



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA

TESIS

Presentada para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

por

Naella Sandivel Valencia Pérez

Ingeniera en Biotecnología

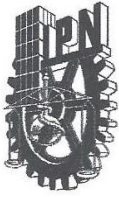
Extracción y caracterización de componentes bioactivos de residuos de alcachofa

Dirigida por

D. en C. Jorge Yáñez Fernández

D. en T.A. Genaro Iván Cerón Montes

Ciudad de México, 15 de Diciembre del 2017



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de México siendo las 11:00 horas del día 08 del mes de Diciembre del 2017 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de UPIBI para examinar la tesis titulada:

Extracción y caracterización de componentes bioactivos de residuos de alcachofa

Presentada por el alumno:

<u>Valencia</u>	<u>Pérez</u>	<u>Naella Sandivel</u>
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre(s)

Con registro:

A	1	6	0	5	7	4
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de: Maestría en Ciencias en Bioprocesos

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

Dr. Jorge Yáñez Fernández

Dr. Genaro Iván Cerón Montes

Dr. Ramón Villanueva Arce



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD PROFESIONAL
INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA
SECCIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

Dra. Yolanda de las Mercedes Gómez y Gómez

Dra. Ana Belem Piña Guzmán

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

Dra. María del Carmen Oliver Salvador

Declaración de originalidad

“Yo declaro que esta tesis, así como los resultados en ella reportados, son producto de mi trabajo y que hasta donde yo sé, no contiene material previamente publicado o escrito por otra persona, ni tampoco contiene material que haya sido utilizado para obtener algún grado o diploma en alguna otra institución educativa excepto donde se reconoce como tal. Declaro igualmente que hago justo reconocimiento en la tesis a las personas que contribuyeron con su trabajo y, finalmente, declaro que esta tesis es producto de mi propio trabajo con el apoyo permitido de terceros en cuanto a la concepción del proyecto, al estilo de la presentación o a la expresión escrita.”



C. Naella Sandivel Valencia Pérez



Vo. Bo. Del director de tesis
Dr. Jorge Yáñez Fernández



Vo. Bo. Del director de tesis
Dr. Genaro Iván Cerón Montes

“Yo, Naella Sandivel Valencia Pérez, declaro que los resultados reportados en esta tesis, son producto de mi trabajo con el apoyo permitido de terceros en cuanto a su concepción y análisis. Asimismo declaro que hasta donde yo sé no contiene material previamente publicado o escrito por otra persona excepto donde se reconoce como tal a través de citas y con propósitos exclusivos de ilustración o comparación. En este sentido, afirmo que cualquier información presentada sin citar a un tercero es de mi propia autoría. Declaro, finalmente, que la redacción de esta tesis es producto de mi propio trabajo con la dirección y apoyo de mis directores de tesis y mi comité tutorial en cuanto a la concepción del proyecto, al estilo de la presentación o a la expresión escrita.”

Autorización de uso de obra

**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
PRESENTE.**

Bajo protesta de decir la verdad el que suscribe **C. Naella Sandivel Valencia Pérez** (se anexa copia simple de la identificación oficial), manifiesto ser autor (a) y titular de los derechos morales y patrimoniales de la obra titulada **Extracción y caracterización de componentes bioactivos de residuos de alcachofa**, en adelante "La Tesis" y de la cual se adjunta copia, por lo que por medio del presente y con fundamento en el artículo 27 fracción II, inciso b) de la ley federal del Derecho de Autor, otorgo a el Instituto Politécnico Nacional, en adelante el IPN, autorización no exclusiva para comunicar y exhibir públicamente total o parcialmente en medios digitales (**Publicación en línea de la tesis en el repositorio institucional**) "La Tesis" por un periodo de **un año** contando a partir de la fecha de la presente autorización, dicho periodo se renovara automáticamente en caso de no dar aviso expreso a "El IPN" de su terminación.

En virtud de lo anterior, "El IPN" deberá reconocer en todo momento mi calidad de autor de "La Tesis".

Adicionalmente, y en mi calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales de "La Tesis", manifiesto que la misma es original y que la presente autorización no contraviene ninguna otorgada por el suscrito respecto de "La Tesis" o la autorización concedida afecte o viole derechos autorales, industriales, secretos industriales, convenios o contratos de confidencialidad, o en general cualquier derecho de propiedad intelectual de terceros y asumo las consecuencias legales y económicas de cualquier demanda o reclamación que puedan derivarse del caso.

Ciudad de México, a 14 de Diciembre del 2017.

ATENTAMENTE



Naella Sandivel Valencia Pérez

Resumen

En la presente investigación se llevó a cabo el estudio cinético de extracción de componentes bioactivos de residuos de alcachofa. La alcachofa blanca de Tudela (*Cyanara scolymus L.*) es considerada una fuente importante de antioxidantes y polifenoles. Algunos autores mencionan que los residuos generados por esta hortaliza se han utilizado para la extracción de componentes bioactivos como flavonoides (Llorach *et al.*, 2002; Sánchez *et al.*, 2003; Fratianni *et al.*, 2007) y compuestos fenólicos (Lattanzio *et al.*, 2009; Ceccarelli *et al.*, 2010). Los componentes bioactivos presentan propiedades terapéuticas como antioxidante, reductor de colesterol, hepatoprotector, excretor biliar, por algunas de mencionar (Shimoda *et al.*, 2003; Mulinacci *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2004). La caracterización de metabolitos mostró la presencia abundante de fenoles y flavonoides, mientras que un análisis de infrarrojo FT-IR y UV-Vis reveló posibles enlaces atómicos (O-H, C=O, C-H Y C=O) con transiciones electrónicas del tipo ($n-\pi^*$, $\pi-\pi^*$ y $\sigma-\pi^*$) características de sustancias polifenólicas. Para el estudio de la extracción de brácteas de alcachofa, se implementó un sistema de extracción de monitoreo en línea en tanque agitado acoplado a un espectrofotómetro de (UV-Vis) conformando un sistema embebido, donde se estudió el efecto de factores de operación como tamaño de partícula, velocidad de agitación, relación sólido-líquido y temperatura de extracción. De los factores evaluados los resultados mostraron que la temperatura tuvo el mayor efecto en la extracción de fenoles totales y actividad antioxidante. Los rendimientos obtenidos para fenoles totales fueron de $(45.5 \pm 0.06 \text{ mg GAE/g})$ y de actividad antioxidante $(511.60 \pm 0.68 \text{ } \mu\text{mol ET/g})$ por ABTS y $(112.57 \pm 0.59 \text{ } \mu\text{mol ET/g})$ por FRAP. Los resultados de la espectrometría de masas identificaron algunas sustancias presuntivas en el extracto de brácteas de alcachofa que han sido reportadas previamente (ácido monocateoilquinico; apigenina y luteolina). Finalmente con el sistema implementado se obtuvo una amplia adquisición de datos experimentales permitiendo ajustar con el modelo de Simpson con una (R^2 entre 0.9866-0.9992 y RMSE entre 291-62). Con el estudio cinético a temperaturas de 50, 60 y 70 °C se calculó los valores de las constantes de velocidad cinética, estos fueron para k_1, k_2 y n de (1.0168, 0.0996 y 0.9209) respectivamente, mientras que los parámetros termodinámicos fueron la E_a con $(2.19874\text{E-}05 \text{ kJ mol}^{-1})$, la ΔH resultado de la E_a demostró un proceso exotérmico, mientras que los valores positivos de la ΔG indicaron que los procesos de extracción fueron endergónicos y no espontáneos, el proceso de extracción que resulto más viable en cuanto al consumo de energía fue el de 60°C. Este estudio permitió evaluar, modelar y describir el proceso de extracción sólido-líquido de componentes bioactivos de brácteas de alcachofa.

Abstract

In the present investigation, the kinetic study of the extraction of bioactive components of artichoke waste. The white artichoke of Tudela (*Cyanara scolymus L.*) is considered an important source of antioxidants and polyphenols. Some authors mention that the waste generated by this vegetable has been used for the extraction of bioactive components as flavonoids (Llorach *et al.*, 2002, Sánchez *et al.*, 2003, Fratianni *et al.*, 2007) and phenolic compounds (Ceccarelli *et al.*, 2010; Lattanzio *et al.*, 2009). The bioactive components have therapeutic properties such as antioxidant, cholesterol reducing, hepatoprotective, biliary excretory, for some to mention (Shimoda *et al.*, 2003; Mulinacci *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2004). The characterization of metabolites showed the abundant presence of phenols and flavonoids, while an infrared analysis (FT-IR) and (UV-Vis) revealed possible atomic bonds (OH, C-OOH, CH Y C=O) with electronic transitions of the type ($n-\pi^*$, $\pi-\pi^*$ y $\sigma-\pi^*$) characteristics of polyphenolic substances. For the extraction study of artichoke bracts, it was an online system implemented in agitated tank coupled to a spectrophotometer (UV-Vis), in this embedded system it was studied the effect of the operating factors as size particle, stirring rate, solid-liquid ratio and temperature in the extraction. Of the factors evaluated, the results showed that the temperature had the greatest effect in the extraction of total phenols and antioxidant activity. The yields obtained for total phenols were (45.5 ± 0.06 mg GAE/g) and antioxidant activity (511.60 ± 0.68 $\mu\text{mol ET/g}$) for ABTS and (112.57 ± 0.59 $\mu\text{mol ET/g}$) for FRAP. The results of the mass spectrometry identified some presumptive substances in the extract of artichoke bracts that have been previously reported (mono-caffeoylquinic acid, apigenin and luteolin). Finally with the implemented system an extensive acquisition of experimental data was obtained, allowing to adjust with the Simpson model with one (R^2 between 0.9866-0.9992 and RMSE between 291-62). With the kinetic study at temperatures of 50, 60 and 70 °C, it were calculated the kinetic speed constants, these were for k_1, k_2 and n of (1.0168, 0.0996 and 0.9209) respectively, while the thermodynamic parameters were the E_a with ($2.19874\text{E-}05$ kJ mol⁻¹), the ΔH result of the E_a demonstrated an exothermic process, while the positive values of the ΔG indicated that the extraction processes were edergonic and not spontaneous, the extraction process that was most viable result in terms of energy consumption was 60°C. This study allowed to evaluate, model and describe the process of solid-liquid extraction of bioactive components of artichoke bracts.

Agradecimientos

Hay tantas personas a quien agradecer en este transcurso de mi vida y no solo en los dos años que curse la maestría, sino que doy gracias a todas las personas que han formado parte importante en mi vida profesional, académicamente y humana. Gracias Dios por haberme dado esta experiencia, bendición y fortuna, gracias por inyectarme fortaleza, decisión y paciencia para lograr este objetivo más en mi vida, sabes que siempre estas en mi mente y te agradezco cada hecho en mi vida.

Gracias a la Universidad Tecnológica de Tecámac por haberme brindado cobijo y espacio en el laboratorio de bioprocesos para realizar los experimentos necesarios para este trabajo, gracias por la dirección del Dr. Genaro Iván Cerón Montes por apoyarme, creer en mi y darme la confianza para ser su mano derecha durante este tiempo, fue la estancia más productiva que he tenido.

Gracias a la Universidad Autónoma de Chapingo y la Dra. Diana Guerra por brindarme la confianza para trabajar con sus equipos por su hospitalidad y amabilidad.

Gracias a la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biociencias, Tecnología e Innovación por haberme permitido ser participe en el programa de posgrado, gracias Dr. Jorge Yáñez Fernández por el apoyo y por haber hecho posible este proyecto.

Gracias comité tutorial, Dra. Yolanda de las Mercedes Gómez y Gómez, Dr. Ramón Villanueva Arce y Dra. Ana Belén Piña Guzmán por sus observaciones y su tiempo.

Gracias a mi familia por su apoyo moral y por su amor, a Magdalena, Pablo, Pablo Nathanael, Genaro, Anita, Iván, Sofi, Yael y Flor.

ÍNDICE

Resumen.....	iv
Abstract.....	vi
Lista de cuadros.....	ix
Lista de figuras.....	x
I. Introducción.....	1
II. Hipótesis.....	3
III. Objetivos.....	3
IV. Justificación.....	4
Capítulo I. Caracterización del extracto de alcachofa.....	5
1.1. Marco teórico.....	5
1.2. Materiales y métodos.....	13
1.3. Resultados y discusión.....	14
1.4. Conclusiones.....	19
1.5. Referencias.....	20
Capítulo II. Evaluación del sistema embebido para la extracción.....	23
2.1. Marco teórico.....	23
2.2. Materiales y métodos.....	33
2.3. Resultados y discusión.....	34
2.4. Conclusiones.....	38
2.5. Referencias.....	39
Capítulo III. Modelamiento del proceso de extracción de brácteas de alcachofa.....	40
3.1. Marco teórico.....	40
3.2. Materiales y métodos.....	49
3.3. Resultados y discusión.....	50
3.4. Conclusiones.....	82
3.5. Referencias.....	83
Anexos.....	87

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Compuestos activos de la alcachofa.....	9
Cuadro 2. Estructuras químicas de los polifenoles.....	10
Cuadro 3. Ácidos mono y dicafeoilquínico en cabezas de alcachofa de calidad comercial.....	13
Cuadro 4. Perfil fitoquímico del extracto de cabeza de alcachofa.....	14
Cuadro 5. Cuantificación de metabolitos secundarios	15
Cuadro 6. Actividad antioxidante del extracto de alcachofa.....	16
Cuadro 7. Sólidos disueltos totales del extracto de alcachofa.....	17
Cuadro 8. Bandas características tentativas del extracto de alcachofa	18
Cuadro 9. Longitudes de absorción UV-Vis tentativamente identificadas	35
Cuadro 10. Tiempos de extracción de acuerdo al arreglo ortogonal L9 (3 ⁴) de taguchi.....	55
Cuadro 11. Rendimientos de extracción.....	57
Cuadro 12. (S/R) de los rendimientos de extracción.....	63
Cuadro 13. Análisis de varianza para fenoles totales y actividad antioxidante.....	64
Cuadro 14. Valores de correlación para modelos 1 a 3.....	72
Cuadro 15. Valores de correlación para modelos 4 y 5.....	73
Cuadro 16. Valores de correlación para modelos 6 y 7.....	75
Cuadro 17. Valores de correlación para ensayos 7,8 y 9.....	77
Cuadro 18. Valores de correlación por modelo de simpson.....	79
Cuadro 19. Valores de correlación por modelo de simpson con n y k1 constantes.....	79
Cuadro 20. Parámetros termodinámicos para análisis de la extracción sólido-líquido.....	81

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Cynara scolymus</i> L. alcachofa blanca de Tudela.....	5
Figura 2. Características físicas de la alcachofa.....	6
Figura 3. Partes de la alcachofa.....	7
Figura 4. Estructura química de la apigenina.....	11
Figura 5. Glucósidos de flavona derivados de la luteolina y apigenina	12
Figura 6. Estructura química de la luteolina.....	12
Figura 7. Espectro infrarrojo del extracto de alcachofa.....	18
Figura 8. Perfil fitoquímico cualitativo de extracción con etanol de alcachofa	23
Figura 9. Determinación colorimétrica cuantitativa por micro-placas	24
Figura 10. Extractos de origen vegetal.....	25
Figura 11. Campo eléctrico y magnético de la luz	25
Figura 12. Espectro electromagnético	26
Figura 13. Absorción y emisión de energía de los electrones en la materia.....	26
Figura 14. Representación de los orbitales (s y p).....	27
Figura 15. Orbitales sigma (σ) y pi (π)	28
Figura 16. Orbitales atómicos antienlazantes sigma σ^* a) y Pi π^* b).....	28
Figura 17. Unión entre carbonos sp^2	28
Figura 18. Diagrama de transiciones electrónicas y orbitales atómicos.....	29
Figura 19. Estructura química de orbitales moleculares localizados naturalmente NLMO.	30
Figura 20. Estructura química de los orbitales moleculares OM.	31
Figura 21. Espectro de ultravioleta-visible del ácido cafeico, quitosano y ácido cafeico.	32
Figura 22. Espectro UV-Vis del extracto de alcachofa.....	34
Figura 23. Monitoreo manual (relación sólido-líquido 1:5, a 295 rpm y 20°C durante 240min)..	36
Figura 24. Monitoreo manual (relación sólido-líquido 1:20 a 395 rpm y 20°C durante 240min).	37
Figura 25. Monitoreo manual (relación sólido-líquido 1:25 a 465 rpm y 20°C durante 240min).	37
Figura 26. Esquema de extracción sólido-líquido	40
Figura 27. Operación unitaria de extracción sólido-líquido.	41
Figura 28. Convección en una partícula sólida orgánica.....	41
Figura 29. Difusión en una partícula sólida orgánica	41
Figura 30. Dimensiones del tanque agitado para la extracción sólido-líquido	45
Figura 31. Dinamismo dentro del tanque agitado.	45
Figura 32. Comportamiento cinético de extracción a 200 nm con tratamiento a 20°C.	50
Figura 33. Comportamiento cinético de extracción a 200 nm con tratamiento a 40°C.	51
Figura 34. Comportamiento cinético de extracción a 200 nm con tratamiento a 60°C.	52
Figura 35. Normalización de los datos cinéticos de extracción.....	54

Figura 36. Tiempos de extracción.	56
Figura 37. Rendimientos de extracción	58
Figura 38. Comparación de los rendimientos de extracción por sólidos disueltos totales	59
Figura 39. Comparación de los rendimientos de fenoles totales.....	60
Figura 40. Comparación de los rendimientos de la actividad antioxidante por el método FRAP61	
Figura 41. Comparación de los rendimientos de actividad antioxidante por el método ABTS...	62
Figura 42. Valores señal/ruido (S/R).....	64
Figura 43. Cromatograma del extracto de brácteas de alcachofa usando canal de adquisición BPI de baja energía.....	67
Figura 44. Cromatograma del extracto de brácteas de alcachofa usando canal de adquisición BPI de alta energía.....	67
Figura 45. Cromatograma del extracto de brácteas de alcachofa usando canal de adquisición 353 m/z de baja energía.....	68
Figura 46. Espectro Ms del Ion molecular usando canal de adquisición 353.2 m/z de alta energía en el tiempo de retención de 35.65 minutos.	68
Figura 47 Cromatograma del extracto de brácteas de alcachofa usando canal de adquisición 269.3 m/z de baja energía.....	69
Figura 48. Espectro Ms del Ion molecular usando canal de adquisición 269.3 m/z de alta energía en el tiempo de retención de 42.87 minutos.	69
Figura 49. Cromatograma del extracto de brácteas de alcachofa usando canal de adquisición 285.2 m/z de baja energía.....	70
Figura 50. Espectro Ms del Ion molecular usando canal de adquisición 285.2 m/z de alta energía en el tiempo de retención de 30.80 minutos.	70
Figura 51. Correlación para el ensayo 8 modelos 1 a 3.....	71
Figura 52. Correlación para el ensayo 8 modelos 4 y 5.....	73
Figura 53. Correlación para el ensayo 8 modelos 6 y 7.....	74
Figura 54. Residuales de los modelos 6 y 7	75
Figura 55. Correlación para ensayo 7, 8 y 9 modelo de Simpson.....	76
Figura 56. Residuales del ensayo 7,8 y 9 modelo de Simpson.....	77
Figura 57. Correlación para los ensayos a 50, 60 y 70 °C.	78
Figura 58. Residuales de los ensayos a 50, 60 y 70°C.....	78
Figura 59. Ecuación linealizada de Arrhenius en un rango de 50 a 70°C.....	80

Acrónimos

AA: Actividad antioxidante

ABTS: 2,2-Azinobis-3-Etilbenzotiazolin-6-Ácido Sulfónico

DPPH: 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo

ET: Equivalentes de trolox

FRAP: Ferric reducing antioxidant power

FT-IR: Infrarrojo-Transformada de Fourier.

MF: Microfiltración

MS: Espectro de masas

S/R: Señal de ruido

SDT: Sólidos disueltos totales

UV-Vis: Ultravioleta-Visible

Y_{AA} : Rendimiento de actividad antioxidante

Y_{FT} : Rendimiento de fenoles totales

Y_{SDT} : Rendimientos de sólidos disueltos totales

K1, K2 y n: Constantes de los modelos cinéticos

ΔH : Entalpía de activación

ΔS : Entropía

ΔG : Energía libre de Gibbs.

E_a : Energía de activación.

I. INTRODUCCIÓN

La alcachofa blanca de Tudela (*Cyanara scolymus L.*) proviene de la familia *Asteraceae* (Lattanzio *et al.*, 2009) y es considerada una fuente importante de antioxidantes y polifenoles; en la industria de alimentos se utilizan principalmente los corazones en conserva pertenecientes a la parte interna de la alcachofa (Wang., 2003), estos corazones representan alrededor del 30 al 40% de la alcachofa (Lattanzio., 2009) y el 60% restante es principalmente residuo agrícola de las cuales se generan 1200 toneladas al año en México. Algunos autores mencionan que los residuos se han utilizado para la extracción de componentes bioactivos como la apigenina y luteolina ambos flavonoides (Llorach *et al.*, 2002; Sánchez *et al.*, 2003; Fratianni *et al.*, 2007) y compuestos fenólicos del tipo cafeíco, cafeoilquínico, cumárico, ferulico, hidroxicinámico entre otros (Lattanzio *et al.*, 2009; Ceccarelli *et al.*, 2010). Los componentes bioactivos presentan propiedades terapéuticas como antioxidante, anticancerígeno, antígenotóxico, reductor de colesterol, hepatoprotector, excretor biliar, diurético, antiinflamatorio, antifúngico, anti VIH y antibacteriano. (Shimoda *et al.*, 2003; Mulinacci *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2004). La principal operación para la obtención de estos compuestos bioactivos es la extracción, en consecuencia muchos autores han estudiado la influencia de diferentes métodos y sus condiciones (Lapornik *et al.*, 2005; Bucic *et al.*, 2007; Spigno *et al.*, 2007). En el caso de la extracción de componentes bioactivos de alcachofa se puede emplear agua, un disolvente ecológico y económico. Cabe mencionar que en esta operación un pretratamiento en el material vegetal aumenta el rendimiento de extracción (reducción del tamaño de partícula, remojo, tratamiento térmico, entre otros). Hasta la fecha no hay reportes de estudios cinéticos de extracción en residuos de alcachofa que en su mayoría son brácteas.

En este estudio se caracterizó un extracto de alcachofa y se determinó la presencia de metabolitos secundarios en mayor abundancia fenoles y flavonoides, con el análisis de infrarrojo (FT-IR) y Ultravioleta-Visible (UV-Vis) se reveló los tipos de enlaces atómicos (O-H, C-OOH, C-H Y C=O) y las transiciones electrónicas del tipo ($n-\pi^*$, $\pi-\pi^*$ y $\sigma-\pi^*$) que determinaron los posibles grupos funcionales característicos de sustancias polifenólicas.

Para el estudio de la extracción se implementó un sistema embebido de monitoreo en línea para la detección de las sustancias empleando un tanque agitado de acero inoxidable acoplado a un espectrofotómetro de ultravioleta-visible (UV-Vis), y se monitoreo manera continua a cuatro longitudes de onda. Este sistema embebido permitió estudiar el efecto de los factores de operación (tamaño de partícula, velocidad de agitación, relación sólido-líquido y la temperatura), también determinó el tiempo de extracción en 34.16 min. A través del diseño de matriz ortogonal de Taguchi se hallaron los efectos principales que afectaron el rendimiento de fenoles totales, actividad antioxidante y se establecieron las condiciones de operación (velocidad de agitación a

500 rpm, temperatura a 60 °C, tamaño de partícula 2 mm y relación sólido-líquido 1:35). Se obtuvo un rendimiento de fenoles totales de $(45.5 \pm 0.06 \text{ mg GAE/g})$ y rendimientos de actividad antioxidante de $(511.60 \pm 0.68 \mu\text{mol ET/g})$ por la técnica ABTS y de $(112.57 \pm 0.59 \mu\text{mol ET/g})$ por la técnica FRAP cuatro veces mayores a lo reportado por (Martínez., 2016). Con el análisis de espectrometría de masas se identificaron algunas sustancias presuntivas del extracto de brácteas de alcachofa que ya han sido reportadas previamente (ácido mono-cafeoilquínico y ácido neoclorogénico) pertenecientes a los ácidos hidroxicinámicos, (apigenina y luteolina) pertenecientes a un tipo de flavona. Finalmente los datos experimentales ajustaron en el modelo de Simpson con una (R^2 entre 0.9866-0.9992) y una (RMSE entre 291-62), posteriormente se realizó un estudio cinético a temperaturas de 50, 60 y 70° C y se calcularon los valores de las constantes de velocidad cinética (k_1, k_2 y n), estos fueron (1.0168, 0.0996 y 0.9209) respectivamente, los parámetros termodinámicos fueron la Energía de activación (E_a), entalpía (ΔH), entropía (ΔS) y Energía libre de Gibbs (ΔG), donde la E_a resultó de $(2.19874\text{E-}05 \text{ kJ mol}^{-1})$, la ΔH obtenida demostró que fue un proceso exotérmico, mientras que la ΔG junto con la ΔS indicaron que los procesos de extracción fueron endergónicos y no espontáneos, así mismo la extracción que resultó más viable en cuanto al consumo de energía fue a 60°C. Este estudio permitió evaluar, modelar y describir el proceso de extracción sólido-líquido de componentes bioactivos de brácteas de alcachofa, dando un valor agregado a estos residuos y haciendo más rentable el proceso de extracción.

II. HIPÓTESIS

El desarrollo de un modelo cinético de extracción de polifenoles de residuos de alcachofa en un equipo con muestreo en línea, permitirá encontrar los factores operativos del proceso de extracción de componentes bioactivos para evaluar, modelar y describir el proceso de extracción sólido-líquido en brácteas de alcachofa.

III. OBJETIVOS

Objetivo general

Extraer y caracterizar los componentes bioactivos de residuos de alcachofa.

Objetivos específicos

- Implementar un sistema embebido en tanque agitado para la extracción sólido-líquido de brácteas de alcachofa.
- Evaluar el efecto de la temperatura, relación sólido/líquido, tamaño de partícula y velocidad de agitación en el rendimiento de extracción de fenoles totales y actividad antioxidante de brácteas de alcachofa.
- Modelar los datos experimentales obtenidos del monitoreo en línea de la cinética de extracción de brácteas de alcachofa.
- Obtener e interpretar los parámetros termodinámicos del proceso de extracción de brácteas de alcachofa.

IV. JUSTIFICACIÓN

Una de las fuentes más ricas en antioxidantes y polifenoles es la alcachofa (*Cynara scolymus L.*) (Wang., 2003) gracias sus componentes bioactivos, los cuales a su vez presentan propiedades benéficas a la salud humana como antioxidante, anticancerígeno, reductor de colesterol, hepatoprotector, excretor biliar, diurético, antiinflamatorio, antifúngico, anti VIH y antibacteriano. (Shimoda *et al.*, 2003; Mulinacci *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2004). Aunque esta hortaliza tiene aplicaciones en la industria de cosméticos y en medicina herbolaria, su principal participación es en la industria del sector alimentario específicamente en la preparación de conservas de corazones de alcachofa. Estos corazones representan del 30 al 40% de su peso y el 60% restante es residuo agrícola (Lattanzio., 2009) generando 1200 toneladas al año en México. Algunos autores como Llorach *et al.* (2002) mencionan que estos residuos agrícolas se han utilizado para la extracción de componentes bioactivos como flavonoides y compuestos fenólicos. Por lo que este trabajo propone la extracción y caracterización de componentes bioactivos de residuos de alcachofa, en específico fenoles totales con actividad antioxidante. Para estudiar la extracción se pretende implementar un sistema de monitoreo en línea para la detección de las sustancias, con los datos experimentales obtenidos del monitoreo en línea se pretende ajustar un modelo cinético que acople los factores operativos en la extracción de compuestos bioactivos y describa de manera eficiente el proceso de extracción de las brácteas de alcachofa. Considerando que no existen procedimientos estandarizados para la extracción de estos compuestos y no se ha desarrollado un sistema de extracción en línea que participe directamente en el estudio cinético de extracción de brácteas de alcachofa, sería una herramienta útil de ingeniería que facilite la evaluación y rentabilidad del proceso de extracción para este tipo de residuos agrícolas de alcachofa.

CAPITULO I. CARACTERIZACIÓN DEL EXTRACTO DE ALCACHOFA

1.1. MARCO TEÓRICO

1.1.2. Generalidades de la alcachofa

Origen de la alcachofa

La alcachofa (*Cynara scolymus L.*) variedad blanca de Tudela (Figura 1), es una planta herbácea proveniente de la familia Asteraceae, originaria del Mediterráneo, Sur de Europa, África del Norte, América del Sur e Islas Canarias; El nombre botánico se deriva en parte de la tradición de la fertilización en plantas con cenizas (de latín cinis, cineris) y skolymos del griego que significa (cardo) de espinas encontradas en las brácteas que encierran la flor y forman parte de la cabeza (Lattanzio *et al.*, 2009). Representa una parte importante en la dieta del mediterráneo, ya que es rica en compuestos fenólicos, inulina, fibras y minerales (Orlovskaya *et al.*, 2007; Lattanzio., 2009).

Taxonomía

REINO: Vegetal

PHYLUM: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

ORDEN: Asterales

FAMILIA: Asteraceae

GÉNERO: *Cynara*

ESPECIE: *Cynara scolymusL.*

VARIEDAD: Blanca de Tudela

NOMBRE COMÚN: Alcachofa



Figura 1. (*Cynara scolymus L.*) alcachofa blanca de Tudela

Características de la alcachofa

La alcachofa es una planta herbácea, de raíz gruesa y de tallo alto, erguido, grueso y acanalado longitudinalmente y ramificado (Lattanzio *et al.*, 2009), sus hojas son pinatilobadas con una longitud de alrededor de 60 cm, hendidas, con la cara superior en color verde oscuro y la inferior blanquecina, cubierta de densos pelajes blancos y con nerviaciones (Figura 2). La parte comestible de la planta es la flor inmadura conocida como corazón de alcachofa, y este representa el 30 a 40 % de su peso fresco (Lattanzio., 1987).

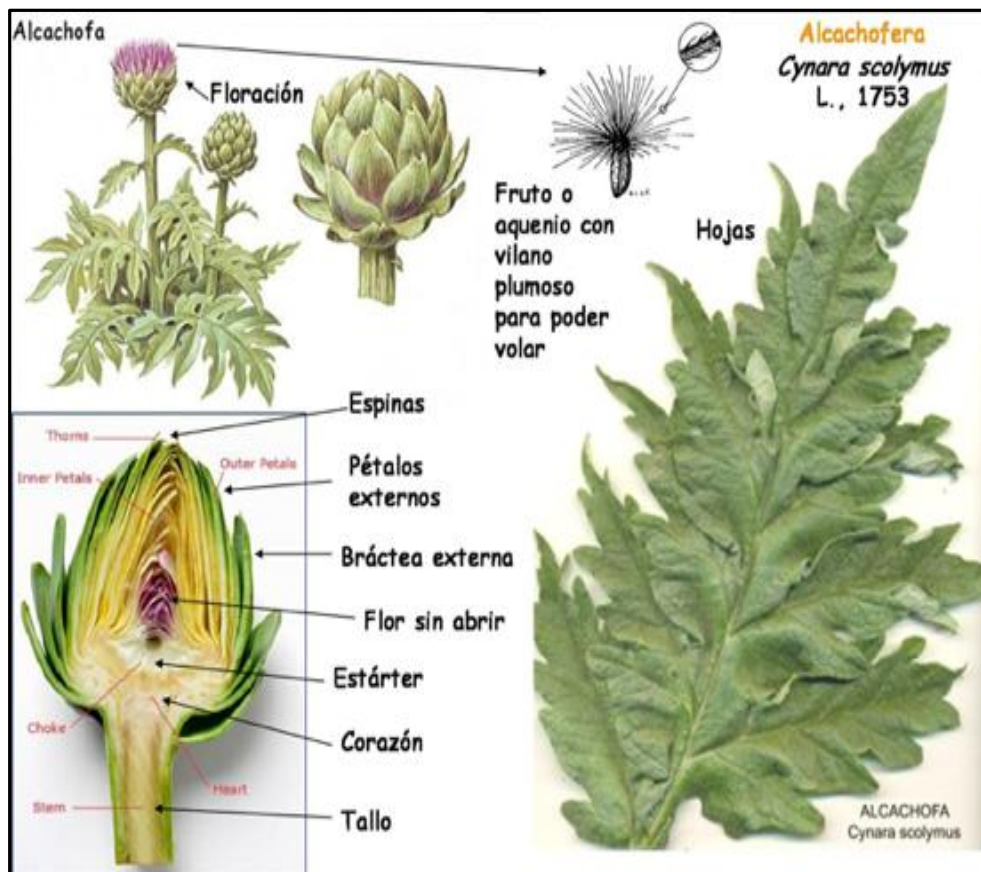


Figura 2. Características físicas de la alcachofa. <http://www.gastrosoler.com> (2016)

La cabeza de alcachofa es un capítulo inmaduro y está constituido por diferentes tejidos (Figura 3); La parte no comestible esta conformada por, brácteas externas que recubren toda la cabeza de la alcachofa A); La parte comestible se encuentra en el centro y está constituido por, la flor sin abrir con pétalos tiernos de color verde y de color púrpura a violeta B), estárter que es el que da origen a la floración C) y el receptáculo que une a la cabeza con el tallo D). La flor sin abrir y el estárter hacen en conjunto el corazón de la alcachofa.

