debido a la presencia de saponinas. *Ciencia Abierta*, 21, 1-10.
- Gianna, V. (2013). *EXTRACCIÓN, CUANTIFICACIÓN Y PURIFICACIÓN DE SAPONINAS DE SEMILLAS DE Chenopodium quinoa Willd PROVENIENTES DEL NOROESTE ARGENTINO*. Córdoba - Universidad Nacional de Córdoba: Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- Giraudó, M., & Ugarte M., S. T. (Junio 2010). Actualización: alimentos que reducen la absorción del colesterol. *Actualización en NUTRICION*, 128 -139.
- Guzmán, B., Cruz, D. L., Alvarado, J. A., & Mollinedo, P. (julio-diciembre, 2013). CUANTIFICACION DE SAPONINAS EN MUESTRAS DE CAÑIHUA CHENOPODIUM PALLIDICALUE AELLEN. *Revista Boliviana de Química*, pp. 131-136.
- Hernández, R. (1997). Obtención de crudos de saponinas hipocolesteromizantes del *Chenopodium quinoa* Wild. Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto". *Revista Cubana Médica Militar*, 26(1), 55-62.
- Hernández, R. (2005). Extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de Agave Lechugilla Torrey. Universidad de Guadalajara México. *Red de revistas científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal*. Vol3 art. 11., 9 p.
- HSN blog|. (2012). *Harrison Sport Nutrition*. Obtenido de HSN blog; Nutrición Salud y Deporte: <https://www.hsnstore.com/blog/que-son-las-saponinas/>
- Info Agro. (2012). *Infoagro.com*. Obtenido de El cultivo de la alfalfa: <http://www.infoagro.com/herbaceos/forrajes/alfalfa.htm>
- istas. (s.f.). *DAÑOS PARA EL MEDIO AMBIENTE Y LA SALUD HUMANA*. Obtenido de <http://www.istas.net/fittema/att/de5.htm#DA%C3%91OS%20PARA%20EL%20MEDIO%20AMBIENTE%20Y%20LA%20SALUD%20HUMANA>
- Laura Flores. (2014). *Flores*. Obtenido de Flores.ninja: <https://www.flores.ninja/alfalfa/>
- Lozano, M., Ticona, E., Carrasco, C., Flores, Y., & Almanza, G. (Julio - Diciembre 2012). CUANTIFICACIÓN DE SAPONINAS EN RESIDUOS DE QUINUA REAL. *Revista Boliviana de Química*, vol. 29, núm. 2, pp. 128-135.
- M.T., L. (2001). Saponósidos. *Ámbito Farmacéutico, Fitoterapia*. . *OFFARM*, 20(6), 124-128.
- OHAUS. (2019). *PIONEER analýtical*. Obtenido de <https://mx.ohaus.com/es-MX/PioneerAnalytical-33>

- Redacción National Geographic. (21 de Septiembre de 2012). *National Geographic*. Obtenido de <https://www.nationalgeographic.es/ciencia/el-champu-y-los-cosmeticos-podrian-contribuir-la-formacion-en-los-suministros-de-agua-de>
- SAGARPA-SIAP . (2015). *SAGARPA-SIAP (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación-Servicio de Información Alimentaria y Pesquera)*. Obtenido de Situación actual y perspectivas de alfalfa verde en México 2010-2015.: http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp.
- Salvatierra, H. (28 de noviembre de 2016). *Forbes, México*. Obtenido de El consumo de detergentes: <https://www.forbes.com.mx/detergente-liquido-domina-mercado-33000-mdp/>
- T. Flores1, J. H. (2013). ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES METODOLOGÍAS CUANTITATIVAS DE EXTRACCIÓN DE SAPONINAS DE LA MELISA OFFICINALIS "TORONJIL". *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.*, Págs. 47-51.
- Tapia, M. (1979). *La Quinua y la Kañiwa*. Bogotá: liga.