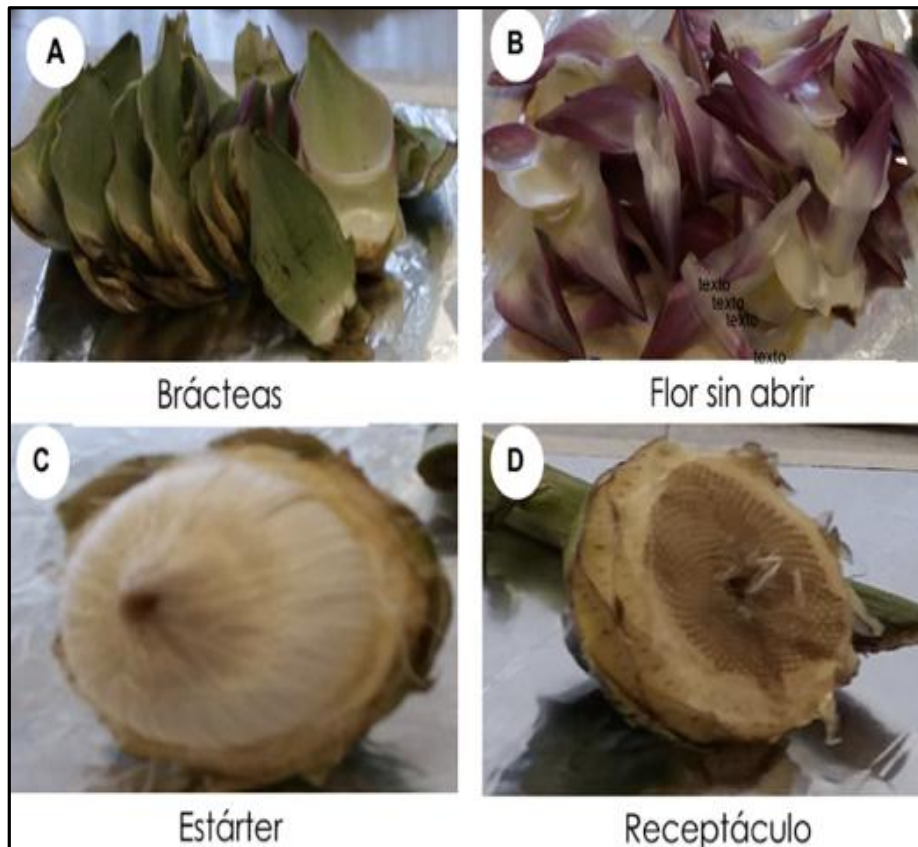


Figura 3. Partes de la alcachofa.

Beneficios de la alcachofa a la salud humana

La alcachofa ha tenido un amplio uso en la medicina herbolaria, siendo reconocida por sus efectos benéficos y terapéuticos en la salud (Adzet *et al.*, 1987). Ejerciendo actividad anticolerética (Preziosi., 1969; Gebhardt y Fausel., 1997), hepatoprotectora, excretora biliar, diurética, antioxidante, anticancerígena, antígenotóxica, antiinflamatoria, antifúngica, anti VIH y antibacteriana. (Gebhardt y Fausel., 1997; Brown y Rice., 1998; Shimoda *et al.*, 2003; Mulinacci *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2004). Todas estas enfermedades crónico degenerativa causan daños irreversibles a la salud del ser humano, por lo que el consumo de alcachofa, es una alternativa para contrarrestar dichas patologías. La actividad antioxidante de la alcachofa, inhibe radicales libres que se producen a partir del metabolismo de sustancias tóxicas como el etanol u otros agentes (Claus *et al.*, 2015). Así también gracias a su actividad excretora biliar, controla la generación de cálculos biliares de la enfermedad conocida como colelitiasis, formada por colesterol o bilirrubina dentro de la vesícula biliar que obstaculizan el conducto biliar impidiendo el paso de sustancias del hígado al duodeno. También es utilizada en el tratamiento contra la inflamación ya que su efecto antiespasmódico funciona como agente en la supresión de las

espasmos musculares generando contracciones involuntarias repentinas de un músculo (Mulinacci *et al.*, 2004). La alcachofa participa en el combate contra enfermedades crónicas degenerativas como la diabetes, gracias a sus flavonoides como la apigenina, luteolina entre otras, ya que ayuda a contrarrestar la producción de enzimas (ciclo-oxigenasas) encargadas de generar ácidos grasos de cadena larga (Mulinacci *et al.*, 2004; Coinu *et al.*, 2007).

Estas actividades terapéuticas presentes en la alcachofa se deben a sus sustancias químicas, denominadas metabolitos secundarios, son sustancias que sintetizan las plantas y que no son esenciales para su funcionamiento vital como el crecimiento y reproducción. Pero si son de gran importancia en los humanos ya que complementan la nutrición, el desarrollo y el mantenimiento del propio organismo de forma que contrarrestan o evitan el desarrollo de ciertas enfermedades crónicas degenerativas como las que se mencionaron anteriormente. Estos tienen la característica de estar en diferente proporción en todas las plantas o incluso en un determinado género, familia o especie. Algunos productos de los metabolitos secundarios tienen funciones específicas como atrayentes o repelentes de algunos insectos, muchos de los pigmentos en las flores o frutos pueden servir para atraer insectos que contribuyan en la polinización de sus especies jugando un papel importante en su reproducción, también se ha comprobado que estos sirven para atraer animales los cuales al alimentarse de las plantas distribuyen las semillas en varios lugares de la región. Así también pueden fungir como mecanismo de defensa contra depredadores y patógenos gracias a las sustancias químicas que en algunos casos presentan características de mal sabor o toxicidad y que a su vez ayudan a la preservación de especies de algunas plantas. Estos metabolitos suelen tener aplicación tanto en la industria de alimentos como farmacéutica debido a sus propiedades fisicoquímicas (Taiz y Zeiger., 2006; Fattorusso y Tagliatela., 2008).

Metabolitos secundarios principales de la alcachofa

Particularmente la alcachofa exhibe los metabolitos secundarios presentes en el cuadro 1. Dentro de ellos destaca la presencia de los polifenoles en forma de derivados del ácido cinámico y flavonoides, estos le confieren propiedades antioxidantes a la alcachofa (Lattanzio., 2009; Orlovskaya *et al.*, 2007). El tener actividad antioxidante puede neutralizar una gama de especies reactivas de oxígeno tales como: superóxido, hidroxilo y radicales peróxilo así como quelar iones metálicos, que como resultado permitan contrarrestar diversas enfermedades crónicas degenerativas y el envejecimiento prematuro (Singh y Ramassamy., 2008).

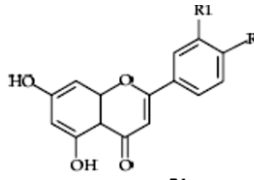
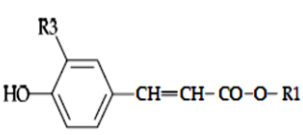
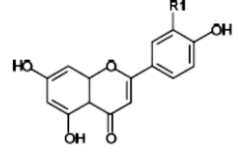
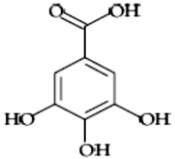
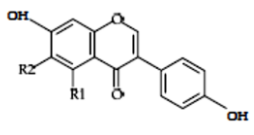
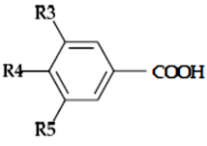
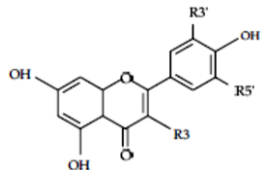
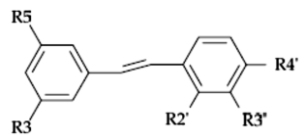
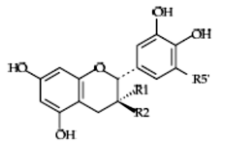
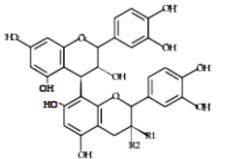
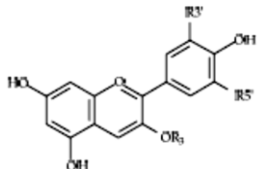
Cuadro 1. Compuestos activos de la alcachofa.

Grupo de metabolitos secundarios	Metabolitos específicos	Referencias
Sesquiterpéntalactonas	Cinaropicrina, cinaratriol, grosheimina y deshidrocinaropicrina	(Lattanzio <i>et al.</i> , 2009)
Ácidos derivados del ácido cinámico (Polifenoles)	Cinarina, ácidos clorogénico, neoclorogénico, criptoclorogénico, cafeico, cafeilquínico y dicafeilquínico	(Lattanzio <i>et al.</i> , 1989)
Flavonoides (Polifenoles)	Apigenina, luteolina, heterósidos de luteolina como escolimósido, cinarotriósido y rutina	(Llorach <i>et al.</i> , 2002)
Aceites esenciales	Sesquiterpenos como cariofileno y beta- selineno	(Shimoda <i>et al.</i> , 2003)
Triterpenos	Pseudotaraxasterol	(Lattanzio <i>et al.</i> , 1989)
Polisacáridos	Inulina, mucílagos	(Lattanzio <i>et al.</i> , 1989 y Lattanzio <i>et al.</i> , 2002)
Minerales	Magnesio, hierro y fósforo	(Orlovskaya <i>et al.</i> , 2007).

1.1.3. Generalidades de los polifenoles y su presencia en la alcachofa

Los polifenoles son metabolitos que se caracterizan por tener un al menos un grupo fenol por molécula. Estas sustancias polifenólicas abarcan más de 8000 compuestos relacionadas con funciones fisiológicas en el organismo. La estructura química central de estas sustancias posee la geometría de anillos aromáticos cíclicos constituidos por 6 átomos de carbono unidos por 6 enlaces σ simples y 3 dobles enlaces π . Los cuáles a su vez pueden estar unidos a otros grupos de sustancias químicas orgánicas, principalmente al grupo alcohol (OH) y a otros como cetonas, aldehídos, carboxilos, aminas, amidas, ésteres y compuestos nitrogenados (Cuadro 2). Todos estos grupos de sustancias a su vez presentan características físicas y químicas diferentes dentro de los organismos que las consumen traduciéndose en diversas actividades biológicas. Los polifenoles presentan la capacidad de modular la actividad de diferentes enzimas e interfieren consecuentemente en mecanismos de señalización celular y en distintos procesos celulares (Quiñones *et al.*, 2012). Esto en parte se debe a las características fisicoquímicas que poseen estos metabolitos secundarios que les permite participar en diversas reacciones metabólicas celulares relacionadas con la óxido reducción.

Cuadro 2. Estructuras químicas de los polifenoles.

Flavonoides			No flavonoides		
Tipos	Estructura química	Subtipos	Tipos	Estructura química	Subtipos
Flavononas		Naringenina Hesperetina Pinocembrina	Ácidos hidroxicinámicos		Ácido cafeoil Tartárico Ácido feruoil Tartárico
Flavonas		Apigenina Luteolina	Taninos hidrolizables		Galotanino Elagitaninos Epigalotanino
Isoflavonas		Daidzeína Genisteína	Ácidos hidroxibenzoicos		Ácido gálico Ácido vanílico Ácido siríngico Reveratrol Piceido
Flavonoles		Kaempferol Quercetina Miricetina	Estilbenos		Piceatanol δ - viniferina α - viniferina ε - viniferina
Flavanoles Flavan - 3 - oles		Catequina Epicatequina Galocatequina			
Proantocianidinas		Catequina - Epicatequina Epicatequina - Catequina			
Antocianos		Cianidina Delfinidina Malvidina			

Referencia: Schütz *et al.*, (2006a); Lattanzio *et al.*, (2009); Lattanzio *et al.*, (2002); Llorach *et al.*, (2002).

Flavonoides generalidades y su presencia en la alcachofa

Los flavonoides presentan diversas propiedades hacia la salud humana principalmente por su actividad antioxidante. Los flavonoides se caracterizan por presentar el grupo fenol como estructura química central, a la cual se pueden unir diversos grupos funcionales, dándole la característica particular a la molécula y con ello determinar su clasificación ya sea en flavonas, flavonoles, flavononas, antocianinas y ácidos hidroxibenzoicos. En la alcachofa están presentes los flavonoides como la apigenina, luteolina, cianidina, peonidina y delfinidina. La apigenina y glucósidos de luteolina se han encontrado en las brácteas, mientras que los pigmentos de antocianinas solo en la flor central del corazón. La apigenina (4',5,7-trihydroxyflavone) (Figura 4), es un flavonoide polifenólico hidrofóbico natural que pertenece a la subclase flavona, que es la aglicona de varios glucósidos de origen natural la menos tóxica y no mutagénica de los flavonoides y se distribuye en hojas, tallos y raíz de la alcachofa. Se ha demostrado que actúa como un potente antioxidante (Nielsen *et al.*, 1999), inhibidor de la ciclo-oxigenasa productora de prostaglandinas que genera ácidos grasos de 20 carbonos en diversos sistemas biológicos.

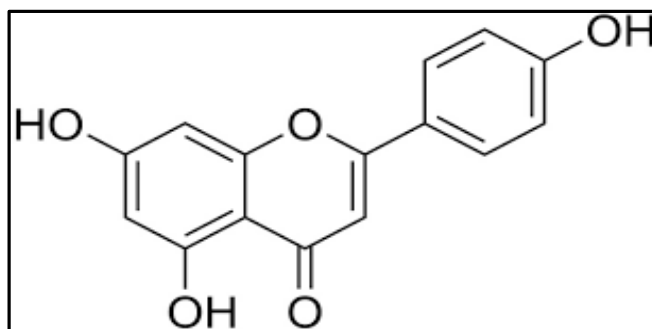


Figura 4. Estructura química de la apigenina. Nielsen *et al.*, (1999)

Se ha reportado que el flavonoide luteolina es un potente antioxidante que protege las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación (Lattanzio y Van Sumere., 1987; Lattanzio *et al.*, 1994; Brown y Rice., 1998). En la figura 5 se muestran las flavonas de glucósidos más representativos de la alcachofa: (I) Luteolina-7-O- β -D-glucopiranosida (luteolina-7-O-glucosida = cinarosida), (II) Luteolina-7-O- α -L-ramnosil1 (1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosida (luteolina-7-O-rutinosida = escolimosida), (III) apigenina-7-O- β -D-glucopiranosida (apigenina-7-O-glocosida), (IV) apigenina-7-O- α -L-ramnosil 1 (1 \rightarrow 6) - β -D-glucopiranosida (apigenina-7-O-rutinosida) (Lattanzio y Van Sumree., 1987; Lattanzio *et al.*, 1994; Fritsche *et al.*, 2002; Schütz *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2004).

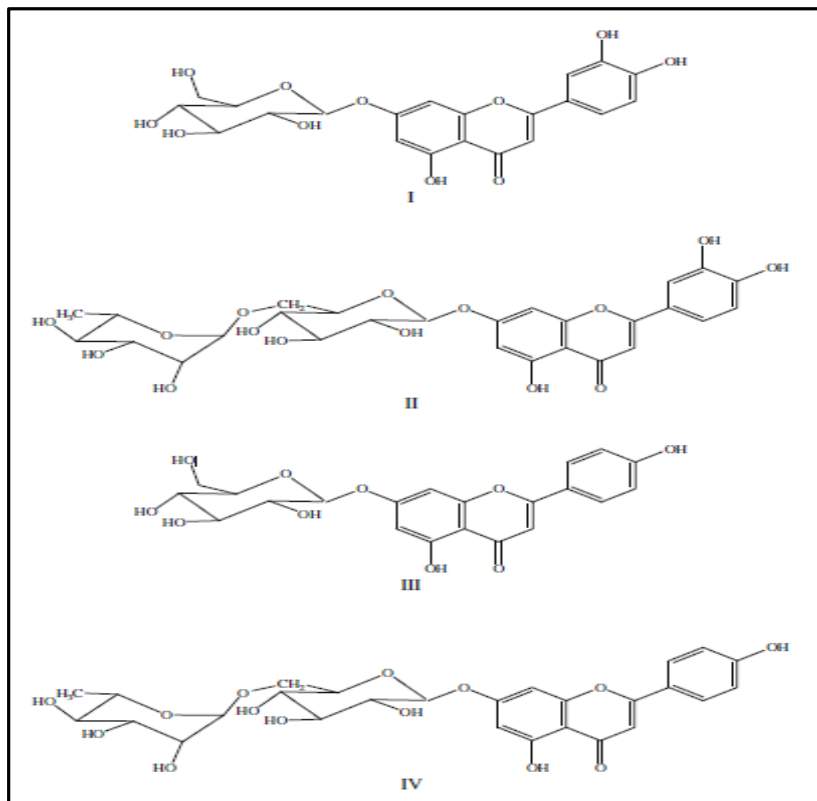


Figura 5. Glucósidos de flavona derivados de la luteolina y apigenina identificados en tejidos de alcachofa. Lattanzio y Van Sumere., (1987)

La luteolina, 30',40',5,7-tetrahidroxiflavona es un flavonoide el cual pertenece a la clase de las flavonas (Figura 6), la luteolina posee muchas propiedades beneficiosas incluyendo la antioxidante desempeñando un papel importante en el cuerpo humano como antioxidante en la captación de radicales libres, además de tener otras propiedades como la anti-inflamatoria, cardio-protectora, antidiabética y anti-proliferativa (Seelinger *et al.*, 2008 y López., 2009).

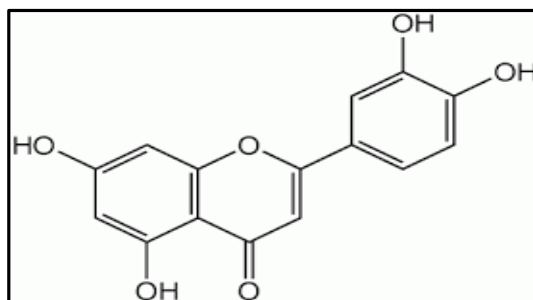


Figura 6. Estructura química de la luteolina. López., (2009)

También en la alcachofa se ha encontrado flavonoides pertenecientes a las antocianinas, las cuales son responsables de la pigmentación azul, roja y púrpura en los tejidos de algunos vegetales. Algunos autores han descrito que las antocianinas provocan el cambio de color verde a violeta en las cabezas de la alcachofa, y también estos autores han identificado algunos glucósidos de cianidina como : cianidina 3-O- β -glucósida, cianidina 3-O- β -soforósida, cianidina

3-cafeoilglucósida, cianidina 3-cafeoilsoforósida, cianidina 3-dicafeoilsoforósida y cianidina 3,5-diglucósida (Aubert y Foury., 1981). Más tarde Schütz *et al.*, (2006a) confirmó y encontró en las cabezas de alcachofa antocianinas como la cianidina 3,5-diglucósida, cianidina 3,5- β -glucósida, cianidina 3-O- β -glucósida, cianidina 3,5-malonildiglucósida, cianidina 3-(3''-malonil) glucósida y cianidina 3-(6''-malonil) glucósida.

Derivados de los ácidos hidroxicinámicos presentes en la alcachofa.

Dentro de los ácidos hidroxicinámicos en la alcachofa destacan los ácidos mono y dicafeoilquínico (Cuadro 3). Su abundancia relativa depende del disolvente, el pH y la temperatura, utilizada para su extracción (Nichiforesco., 1970).

Cuadro 3. Ácidos mono y dicafeoilquínico en cabezas de alcachofa de calidad comercial.

Derivados del ácido cafeoilquínico	Mg/100g en peso seco
Ácido 1-O-Cafeoilquínico	38.14
Ácido 3-O-Cafeoilquínico (ácido neoclorogénico)	57.22
Ácido 4-O-Cafeoilquínico (ácido criptoclorogénico)	267.02
Ácido 5-O-Cafeoilquínico (ácido clorogénico)	1544.91
Ácido 1,3-O-Dicafeoilquínico (Cinarina)	61.24
Ácido 1,4-O- Dicafeoilquínico	142.91
Ácido 4,5-O- Dicafeoilquínico	224.56
Ácido 3,5-O- Dicafeoilquínico	347.05
Ácido 1,5-O- Dicafeoilquínico	837.01
Ácido 3,4-O- Dicafeoilquínico	428.71

Referencia: Lattanzio *et al.*, (1994)

1.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales y equipos utilizados se describieron en el punto 4.1. y 4.1.2. del ANEXO I.

La extracción se realizó de acuerdo al punto 4.1.3. del ANEXO I.

El perfil fitoquímico fue desarrollado de acuerdo a la metodología descrita por Valencia y Garín., (2010) ver punto 4.1.6. del ANEXO I.

La cuantificación de fenoles totales fue por el método de Singleton y Rossi., (1965) ver punto 4.1.7. del ANEXO I.

La cuantificación de flavonoides fue con el método de Kubola y Siriamornpun., (2011) ver punto 4.1.8 del ANEXO I.

Se realizó actividad antioxidante por el método ABTS descrita por Re *et al.*, (1999) y el método DPPH de Brand *et al.*, (1995) ver puntos 4.1.9 y 4.1.11 del ANEXO I.

Para la determinación de sólidos disueltos totales SDT se tomó como referencia la NMX-F-527-1992, ver punto 4.1.12 del ANEXO I.

El análisis por espectrofotometría de infrarrojo medio (FT-IR) fue detallado en el punto 4.1.13 del ANEXO I.

1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Perfil fitoquímico del extracto de alcachofa

Las sustancias presuntivas del extracto de alcachofa se obtuvieron por el resultado de reacciones de coloración y/o precipitación, indicando la presencia o ausencia de los metabolitos con la escala + y - (Cuadro 4).

Cuadro 4. Perfil fitoquímico del extracto de cabeza de alcachofa.

Metabolito	Reacción	Resultado de la reacción
Fenoles	Cloruro férrico	+++Fenoles o taninos de tipo catecol.
Alcaloides	Dragendorff	++
	Wanger	+-
Flavonoides	Hidróxido de sodio al 10%	++ Xantonas y Flavonas
Cumarinas	Erlich	+-
	Hidróxido de amonio	++
Azúcares reductores	Fehling	+-
	Benedict	+-
Taninos	Cloruro férrico	++ Catecol
	Gelatina	+-
Glicósidos cianogénicos	Grignard	+-
Esteroides	Lieberman-Bouchard	+-

+++ Mucha presencia, ++ Presencia, +- Poca presencia, - No hay presencia.

Se observó mayor presencia de fenoles por la reacción de cloruro férrico. También se denotó gran presencia de flavonoides del tipo xantonas y flavonas, así como de cumarinas por la reacción de hidróxido de amonio, taninos del tipo catecol por la reacción de cloruro férrico. Otras sustancias también presentes como los alcaloides por la reacción Dragendorff. En el extracto hubo menor presencia para azúcares reductores, glucósidos cianogénicos y esteroides.

Resultados que son corroborados con los reportados en esta especie, donde se menciona que la alcachofa presenta compuestos fenólicos como: el ácido cafeico, cumárico, hidroxicinámico, ferúlico, cinarina (ácido 1,5-O-dicafeoilquinico) entre otros (Sánchez *et al.*, 2003; Fratianni *et al.*, 2007; Moglia *et al.*, 2009). En las brácteas de alcachofa se ha encontrado glucósidos de luteolina los cuales pertenecen a un tipo de tanino dentro de la clasificación de los flavonoides así como de cinarósida (luteolin-7-O- glucósido) y scolymósida (luteolina-7-rutinósida) (Gebhardt y Fausel., 1997). Presencia de flavonoides como la apiagenina y rutina (Llorach *et al.*, 2002). Algunos triterpenos clasificados dentro de las sesquiterpentalactonas como: cinaropicrina, cinatriol, grosheimina y deshidrocinaropicrina (Lattanzio *et al.*, 2009; Ceccarelli *et al.*, 2010).

Cuantificación de metabolitos secundarios del extracto de alcachofa

Se realizó por espectrofotometría de ultravioleta-visible (UV-Vis) tanto para flavonoides y fenoles totales. Se muestra la concentración de estos metabolitos secundarios presentes en el extracto de alcachofa, los valores representados son la media de tres determinaciones (Cuadro 5).

Cuadro 5. Cuantificación de metabolitos secundarios

Metabolito	Concentración
Fenoles totales en mg equivalentes de ácido gálico/mL	6.12 ± 0.003
Flavonoides en mg equivalentes de catequina. g	9.90 ± 0.002

Desviación estándar ±, con n=3

Las concentraciones obtenidas para fenoles totales resultaron mayores a lo reportado por algunos autores (Cruzado *et al.*, 2013) en extractos acuosos de alcachofa microfiltrados con concentraciones de 1.0266 mg GAE/L y 1.2845 mg GAE/L. Posiblemente la membrana empleada en la microfiltración de los extractos de (Cruzado *et al.*, 2013) no purifico los extractos de alcachofa, ya que las concentraciones de fenoles totales que obtuvieron fueron bajas. Un estudio realizado por (Curadi., 2005) reporta que el contenido de flavonoides totales (expresado como equivalentes de catequina por gramo de peso seco) de diferentes variedades de alcachofa fue para: Violetto di Sicilia de 11.72 ± 1.46, Violetto di Provenza 12.32 ± 1.10, Locale di Mola 12.72 ± 2.46, Terom 7.31 ± 0.36, Grato 13.05 ± 1.58. El extracto de esta variedad blanca de Tudela

presento 9.90 ± 0.02 una buena concentración de flavonoides de acuerdo a lo reportado por (Curadi., 2005).

Actividad antioxidante del extracto de alcachofa

Una parte atribuible a la concentración de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto de alcachofa, fue la evaluación de su actividad antioxidante ya que específicamente los ácidos fenólicos y flavonoides son reconocidos por ejercer propiedades inhibitorias de oxidación en organismos humanos (Pandino *et al.*, 2013). Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de estrés oxidativo y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías. La capacidad antioxidante se determinó a través de dos técnicas, los valores se observan en la cuadro 6 y representan la media de tres determinaciones.

Cuadro 6. Actividad antioxidante del extracto de alcachofa

Método	Concentración en equivalentes de trolox ($\mu\text{mol ET/g}$)	% de la actividad antioxidante
ABTS	35 ± 0.00004	43.54 ± 0.07
DPPH	22.8 ± 0.00002	44.68 ± 0.04

Desviación estándar \pm , con n=3

Se observó que la capacidad antioxidante por el método ABTS fue de 35 ($\mu\text{mol ET/g}$) con 43.54% de inhibición radicalaria y 22.8 ($\mu\text{mol ET/g}$) en DPPH con 44.68%. El porcentaje de actividad antioxidante en ambos métodos es muy cercano. Un estudio realizado por Boncún *et al.*, (2013) reportan porcentajes de captura del radical DPPH de extracto acuoso de hojas de alcachofa de 25.3% con 8.2 $\mu\text{g ET/mL}$, porcentajes menores a los que se obtuvieron en este estudio. Por otro lado tenemos a (Pandino *et al.*, 2013) reportando actividad antioxidante DPPH de diferentes variedades de alcachofa para: V. Di Sicilia clone 4/8 de 89.5%, Blanca de Tudela con 88%, Empolese 88.2%, Romanesco clone C3 88%, Tondo di Paestum 87% y Tempo con 86.5%. Donde el porcentaje de actividad antioxidante que se obtuvo en este estudio fue menor a lo reportado por (Pandino *et al.*, 2013). La variedad Blanca de Tudela que reportan Pandino *et al.*, (2013), se encuentra con porcentajes altos con respecto a otras variedades de alcachofa, lo que indica que posee una buena actividad antioxidante, al ser la misma variedad que se utilizó en este estudio.

Sólidos disueltos totales (SDT) del extracto de alcachofa

Es importante conocer la cantidad de sólidos que poseen los extractos naturales, ya que estos sólidos indican la cantidad de materia orgánica constituida por metales y algunos contaminantes entre ellos patógenos. Se determinó el porcentaje de sólidos para un extracto de alcachofa sin microfiltrar y microfiltrado a $0.05\mu\text{m}$, así mismo se obtuvieron los rendimientos para cada extracto (Cuadro 7).

Cuadro 7. Sólidos disueltos totales del extracto de alcachofa.

Sólidos disueltos totales (SDT)			
Extracto de alcachofa	g. de sólido/g. de extracto (X_{SEO})	% Sólidos	Rendimiento $\frac{Y_S}{S_v}$
Extracto sin microfiltrar	0.0141 ± 0.00021	1.41 ± 0.016	56.4 mg/g
Extracto microfiltrado	0.0040 ± 0.00002	0.40 ± 0.003	16.0 mg/g

Desviación estándar \pm , con $n=3$

Se observó que el porcentaje de sólidos en el extracto de alcachofa sin microfiltrar fue mayor que el extracto de alcachofa microfiltrado, con una diferencia de 3.5 veces menor que el extracto sin microfiltrar, esto fue equivalente a un 71.6% de sólidos retenidos en la membrana de microfiltración, lo cual indicó que se tuvo un buen porcentaje de remoción de partículas suspendidas que pudiesen afectar la detección por espectrofotometría de ultravioleta-visible, empleada en los siguientes capítulos.

Análisis por espectrofotometría de infrarrojo FT- IR

Se llevó a cabo un listado de las bandas de adsorción claramente definidas en el extracto de alcachofa indicando el número de onda de las bandas, así como el tipo de enlace atómico de los posibles grupos funcionales responsables de este comportamiento (Cuadro 8). En la figura 7 se presentó el espectro de infrarrojo medio del extracto de alcachofa, liofilizado mediante vacío a temperatura ambiente previamente microfiltrado comparado con el mismo extracto de alcachofa sin liofilizar, y se observó que los extractos presentaban la misma composición química.

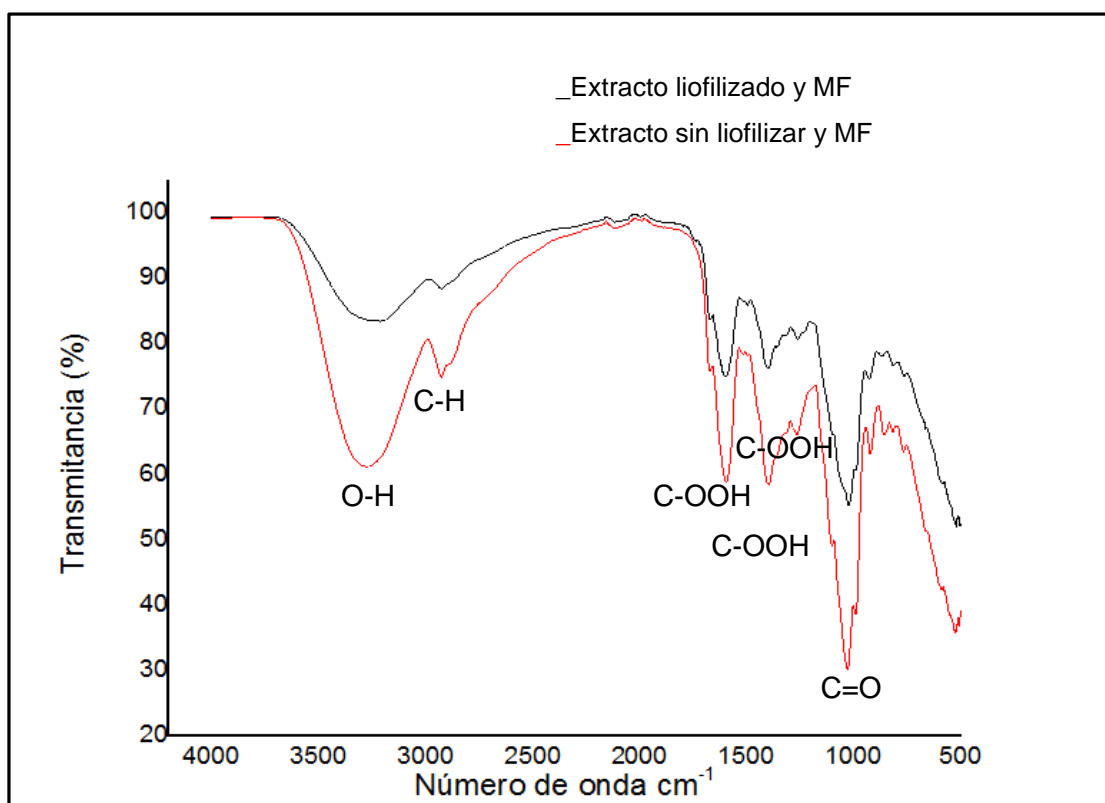


Figura 7. Espectro infrarrojo del extracto de alcachofa.

Cuadro 8. Bandas características del extracto de alcachofa.

Bandas localizadas cm ⁻¹	Enlace	Número de onda cm ⁻¹	Intensidad
3228.08	O-H Hidroxi	3570-3200	Fuerte y ancha
2926.74	C-H	3000-2850	Variable
1594.88	Anillo aromático	1450-1600	Media
1397.34	C-OOH	1610-1550	Fuerte y doble
1263.39	C-OOH	1420-1300	
1026.72	C=O	1300-1180	Fuerte y doble
		1050-1100 1160-1060	

Referencia: (Coates., 1999; Lin., 1991)

Se observó ciertas bandas características del extracto de alcachofa con vibraciones moleculares en los enlaces O-H a la distancia de 3228.08 cm^{-1} , C-H a 2926.74 cm^{-1} , C-OOH a 1594.88 y 1397.34 cm^{-1} , 1263.39 cm^{-1} y C=O a 1026.72 cm^{-1} , según Coates., (1999) y Lin., (1991). Indicando a su vez la relación de los enlaces atómicos característicos que conforman químicamente las estructuras de los polifenoles que en su mayoría están compuestos por anillos aromáticos a los cuales se unen diversos grupos (OH, CHO, C=O, COOH, etc.) (Sogorb y Vilanova., 2004). Se relaciona la presencia de grupos funcionales orgánicos específicos, comprendidos en la zona entre 4000 y 1300 cm^{-1} , los dobles y triples enlaces los caracteriza específicamente de 2500 a 500 cm^{-1} , tensiones de tipo C=O y C=C de 2000 a 1500 cm^{-1} y la región de huellas características o dactilares (con flexión de enlaces CH, CO y CC) de 1300 a 910 cm^{-1} . La presencia de grupos aromáticos comprendidas en la zona de 1000 a 650 cm^{-1} .

1.4. CONCLUSIONES

- Con el perfil fitoquímico se identificó cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en el extracto de alcachofa, siendo en mayor abundancia los fenoles y flavonoides.
- El extracto de alcachofa presentó una menor concentración de flavonoides con respecto a los fenoles totales, posiblemente a que los flavonoides conforman solo una parte constituyente de los diversos compuestos polifenólicos.
- El extracto de alcachofa presentó actividad antioxidante por el método ABTS y DPPH con porcentajes similares confirmando su actividad como reductor de especies reactivas de oxígeno.
- La operación de microfiltración presentó un porcentaje alto de remoción de partículas suspendidas que pudiesen afectar su evaluación y caracterización del extracto de alcachofa en los siguientes capítulos.
- Con el análisis Infrarrojo (IR), se logró la identificación de los posibles enlaces atómicos característicos que conforman químicamente las estructuras de los polifenoles.

1.5. REFERENCIAS

- Adzet T., Camarasa J., Carlos Laguna J. (1987). Hepatoprotective activity of polyphenolic compounds from *Cynara scolymus* against CCl₄ toxicity in isolated rat hepatocytes. *Journal of Natural Products*, 50. Pp 612–617.
- Aubert S. y Foury C. (1981). Couleur pigmentation antohicyanique de l'artichaut (*Cynara scolymus* L.). In V. Marzi & V. Lattanzio (Eds.), *Studi sul Carciofo*. Pp 57–76.
- Brand W., Cuvelier M., Berset C. (1995), *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 28(1). Pp 25-30.
- Boncún B., Ruiz S., Soto M., Venegas E., Ruidias D. (2013). Capacidad antioxidante in vitro de los extractos acuosos e hidroetanólicos de las hojas de *Cynara scolymus* L. *Revista Farmaciencia*.
- Brown J. y Rice C. (1998). Luteolin-rich artichoke extracts protects low density lipoproteins from oxidation in vitro. *Free Radical Research*, 29. Pp247–255.
- Ceccarelli N., Curadi M., Martelloni L., Sbrana C., Picciarelli P., Giovannetti M. (2010). Mycorrhizal colonization impacts on phenolic content and antioxidant properties of artichoke leaves and flower heads two years after field transplant. *Plant and soil*, Volume 335, Issue 1–2. Pp 311–323.
- Claus T., Maruyama S., Palombini S., Montanher P., Bonafé E., Santos O., Matsushita M., Visentainer J. (2015). Chemical characterization and use of artichoke parts for protection from oxidative stress in canola oil. *LWT-Food Science and Technology* 61(2). Pp 346-351.
- Coinu R., Carta S., Urgeghe P., Mulinacci N., Pinelli P., Franconi F., Romaní A. (2007). Dose-effect study on the antioxidants properties of leaves and outer bracts of extracts obtained from *Viолleto di Toscana* artichoke. *Food Chemistry* 101(2). Pp 524-531.
- Coates J. (1999). *Interpretation of Infrared Spectra of organic compounds*.
- Cruzado M, Pastor A, Castro N, Cedrón J. (2013). Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). *Revista Sociedad Química del Perú*. 79 (1). Pp 57-63.
- Curadi M., Picciarelli P., Lorenzi R., Graifenberg A., Ceccarelli N. (2005). Antioxidant activity and phenolic compounds in the edible parts of early and late italian artichoke (*Cynara scolymus* L.) varieties. *Italian Journal of Food Science*. Vol. 17 Issue 1. Pp 33-44.
- Fattorusso E. y Tagliatela O. (2008). *Modern Alkaloids structure, isolation, síntesis and biology*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Pp1-23.
- Fратиanni F., Tucci M., De Palma M., Pepe R. y Nazzaro F. (2007). Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori). *Food Chemistry*, 104. Pp 1282-1286.
- Fritsche J., Beindorff C., Dachtler M., Zhang H. y Lammers J. (2002). Isolation, characterization and determination of minor artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaf extract compounds. *European Food Research and Technology*, 212, 149–157.
- Gebhardt R. y Fausel M. (1997). Antioxidant and hepatoprotective effects of artichoke extracts and constituents in cultured rat hepatocytes. *Toxicology in Vitro*, 11. Pp 669–672.

Kubola J. y Siriamornpun S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*, 127. Pp 1138-1145.

Lattanzio V. y Van Sumere C. (1987). Changes in phenolic compounds during the development and cold storage of artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. *Food Chemistry*, 24. Pp 37-50.

Lattanzio V., Linsalata V., Palmieri S. y Van Sumere C. (1989). The beneficial effect of citric and ascorbic acid on the phenolicbrowning reaction in stored artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. *Food Chemistry*, 33. Pp 93–106.

Lattanzio V., Cardinali A., Di Venere D., Linsalata V. y Palmieri S. (1994). Browning phenomena in stored artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads: Enzymic or chemical reactions? *Food Chemistry*, 50. Pp1–7.

Lattanzio V., Linsalata V., y Cardinali A. (2009). Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal of Functional Foods*, 1(2). Pp131–144.

Lin-Vien D. (1991). Simple Functional Groups and groups carbonyls.

Llorach R., Espín J., Tomás F., Ferreres F. (2002). Artichoke (*Cynara scolymus* L.) by products as a potential source of health-promoting antioxidant phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(12). Pp 3458-3464.

López M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin, *Mini Rev. Med. Chem.* 9 (1). Pp 31–59.

Moglia A., Comino C., Portis E., Acquadro A., De Vos R., Beekwilder J., Lanteri S. (2009). Isolation and mapping of a C30H gene (CYP98A49) from globe artichoke, and its expression upon UV-C stress. *Genetics and genomics* 28. Pp 963–974.

Mulinacci N., Prucher D., Peruzzi M., Romani A., Pinelli P., Giaccherini C., Vincieri F. (2004). Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compounds content. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 34(2). Pp 349-357.

Nichiforesco E. (1970). Sur la composition des derives caffeilchiniques des feuilles d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Plantes Medicinales Phytothe rapie*, 4. Pp 56–62.

Nielsen S., Young J., Daneshvar B., Lauridsen S., Knuthsen P., Strom B., Dragster L. (1999) Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) intake on urinary apigenin excretion, blood antioxidant enzymes and bio-makers for oxidative stress in human subjects. *Br J Nutr.* 81. Pp 425-426.

NMX-F-527-1992. Alimentos. Determinación de sólidos totales, sólidos disueltos y sólidos en suspensión en agua. Dirección general de normas.

Orlovskaya T., Luneva I. y Chelombit'ko V. (2007). Chemical composition of *Cynara scolymus* leaves. *Chemistry of Natural Compounds*, 43. Pp 239–240.

Pandino G., Lombardo S. y Mauromicale G. (2013). Globe artichoke leaves and floral stems as a source of bioactive compounds. *Ind. Crop. Prod.* Pp 44-49.

Preziosi P. (1969). Valutazione farmacologica dei principi attivi del carciofo. In Atti del I Congresso Internazionale di Studi sul Carciofo. Torino: Edizioni Minerva Medica. Pp 237-281.

Quiñones M., Martínez M. y Aleixandre A. (2012) Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición hospitalaria*, vol. 27, núm. 1, enero-febrero. Pp 76-89.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. y Rice C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radicals in Biology and Medicine*: 26(9/10). Pp 1231– 1237.

Sánchez F., Jáuregui O., Lamuela S., Bastida J., Viladomat F. y Codina C. (2003). Identification of phenolic compounds in artichoke waste by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1008. Pp 57-72.

Schütz K., Kammerer D., Carle R. y Schieber A. (2004). Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads, juice, and pomace by HPLC-DAD-ESI/MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52. Pp 4090-4096.

Schütz K., Persike M., Carle R. y Schieber A. (2006a). Characterization and quantification of anthocyanins in selected artichoke (*Cynara scolymus* L.) cultivars by HPLC-DAESI- MSn. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384. Pp 1511–1517.

Seelinger G., Merfort I. y Schempp C. (2008). Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-allergic activities of Luteolin, *Planta Med.* 74 (14). Pp 1667–1677.

Shimoda H., Ninomiya K., Nishida N., Yoshino T., Morikawa T., Matsuda H., y Yoshikawa M. (2003). Anti-hyperlipidemic sesquiterpenes and new sesquiterpene glycosides from the leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.): structure requirement and mode of action. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13(2). Pp 223–228.

Singh M. y Ramassamy C. (2008). Beneficial effects of phenolic compounds from fruit and vegetables in neurodegenerative disease. In F. Tomás-Barberán & M. I. Gil (Eds.), *Improving health-promoting properties of fruit and vegetable compound products*. Pp 145-181.

Singleton V. y Rossi J. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16. Pp 144-158.

Sogorb M. y Vilanova E. (2004). Técnicas analíticas de contaminantes químicos. Aplicaciones toxicológicas, mediambientales y alimentarias. Ed. Díaz de Santos. Cap. 4. Pp 95-96.

Taiz L. y Zeiger E. (2006). *Fisiología vegetal*. Universitat Jaume I. Volumen I. Pp 533-563.

Valencia del Toro G. y Garín E. (2010). Manual de prácticas de productos naturales. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del IPN. Pág. 31-34.

Wang M., Simon J., Aviles F., He K., Zheng Q. y Tadmor Y. (2003). Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(3). Pp 601-608.

Zhu X., Zhang H. y Lo R. (2004). Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52. Pp 7272–7278.

http://www.gastrosoler.com/pagina_nueva_167.htm. (2016)

CAPITULO II. EVALUACIÓN DEL SISTEMA EMBEBIDO PARA LA EXTRACCIÓN

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.2. Interacción de los polifenoles con la luz UV-VIS

La estructura de los metabolitos deben sus propiedades químicas a los átomos que las componen y como estos se encuentran distribuidos y enlazados, precisamente en química orgánica, un elemento de utilidad en la identificación de una molécula, es indicando los grupos funcionales en relación a los átomos y enlaces que presente.

Para poder realizar un análisis cualitativo o cuantitativo de metabolitos, se puede emplear técnicas basadas en la luz como la espectrofotometría en la región ultravioleta y visible. Por ejemplo para fines cualitativos en la verificación de la ausencia o presencia de un grupo de metabolitos se pueden emplear pruebas fitoquímicas, donde a través de reacciones químicas se observa un cambio físico debido a la presencia de un grupo de sustancias, este cambio se observa frecuentemente como la presencia o un cambio de color. El resultado de la reacción involucra la presencia de un cromóforo, el cual absorbe ciertas regiones de luz y emite otras de manera que se observa un color con cierta intensidad. Se muestra un ejemplo de técnicas colorimétricas cualitativas utilizadas en el perfil fitoquímico para la detección de metabolitos secundarios (Figura 8).

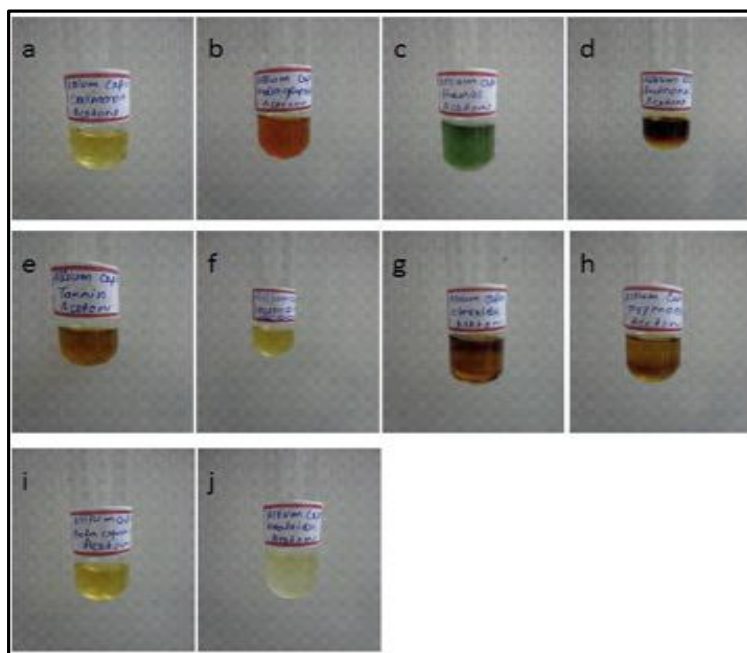


Figura 8. Perfil fitoquímico cualitativo de extracción con etanol de alcachofa. Cumarinas a), glucósidos b), fenoles c), quinonas d), taninos e), flavonoides f), esteroides g), terpenoides h), cianinas i) y alcaloides j).

En el caso de las técnicas colorimétricas cuantitativas se lleva a cabo una reacción controlada que tendrá una intensidad de absorción de luz proporcional a la concentración del grupo de sustancias de interés, las cuales pueden ser cuantificadas por el espectrofotómetro en la región visible (poseen color). En la figura 9 se muestran algunas imágenes de técnicas colorimétricas cuantitativas realizadas al extracto de brácteas de alcachofa para la determinación de fenoles totales y actividad antioxidante.

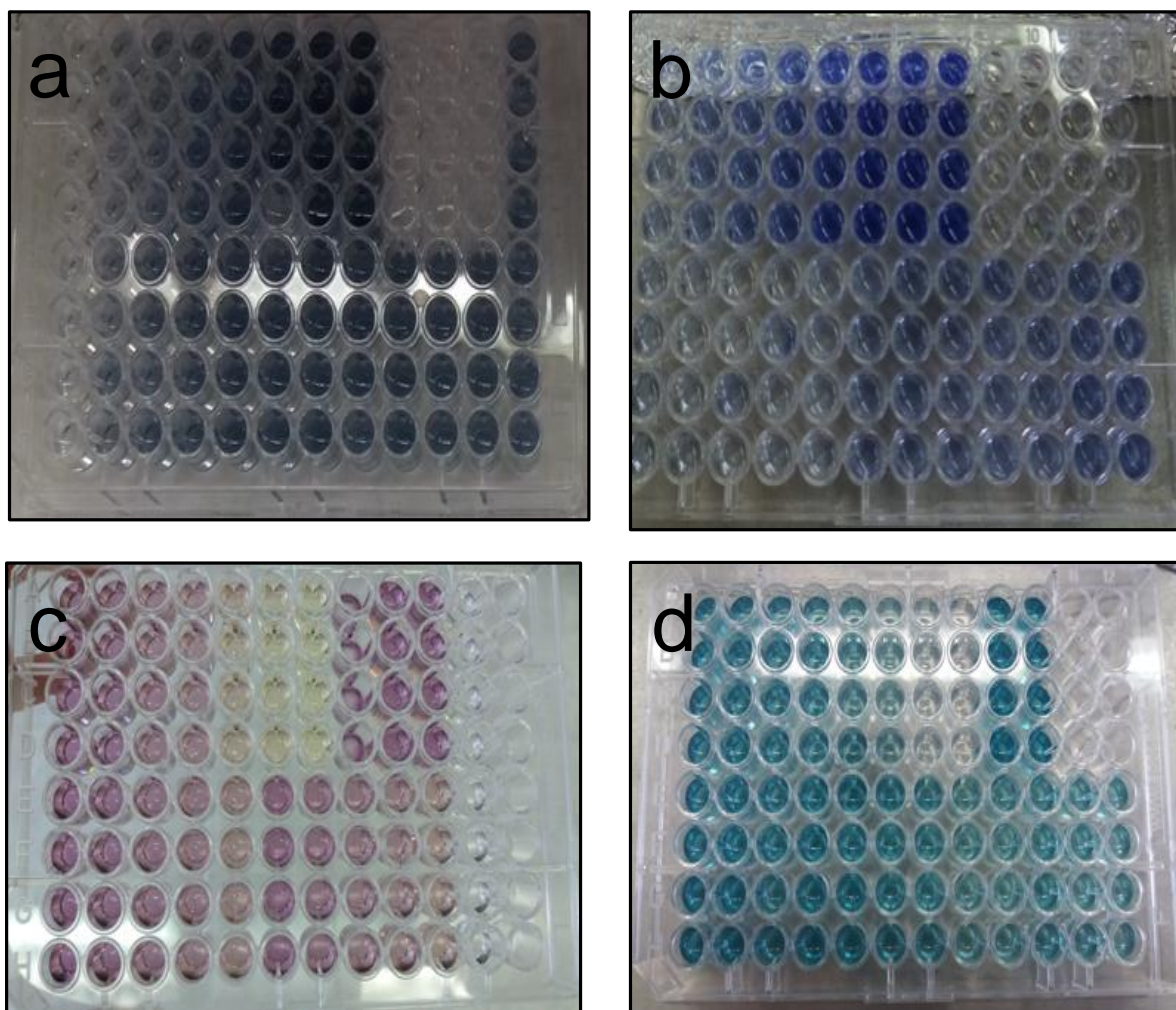


Figura 9. Determinación colorimétrica cuantitativa por micro-placas. Fenoles totales por la técnica de follin ciocalteu a) y capacidad antioxidante por la técnica FRAP b), DPPH c) y ABTS d), en extractos de brácteas de alcachofa.

Cabe mencionar que existen diversos metabolitos que absorben energía visible por su propia estructura química sin la necesidad de una reacción que las haga visibles, por ejemplo en el caso de los carotenos, clorofilas, antocianinas entre otros (Figura 10). Estos tienen en común la presencia de dobles enlaces apareados que poseen electrones en resonancia, en general este tipo de sustancias absorben también luz ultravioleta de manera intensa.

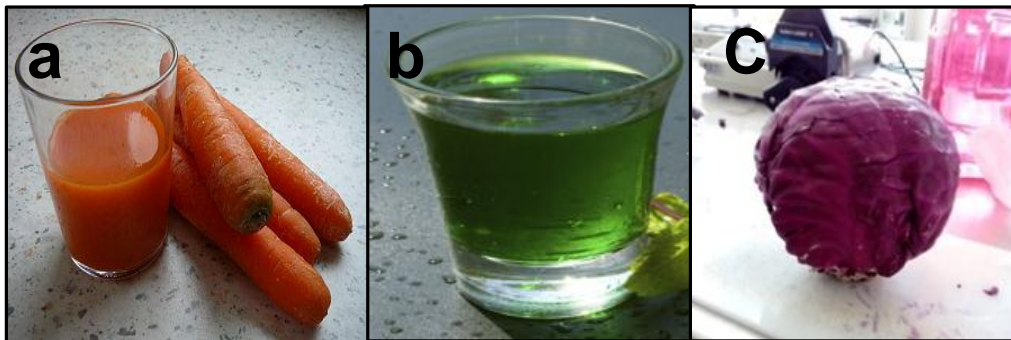


Figura 10. Extractos de origen vegetal. Carotenos a), clorofila b) y antocianinas c).

En el caso de otras sustancias como los ácidos mono y dicafeoilquínico, presentes en la alcachofa son transparentes en la región visible, aunque en la región ultravioleta absorben luz con intensidad. ¿Cómo lo hacen?, se puede entender al estudiar la naturaleza de la luz y de los postulados de Bohr sobre la estructura atómica y la radiación.

Para entender la naturaleza de la luz empecemos por decir que es una radiación del tipo electromagnética, debemos hacer referencia a su partícula asociada “el fotón” la cual presenta un campo eléctrico y magnético (Figura 11), con una longitud de onda definida llamada lambda (λ) que es la distancia entre cresta y cresta, esta ubica a la luz dentro del campo electromagnético en una región visible o la ultravioleta (Figura 12) (Tippens., 2007). La luz que aparece en nuestra vida cotidiana tiene una amplia variedad de fotones que poseen diferentes longitud de onda, el ojo humano detecta la región visible que comprende entre longitud de 400 a 700nm (Atkins y de Paula., 2006).

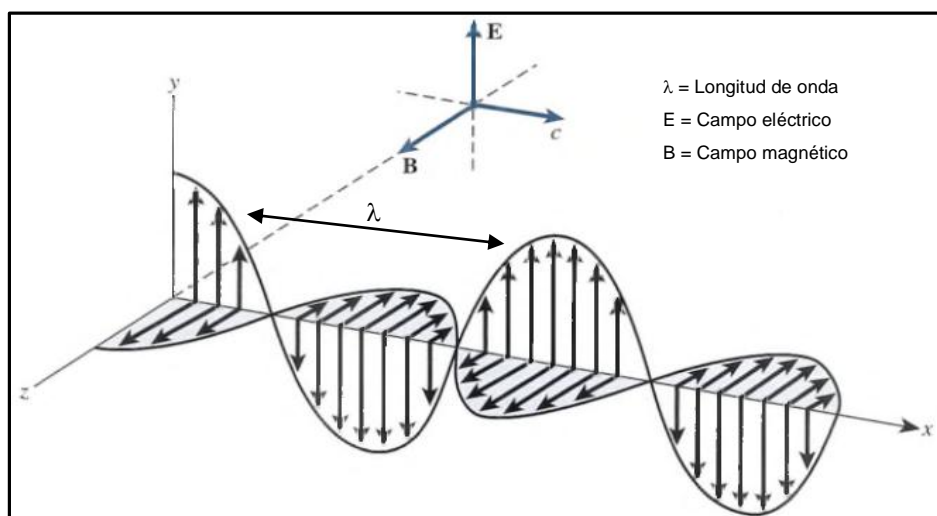


Figura 11. Campo eléctrico y magnético de la luz. (Tippens., 2007)

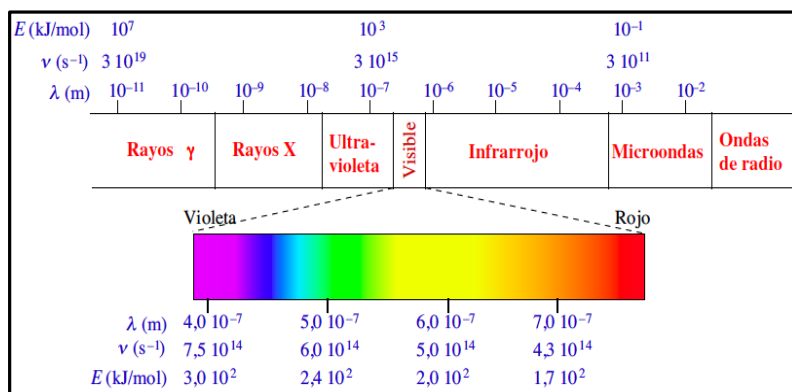


Figura 12. Espectro electromagnético. (Alcañiz., 2003)

Conforme la longitud de onda (λ) crece su energía disminuye, en cambio sí disminuye su longitud de onda su energía aumenta. Cuando la longitud de onda es más pequeña la frecuencia de repetición en un lapso de tiempo es más grande y tiene más energía. De manera que la frecuencia es igual a la velocidad de la luz (c) entre la longitud de onda (λ), esto es $\nu = c / \lambda$, y la energía se puede calcular como $E = \nu \times h$, donde h es la constante de Planck, de esta manera la luz es una pura expresión de la energía (Tippens., 2007; Alcañiz., 2003).

Tomando como referencia el modelo atómico de Bohr y sus postulados, los electrones de los átomos se mueven en ciertas órbitas circulares permitidas alrededor del núcleo sin emitir energía; las orbitas de los electrones están cuantizadas en niveles de menor energía (cerca del núcleo) a mayor energía (más alejado del núcleo), no todas las órbitas del electrón alrededor del núcleo están permitidas, tan solo aquellas donde el electrón sea un múltiplo entero de $h / 2\pi$. De ahí que el electrón solo emite o absorbe energía en los saltos de una órbita permitida a otra, a estos cambios se les conoce como “transiciones electrónicas”; esta energía son fotones como los de la luz ultravioleta-visible, de esta manera los electrones de una molécula orgánica debido a sus niveles de energía permitidos pueden presentar “transiciones electrónicas”. Por lo que el cambio de energía que experimenta el electrón debido a la emisión o absorción puede ser expresado como la diferencia entre los niveles de energía de la siguiente manera $E = h \times \nu = E_{inicial} - E_{final}$, (Figura 13) (Tippens., 2007; Alcañiz., 2003; Douglas., 1994; Atkins., 2006).

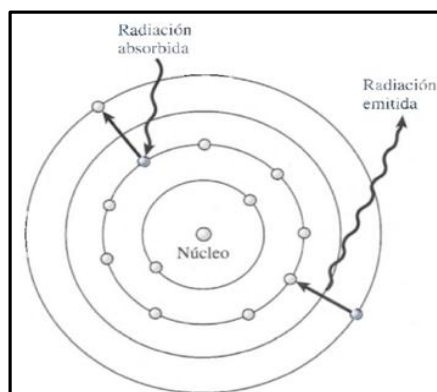


Figura 13. Absorción y emisión de energía de los electrones en la materia. (Tippens., 2007)

Esta idea elemental de las transiciones electrónicas explicada con el modelo atómico de Bohr, toma un contexto geométrico y estructural cuando se emplea el modelo de los orbitales moleculares, los cuales están descritos con los números cuánticos que a su vez representan el estado energético del electrón y las características de los orbitales (Figura 14a). Cabe mencionar que la materia orgánica en general presenta una estructura con hidrógeno, carbono, nitrógeno y oxígeno, el oxígeno posee 8 electrones y su configuración electrónica es $1s(\uparrow\downarrow) 2s(\uparrow\downarrow) 2p_x(\uparrow\downarrow) 2p_y(\uparrow) 2p_z(\uparrow)$, de esta manera la estructura no considera orbitales “d” (Alcañiz., 2003). Para el caso específico de moléculas orgánicas estos orbitales presentan hibridaciones sp , sp^2 y sp^3 como se representa en la (Figura14b).

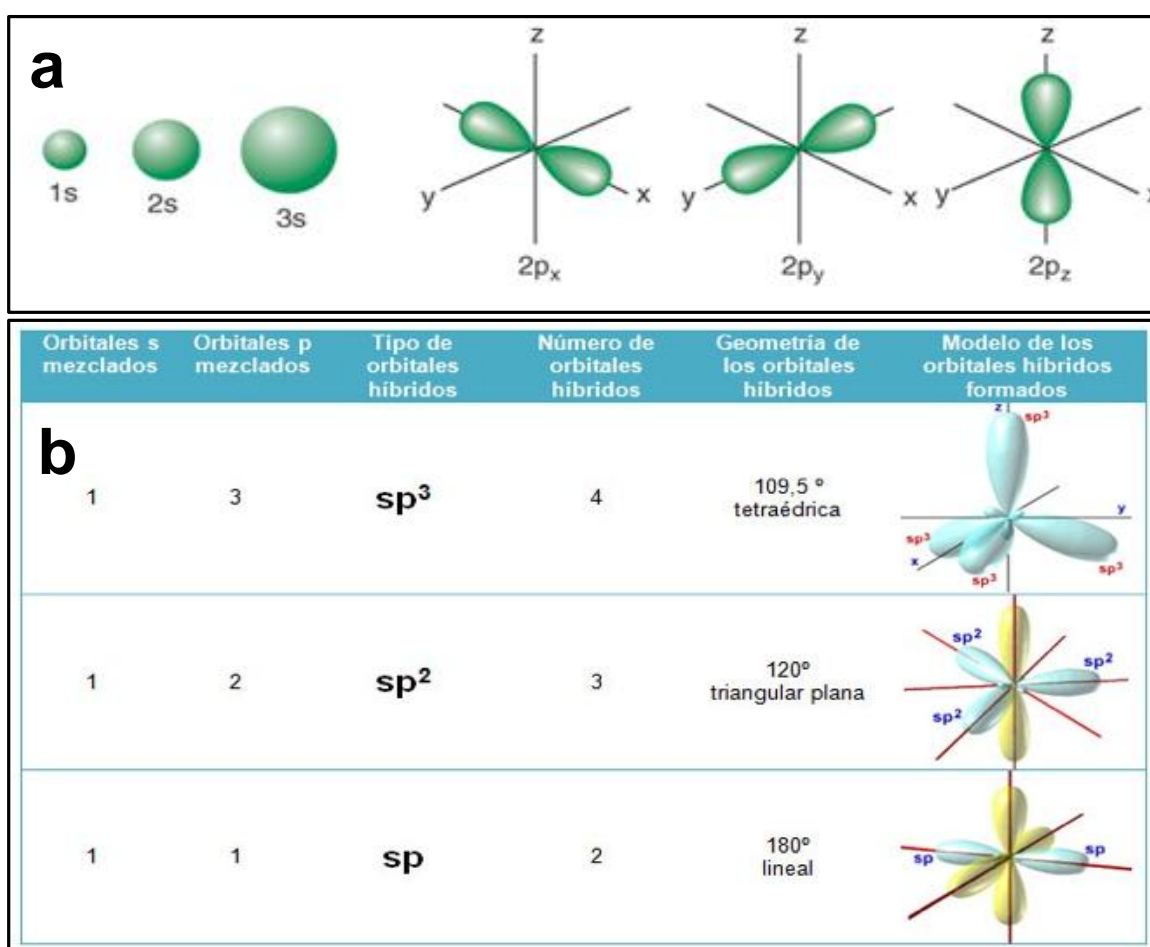


Figura 14. Representación de los orbitales (s y p) a) e hibridaciones que presentan estos orbitales en sp , sp^2 y sp^3 b). (Alcañiz., 2003)

Los orbitales participan en la formación de enlaces, estos se presentan como orbitales enlazantes de (baja energía - LUMO) u orbitales antienlazantes de (alta energía - HOMO), su transición se debe a la absorción y emisión de energía. Los orbitales enlazantes sigma (σ) se forman por la combinación frontal de orbitales, mientras que el enlace π son la combinación de dos orbitales paralelos p-p (Figura 15); En el caso de los orbitales antienlazantes (π^* y σ^*) resultan de la transición LUMO a HOMO de los orbitales (Figura 16) (Alcañiz., 2003; Atkins., 2006).

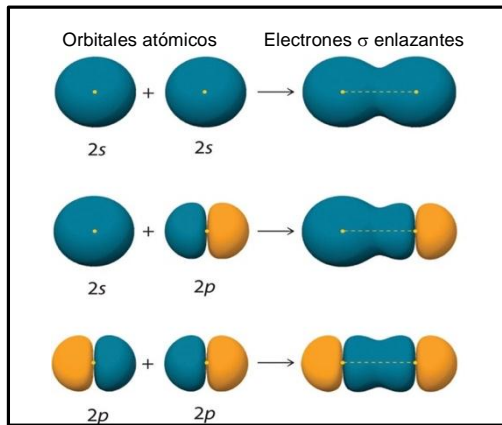


Figura 15. Orbitales sigma (σ) y pi (π). (Alcañiz., 2003)

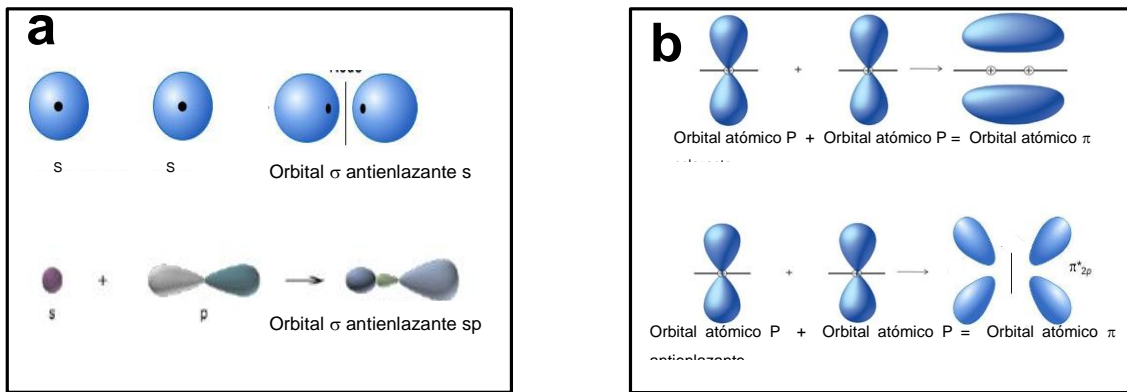


Figura 16. Orbitales atómicos antienlazantes sigma σ^* a) y Pi π^* b). (Alcañiz., 2003)

Los orbitales híbridos sp^2 del carbono están unidas por enlaces simples sigma (σ) fuertes y permiten la formación de los enlaces pi (π), de esta manera los enlaces (π) van siempre acompañados de un enlaces σ para así formar dobles y triples enlaces (Figura 17).

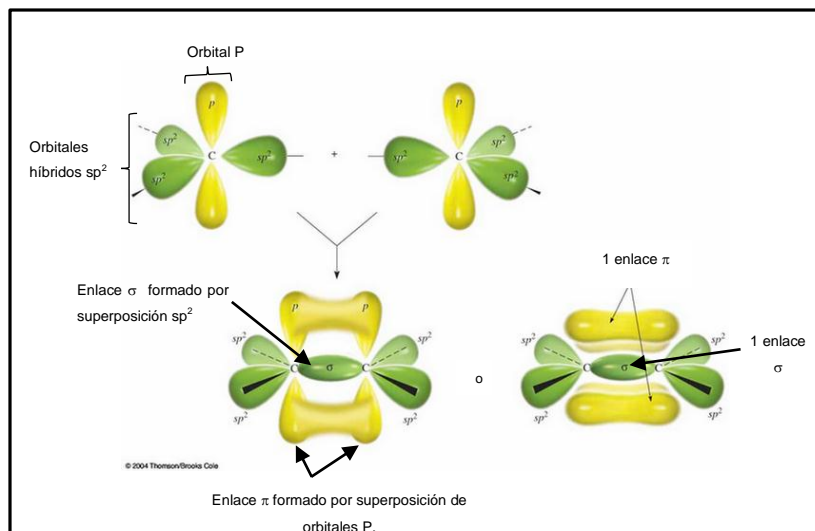


Figura 17. Unión entre carbonos sp^2 . (Alcañiz., 2003)

En el caso de los electrones desapareados, estos no participan en el enlace y ocupan el orbital denominado N, usualmente se da en moléculas de heteroátomos como por ejemplo donde participa el oxígeno y el nitrógeno. En el contexto de la teoría de orbitales moleculares, un orbital de no enlace u orbital no enlazante llamado N es aquel orbital molecular caracterizado porque hay una densidad electrónica similar a la de los átomos que colaboran en él. Según el método de combinación lineal de orbitales atómicos, un orbital no enlazante surge porque un orbital atómico no tiene simetría y energía apropiada para interferir significativamente con los orbitales de otro átomo. Este tipo de orbitales no contribuyen en nada al enlace químico, ni desfavorecen su formación. Puesto que los orbitales no enlazantes tienen una energía similar a los orbitales enlazantes y los orbitales antienlazantes (Alcañiz., 2003; Douglas., 1994). En la figura 18 se ilustran los tipos de transiciones electrónicas que se han descrito en los párrafos anteriores, de estos podemos observar que las transiciones de mayor a menor energía son $\sigma\text{-}\sigma^*$, $\pi\text{-}\pi^*$, $n\text{-}\sigma^*$ y $n\text{-}\pi^*$.

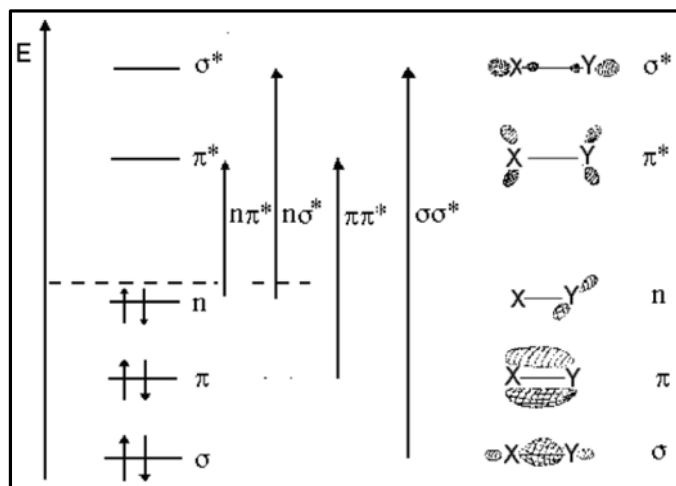


Figura 18. Diagrama de transiciones electrónicas y orbitales atómicos. <http://yolandarios.com/materiales/UVTeoria.pdf>. (2016)

En este contexto se han realizado diferentes estudios a partir de la simulación con teorías referentes a mecánica cuántica para examinar estados excitados de moléculas y predecir sus propiedades frente a la radiación UV-Vis e IR específicamente en absorción. Las simulaciones de este tipo emplean la Teoría Funcional de la Densidad (DFT), que representa un modelo matemático que se evalúa con un procedimiento numérico alternativo a la solución de la ecuación de Schrödinger, donde el funcional de la energía electrónica es minimizado con respecto a la densidad electrónica. Es uno de los métodos más utilizados en los cálculos cuánticos de la estructura electrónica de la materia, tanto en la física de la materia condensada como en la química cuántica. Con la teoría DFT se trabaja con el funcional de la densidad electrónica en vez de la función de ondas, de manera que la teoría funcional de la densidad (DFT) es más simple y permite trabajar sistemas más complejos. Existen varios métodos DFT pero uno de los más utilizados es el de la Teoría del Funcional de la Densidad dependiente del tiempo (TDDFT). La

TDDFT es una ampliación de la Teoría del Funcional de la Densidad TFD, para tratar sistemas excitados o sistemas sometidos a la acción de potenciales dependientes del tiempo.

Cuando se habla de una molécula orgánica que presenta distintos grupos funcionales, el modelo de Bohr junto con las teorías de transición de los orbitales resulta insuficiente para poder describir los fenómenos de absorción UV-VIS, aquí es donde resulta útil la simulación empleando el software computacional de la Teoría Funcional de la Densidad, para ello existen diferentes métodos que emplean esta teoría uno de los más efectivos es el B3LYP. Estudios por (Marković y Tošović., 2015; Tošović., 2017), muestra la aplicación de este tipo herramientas de simulación, estudiando características espectroscópicas de compuestos polifenólicos por IR y UV-Vis, específicamente en antraquinonas, neoflavonoides, flavonoides y derivados de los ácidos fenólicos, como el ácido cafeico. Tošović en el año 2017 obtuvo información de las transiciones electrónicas, utilizando la geometría del método B3LYP-D3 para realizar el análisis de orbitales de enlace natural (NBO) y construir los grupos de orbitales moleculares localizados naturalmente (NLMO), ya que este tipo de orbitales NBO presentaban localización sobre los átomos o pares de átomos enlazados, siendo más específicos a las estructuras de resonancia que los orbitales moleculares MO, por lo que los NLMO son una secuencia de conjuntos de orbitales localizados naturales que incluyen orbitales atómicos naturales. Primero se realizó un espectro UV-Vis experimental del ácido cafeico en metanol donde se mostró 4 longitudes de absorción en 327, 295, 243 y 217 nm, posteriormente con el método TDDFT/B3LYP-D3 predijeron las longitudes de onda, donde la comparación entre ambos valores de λ max mostró un excelente acercamiento, también se determinaron fuerzas oscilantes y la descripción de los orbitales implicados en las transiciones electrónicas. Se representan los grupos de Orbitales Moleculares Localizados Naturalmente (NLMO) (Figura 19).

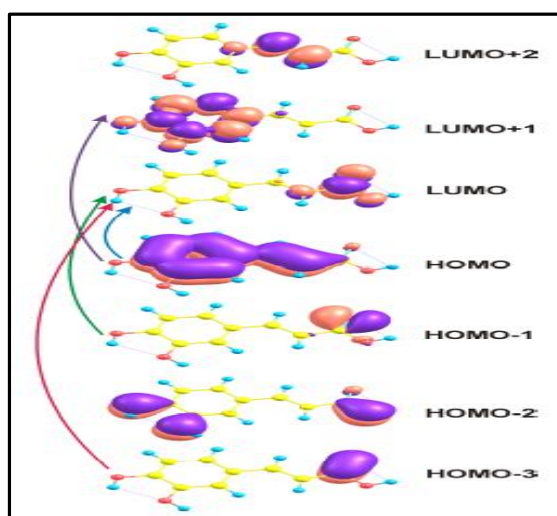


Figura 19. Estructura química de orbitales moleculares localizados naturalmente NLMO. Las flechas indican la conexión de las moléculas involucradas en transiciones electrónicas que experimenta el ácido cafeico en las diferentes longitudes de onda. (Tošović., 2017)

Las longitudes de onda más intensas de energía de excitación a las más pequeñas resultan de las transiciones electrónicas HOMO-LUMO a 327 nm, del tipo $\pi-\pi^*$ atribuidas en parte al grupo carbonilo C=O del ácido cafeico. Las transiciones electrónicas de $n-\pi^*$, formadas por el grupo carbonilo, son responsable de la absorción a 295 nm de HOMO-1-LUMO. La longitud de onda a 243 nm HOMO-LUMO+1 se origina de las transiciones electrónicas del anillo aromático del cafeico del orbital $\pi-\pi^*$. La longitud de onda a 217 nm HOMO-3-LUMO es originado por transiciones electrónicas de $\pi-\pi^*$ del grupo carbonilo. Estos estudios nos dan un panorama general sobre las diferentes estructuras que puedan presentar diversos compuestos orgánicos al ser excitado por radiación UV-Vis a través de la simulación o predicción por modelos cuánticos. Recordemos que mientras la longitud de onda sea menor, la frecuencia es mayor y subsecuentemente la energía también, de ahí que la transición a 217 nm HOMO-3-LUMO es la más energética que la HOMO-LUMO a 327 nm, también se debe observar que tenemos distintos máximos y todos corresponde a transiciones π^* , destacando el hecho en general que los dobles enlaces juegan un papel importante en la absorción UV que presenta la molécula.

En el año 2015 Marković y Tošović, estudiaron propiedades espectroscópicas UV-Vis de 22 compuestos fenólicos (Figura 20), empleando la Teoría del Funcional de la Densidad dependiente del tiempo (TDDFT) en combinación con el método B3LYP para la simulación de espectros UV-Vis por dos métodos de representación de formas en Orbitales Moleculares (OM) de Kohn–Sham y Orbitales Moleculares Localizados Naturalmente NLMO.

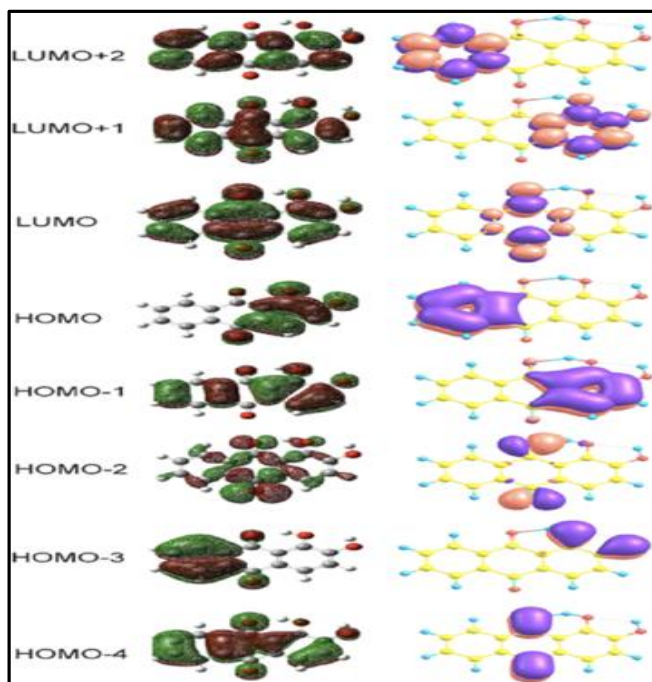


Figura 20. Estructura química de los orbitales moleculares OM de Kohn-Sham (izquierda) y orbitales moleculares localizados naturalmente NLMO (derecha) para la antraquinona “alizarina”. (Marković y Tošović., 2015).

La longitud de onda más intensa de energía de excitación a la menos intensa resulta de las transiciones electrónicas HOMO-LUMO del tipo $\pi-\pi^*$ en 432 nm atribuidas al grupo carbonilo. La longitud de onda a 326 nm con transición electrónica HOMO-1-LUMO del tipo $n-\pi^*$ del oxígeno al carbonilo. A 277 nm HOMO-4-LUMO puede atribuirse a la transición del tipo $\pi-\pi^*$ del grupo carbonilo. La longitud de onda a 264 nm presenta dos tipos de transiciones de HOMO-1-LUMO+1 y HOMO-LUMO+2. La longitud de onda en 248 nm presenta también dos tipos de transición de HOMO-LUMO+2 y HOMO-3-LUMO+2 del tipo σ^* de los NLMO. La longitud de onda en 223 nm de la transición HOMO-3-LUMO del tipo $n-\pi^*$ atribuida al grupo carbonilo. Como se observa las transiciones electrónicas que presenta esta molécula al igual que la anterior cumplen una relación entre la longitud de onda, la frecuencia y la energía (\downarrow longitud de onda, \uparrow frecuencia y \uparrow energía) o (\uparrow longitud de onda, \downarrow frecuencia y \downarrow energía). Los modelos cuánticos (TDDFT) son empleados como herramientas para facilitar el estudio de las propiedades y características de las moléculas orgánicas.

Precisamente en las moléculas orgánicas suceden múltiples fenómenos de transición cuando se someten a radiación por el espectro electromagnético UV-Vis. Estudios por Wang *et al.*, (2016) presentan algunas sustancias (cromóforos) que absorben luz a cierta longitud de onda, cuando a estas sustancias se les adiciona otra como complejo (auxóforo), subsecuentemente ocurre un fenómeno llamado batocrómico.

Estas sustancias presentan una característica general en el incremento de intensidad de absorción de energía en aproximadamente 200 nm, algo muy similar a lo que también presenta el extracto en brácteas de alcachofa (Figura 21).

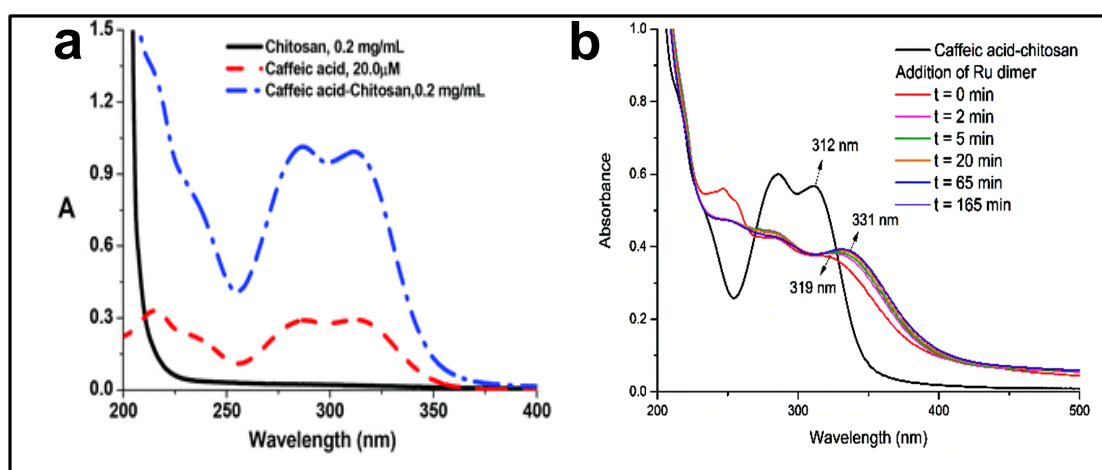


Figura 21. Espectro de ultravioleta-visible del ácido cafeico, quitosano y ácido cafeico-quitosano a diferentes concentraciones a) y ácido cafeico en combinación con quitosano y un dímero de Rutenio (Ru) b). (Wang *et al.*, 2016).

Figura 20a) El ácido cafeico modificó al quitosano (línea azul), mostrando dos picos principales de absorción a 285 y 320 nm, asignado a la transición $n-\pi^*$ del grupo OH de un anillo aromático y una transición $\pi-\pi^*$ del anillo aromático. Los resultados del espectro UV-Vis indicaron que el ácido cafeico modificó las longitudes de onda del quitosano. En este caso en la Figura 20b) se observó una cinética de la reacción entre el ácido cafeico, el quitosano (polímero) y el dímero de rutenio por espectroscopía UV visible, el cambio batocrómico de la absorción ocurre desde la longitud de onda en 312 nm a 319 nm, después de la adición de rutenio, el cambio aumento con respecto al tiempo hasta una longitud de onda de 331 nm, confirmando un complejo entre el rutenio y el ácido cafeico en modificación del quitosano.

Los compuestos polifenólicos descritos anteriormente y el extracto de alcachofa, muestran esa peculiar característica en el incremento de la intensidad en la longitud de onda a 200nm cercanas al UV de vacío, esto se puede atribuir a las diversas resonancias electromagnéticas en las moléculas causando la excitación de los enlaces π , los cuales generan una mayor intensidad de absorción con transiciones electrónicas que pueden ir del tipo $n-\pi^*$, $\pi-\pi^*$ y $\sigma-\pi^*$, teniendo en común la transición π^* .

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales y equipos utilizados se describieron en el punto 4.1. y 4.1.2. del ANEXO I.

La extracción se realizó de acuerdo al punto 4.1.5. del ANEXO I.

El análisis por espectrofotometría de ultravioleta-visible (UV-Vis) se detalló en el punto 4.1.14 del ANEXO I.

Para la implementación del sistema embebido de extracción se describió del punto 4.1.17 al 4.1.21. del ANEXO II.

2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis espectrofotométrico UV-Vis

Se realizó un escaneo del extracto de brácteas de alcachofa de 200 a 800 nm, se identificaron 2 longitudes de onda a 325, 275. Valencia., (1995) hace referencia a flavonas de 325-350 nm, para 275 nm a grupos carbonilos. También se observó que en el rango de longitud de onda de 200 a 210 nm, tuvo un incremento de intensidad de energía, por lo que Alcañiz., (2003) y Silverstein *et al.*, (2005) explican que ese fenómeno se debe al tipo de transiciones electrónicas en las sustancias al interactuar con la luz, las cuales presentan una mayor resonancia electrónica debido a la interacción de los dobles enlaces π de compuestos insaturados, los cuales se encuentran en mayor abundancia en el tipo de metabolitos secundarios como los polifenoles. La longitud de onda a 325 nm es el resultado de las transiciones del tipo $n\pi^*$ de anillos cíclicos atribuidas por el grupo benceno, la longitud de 275 nm presenta de transición del tipo $n\pi^*$ atribuida al grupo benceno y carboxilo, y las longitudes de onda en 200 y 210nm fueron el resultado de las transiciones electrónicas $n\pi^*$ y $\pi\pi^*$ atribuidas al grupo carboxilo, fenol, benceno y heterocíclicos aromáticos (Pretsch *et al.*, 1989). Las 4 longitudes de onda identificadas se utilizaron para realizar el monitoreo del sistema de extracción embebido. Se presenta el espectro de ultravioleta visible del extracto de alcachofa microfiltrado a 0.05 μm . (Figura 22)

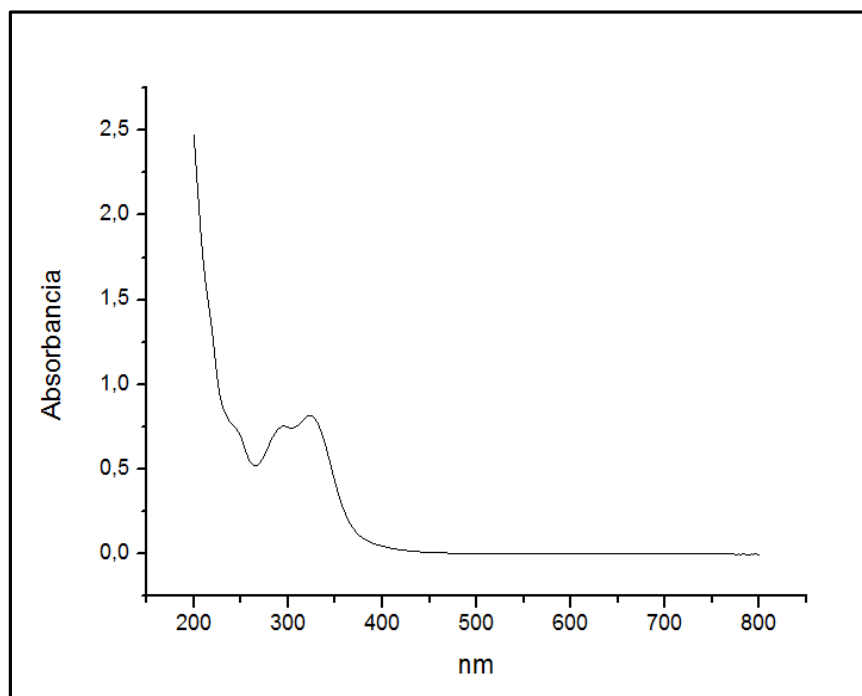


Figura 22. Espectro UV-Vis del extracto de alcachofa.

Se muestra el tipo de transiciones electrónicas probables de acuerdo a las longitudes de onda identificadas en el extracto de alcachofa (Cuadro 9).

Cuadro 9. Longitudes de absorción UV-Vis identificadas en el extracto de alcachofa.

Longitud de onda (nm)	Tipos de compuestos	Tipo de transición electrónica
200	Heterocíclicos aromáticos	$\pi\pi^*$
200	Ácido acético	$n\pi^*$
200	Benceno	$n\pi^*$
200	Alquenos	$\pi\pi^*$
200	Alquinos	$\pi\pi^*$
200	Esteres, alcoholes	$n\sigma^*$
200	Aldehído	$n\pi^*$
200	fenol	$n\pi^*$
210	Aldehídos y cetonas	$\pi\pi^*$
	ciclo benceno	
210	Carbonílos	$n\pi^*$
275	Compuestos carbonílicos	$n\pi^*$
325	Bencenos	$n\pi^*$
325	Aldehídos	$n\pi^*$

Referencia: (Skoog *et al.*, 2001; Silverstein *et al.*, 2005; Pretsch *et al.*, 1989)

Evaluación de la detección UV-Vis en el sistema de extracción

Se implementó un sistema embebido para la extracción de polifenoles de brácteas de alcachofa, empleando un tanque agitado de acero inoxidable conectado por tuberías plásticas a un módulo de microfiltración y a un espectrofotómetro UV-Vis. Este sistema empleó 10 veces menos volumen (20 ml) en la unidad de microfiltración y de tuberías (29.3 ml), que el sistema de extracción implementado por Cerón., (2008) que ocupó (250 ml) en la unidad de microfiltración. Por lo tanto en este estudio se redujo el efecto del monitoreo sobre los parámetros de extracción, el volumen fuera del tanque fue de 152.3 ml (ver ANEXO II punto 4.1.18 y 4.1.19), no excediendo más del 10% del volumen total del tanque que fue de 2000 ml, el sistema embebido fue monitoreado a 4 longitudes de onda (200, 210, 275 y 325 nm) de acuerdo al estudio anterior en UV-Vis del extracto de alcachofa. En las figuras 23, 24 y 25, se muestra el registro manual de los datos del proceso de extracción sólido-líquido en brácteas de alcachofa, para las 4 longitudes de onda.

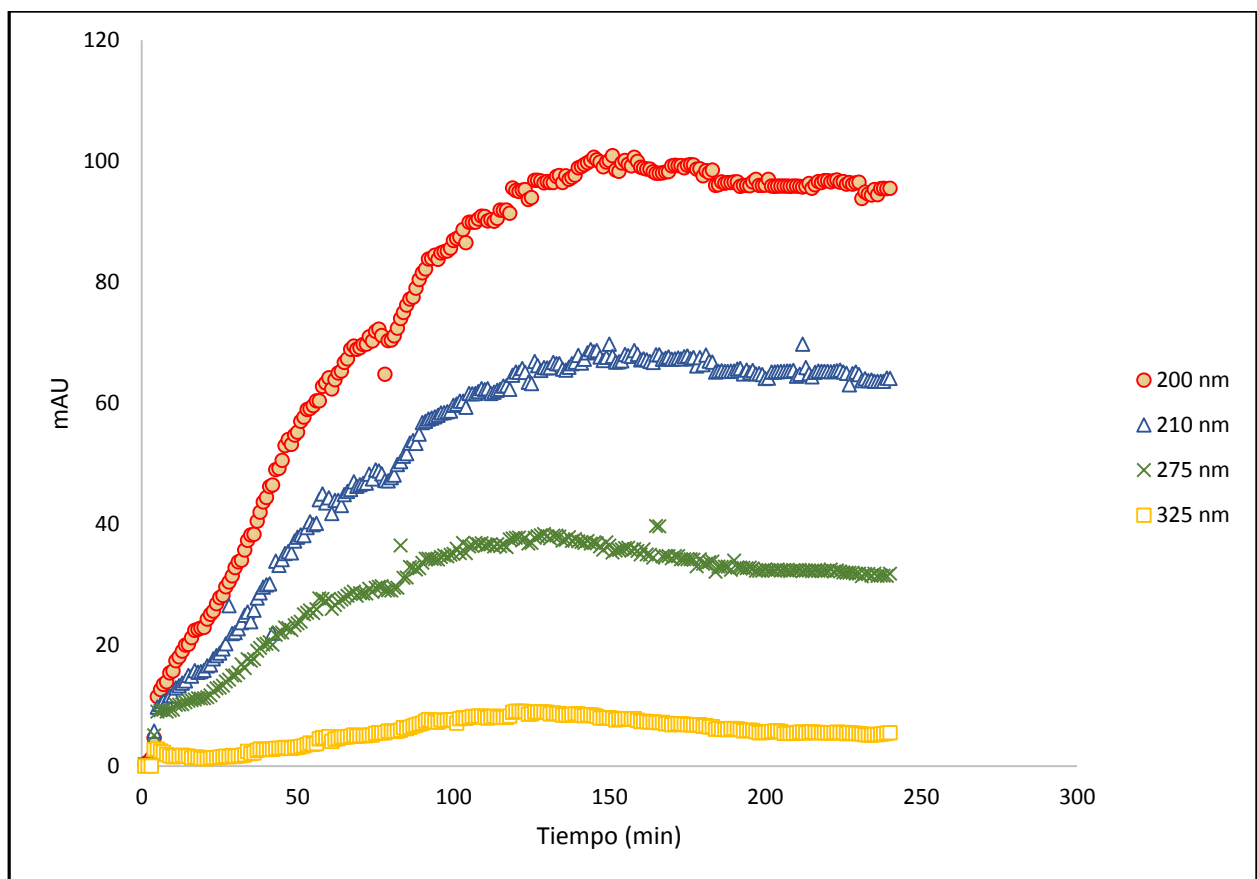


Figura 23. Monitoreo manual del proceso de extracción sólido-líquido de brácteas de alcachofa a una (relación sólido-líquido 1:5, a 295 rpm y 20°C durante 240min). Cada línea de color representa el monitoreo a diferentes longitudes de onda.

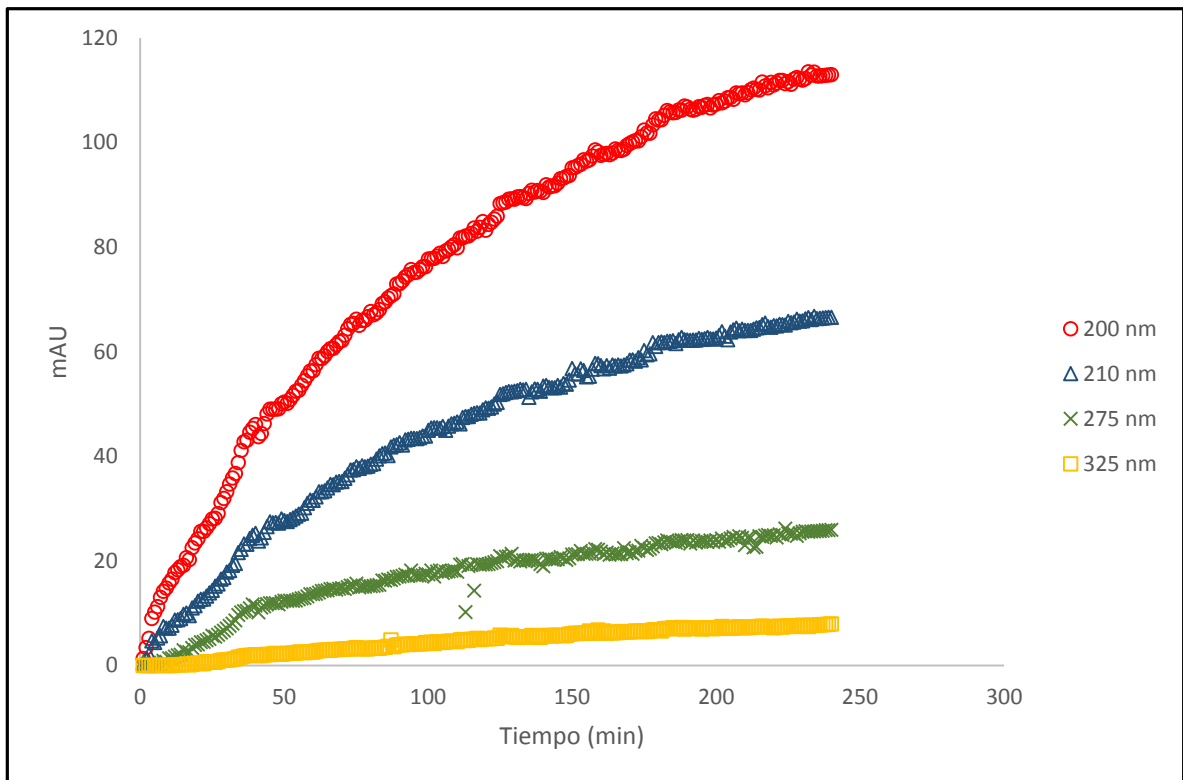


Figura 24. Monitoreo manual del proceso de extracción sólido-líquido de brácteas de alcachofa a una (relación sólido-líquido 1:20, a 395 rpm y 20°C durante 240min).

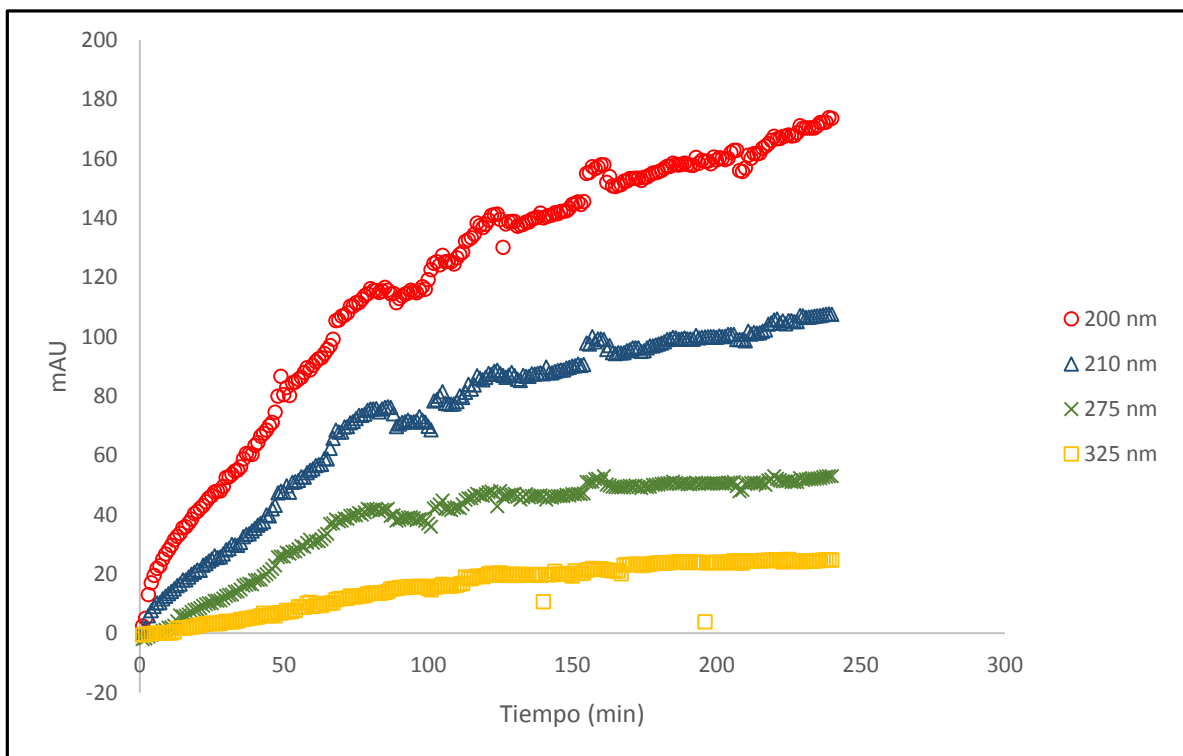


Figura 25. Monitoreo manual del proceso de extracción sólido-líquido de brácteas de alcachofa a una (relación sólido-líquido 1:25, a 465 rpm y 20°C durante 240min).

De los experimentos realizados se observó que la longitud de onda que registró con mayor intensidad fue la de 200 nm, donde se tuvo mayor resonancia electrónica, debido al tipo de transiciones electrónicas $n-\pi^*$ atribuidas al grupo carboxilo (Pretsch *et al.*, 1989) y los dobles enlaces π , que de alguna manera coincide con que la mayoría de los metabolitos secundarios (polifenoles) están caracterizados por poseer dobles enlaces en su estructura química de acuerdo con (Cañigual y Vanaclocha., 2003; Crozier *et al.*, 2006). Además de que el grupo carboxilo COOH tiene una presencia abundante en la estructura de los polifenoles (Kagles., 2005), por lo que el monitoreo a 200nm adoptó mejor la observación del proceso de extracción aun siendo registrada de manera manual. En 275 nm y 325 nm resultó complicado observar a detalle cualquier cambio durante el proceso de extracción.

De estos experimentos se pudo observar que el número de datos tomados durante la extracción fueron escasos y dispersos, ya que solo se registró un dato por minuto con un cronómetro, dando un total de 240 datos en una corrida experimental de 240 minutos.

En este estudio también se verificó la proporción sólido-líquido que el sistema soportaba en convección de 300 a 500 rpm, la agitación que se planteó fue de 295, 395 y 465 rpm, mostrando una mejor suspensión del vegetal a 465 rpm, en trabajos por Jurinjak *et al.*, (2016) utilizó de 250 hasta 700 rpm, por lo que el límite máximo en el sistema embebido de extracción se estableció a 500 rpm.

2.4. CONCLUSIONES

- Se identificaron los posibles tipos de transiciones electrónicas para las cuatro longitudes de onda, transiciones atribuidas a las diversas resonancias electromagnéticas en las moléculas, causando la excitación de los dobles enlaces π , los cuales generan una mayor intensidad de absorción con transiciones electrónicas que pueden ir del tipo $n-\pi^*$, $\pi-\pi^*$ y $\sigma-\pi^*$, teniendo en común la transición π^* .
- La mejor longitud de onda para el monitoreo del proceso de extracción fue a 200 nm, por presentar mayor intensidad de energía en el registro de unidades y mejor sensibilidad para detectar sustancias bioactivas en el extracto de alcachofa, la cual permitió observar con mejor detalle el proceso de extracción.
- Fue posible la implementación del sistema embebido en tanque agitado para la extracción sólido-líquido de residuos de alcachofa.

2.5. REFERENCIAS

Alcañiz E. (2003). Química general, la estructura electrónica de los átomos, orbitales y enlaces químicos. Universidad de Alcalá. Capítulo I y III. Pág.1-12 y 54-60.

Atkins P. y Paula J. (2006) Physical Chemistry for the life sciences. New York, Oxford University Press. Pp 485-486, 487-488.

Cañigueral F. y Vanaclocha B. (2003). (Universidad de Barcelona). Fitoterapia, vademécum de prescripción. Editorial Masson una compañía de Elsevier. 4ta. Edición. Pág.30-45.

Cerón G. (2008). Implementación de un sistema monitoreado por ordenador para la extracción y purificación de antocianinas del maíz azul. Centro De Investigación En Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional. Pág. 61-68.

Crozier A., Clifford M. y Ashihara H. (2006). Plant Secondary Metabolites, occurrence, structure and role in the Human Diet. Ed. Black well Publishing. Pp 2-19.

Douglas E., Mc D., Alexander J. (1994). Conceptos y modelos de química inorgánica. Editorial Reverté, S.A. Capítulo I y IV. Pág. 12-13 y 127, 158-161.

Jurinjak A., Benkovič M., Bel'scak A., Valinger D., Jurina T., Gajdoš J. (2016). Kinetics and thermodynamics of the solid-liquid extraction process of total polyphenols, antioxidants and extraction yield from Asteraceae plants. Journal Industrial Crops and Products 91. Pp 205–214.

Kagles F. (2005). Tratado de química orgánica. Tomo I (1ª parte), química orgánica sistemática. Ed. Reverté. Capítulo 4. Pág. 319-357.

Marković S. y Tošović J. (2015). Application of Time-Dependent Density Functional and Natural Bond Orbital Theories to the UV-Vis Absorption Spectra of Some Phenolic Compounds. Journal of Physical Chemistry. Pp A-K.

Pretsch E., Clerc T., Seibl J., Simon W., Castells J., Camps F. (1989). Cuadros para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos., 2 ed. rev., España, Alambra.

Silverstein R., Webster F., Kiemle D. (2005). Spectrometric identification of organic compounds. 7th Ed. John Wiley & Sons, inc. Chapter 1. Pp 19-37.

Skoog D., Holler J., Nieman T., Martín G., Martín C., Garcedo G., Olives A. (2001) Principios de Análisis Instrumental, 5ª ed. España, Mc Graw Hill.

Tippens P. (2007). Physics. Mc Graw-Hill Higher Education. Edition 7. Chapter 33. Pp 642-654, 731-747.

Tošović J. (2017). Spectroscopic features of caffeic acid: theoretical study. Kragujevac J. Sci. 39 (2017).Pp 99-108.

Valencia C. (1995). Fundamentos de fitoquímica. Ed. Trillas. Pág. 143-144.

Wang Y., Anaïs P., Abraha H., Isolda C., Peter J. y Nicolas P. (2016) Nanoparticles of chitosan conjugated to organoruthenium complexes. Inorganic Chemistry Frontiers. Pp do not show.

Yolanda Ríos. Transiciones electrónicas en moléculas orgánicas. Pág. 31-65. <http://yolanda-rios.com/materiales/UVTeoria.pdf>. (2016)

CAPITULO III. MODELAMIENTO DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE BRÁCTEAS DE ALCACHOFA

3.1. MARCO TEÓRICO

3.1.2. Extracción sólido-líquido

Existen diversos métodos de extracción que emplean alta energía, en consecuencia muchos autores han estudiado la influencia de las diferentes condiciones de extracción (Spigno *et al.*, 2007; Bucić *et al.*, 2007 citados por Jokić *et al.*, 2010). La extracción convencional por lixiviación también conocida como sólido-líquido es la más utilizada, ocurre a través de una interface sólido-líquido donde una sustancia o sustancias contenidas en el sólido se transfieren y quedan disueltas en la fase líquida (Figura 26) (Ibarz y Barbosa., 2005).

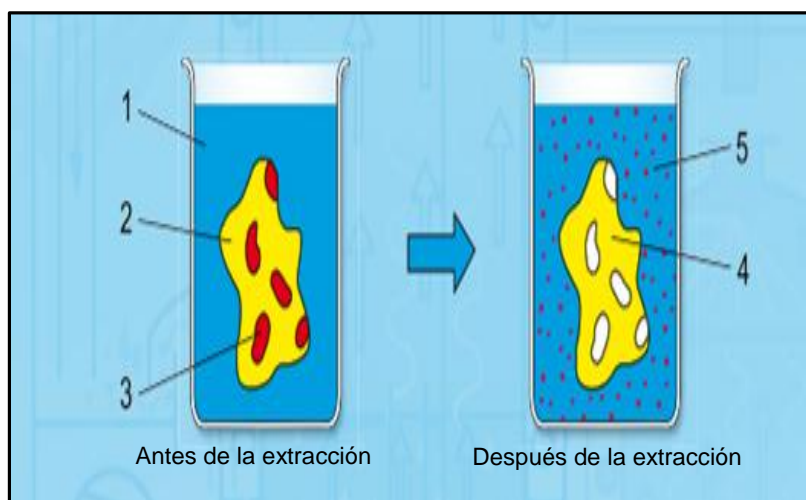


Figura 26. Esquema de extracción sólido-líquido, disolvente 1), material de extracción (fase portadora sólida con soluto de interés) 2), soluto 3), fase portadora sólida extraída 4), disolvente con el soluto de interés 5). <http://procesosbio.wikispaces.com> (2016)

El proceso de separación toma un tiempo de contacto entre el líquido y el sólido, la concentración de cada componente soluble dentro del sólido alcanzará eventualmente un “equilibrio” con la concentración en el solvente, en otras palabras ya no hay cambio en la concentración en las fases sólido-líquido (Ibarz y Barbosa., 2005), esto indica que ha finalizado la etapa de transferencia de masa, entonces se procede a la separación del extracto denominado “extracto obtenido” denominado *EO* y “sólido humedecido” *SH*, cada una de estas corrientes de materia tienen una cantidad de sólidos representada por una concentración o una fracción másica denominada X_s como aparece en la figura 27.

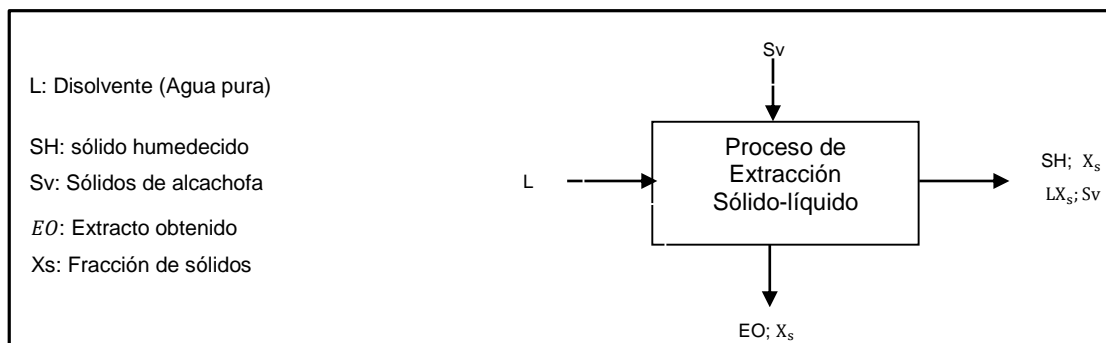


Figura 27. Operación unitaria de extracción sólido-líquido.

El resultado de la extracción sólido líquido se debe a la superposición de dos contribuciones relevantes: convección (Figura 28) y difusión molecular (Figura 29). El transporte convectivo proviene del movimiento global de la mezcla (sólido-disolvente) y tiene su origen en factores mecánicos o energéticos (por ejemplo agitación).

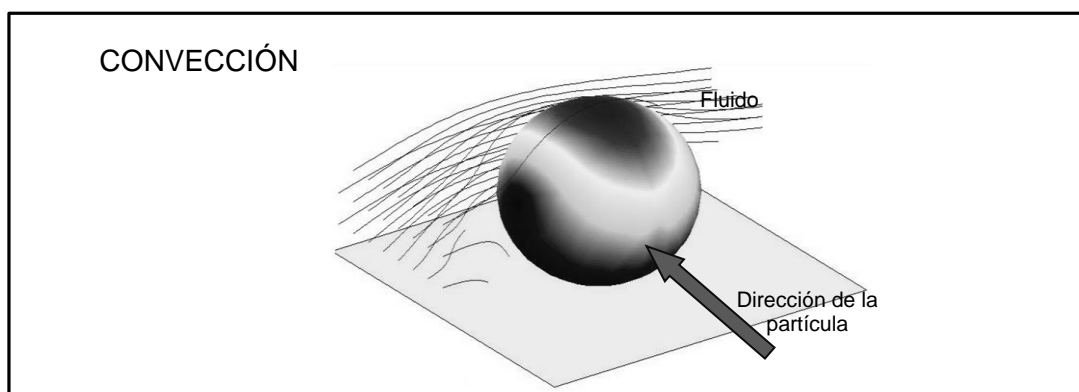


Figura 28. Convección en una partícula sólida orgánica. Cerón., (2008)

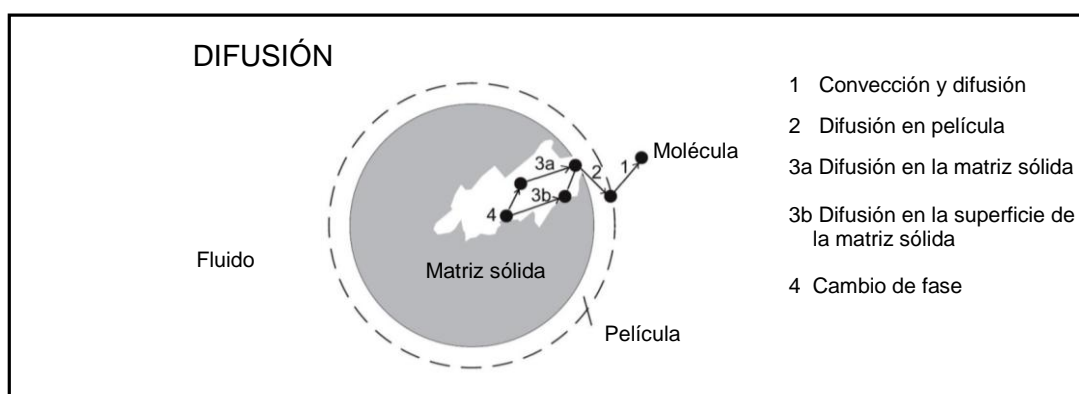


Figura 29. Difusión en una partícula sólida orgánica. (Cerón., 2008)

Mientras que el transporte difusivo se debe al movimiento relativo de los componentes de una mezcla causado por gradientes de potencial químico (por ejemplo el gradiente de concentración) en procura de establecer un estado de equilibrio en toda la extensión del sistema como se

muestra en la figura 29, donde se observa que después de que se atraviesa la película (circulo punteado) inicia un proceso enteramente difusivo que gobierna el proceso de extracción, donde las concentraciones juegan un papel importante (Mc Cabe *et al.*, 1991). En un inicio dentro de la partícula la concentración inicial de sustancias solubles es alta (C_{si}) mientras que el disolvente está libre de sólidos ($C_l = 0$) de aquí que el gradiente de concentración sea $C_{si} - C_l = C_s$ y el valor es el máximo como resultado de los primeros instantes de la extracción, con velocidad mayor, transcurrido un tiempo “x” la concentración de sólidos solubles disminuye, esto es $C_{sx} < C_{si}$ y entonces el gradiente también disminuye resultando una menor velocidad de extracción. Esta situación de la transferencia de masa fue descrita por Fick en 1855 quien encontró que la relación matemática de la transferencia de masa era análoga a la ecuación de transferencia de calor por conducción que había sido descrita por Fourier en 1822. De esta manera Fick sentó una base cuantitativa para describir la difusión, esta teoría establece que la velocidad de difusión de una sustancia en un medio isotrópico por unidad de área de una sección es proporcional al gradiente de concentración, esta relación se expresa como indica la Ec. 1 (Crank., 1975).

$$F = -D \frac{\partial C}{\partial x}$$

Ecuación 1

Donde F es la velocidad de transferencia de masa por unidad de área de la sección, C es la concentración de la sustancia que se está difundiendo, x el eje que es normal a la sección y D es llamado el coeficiente de difusión. En algunos casos por ejemplo en las soluciones muy diluidas, D puede ser tomado como constante, mientras que en sustancias donde se tienen polímeros en altas concentraciones D no es constante; este coeficiente tiene las unidades L^2/s , el signo negativo en esta ecuación se debe a que la dirección en que ocurre la difusión es opuesta con el aumento de la concentración. Dado que durante un proceso de extracción el gradiente de concentración para una coordenada en x no es contante sino que cambia en el tiempo (condiciones no estacionarias), es necesario emplear la segunda ley de Fick (Ec. 2) que también es conocida como ecuación de difusión la cual es la derivada de primera ley de Fick (Wilches *et al.*, 1997).

$$\frac{\delta C}{\delta t} = D \frac{\delta^2 C}{\delta x^2}$$

Ecuación 2

Donde C es la concentración el soluto, t es el tiempo (s), D es el coeficiente de difusión o difusividad (m^2s^{-1}), y x es la distancia de la difusión (m). La difusividad es una propiedad

importante que afecta al proceso de transferencia de masa. A la fecha ya han sido presentadas una lista de solutos solubles de sólidos de interés en el procesamiento de alimentos (Doulia y Gekas., 2000; Gekas., 2001), sin embargo la mayoría de los solutos estudiados incluyen azúcares, sales, siendo principalmente agua. Un valor típico de la estimación de la difusividad aparente es $2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 25°C para tejidos vegetales no tratados (Doulia y Gekas., 2000). La aproximación tradicional que emplea la relación de Fick usa el gradiente de concentración dentro de la partícula del sustrato como la fuerza de potencial para la extracción en lugar de la diferencia de potencial químico usado en diferentes aproximaciones (Doulia y Gekas., 2000; Gekas., 2001). La tendencia de un componente dado a cambiar de fase está relacionada con su potencial químico. De esta manera un análisis más riguroso debe basarse en las diferencias de potencial químico (Gekas., 2001).

Tamaños de partícula pequeños reducen la distancia de difusión del soluto dentro del sólido e incrementan el gradiente de concentración, lo cual incrementa la velocidad de extracción. Por el hecho que la distancia del sólido es corta, el tiempo de extracción se reduce. También un incremento en la temperatura causa un incremento más significativo en la difusividad, como lo establece la Ec. 3 de Einstein.

$$D \propto \left(\frac{T}{\eta}\right)$$

Ecuación 3

Donde T es la temperatura absoluta y η , el coeficiente de viscosidad dinámica (Loncin y Merson., 1979). Sin embargo la estabilidad de muchas sustancias se ve afectada por la temperatura como el caso de los compuestos fenólicos en bayas rojas y púrpuras (Mazza y Miniati., 1993), por lo que se debe tener cuidado cuando se trabaja con materiales biológicos ya que la temperatura puede afectar seriamente su integridad, lo cual afecta el proceso de extracción, de ahí que la temperatura no puede aumentarse de manera indefinida y su magnitud debe determinarse cuidadosamente para optimizar el proceso.

El incremento de la temperatura aumenta la solubilidad de los compuestos polifenólicos e incrementa los coeficientes de difusión, los cuales aumentan la velocidad de la extracción reduciendo con ello el tiempo de extracción. Con el fin de hacer evidente cómo la solubilidad depende de las propiedades del soluto y del coeficiente de actividad se presenta a continuación el modelo de la solubilidad de sólidos no iónicos (Ec. 4) (Frank *et al.*, 1999).

$$\ln x_i^{sat} = \frac{\Delta S_{fus}}{R} \left(1 - \frac{T_m}{T}\right) - \ln \gamma_i^{sat} \quad \text{Para } T \leq T_m$$

$$\Delta S_{fus} = \frac{\Delta H_{fus}}{T_m}$$

Ecuación 4

Donde x_i^{sat} es la fracción molecular del soluto disuelto en la fase del solvente en la saturación, ΔH_{fus} el calor molar de fusión en J/mol, γ_i^{sat} es el coeficiente de actividad del soluto en la solución, R es la constante universal de los gases ideales, T_m es la temperatura de fusión y T es la temperatura absoluta. De esta manera se establece que existe una dependencia de la solubilidad con las propiedades del soluto y del coeficiente de actividad. Adicionalmente un bajo punto de fusión y una temperatura elevada mejoran la solubilidad. Cuando el coeficiente de actividad es igual a 1, entonces se alcanzan condiciones ideales. La dependencia de la solubilidad con la temperatura no sólo está determinada por las condiciones de solubilidad ideal, sino también por los cambios en el coeficiente de actividad causados por la temperatura (Frank *et al.*, 1999).

Cabe mencionar que en los estudios presentados en la literatura no se tienen reportes sobre el estudio cinético de un proceso de extracción sólido-líquido para la obtención de polifenoles a partir de brácteas de alcachofa, a través del cual se puedan controlar algunos factores operativos de la extracción como proporción sólido-líquido, tamaño de partícula, temperatura y velocidades de agitación, factores que afectan la velocidad y el rendimiento de extracción, (Schwartzberg y Chao., 1982), y aún menos estudios con el empleo de un sistema embebido en tanque agitado controlado con software para la extracción de polifenoles de brácteas de alcachofa.

En resumen para que exista una buena transferencia de materia en la extracción sólido líquido, los factores que juegan un papel importante son el gradiente de concentración, coeficiente de difusión y temperatura (Ibarz y Barbosa., 2005).

Extracción sólido líquido en tanque agitado

Este se refiere al movimiento del material vegetal normalmente de manera circulatoria dentro de algún tipo de contenedor. La agitación no se debe confundir con el término mezcla o mezclado que es una distribución al azar de dos fases inicialmente separadas. La diferencia puede ser más clara con el siguiente ejemplo, un tanque con agua fría puede ser agitado pero, en cambio, no puede ser mezclado mientras no se le adicione otro material, tal como cierta cantidad de agua caliente o algún sólido pulverulento. Las dimensiones del tanque de agitación utilizado en este estudio se observa en la figura 30.

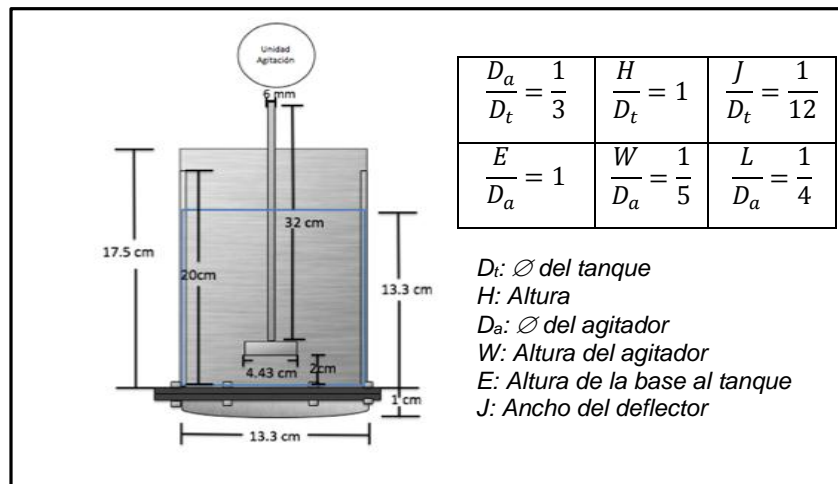


Figura 30. Dimensiones del tanque agitado para la extracción sólido-líquido. (Cruz., 2016 y Alcaraz., 2017)

Como se mencionó anteriormente la agitación a través de la convección puede mejorar la eficiencia de muchos procesos, aunque las finalidades específicas de la agitación son diferentes dependiendo de los objetivos, básicamente en este trabajo se buscan dos, suspender partículas sólidas y mezclar sustancias solubles en un líquido. El equipo empleado consiste en un recipiente cilíndrico de acero inoxidable 304, un agitador mecánico montado en un eje y accionado por un motor eléctrico ver (ANEXOS punto 1.14). Respecto a las dimensiones del tanque agitado varían ampliamente dependiendo de la naturaleza del problema de agitación.

Lo preferible es que el fondo del tanque sea redondo, con el fin de eliminar los bordes rectos o regiones en las cuales no penetrarían las corrientes del fluido (Mc Cabe *et al.*, 1991). La altura del líquido, es aproximadamente igual al diámetro del tanque. Sobre un eje suspendido desde la parte superior va montado un agitador y el eje está accionado por un motor (Figura 31).

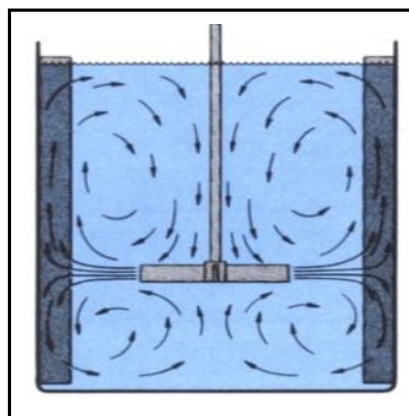


Figura 31. Dinamismo dentro del tanque agitado. (Cerón., 2008)

El tipo de flujo que se produce en un tanque agitado depende del tipo de rodete, de las características del fluido, del tamaño y proporciones del tanque, placas deflectoras y agitador. La

velocidad del fluido en un punto del tanque tiene tres componentes y el flujo global depende de esos tres componentes, la primera es la radial y actúa en una dirección perpendicular al eje del rodete, la segunda es longitudinal y actúa en dirección paralela al eje y la tercera es rotacional y actúa en dirección tangencial a la trayectoria circular descrita por el rodete. Los componentes radial y longitudinal son útiles para causar la mezcla de los componentes (Figura 31).

Balance de materia sólido-líquido

De esta manera el balance global de materia en término de las corrientes implicadas, sería que la suma del “líquido (L)” empleado en la extracción, más el “sólido (S)” de alcachofa debe ser igual al “extracto obtenido (EO)”, más el “sólido humedecido (SH)”, resultando la Ec. 5.

$$L + S = EO + SH$$

Ecuación 5

Si realizamos un balance en término de los sólidos, considerando que el líquido está libre de sólidos y por tanto la fracción de sólidos en el líquido es cero ($X_{LS} = 0$), mientras que la fracción de sólidos en el sólido (X_{SS}), en el extracto obtenido (X_{EOS}) y en el sólido humedecido (X_{SHS}) es diferente de cero, el balance quedaría expresado como la Ec. 6.

$$S * X_{SS} = EO * X_{EOS} + SH * X_{SHS}$$

Ecuación 6

De este breve análisis podemos deducir que el rendimiento en sólidos obtenidos (Y_{SO}) expresado como la cantidad de sólidos obtenidos en el extracto obtenido respecto a la cantidad de sólidos empleados en la entrada queda expresado como la Ec. 7.

$$Y_{SO} = \frac{EO * X_{EOS}}{S}$$

Ecuación 7

Esta expresión estaría por supuesto en base húmeda en base seca quedaría como la Ec. 8.

$$Y_{SO} = \frac{EO * X_{EOS}}{S * X_{SS}}$$

Ecuación 8

Es importante mencionar que estas expresiones toman relevancia en la parte práctica, aunque desde el punto de vista del total extraído y el rendimiento, se tomaría en cuenta, el total del extracto para efectos prácticos, donde se extrae poca cantidad de sólidos y prácticamente no se absorbe líquido por el sólido o se drena líquido del sólido. Se puede expresar para base húmeda y base seca respectivamente como la Ec. 9 y 10.

$$Y_{SO} = \frac{L * X_{EOS}}{S}$$

Ecuación 9

$$Y_{SO} = \frac{L * X_{EOS}}{S * X_{SS}}$$

Ecuación 10

En tanto el “equilibrio” es descrito por el coeficiente de partición llamado también “constante de distribución” o “coeficiente de partición” \underline{m} , el cual es una función de la concentración de sólido al equilibrio en el disolvente (Gertenbach., 2001). De esta manera mientras mayor sea el valor de \underline{m} para un componente, más cantidad de éste será disuelto en el solvente lo cual es benéfico. El valor de \underline{m} es una función de las características del solvente y de los componentes, así como de la temperatura. Así por ejemplo se ha estudiado la extracción de polifenoles examinando el efecto o influencia de los factores en la extracción por Segovia *et al.*, (2013); Cavdarova y Makris., (2014); Jurinjak *et al.*, (2016). Demostrando que a diferentes concentraciones de solvente para la extracción de polifenoles y condiciones como la temperatura, velocidad de agitación y tamaño de partícula, afecta significativamente el coeficiente de partición en la extracción sólido-líquido, en otras palabras el equilibrio se modifica por las condiciones de extracción. El coeficiente de partición m para el solvente y para cada extracción es calculado mediante la relación $m = X_S / X_{SHS}$. Donde X_S es la fracción másica de sólidos en el extracto al equilibrio y X_{SHS} es la fracción másica de soluto dado en el sólido.

3.1.3. Modelos de extracción sólido-líquido de polifenoles

En la actualidad se han desarrollado varios modelos matemáticos acoplando fórmulas que permitan coincidir con el comportamiento cinético de extracción y las condiciones para su predicción a través del tiempo. Resultan ser una herramienta importante de ingeniería, en el proceso de diseño para reducir el consumo de energía, tiempo y reactivos químicos (Piwowarska y González., 2012). Un modelamiento cinético se puede emplear para comprender la difusión, la transferencia de masa y los parámetros termodinámicos que afectan la extracción. Existen modelos que ya han sido utilizados en la extracción sólido líquido de polifenoles, como el modelo de Page (Page., 1949 citado por Simpson *et al.* 2016), el modelo de Peleg (Peleg., 1988 citado por Joki'c *et al.*, 2012), el modelo de difusión de Sherwood (Sherwood., 1931), el modelo de Simpsom (Simpson *et al.*, 2016), modelos exponenciales, entre otros.

Modelo de Peleg

El modelo desarrollado por Peleg., (1988), para la descripción de las curvas de sorción, fue adaptado para la descripción del proceso de extracción sólido-líquido (Ec. 11).

$$C(t) = C_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 \cdot t}$$

Ecuación 11

Donde $C(t)$ representa la concentración de polifenoles totales, capacidad antioxidante, rendimientos de extracción en el tiempo t , mientras K_1 es la constante de velocidad de Peleg (se relaciona con la velocidad de extracción al principio del proceso de extracción), K_2 es la constante de capacidad de Peleg (esta se refiere a la concentración máxima alcanzada durante el proceso de extracción) y C_0 es la concentración de extracción en el tiempo $t = 0$. En el $t = 0$, el valor de C_0 es igual a cero y, por tanto, la Ec. 12 se puede reducir a la Ec. 13.

$$C(t) = \frac{t}{K_1 + K_2 \cdot t}$$

Ecuación 12

Modelo de Page

El modelo exponencial propuesto por Page en (1949), es una de las ecuaciones empíricas más recurrentes para describir la migración del agua durante el secado de los alimentos. Ahora está fue adaptada también para la velocidad de extracción sólido-líquido de acuerdo a la (Ec. 23).

$$\frac{M - M_e}{M_0 - M_e} = e^{-k_2 \cdot t}$$

Ecuación 13

Donde:

k : Es la constante del modelo de Page

t : Tiempo de extracción en (min).

M : Masa de un componente en el seno del líquido

M_e = Cantidad de masa de un componente alcanzado el equilibrio en el proceso de extracción.

M_0 = Cantidad de sustancia del componente en la solución en el tiempo cero.

Considerando que $M_0 = 0$ y despejando M

$$M = M_e(1 - e^{-k_2 \cdot t})$$

Dividiendo entre el volumen total y considerando que $M/V = C$, se obtiene la Ec. 14.

$$C = C_e(1 - e^{-k_2 \cdot t})$$

Ecuación 14

Modelo de Sherwood

Tiene sustento en la ecuación de la ley de Fick (Sherwood., 1931). Este modelo difiere del modelo de Page en su deducción y el significado que toman los coeficientes. Una solución general

obtenida por Sherwood, es tomada para diferentes geometrías como una barra, esfera o paralelepípedo, para tiempos largos de tratamiento que eventualmente puedan alcanzar el equilibrio:

$$\frac{M - M_e}{M_o - M_e} = k_1 * e^{-k_2 * t}$$

Considerando que $M_o = 0$, despejando M y considerando la relación de concentración, se obtiene la Ec. 15.

$$C = C_e(1 - k_1 e^{-k_2 * t})$$

Ecuación 15

Donde: C corresponde a la concentración, C_e a la concentración en el equilibrio y t al tiempo. K_1 y K_2 , constantes del modelo.

Modelo de Simpson

Modelo que ha sido adaptado para procesos de extracción sólido-líquido, Simpson y colaboradores en el 2016 dieron significado a cada parámetro de la ecuación de Page ya que no se describían las constantes y tampoco se explicaban con certeza las fenomenologías del proceso. Con este modelo de Simpson n es constante e independiente de la temperatura, debido a que está relacionada con la microestructura del material del alimento. K Está relacionada con el coeficiente y geometría de la muestra. Ellos emplearon cálculo fraccional aplicado a la difusión anómala y permitieron obtener la siguiente expresión (Ec. 16).

$$C = C_e(1 - k_1 e^{-k_2 * t^n})$$

Ecuación 16

Donde: C corresponde a la concentración, C_e a la concentración en el equilibrio y t al tiempo. K_1, K_2 y n , constantes del modelo.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales y equipos utilizados se describieron en el punto 4.1. y 4.1.2. del ANEXO I.

La extracción se realizó de acuerdo al punto 4.1.5. del ANEXO I.

La cuantificación de fenoles totales fue por el método de Singleton y Rossi., (1965) ver punto 4.1.7. del ANEXO I.

La cuantificación de flavonoides fue con el método de Kubola y Siriamornpun., (2011) ver punto 4.1.8 del ANEXO I.

Se realizó actividad antioxidante por el método ABTS descrita por Re *et al.*, (1999) y el método FRAP de (Benzie y Strain., 1996) ver puntos 4.1.9 y 4.1.10 del ANEXO I.

Para la determinación de sólidos disueltos totales SDT se tomó como referencia la NMX-F-527-1992, ver punto 4.1.12 del ANEXO I.

El análisis por espectrometría de masas (UPLC) fue detallado en el punto 4.1.15 del ANEXO I.

El análisis estadístico fue descrito en el punto 4.1.6 del ANEXO I.

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Comportamiento cinético de extracción por el sistema embebido de monitoreo continuo

Se observa en las figuras 32, 33 y 34 el proceso de extracción obtenido por el sistema embebido de monitoreo continuo correspondiente a la longitud de onda de 200 nm en ultravioleta mediano.

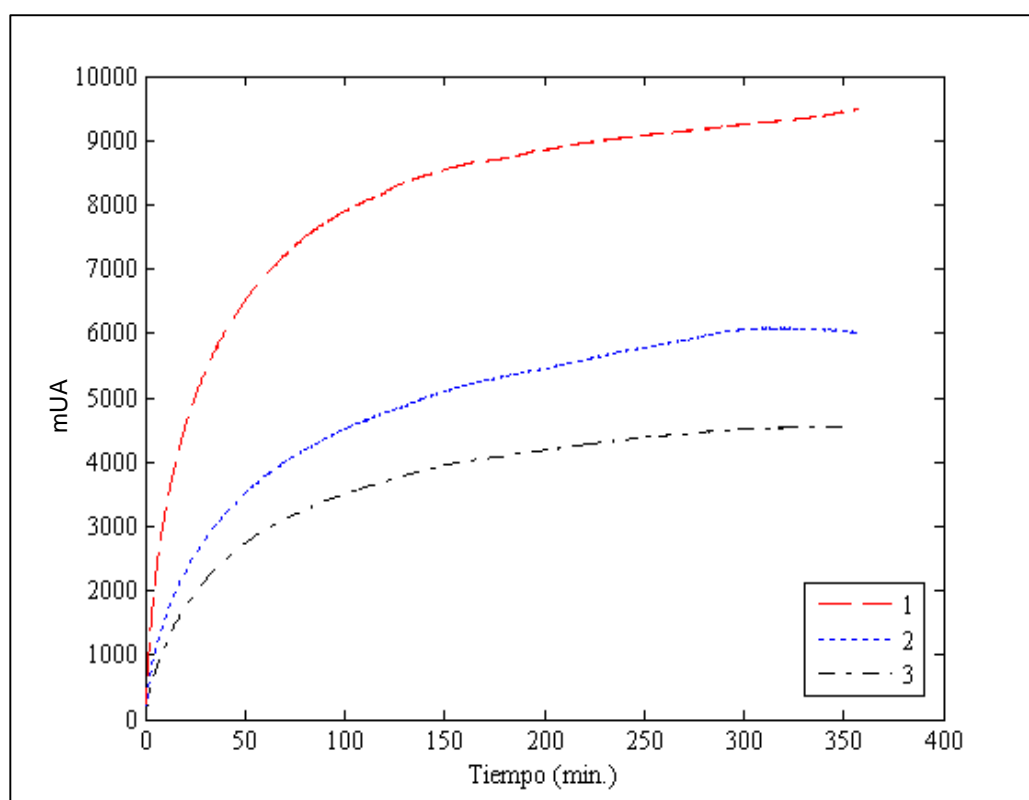


Figura 32. Comportamiento cinético de extracción por el sistema embebido de monitoreo continuo a 200 nm con tratamiento a 20°C.

Donde: la línea punteada color rojo indicó el ensayo número 1 con las siguientes condiciones “Agitación 300rpm, relación Líquido/sólido 1:20 y tamaño de partícula 2mm”; la línea punteada color azul indicó el ensayo número 2 “Agitación 400rpm, relación Líquido/sólido 1:35 y tamaño 5mm”; y la línea punteada color negro presentó el ensayo número 3 “Agitación 500rpm, relación Líquido/sólido 1:50 y tamaño 8mm”, todas con un tiempo de extracción de 360 minutos.

A 20°C se observó que las extracciones de brácteas de alcachofa presentaron un comportamiento cinético de equilibrio, más sin embargo la detección de compuestos bioactivos por el monitoreo del UV-Vis fueron de baja intensidad con respecto a las de 40 y 60°C, pareciera ser que a 20°C se extrajeron solo componentes de la superficie del material vegetal, no permitiendo la solubilidad de diversos componentes dentro de la matriz vegetal (Treybal., 1998), resultando 20°C la temperatura menos eficiente para la extracción de compuestos bioactivos coincidiendo con el estudio de Jurinjak *et al.*, (2016) en plantas de la familia de las *Astereceae* a la cual pertenece la alcachofa.

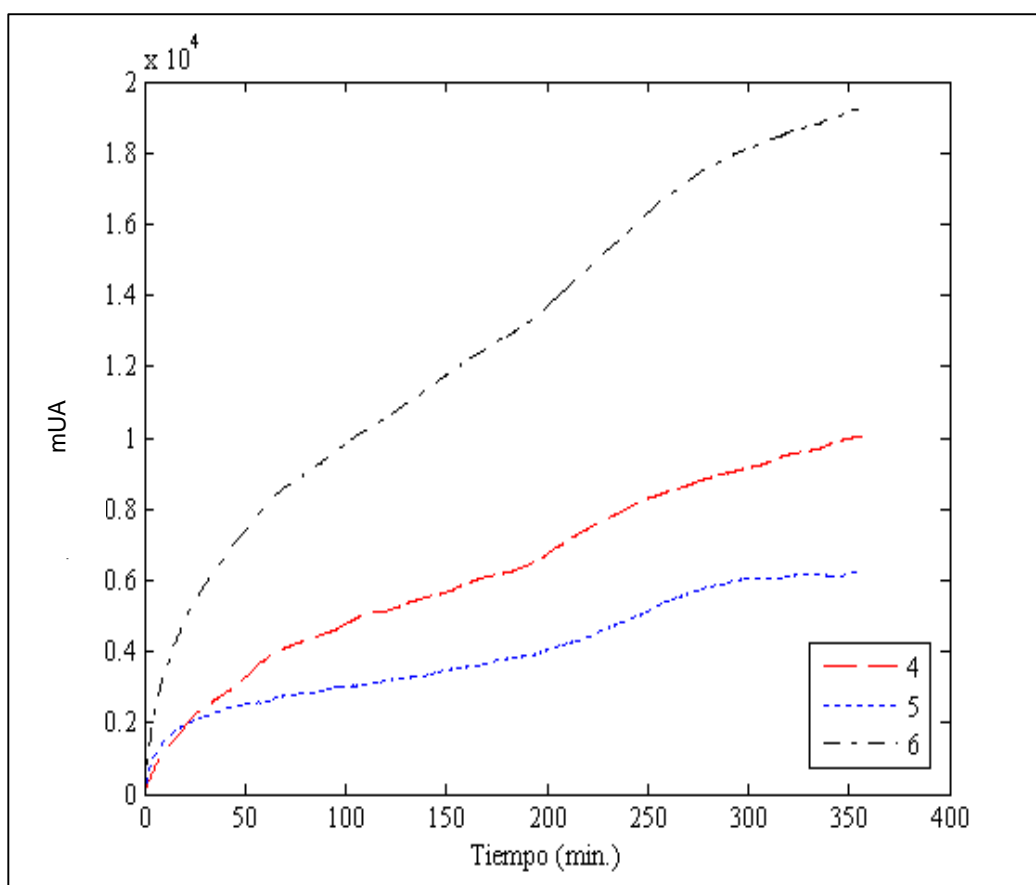


Figura 33. Comportamiento cinético de extracción por el sistema embebido de monitoreo continuo a 200 nm con tratamiento a 40°C.

Donde: la línea punteada color rojo indicó el ensayo número 4 con las siguientes condiciones “Agitación 300rpm, relación Líquido/sólido 1:35 y tamaño 8mm”; la línea punteada color azul indicó el ensayo número 5 “400rpm, 1:50 y 2mm”; y la línea punteada color negro presentó el ensayo número 6 “500rpm, 1:20 y 5mm”, todas con un tiempo de extracción de 360 minutos.

A 40°C se observó un comportamiento distinto a las extracciones de 20° y 60°C, ya que a 40°C el comportamiento de extracción fue de manera ascendente con respecto al tiempo no permitiendo un comportamiento cinético cercano al equilibrio, posiblemente a 40°C se halla

permitido mayor solubilidad de diversos componentes los cuales fueron transferidos al seno del líquido (Treybal., 1998), por lo tanto la extracción no alcanzó una fase estacionaria durante el tiempo transcurrido de 360 minutos, resultando 40°C una temperatura poco eficiente para el estudio de la extracción de compuestos bioactivos en brácteas de alcachofa.

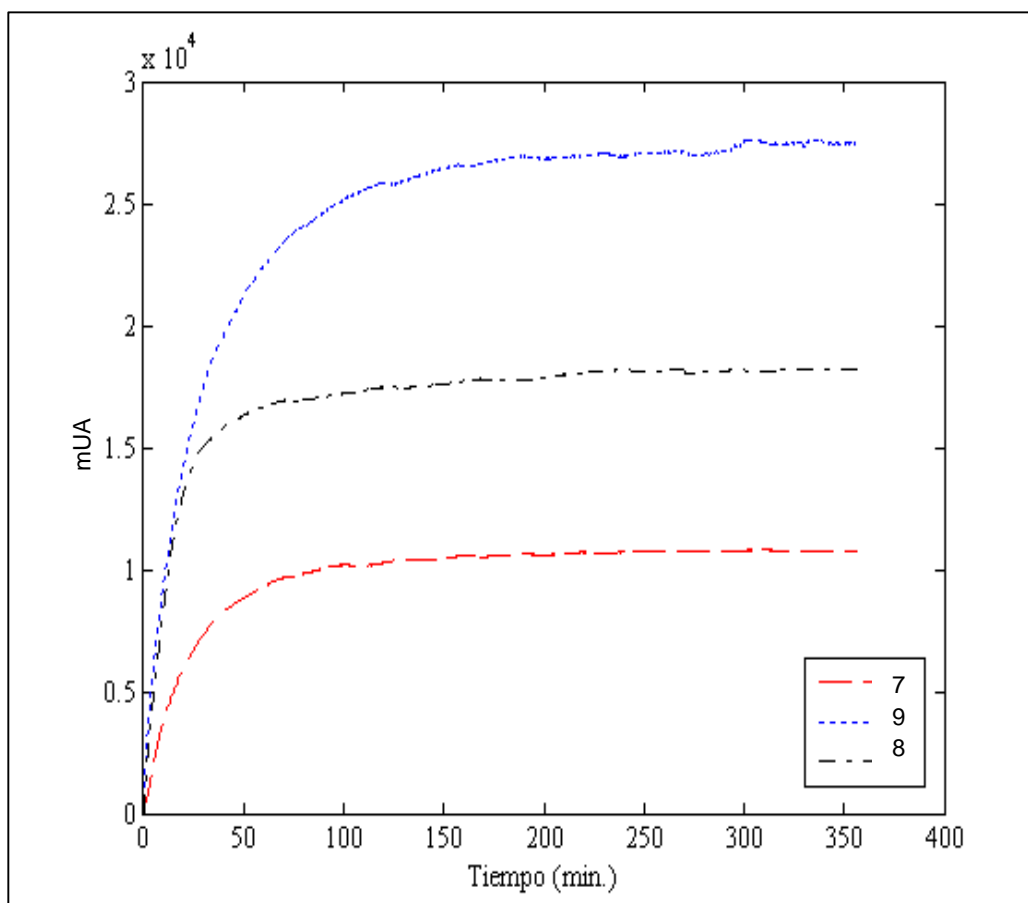


Figura 34. Comportamiento cinético de extracción por el sistema embebido de monitoreo continuo a 200 nm con tratamiento a 60°C.

Donde: la línea punteada color rojo indicó el ensayo número 7 con las siguientes condiciones “Agitación 300rpm, relación Líquido/sólido 1:50 y tamaño 5mm”; la línea punteada color azul señaló el ensayo número 8 “400rpm, 1:20 y 8mm”; y la línea punteada color negro presentó el ensayo número 9 “500rpm, 1:35 y 2mm”, todas con un tiempo de extracción de 360 minutos.

A 60°C se alcanzó un comportamiento cinético de extracción en equilibrio en menor tiempo con respecto a 20°C y 40°C, se observó que durante los primeros 20 minutos se incrementó la velocidad de extracción de compuestos bioactivos de brácteas de alcachofa, que de acuerdo con Jurinjak *et al.*, (2016) mencionó que la mayoría de los polifenoles se liberan del material vegetal al disolvente durante los primeros 10 a 15 minutos del proceso de extracción, en el caso de

Paunović *et al.*, (2014) determinaron que en 20 minutos ocurría un rápido aumento del contenido de polifenoles totales conocido como lavado, y el tiempo restante de la extracción se mantenía un aumento lento en el contenido de polifenoles totales conocida como extracción lenta, comportamiento muy parecido al que se obtuvo en los ensayos a 60°C.

Se observó mayor intensidad de detección de compuestos bioactivos por el monitoreo del UV-Vis del sistema embebido de extracción, triplicando el valor de la intensidad en UA (unidades arbitrarias) con respecto a las extracciones en 20°C y el doble para 40°C, resultados que se asociaron con el aumento de la temperatura, la cual mejoró la penetración del líquido dentro de la matriz vegetal, logrando un proceso de extracción más eficiente en cuanto a la velocidad de transferencia de masa (Perry *et al.*, 1984), sin embargo hay más factores a considerar dentro de la extracción sólido-líquido como el tamaño de partícula y velocidad de agitación (Coulson y Richarson., 2003).

Normalización de los datos de extracción obtenidos por el sistema embebido

Se realizó la normalización de los datos cinéticos de extracción para cada uno de los ensayos de extracción (Figura 35).

A) La línea punteada color rojo indica las condiciones de “300rpm, proporción S/L 1:20 y 2mm”; la línea punteada de color azul “400rpm, 1:35 y 5mm”; y la línea punteada color negro “500rpm, 1:50 y 8mm”, mostrando la normalización de los ensayos a 20°C, la tendencia del gráfico mostro un comportamiento logarítmico el cual se relaciona con una velocidad lenta de extracción ya que las curvas de las cinéticas se formaron menos pronunciadas que las de 60°C.

B) La línea punteada color rojo indica “300rpm, proporción S/L 1:35 y 8mm”; la línea punteada de color azul “400rpm, 1:50 y 2mm”; y la línea punteada color negro “500rpm, 1:20 y 5mm”, mostrando la normalización de los ensayos a 40°C, la tendencia del gráfico mostró un comportamiento lineal debido al cambio constante que tuvo durante el tiempo de la extracción.

C) La línea punteada color rojo indica “300rpm, proporción S/L 1:50 y 5mm”; la línea punteada de color azul “400rpm, 1:20 y 8mm”; y la línea punteada color negro “500rpm, 1:35 y 2mm”, mostrando la normalización de los ensayos a 60°C, la tendencia del gráfico mostró un comportamiento logarítmico el cual se relaciona con una mayor velocidad de extracción ya que se forman más rápido las curvas de las cinéticas de extracción comparadas con las de 20°C.

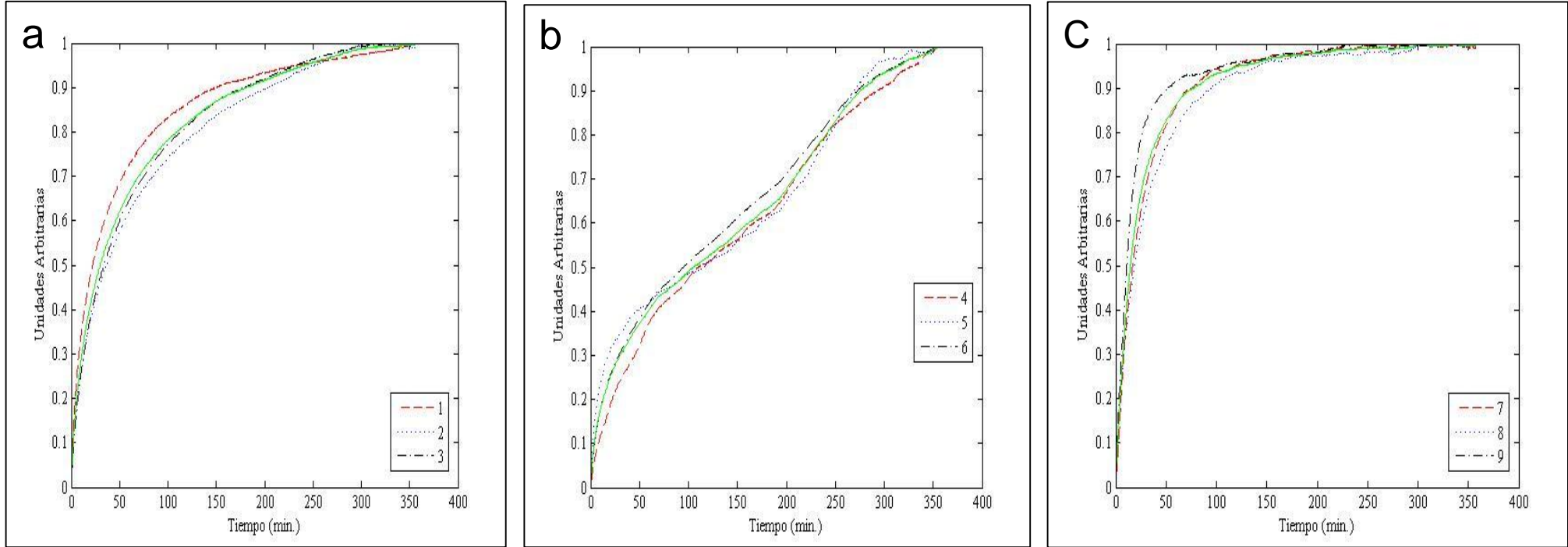


Figura 35. Normalización de los datos cinéticos de extracción. a) 20°C, b) 40°C y c) 60°

3.3.2. Tiempos de extracción

Se determinó el tiempo de extracción de acuerdo al monitoreo en línea del sistema embebido, para cada una de las extracciones planteados por el diseño L9 (3⁴) de Taguchi (Cuadro 10).

Cuadro 10. Tiempos de extracción de acuerdo al arreglo ortogonal L9 (3⁴) de Taguchi.

Corrida o Ensayo	Temperatura (°C)	Velocidad de agitación (RPM)	Relación sólido-líquido	Tamaño de Partícula (mm)	Tiempos de extracción (min)				
					80%	85%	90%	95%	100%
1	20	300	1:20	2	84.4	111.2	149.7	232.5	358.0
2	20	400	1:35	5	129.9	159.2	203.6	250.5	313.4
3	20	500	1:50	8	113.6	138.8	179.7	233.0	351.5
4	40	300	1:35	8	241.7	264.0	293.4	323.3	356.3
5	40	400	1:50	2	244.6	255.8	269.1	289.4	355.7
6	40	500	1:20	5	232.8	251.3	273.2	306.7	355.1
7	60	300	1:50	5	47.0	57.9	74.7	119.6	308.9
8	60	400	1:20	8	57.0	71.1	94.1	141.1	303.4
9	60	500	1:35	2	26.4	35.2	52.0	106.9	270.3

n=10 para cada uno de los ensayos

Se muestran los tiempos de extracción en minutos de acuerdo al porcentaje del proceso de extracción del 80 al 100%, donde se observó que el ensayo número 9 con condiciones de “500rpm, 60°C, proporción sólido-líquido 1:35 y tamaño de partícula de 2 mm” con los mejores tiempos de extracción (26.4 minutos). A 20°C el tiempo mínimo para la extracción fue de 84.4 a 113.6 minutos, para 40°C de 232.8 a 244.6 minutos. En cambio para los ensayos a 60°C se observó que dentro de los primeros 26.4 minutos la extracción ya había alcanzado una fase de equilibrio, la representación de los tiempos de extracción se observan en la figura 36.

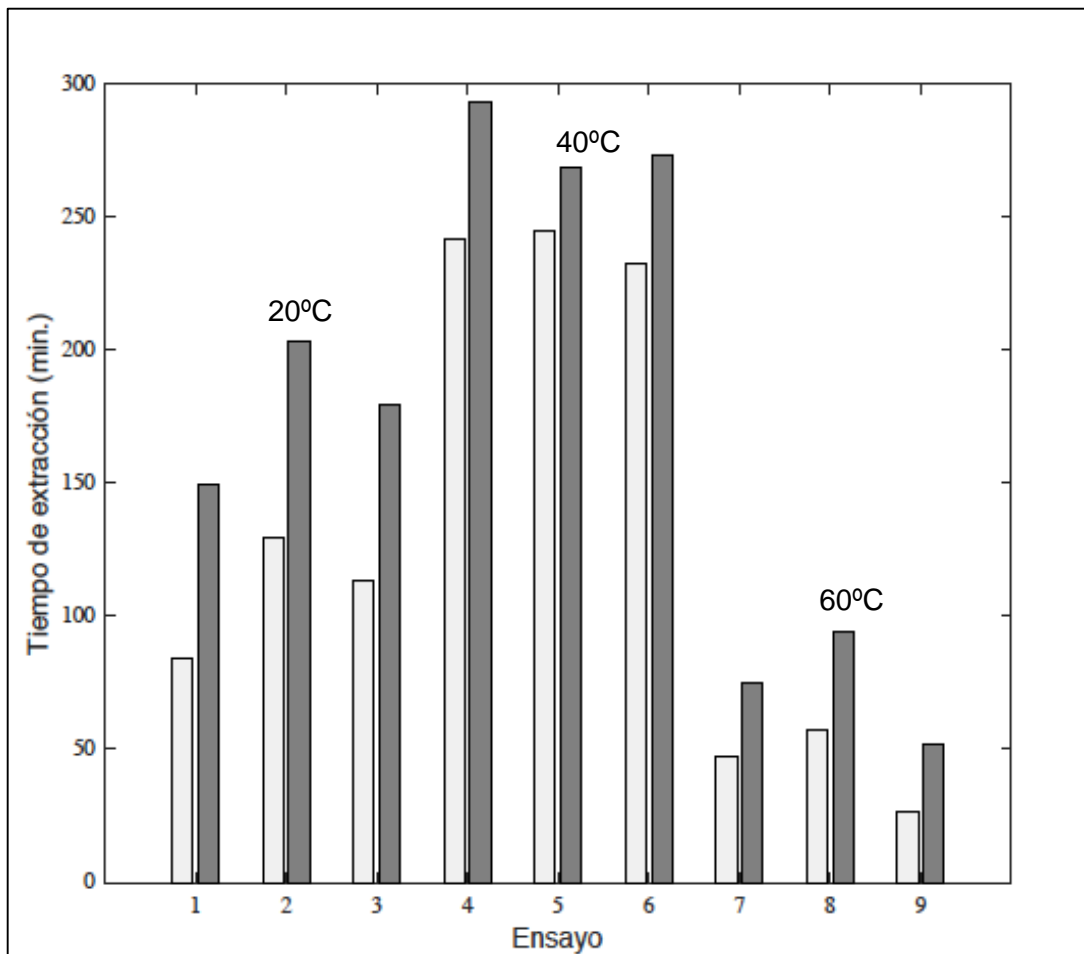


Figura 36. Tiempos de extracción.

Donde el ensayo 1, 2 y 3 representa los tratamientos a 20°C, el 4, 5 y 6 el de 40°C y el 7, 8 y 9 a 60°C. Las barras de color gris oscuro representan los tiempos a un 90% del total del proceso de extracción y las barras de color gris claro a un 80% del total del proceso de extracción.

3.3.3. Rendimientos

Rendimientos de extracción por la detección del sistema de monitoreo en línea

Se determinaron los rendimientos de extracción de acuerdo a la máxima intensidad de detección en línea del sistema embebido de extracción en (UA/gramo de sólidos) en base húmeda (Cuadro 11).

Cuadro 11. Rendimientos de extracción de acuerdo al arreglo ortogonal L9 (3⁴) de Taguchi.

Corrida o ensayo	Temperatura (°C)	Velocidad de agitación (RPM)	Relación sólido/líquido	Tamaño de Partícula (mm)	Rendimientos (Unidades Arbitrarias/Sólido)
1	20	300	1:20	2	95
2	20	400	1:35	5	107
3	20	500	1:50	8	114
4	40	300	1:35	8	176
5	40	400	1:50	2	156
6	40	500	1:20	5	192
7	60	300	1:50	5	270
8	60	400	1:20	8	276
9	60	500	1:35	2	318

n=10 para cada uno de los ensayos

Se observó que los rendimientos incrementaron conforme aumentó la temperatura, donde los ensayos a 60°C presentaron rendimientos de extracción mayores con respecto a los ensayos de 20 y 40°C con una ($p > 0.05$).

En 20 y 40°C posiblemente hubo largas trayectorias de difusión en analitos para pasar a través de la matriz, dificultando la extracción de compuestos bioactivos, la temperatura a 60°C y la velocidad de agitación en 500rpm, fueron factores críticos para mejorar los rendimientos evitando largos tiempos de extracción (Martínez., 2016; Silva *et al.*, 2007; Zuurro *et al.*, 2014), como fue en el caso del ensayo número 9 con rendimientos de 318 UA/sólido, bajo las condiciones de (500rpm, relación sólido-líquido 1:35, tamaño de partícula de 2mm a 60°C) ver la figura 37.

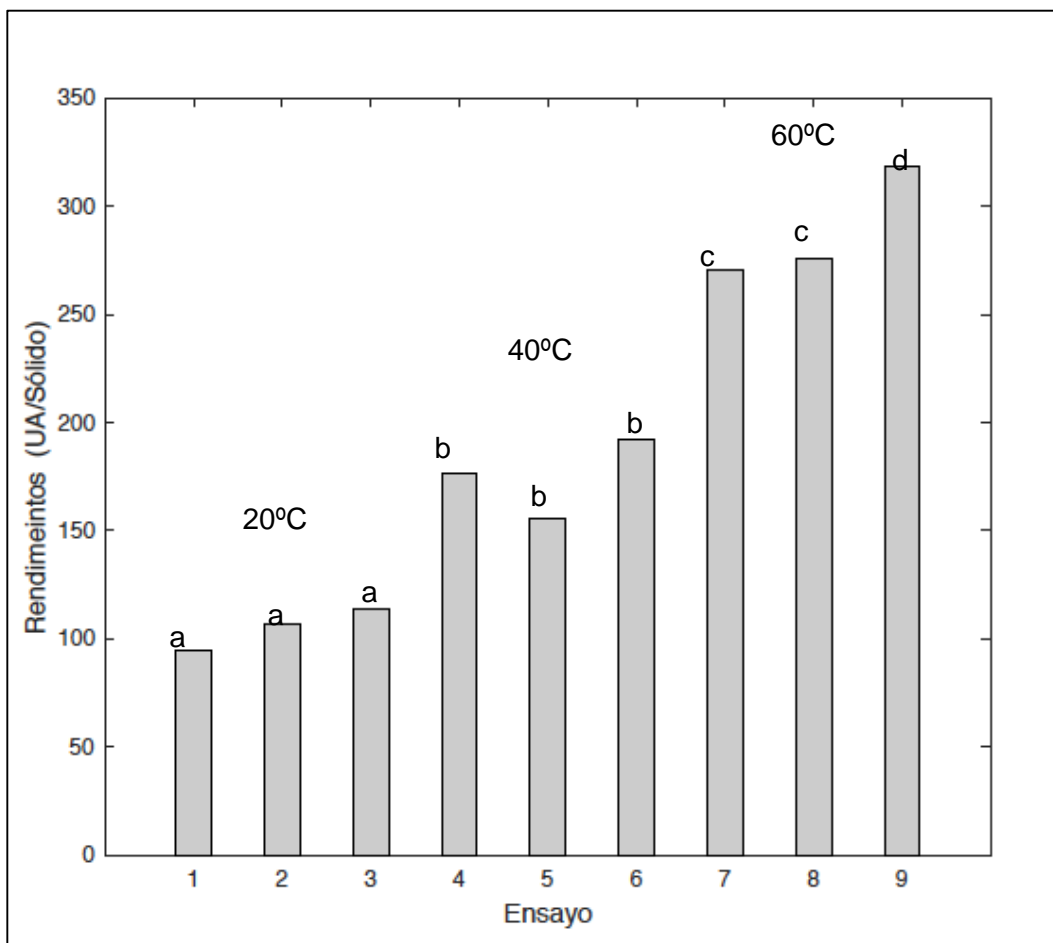


Figura 37. Rendimientos de extracción con una ($p < 0.05$).

Rendimientos de extracción por sólidos disueltos totales (SDT)

Se realizó la determinación del porcentaje de sólidos disueltos totales para cada una de las extracciones planteadas por el diseño de Taguchi, los rendimientos se expresaron como (mg extraídos/ g de sólidos). Se observaron mayores rendimientos de extracción con el aumento de la temperatura a 60°C comparada con los ensayos a 20°C y 40°C (Figura 38). La influencia mínima en los rendimientos de extracción fue a 20°C, por lo que el efecto de la temperatura favoreció los rendimientos de extracción, resultados que coinciden con los rendimientos determinados por el sistema embebido en (UA)/gramo de sólidos.

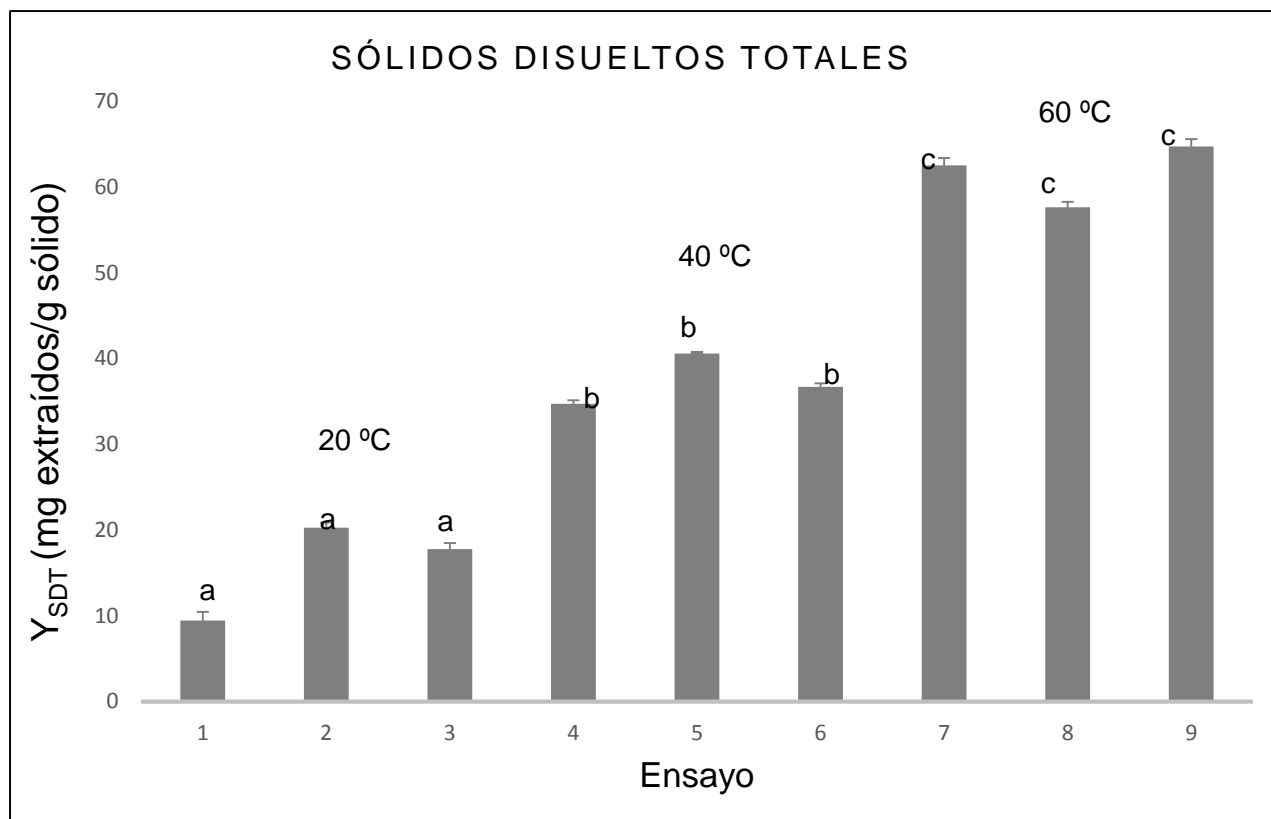


Figura 38. Comparación de los rendimientos de extracción por sólidos disueltos totales en (mg extraídos/g sólido) ($p < 0.05$).

Donde: el ensayo (1, 2 y 3) fue a 20°C, (4, 5, y 6) a 40°C y (7, 8 y 9) a 60°C, las condiciones de extracción para cada uno de los ensayos se detallan en el cuadro 11.

Rendimiento de Fenoles Totales (FT) en extractos de brácteas de alcachofa

Se determinó el rendimiento de fenoles totales en (mg GAE/g) para cada uno de los ensayos planteados por el diseño de la matriz ortogonal de Taguchi (Figura 39), los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramos en base húmeda a partir de una curva de calibración.

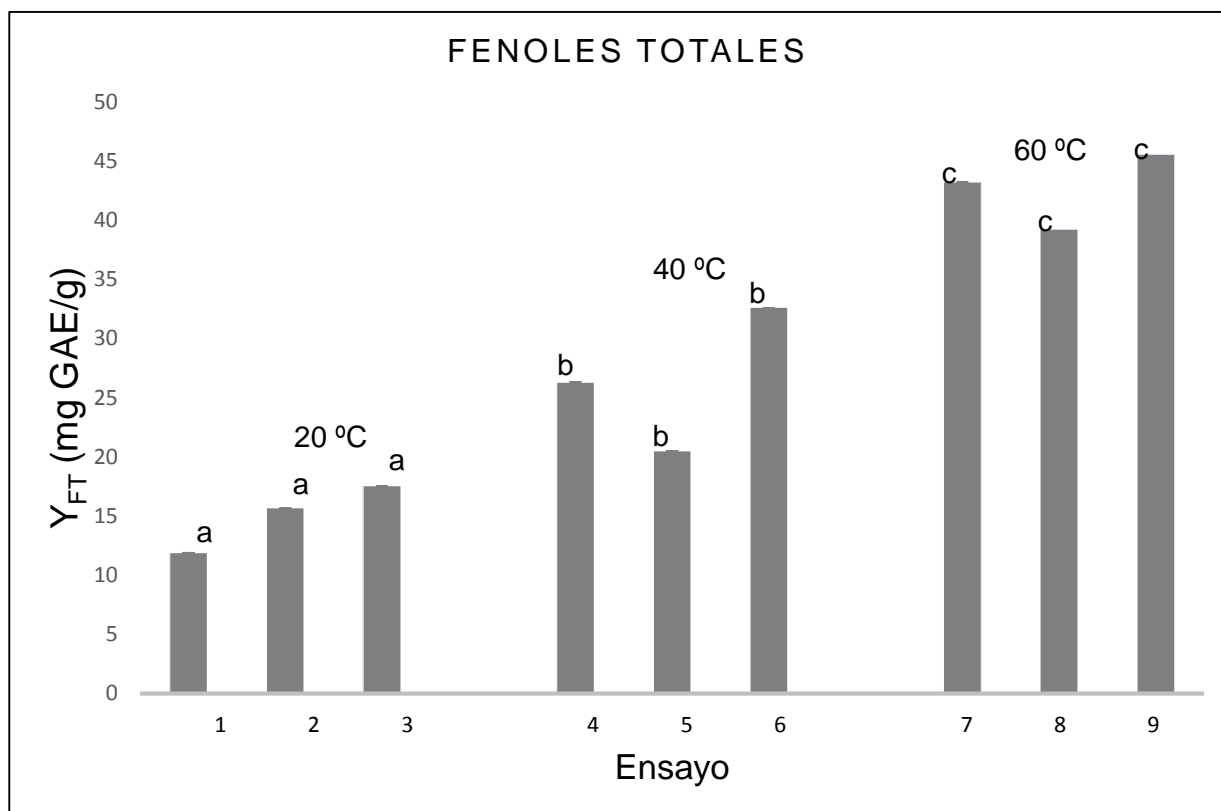


Figura 39. Comparación de los rendimiento de fenoles totales en (mg GAE/g) ($p < 0.05$).

Donde: el ensayo (1, 2 y 3) fue a 20°C, (4, 5, y 6) a 40°C y (7, 8 y 9) a 60°C, las condiciones de extracción para cada uno de los ensayos se detallan en el cuadro 10, cada barra presenta la media de tres ensayos.

El mayor rendimiento en fenoles totales fue para los ensayos a 60°C con respecto a los de 20°C y 40°C con una ($p < 0.05$), específicamente el mejor rendimiento fue para el ensayo número 9 correspondiente a las siguientes condiciones (agitación de 500rpm, proporción sólido-líquido 1:35, tamaño de partícula 2mm a 60°C). En estudios anteriores por Horžić *et al.*, (2009) se investigó el efecto de las temperaturas de extracción de polifenoles totales en la composición de diferentes tipos de té, se obtuvieron rendimientos elevados de polifenoles y flavonoides cuando se utilizó agua hirviendo a temperatura elevada. En este estudio la temperatura a 60°C mejoró la eficiencia de extracción de fenoles totales ayudando en la permeabilización de las paredes celulares, logrando una mayor solubilidad y difusión de compuestos fenólicos, así como la reducción de la tensión de superficie, mejoramiento de hidrólisis y reacciones de descomposición. Autores como (Casas *et al.*, 2010; Prommuak *et al.*, (2008) han demostrado que el aumento de temperatura está directamente relacionado con la recuperación de compuestos bioactivos (polifenoles), principalmente por el aumento de la solubilidad que a su vez aumenta el movimiento de solutos en los sitios activos de la célula y reduce la fuerza de los enlaces de hidrógeno, disminuyendo la energía necesaria para romper las interacciones matriz-soluto.

Rendimiento de la actividad antioxidante FRAP en extractos de brácteas de alcachofa

Se realizó la evaluación de la actividad antioxidante en equivalentes de Trolox mediante el método de (FRAP-Ferric reducing antioxidant power). Los resultados se sustituyeron en la ecuación de la curva de calibración determinada para Trolox (de 50 a 600 $\mu\text{mol ET/g}$) expresada como equivalentes Trolox/gramo en base húmeda (Figura 40).

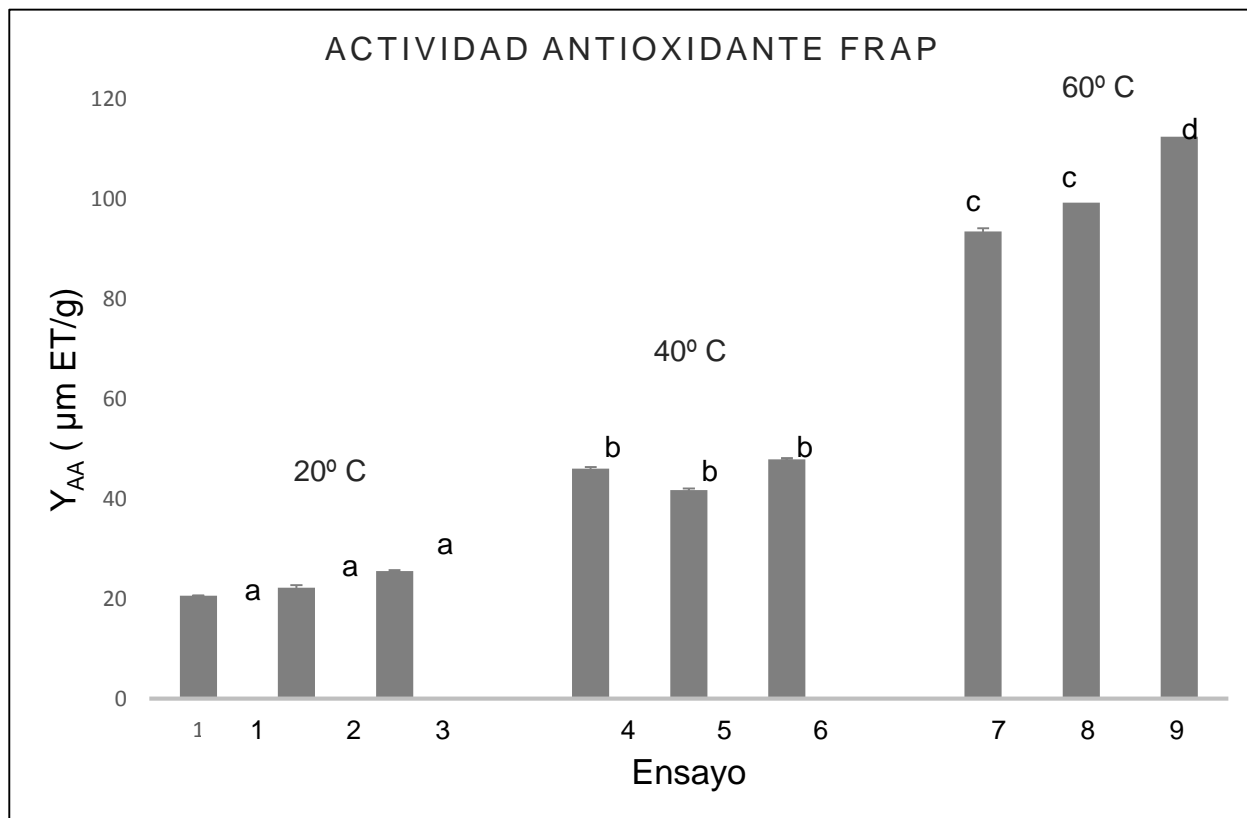


Figura 40. Comparación de los rendimientos de la actividad antioxidante por el método FRAP en ($\mu\text{mol ET/g}$) ($p < 0.05$).

Donde: el ensayo (1, 2 y 3) fue a 20°C, (4, 5, y 6) a 40°C y (7, 8 y 9) a 60°C, las condiciones de extracción para cada uno de los ensayos se detallan en el cuadro 10, cada barra es la media de tres determinaciones.

El mayor rendimiento fue para los ensayos a 60°C con una tendencia muy similar a los rendimientos de fenoles totales, en el caso de los ensayos a 20°C y 40°C se tuvieron rendimientos relativamente bajos. El mejor rendimiento fue para el ensayo número 9 correspondiente a las condiciones (agitación 500rpm, proporción sólido líquido 1:35, tamaño de partícula 2mm a 60°C). Las altas temperaturas pueden movilizar ciertos antioxidantes y promover la posible descomposición concurrente de los que ya se movilizaban a temperaturas más bajas, sin embargo, la tasa de extracción de antioxidantes térmicamente estables a temperaturas elevadas es mayor que la tasa de descomposición de antioxidantes menos

solubles, lo que explica la actividad antioxidante relativamente alta en extractos preparados a temperaturas de 60°C.

Rendimiento de la actividad antioxidante ABTS en extractos de brácteas de alcachofa

Se realizó una segunda determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS (2,2-Azinobis-3-Etilbenzotiazolin-6-Ácido Sulfónico). Los resultados se obtuvieron por una curva de calibración determinada para Trolox (de 50 a 600 $\mu\text{mol ET/g}$) expresada como equivalentes Trolox por g en base húmeda (Figura 41).

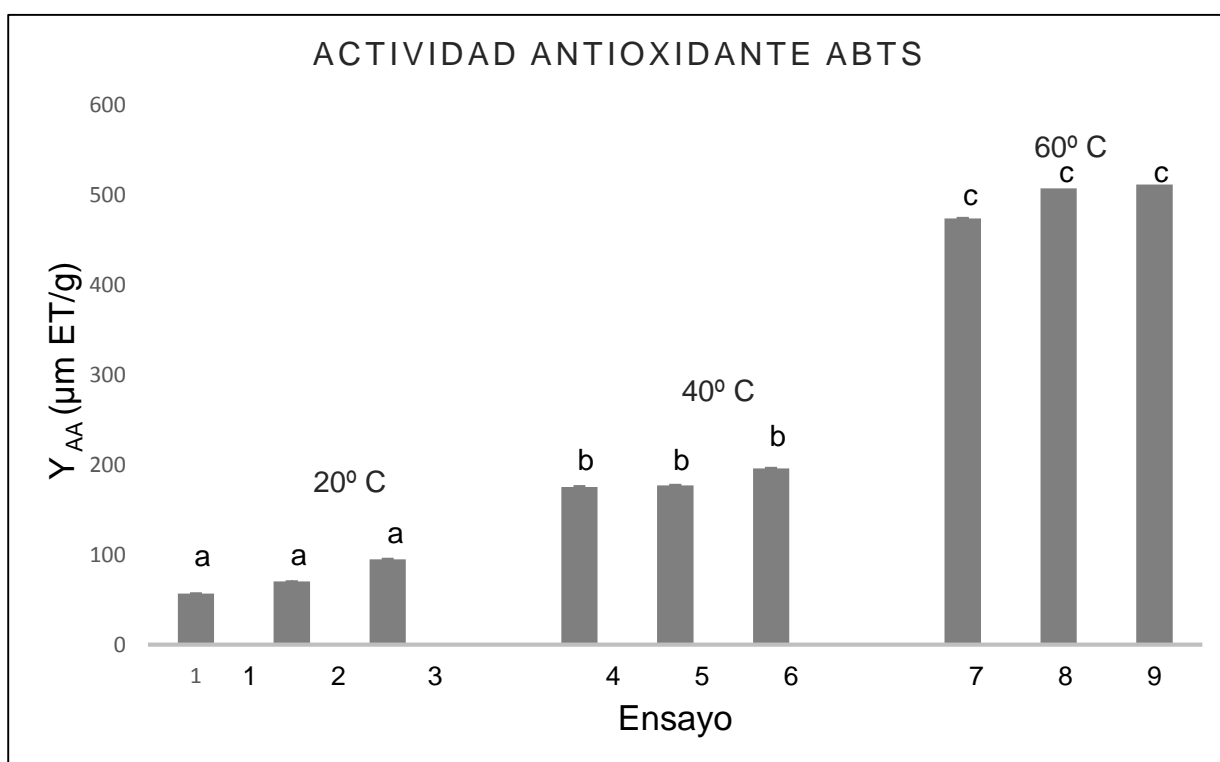


Figura 41. Comparación de los rendimientos de actividad antioxidante por el método ABTS en ($\mu\text{mol ET/g}$) ($p < 0.05$).

Donde: el ensayo (1, 2 y 3) fue a 20°C, (4, 5, y 6) a 40°C y (7, 8 y 9) a 60°C, las condiciones de extracción para cada uno de los ensayos se detallan en el cuadro 10, cada barra es la media de tres determinaciones.

Los resultados obtenidos indicaron que la temperatura fue el principal factor en la determinación de actividad antioxidante de los extractos de brácteas de alcachofa, los radicales ABTS implicaron que la extracción a temperaturas de 60°C aseguraron la recuperación de compuestos con mayor capacidad antioxidante que los extractos a temperaturas inferiores de 20 y 40°C, Martínez. (2016) utilizó el diseño de Taguchi L8 (27) a diferentes condiciones de extracción obteniendo como mejores rendimientos 84.67 $\mu\text{mol ET/g}$, los cuales resultaron relativamente bajos en comparación con los de este estudio con 474.03 $\mu\text{mol ET/g}$, posiblemente se deba a

que Martínez. (2016) utilizó temperaturas de 25°C y 50°C con tiempos de extracción de 30 min a 90 min.

3.3.4. Principales efectos en la extracción de brácteas de alcachofa por el análisis de Taguchi

Se aplicó el diseño experimental correspondiente a las señales de ruido (S/R), con el criterio de “la mayor es mejor” del método de Taguchi de arreglo ortogonal L9 (3⁴), fue usado en el análisis de los factores que afectaron los rendimientos en la extracción de fenoles totales y rendimientos de la actividad antioxidante (Figura 42). Se obtuvieron los valores de señal/ruido (S/R) (Cuadro 12) y se realizó un análisis de varianza (Cuadro 13).

Cuadro 12. (S/R) de los rendimientos de extracción, bajo diferentes condiciones de extracción, según el arreglo ortogonal L9 (3⁴) de Taguchi.

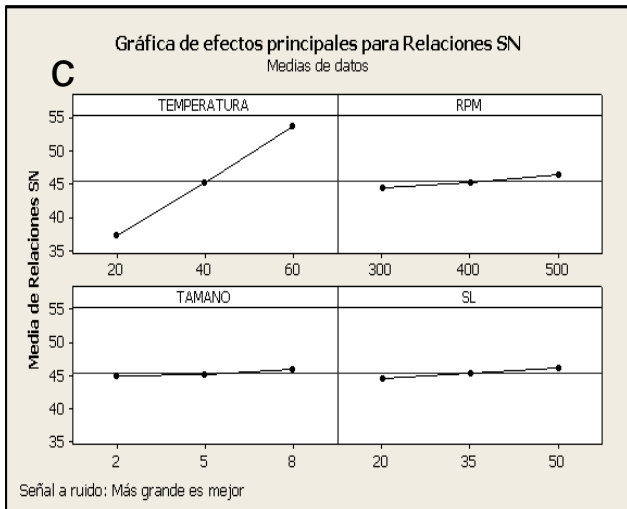
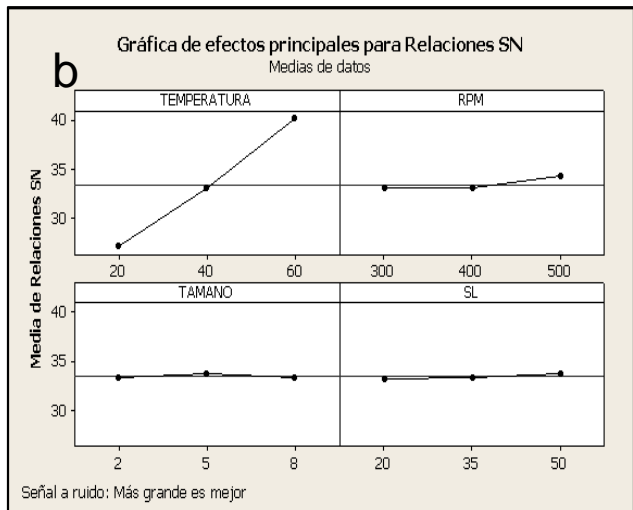
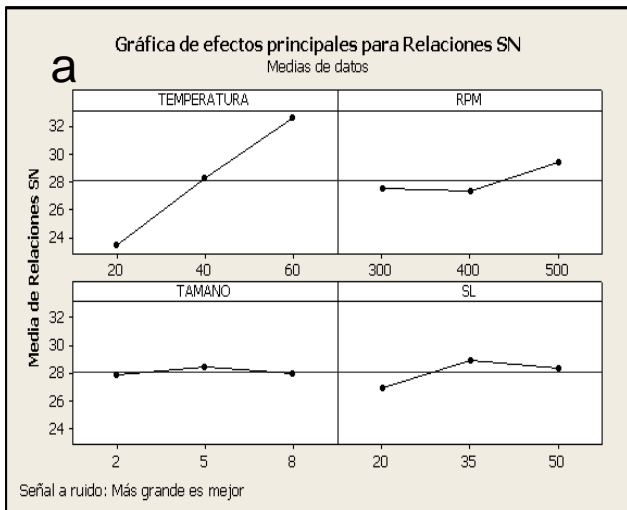
Corrida o Ensayo	Rendimiento Fenoles Totales (mg GAE/g)	(S/R)	Rendimiento Actividad Antioxidante FRAB ($\mu\text{mol ET/g}$)	(S/R)	Rendimiento Actividad Antioxidante ABTS ($\mu\text{mol ET/g}$)	(S/R)
1	11.9± 0.09	21.51	20.65± 0.06	26.29	56.78± 0.39	35.08
2	15.7± 0.01	23.91	22.22± 0.51	26.93	70.14± 0.08	36.91
3	17.5± 0.03	24.86	25.60± 0.19	28.16	94.78± 0.85	39.53
4	26.3± 0.05	28.39	46.07± 0.10	33.26	175.14± 0.18	44.86
5	20.5± 0.07	26.23	41.78± 0.31	32.41	177.14± 1.13	44.96
6	32.6± 0.01	30.26	47.79± 0.36	33.58	195.90± 0.61	45.84
7	43.2± 0.01	32.70	93.63± 0.21	39.42	474.03± 0.68	53.51
8	39.2± 0.01	31.86	99.36± 0.25	39.94	507.35± 0.19	54.10
9	45.5± 0.06	33.16	112.57± 0.59	41.02	511.60± 0.68	54.17

Con una n=10 y (p<0.05). Donde: (S/R) Señales de ruido S/N, (FRAB y ABTS) Actividad antioxidante y (FT) Fenoles totales.

Cuadro 13. Análisis de varianza para fenoles totales y actividad antioxidante

Fenoles Totales						
GL	SC	CM	R2	s	F	P
2	115.8	576.9	91.30%	4.280	31.49	0.001
Actividad antioxidante FRAP						
2	9,950.90	4,975.40	97.82%	6.078	134.66	0.000
Actividad antioxidante ABTS						
2	290,598	145,299	93.37%	17.57	470.71	0.000

Donde: GL son los grados de libertad, SC es la suma de cuadrados, CM son los cuadrados medios, R2 es la R cuadrada, s es el error estándar y P nivel de confianza (<0.05).



Donde:
 S/N: Por sus siglas en inglés (Señal de ruido S/R)
 RPM: Velocidad de agitación en (rpm)
 TAMANO: Tamaño de partícula (mm)
 SL: Relación sólido-líquido (m/v)

Figura 42. Valores señal/ruido (S/R) para cada factor y sus interacciones con el Rendimiento de fenoles totales a), Rendimiento de la actividad antioxidante FRAP b) y Rendimiento de la actividad antioxidante ABTS c).

El diseño de Taguchi permitió estudiar correlaciones entre cuatro factores de control, valores promedio y variables de característica efectiva para proponer un sistema óptimo. Utilizando las señales de ruido S/R para el análisis de los datos experimentales, se habilitó establecer más fácilmente la combinación óptima de parámetros.

Efecto de la temperatura

Este factor tuvo el efecto principal en la extracción, al haber obtenido el mayor valor de señal/ruido (S/R). Con mayores rendimientos en fenoles totales y rendimientos de actividad antioxidante. Por su parte, Zuorro *et al.*, (2016) evaluaron el factor temperatura en el rango de 40 a 60°C y encontraron que éste fue significativo en el proceso de extracción de compuestos fenólicos, así como Jokić *et al.*, (2012); Paunović *et al.*, (2014); Cavdarova y Makris., (2014), encontraron mayor eficiencia de extracción de polifenoles totales a temperaturas de 45, 50°C y 60°C; sin embargo, la extracción a altas temperaturas, si bien mejora el rendimiento de extracción, en algunos casos podría provocar una degradación de compuestos fenólicos (Martínez., 2016; Silva *et al.*, 2007; Zuorro *et al.*, 2014).

Efecto de la velocidad de agitación

El efecto de la velocidad de agitación obtuvo valores de señal/ruido (S/R) menos pronunciados que el efecto de la temperatura, favoreciendo las variables de rendimiento de fenoles totales y actividad antioxidante. Jurinjak *et al.*, (2016) evaluó tres diferentes velocidades de agitación para la extracción de polifenoles y antioxidantes a 250, 500 y 750 rpm con base en el diseño de la matriz ortogonal de Taguchi, resultando mayores rendimientos de extracción en la velocidad de agitación de 500 rpm. En este estudio se utilizó un tanque con agitación mecánica, que proporcionó un mecanismo dinámico que permitió la ruptura de una gran parte de las células del vegetal, ayudando posiblemente a difundir los componentes al exterior a través de las paredes celulares (Treybal., 1998).

Efecto del tamaño de partícula

No presento un efecto principal en la extracción, al haber obtenido un bajo valor de señal/ruido (S/R), no interfirió en los rendimientos de extracción de fenoles y actividad antioxidante, por lo que se consideró que los tamaños de partícula utilizados en este estudio fueron muy cercanos entre ellos. Estudios previos han demostrado que los mejores rendimientos de polifenoles se consiguen al trabajar con partículas finas, muy probablemente debido al aumento en la superficie de intercambio y la disminución de la longitud de la trayectoria necesaria para que el soluto llegue a la superficie, lo que ayuda a reducir el tiempo de extracción (Escribano y Santos., 2003; Mafart *et al.*, 1992; Pinelo *et al.*, 2006) citados por Silva *et al.*, (2007). Sin embargo también un tamaño

de partícula extremadamente pequeño como la pulverización, puede crear problemas como obstrucción, difícil filtración, difícil separación de fases, aglomerados secos, extracción desigual etc. (Angelov *et al.*, 2015).

Efecto de la relación sólido-líquido (m/v)

No presentó un efecto principal en la extracción, al haber obtenido un bajo valor de señal/ruido (S/R). La relación materia prima/solvente no interfirió en los rendimientos de extracción de fenoles y actividad antioxidante. Posiblemente porque las proporciones que se plantearon en este estudio fueron muy estrechas, por lo que usar cualquiera de ellas no cambiaría la cantidad de fenoles extraídos. Zuorro *et al.*, (2016) mencionaron que el aumentar el tiempo de extracción sería más eficaz que aumentar la relación del sólido-líquido, a lo cual coincide Silva *et al.*, (2007) quienes mencionaron que el impacto de la relación sólido-líquido en la extracción de polifenoles no tuvo diferencia estadísticamente significativa entre las relaciones y que cualquiera que fuera la razón elegida en cierto rango de proporción, la cantidad de compuestos polifenólicos extraídos seguiría siendo la misma. (El Seoud., 2009; Zuorro *et al.*, 2014) han estudiado el efecto que tienen algunos tipos de solvente en la extracción de polifenoles como el agua, la cual denominan promotora efectiva de hinchazón por su baja viscosidad y polaridad, por lo tanto puede plantearse la hipótesis de que el efecto de la proporción del sólido, en parte se debe a la hinchazón del tejido vegetal de la alcachofa facilitando la extracción de polifenoles.

3.3.5. Análisis de compuestos polifenólicos por UPLC

Se inyectó extracto de brácteas de alcachofa del tratamiento a 60°C (Figura 43) usando el modo de adquisición MS en modo de baja energía, para encontrar los iones precursores de las moléculas, y el modo de alta energía, para realizar la confirmación de las moléculas por su patrón de fragmentación (Figura 44). Se observó en la figura 43 la detección de diversas sustancias químicas en el extracto de alcachofa con tiempos de retención de 19.49 a 22.67 minutos, posteriormente transcurridos 33.58 minutos se volvió a detectar otro paquete de sustancias hasta el minuto 44.49 y finalmente otra respuesta hasta los 56.91 minutos. Tiempos de retención muy similares para el caso de la figura 44 con el canal de adquisición BPI de alta energía.

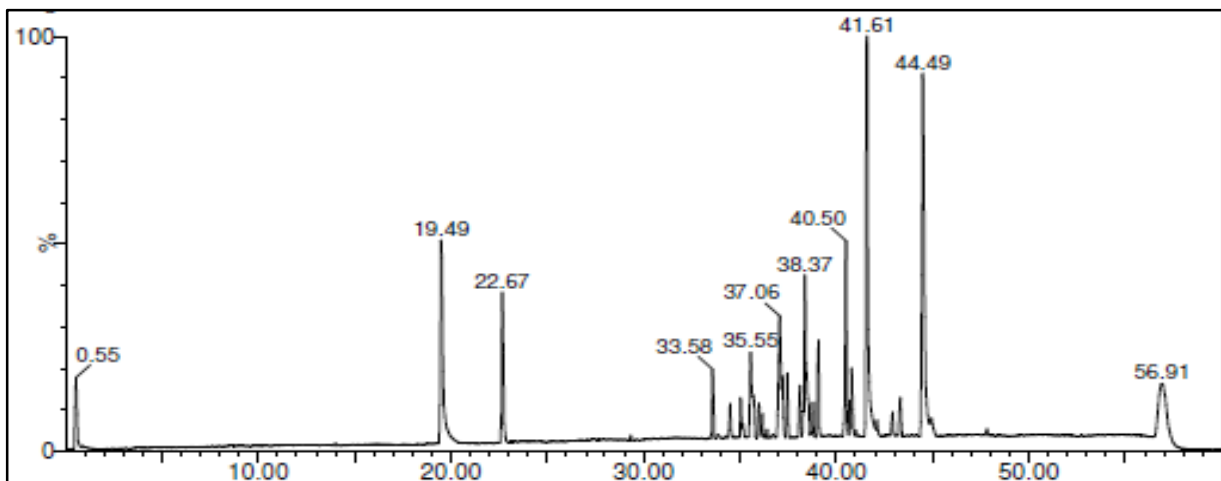


Figura 43. Cromatograma del extracto de brácteas de alcachofa usando canal de adquisición BPI de baja energía.

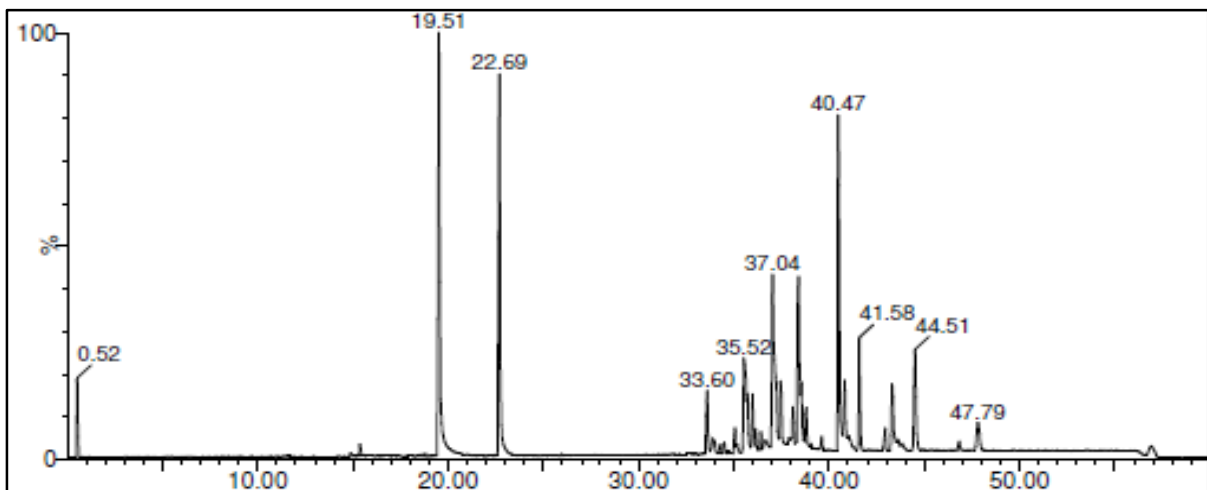


Figura 44. Cromatograma del extracto de brácteas de alcachofa usando canal de adquisición BPI de alta energía.

Se realizó la extracción del cromatograma y se detectó el tiempo de retención de sustancias en el minuto 35.65 para el peso molecular de 353.2 m/z (Figura 45). El espectro del 353.2 m/z en alta energía (Figura 46) permitió la detección de los iones moleculares presentes en el tiempo de retención de 35.65 minutos.

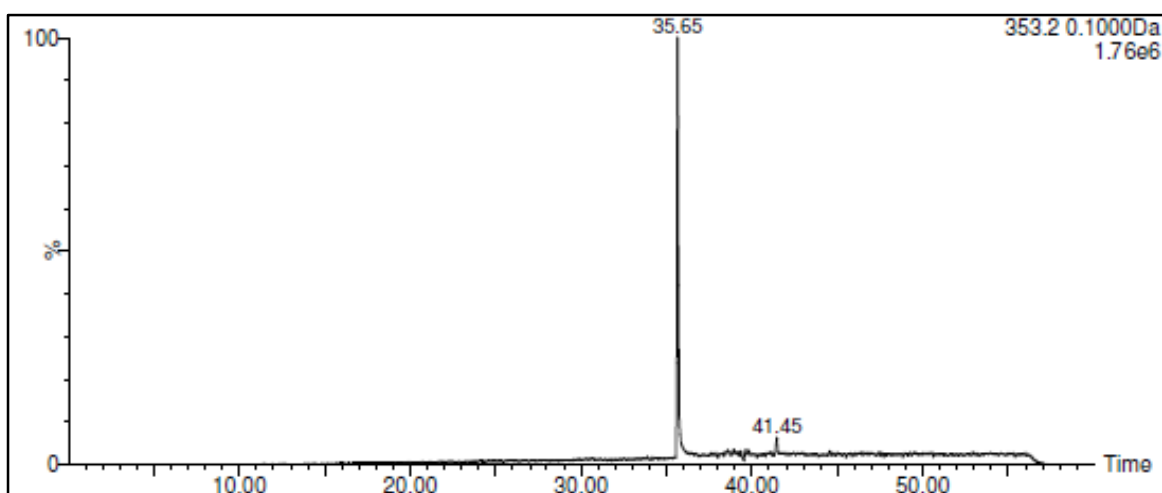


Figura 45. Cromatograma del extracto de brácteas de alcachofa usando canal de adquisición 353 m/z de baja energía.

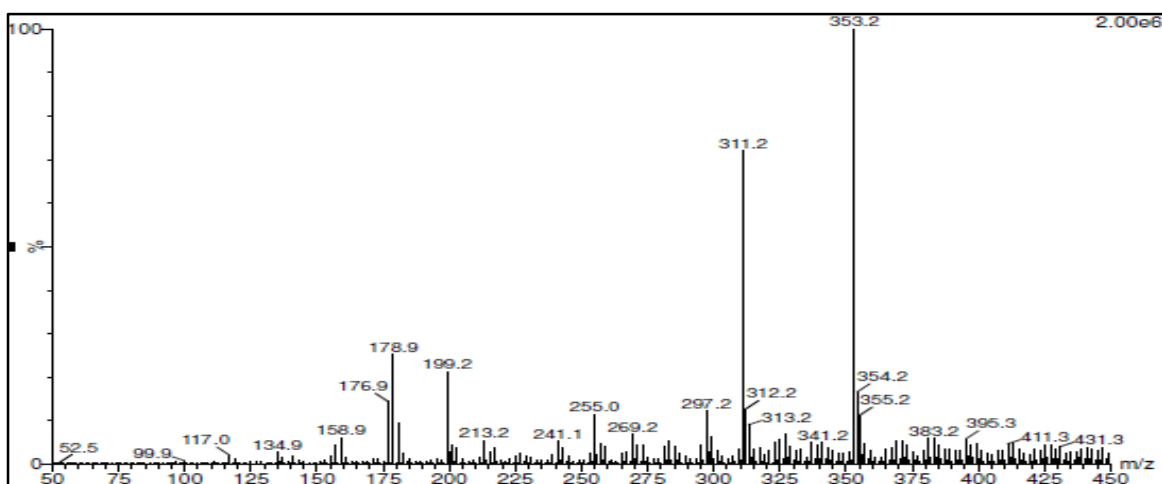


Figura 46. Espectro Ms del Ion molecular usando canal de adquisición 353.2 m/z de alta energía en el tiempo de retención de 35.65 minutos.

El grupo de sustancias con peso molecular de 353.2 m/z en el minuto 35.65, no representó una población significativa del total de las sustancias detectadas en el cromatograma de la figura 45 y 46, pero en el espectro MS 353.2 m/z tuvo mayor abundancia con respecto a otros iones cercanos de la región. El ion 353.2m/z se identificó tentativamente como un derivado de los ácidos hidroxicinámicos del tipo mono-ácido cafeoilquínico, coincidiendo con (Abu *et al.*, 2013; Pistón *et al.*, 2014; Gouveia y Castilho., 2012; Schutz *et al.*, 2004; El Senousy *et al.*, 2014). El ion 354.2 m/z se ha encontrado presuntivamente como ácido neoclorogénico también clasificado dentro de los ácidos hidroxicinámicos coincidiendo con (Fritsche *et al.*, 2002). El 311.2 m/z fue presuntivamente identificado como tebaína un alcaloide. El ion 341.3 m/z se identificó

tentativamente como apigenina-7-O-glucósida perteneciente a las flavonas, coincidiendo con (Abu *et al.*, 2013; Gouveia y Castilho., 2012; Schutz *et al.*, 2004; El Senousy *et al.*, 2014). El 341.2 m/z se identificó presuntivamente como cafeoil-hexósida también perteneciente a los hidroxicinámicos coincidiendo con (Abu *et al.*, 2013). Se demostró que existe gran variedad de sustancias en el extracto de alcachofa muchas de ellas a la fecha no identificadas, pero en mayor abundancia se presentaron los derivados de los ácidos hidroxicinámicos.

Se realizó la extracción del cromatograma (Figura 47) y espectro del 269.3 m/z en alta energía (Figura 48).

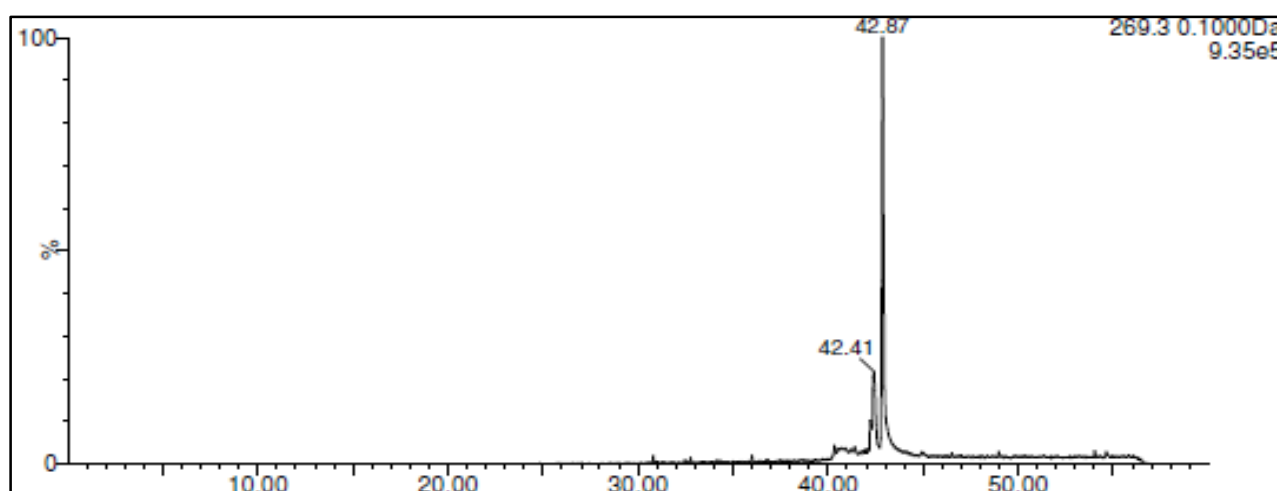


Figura 47 Cromatograma del extracto de brácteas de alcachofa usando canal de adquisición 269.3 m/z de baja energía.

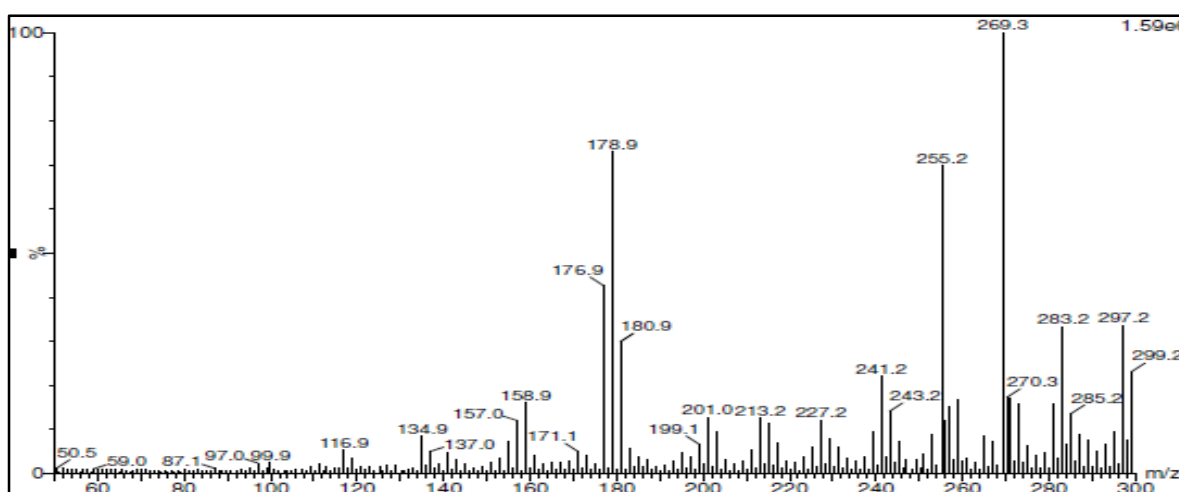


Figura 48. Espectro Ms del Ion molecular usando canal de adquisición 269.3 m/z de alta energía en el tiempo de retención de 42.87 minutos.

El ion 269.3 m/z tuvo mayor abundancia en el tiempo de retención de 42.87 minutos, lo que indicó presencia tentativa de apigenina derivada del tipo flavona. El ion 285.2 m/z se identificó

tentativamente como luteolina derivada de las flavonas y 299.2 m/z se identificó como ácido salicílico O-hexósido, coincidiendo con Abu *et al.*, (2013) y El Senousy *et al.*, (2014). Las sustancias de mayor presencia identificadas presuntivamente en el espectro fueron los derivados de los flavonoides, aunque se identificaron otras de origen agroquímico como el metolaclor en 255.2 y 283.2 m/z. Así como el ácido mefenámico en 241.2 m/z inhibidor de la síntesis de prostaglandinas y ciclooxigenasas.

Se realizó la extracción del cromatograma (Figura 49) y espectro del 285.2 m/z en alta energía (Figura 50).

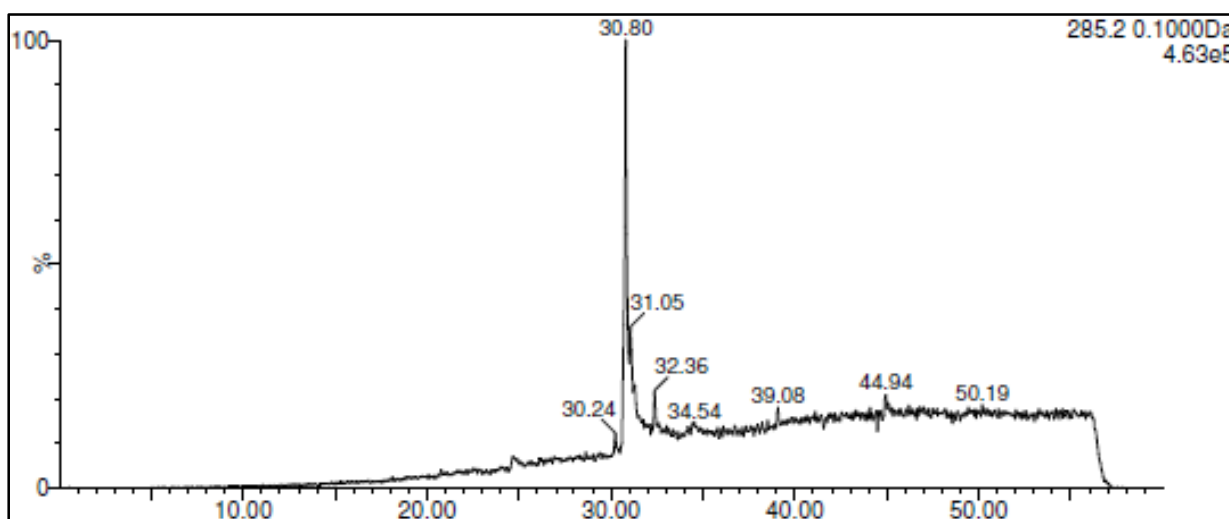


Figura 49. Cromatograma del extracto de brácteas de alcachofa usando canal de adquisición 285.2 m/z de baja energía.

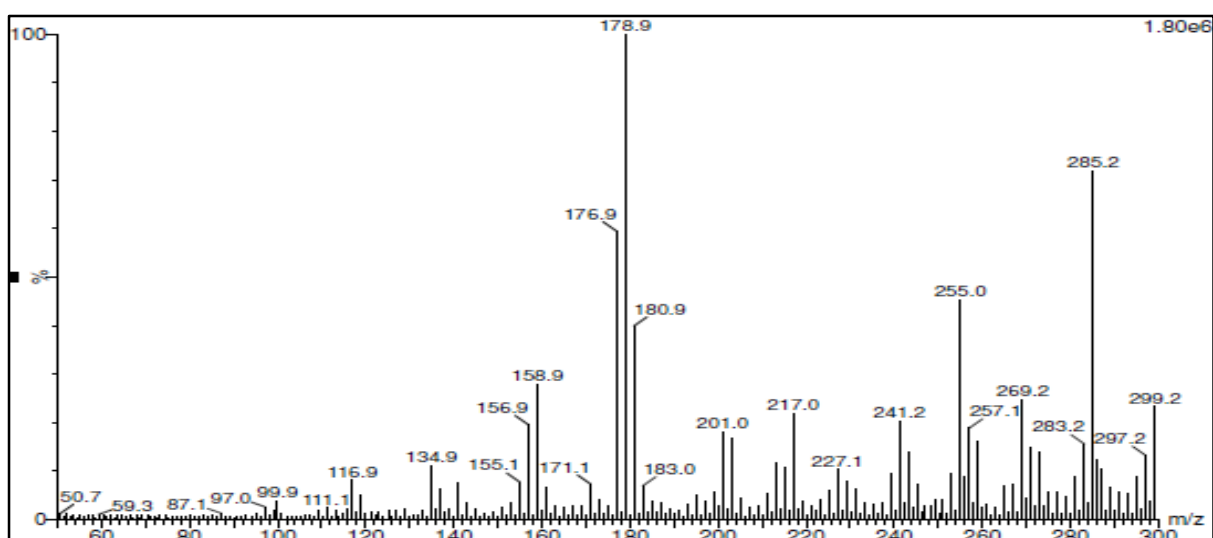


Figura 50. Espectro Ms del ion molecular usando canal de adquisición 285.2 m/z de alta energía en el tiempo de retención de 30.80 minutos.

Se observó en el cromatograma una gran cantidad de sustancias en el minuto 30.80, ahí se realizó el espectro Ms para la determinación de algunas de ellas. El ion 285.2 m/z y 269.2 m/z

se identificaron presuntivamente como luteolina y apigenina ambos derivados de los flavonoides coincidiendo con El Senousy *et al.*, (2014) y Abu *et al.*, (2013). El 176.9 m/z se identificó tentativamente como anhídrido bromomaleico y para el caso del 178.9 m/z y 180.9 m/z no fueron identificados.

3.3.6. Modelación de la extracción

Modelos exponenciales

Previamente se explicó que las cinéticas de extracción a temperaturas de 20, 40 y 60°C, mostraron diferencias, donde los rendimientos fueron mayores a 60°C. Dentro de los modelos evaluados se propusieron los modelos exponenciales (Figura 51). Estos se realizaron sobre el ensayo número 8 ya que fue el que mostró mejor comportamiento del monitoreo en línea.

Modelo 1: $y = k1 * e^{k2*t}$, coeficientes $k1$ y $k2$

Modelo 2: $y = e^{k2*t}$, coeficiente $k2$

Modelo 3: $y = k1 * e^{k2*t^n}$, coeficientes $k1$, $k2$ y n

Donde: y correspondió a la concentración, mientras que t al tiempo.

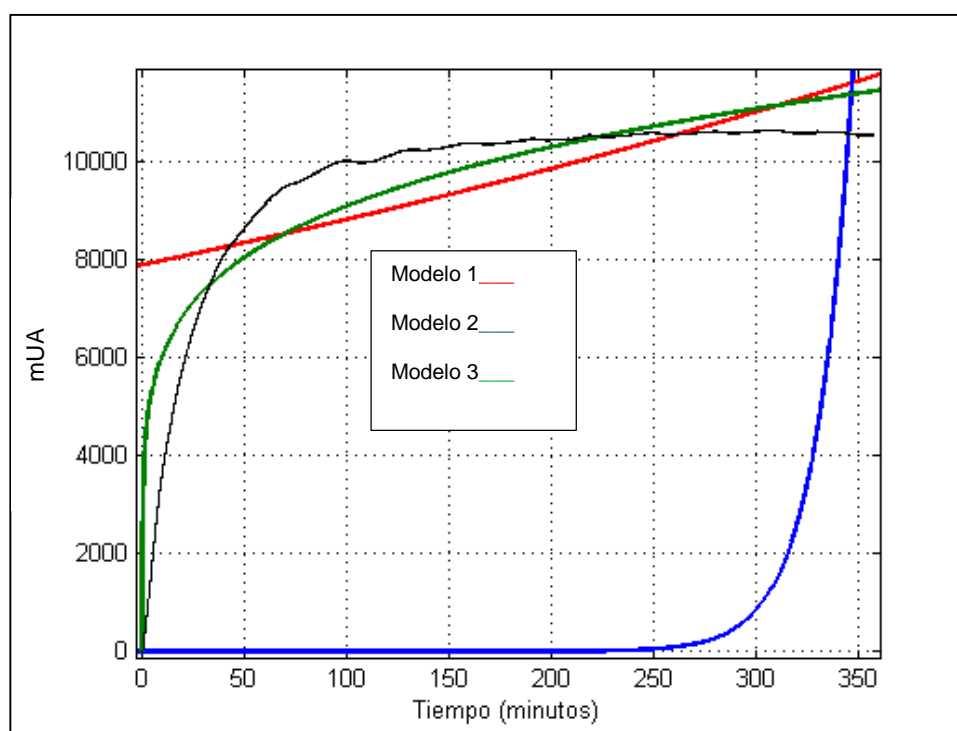


Figura 51. Correlación para el ensayo 8 modelos 1 a 3.

Los modelos 1 y 2 mostraron un comportamiento alejado de los datos experimentales, mientras que el modelo 3 fue el que presentó un comportamiento más próximo. Esto se puede comprobar en los valores de SSE y R^2 , donde el R^2 fue mayor para el modelo 3 y tuvo el valor SSE más

bajo, mostrando una mejor concordancia con los datos, aunque alejada para ser considerado un modelo que concuerde con los resultados experimentales (Cuadro 14).

Cuadro 14. Valores de correlación para modelos1 a 3

Correlación	Modelo	SSE	RMSE	R ²	k1	k2	n
Modelo 1	$y = k1 * e^{k2*t}$	3.74E+10	1381	0.412237721	7894	0.00111	
Modelo 2	$y = e^{k2*t}$	1.93E+12	9925	29.33943187		5.72	
Modelo 3	$y = k1 * e^{k2*t^n}$	1.33E+10	823	0.791282186	0.02368	12.07	0.01381

Donde SSE: Suma de cuadrados del error, RMSE: Error cuadrático medio y R²: Coeficiente de correlación, K1, k2 y n constantes de los modelos.

Modelo de Peleg y Page

Dentro de los modelos empíricos comúnmente empleados en la extracción sólido-líquido, se encuentra el modelo de Peleg (4) y el modelo de Page (5). Estos fueron utilizados para la descripción del proceso de extracción. La lista de parámetros cinéticos estimados, los coeficientes de correlación y los errores cuadráticos medios para el ensayo 8 a 60°C se observan en el cuadro 15. La aplicación de estos modelos a los datos experimentales obtuvieron las correlaciones de la figura 52.

Modelo 4: $y = \frac{t}{K1+K2.t}$, coeficientes $k1$ y $k2$

Modelo 5: $C = Ce(1 - e^{-k2*t})$, coeficiente $k2$

Donde: y correspondió a la concentración, Ce a la concentración en el equilibrio y t al tiempo.

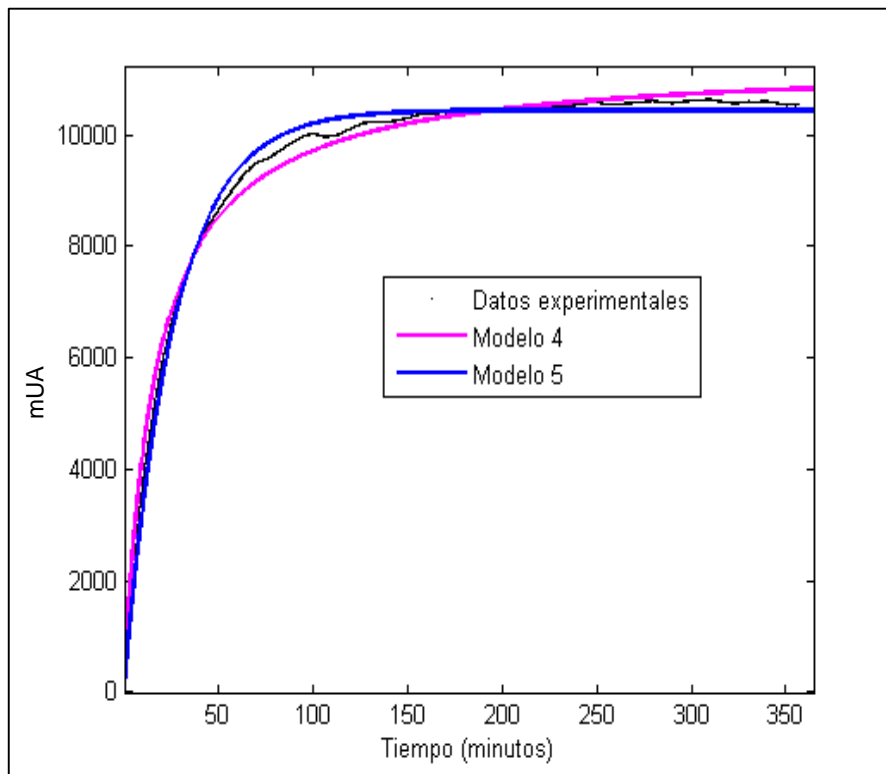


Figura 52. Correlación para el ensayo 8 modelos 4 y 5.

Los modelos 4 y 5 presentaron un comportamiento próximo a los datos experimentales, en los cuales se observaron valores de R^2 altos y con valores SSE bajos.

Cuadro 15. Valores de correlación para modelos 4 y 5.

Correlación	Modelo	SSE	RMSE	R^2
Modelo 4	$y = \frac{t}{0.001455 + 8.832e^{-5*t}}$	7.50E+08	195	0.9882
Modelo 5	$C = 1.044e4(1 - e^{-0.03779*t})$	5.93E+08	173	0.9906

Donde SSE: Suma de cuadrados del error, RMSE: Error cuadrático medio y R^2 : Coeficiente de correlación, K1 y k2 constante de los modelos.

Modelo de Sherwood y Simpson

Posterior a modelar con modelos empíricos de Page, se decidió modelar con el modelo de Simpson *et al.*, (2016) ya que ellos dieron significado a cada parámetro de la ecuación de Page, donde n es constante e independiente de la temperatura, debido a que esta relacionada con la microestructura del material del alimento y k con la geometría de la muestra. El modelo de (Sherwood., 1931), también difiere del modelo de Page.

Las correlaciones se realizaron para el ensayo 8 y fueron obtenidas por el modelo de Sherwood (6) y modelo de Simpson (7) (Figura 53).

Modelo 6: $C = Ce(1 - k_1e^{-k_2*t})$, coeficientes k_1 y k_2

Modelo 7: $C = Ce(1 - k_1e^{-k_2*t^n})$, coeficientes k_1, k_2 y n

Donde: C correspondió a la concentración, Ce a la concentración en el equilibrio y t al tiempo.

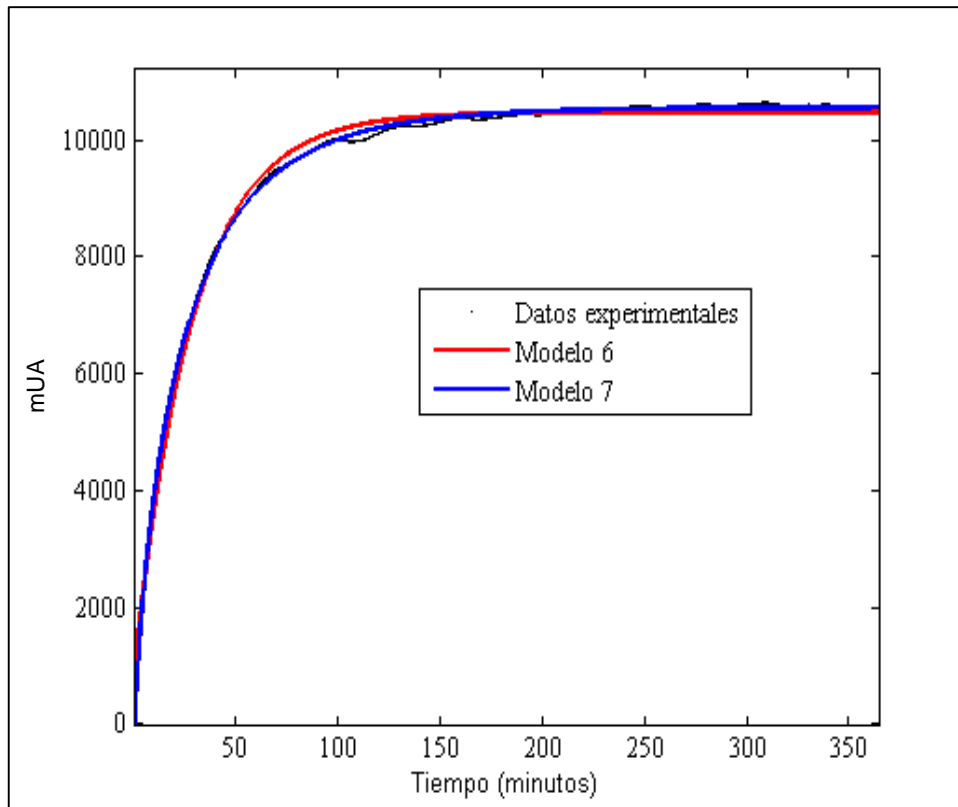


Figura 53. Correlación para el ensayo 8 modelos 6 y 7.

Los modelos 6 y 7 mostraron una correlación mejor que los modelos comúnmente empleados. Aunque ambos modelos presentaron un excelente acercamiento a los datos experimentales, el modelo 7 de Simpson, presentó una R^2 alta y con un valor de RSME muy bajo comparado con el modelo 6 (Cuadro 16). Indicando que el modelo 7 fue el mejor modelo para la descripción del proceso de extracción sólido-líquido.

Cuadro 16. Valores de correlación para modelos 6 y 7.

Correlación	Modelo	SSE	RMSE	R ²
Modelo 6	$C = 1.047e4(1 - 0.9335e^{-0.03481*t})$	4.29E+08	147	0.9932
Modelo 7	$C = 1.056e4(1 - 1.076e^{-0.09035 * t^{0.7626}})$	7.62E+07	62	0.9988

Donde SSE: Suma de cuadrados del error, RMSE: Error cuadrático medio y R²: Coeficiente de correlación, K1, k2 y n constantes de los modelos.

Los residuales del modelo de Sherwood (6) y modelo de Simpson (7) (Figura 54).

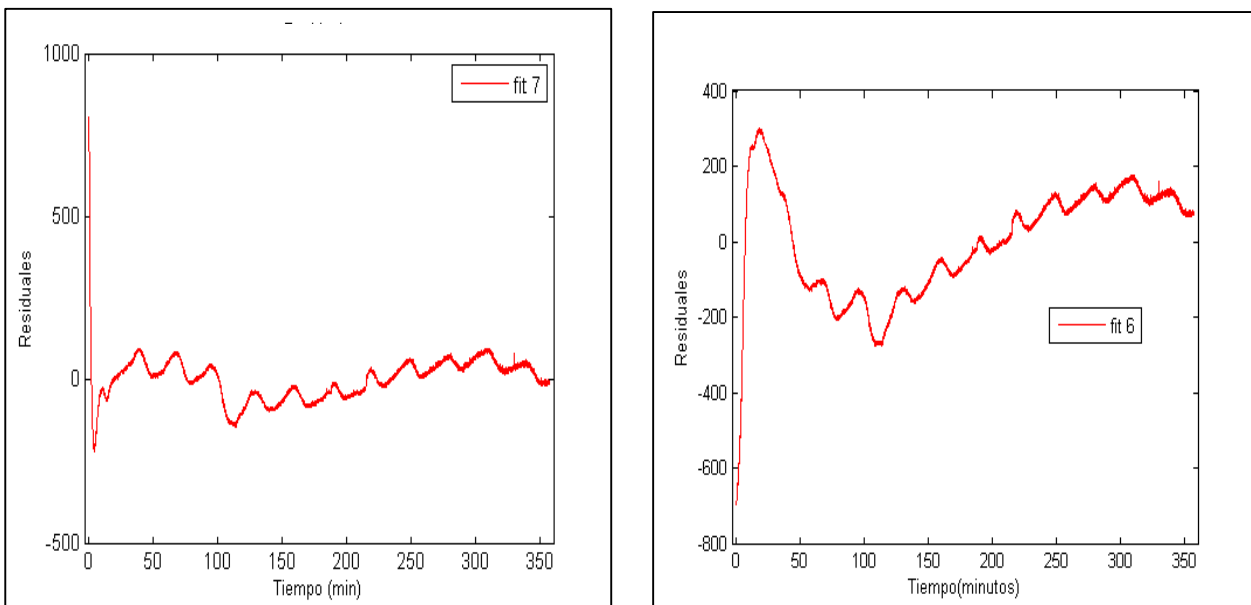


Figura 54. Residuales de los modelos 6 y 7

Se observaron residuales menores en el modelo de Simpson (7) comparado con el modelo de Sherwood (6).

Modelo de Simpson

De los siete modelos probados, el modelo de Simpson *et al.*, (2016) correlacionó exitosamente el proceso de extracción, ya que modelos empíricos como el modelo de Page (Simal *et al.*, 2005) confirmaron que es una ecuación adecuada y no un modelo verdadero, surgido de una mala interpretación de la segunda ley de Fick (Simpson *et al.*, 2016). Por lo que el modelo de Simpson resuelve la difusión anómala mediante cálculo fraccional, teniendo similitud con el modelo de Page. Se correlacionaron los ensayos 7, 8 y 9 correspondientes a 60°C (Figura 55), no fue

necesario correlacionar los ensayos a 20 y 40 °C ya que no mostraron comportamientos de equilibrio y los rendimientos fueron muy bajos.

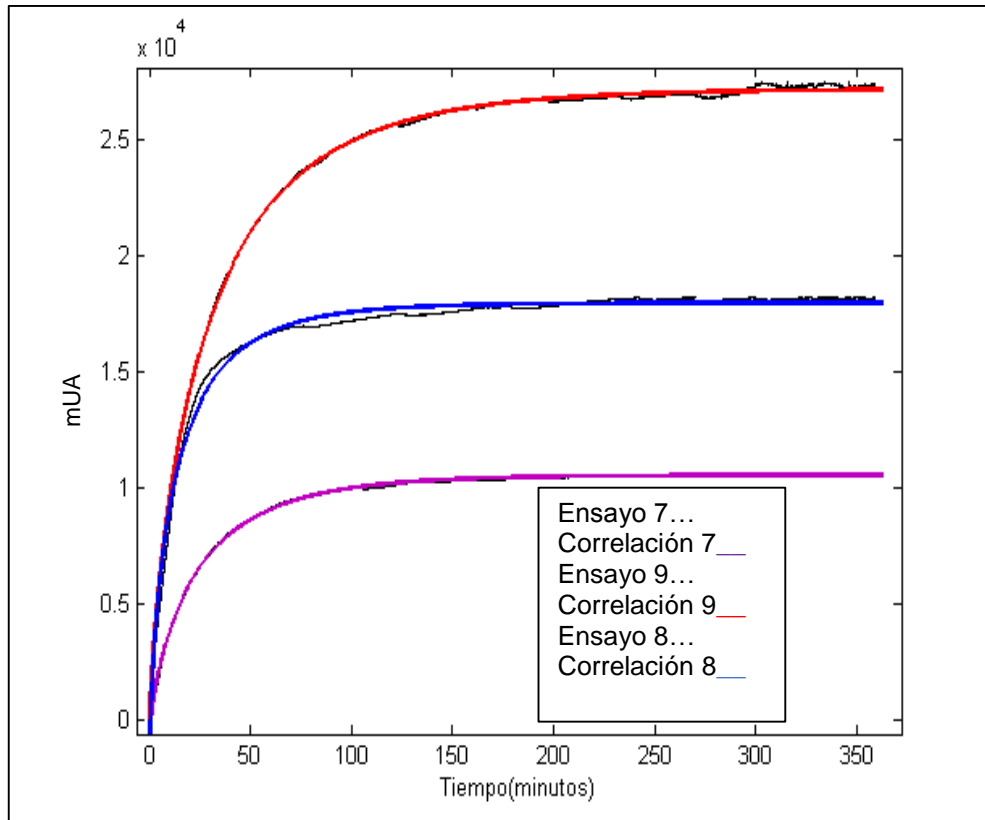


Figura 55. Correlación para ensayo 7, 8 y 9 modelo de Simpson.

El modelo de Simpson tuvo una buena correlación con los ensayos de 60 °C, al presentar una R^2 alta y un RMSE baja. Para el caso del ensayo 8 se obtuvo una excelente correlación en los datos, al presentar el más bajo RMSE (Cuadro 17). Los residuales se muestran en la figura 55.

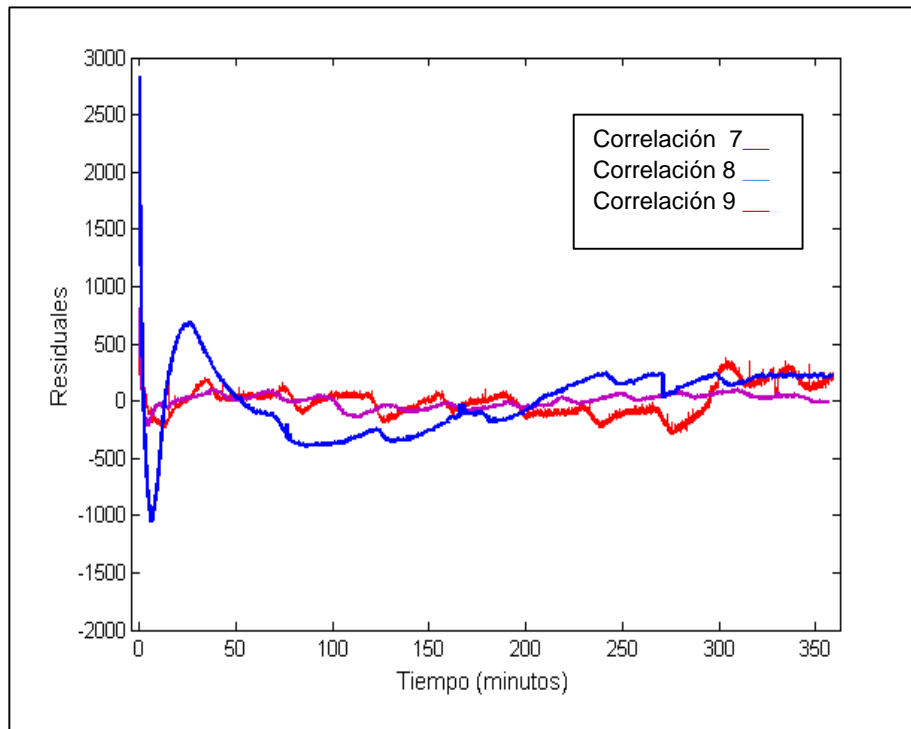


Figura 56. Residuales del ensayo 7,8 y 9 modelo de Simpson.

Los residuales mostraron que los datos fueron muy consistentes al presentar un comportamiento en línea de manera horizontal con poca variabilidad.

Cuadro 17. Valores de correlación para ensayos 7,8 y 9.

Ensayo	Modelo	SSE	RMSE	R ²
7	$C = 2.715e4(1 - 1.02e^{-0.08062 * t^{0.747}})$	3.29E+08	129	0.9992
8	$C = 1.056e4(1 - 1.076e^{-0.09035 * t^{0.7626}})$	7.62E+07	62	0.9988
9	$C = 1.795e4(1 - 1.1586e^{-0.1813 * t^{0.6705}})$	1.68E+09	291	0.9866

Donde SSE: Suma de cuadrados del error, RMSE: Error cuadrático medio y R²: Coeficiente de correlación, K1, k2 y n constantes de los modelos.

Se realizó una comparación a diferentes temperaturas para la obtención de parámetros termodinámicos.

Las correlaciones se realizaron por el modelo de Simpson, para ensayos a 50, 60 y 70°C (Figura 57) y los residuales del modelo (Figura 58).

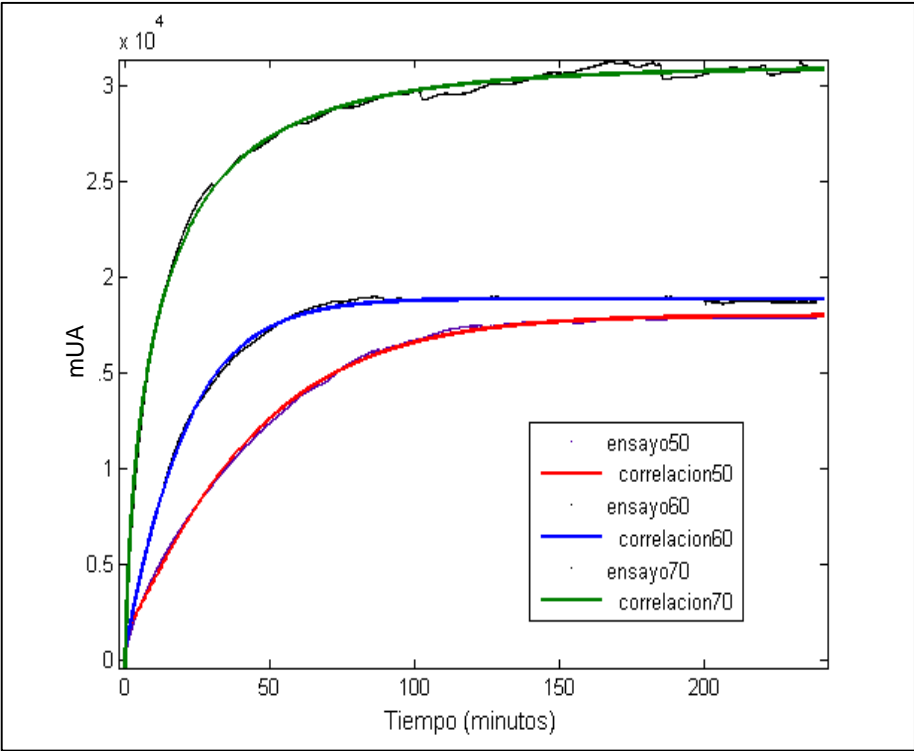


Figura 57. Correlación para los ensayos a 50, 60 y 70 °C.

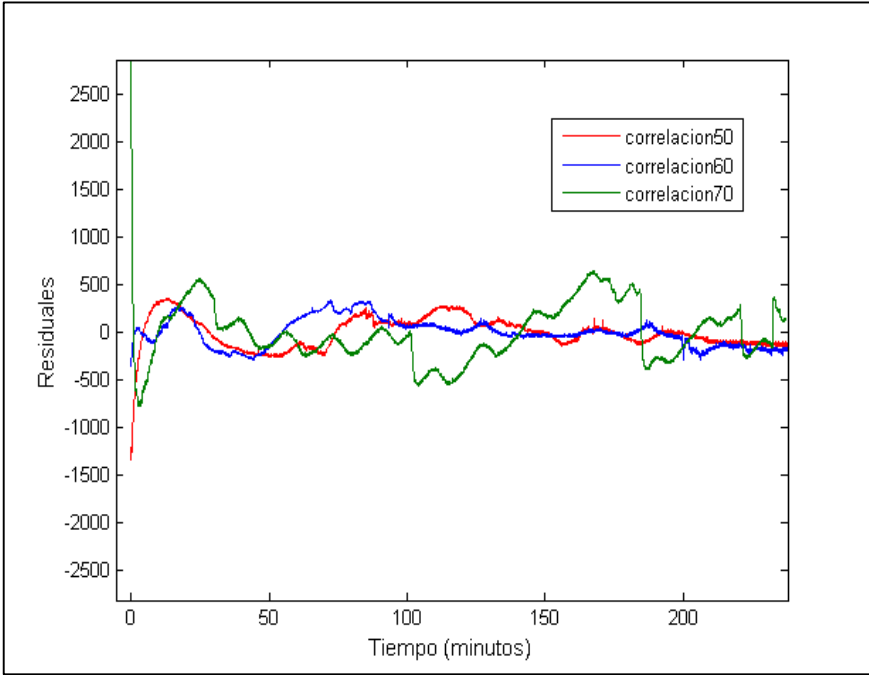


Figura 58. Residuales de los ensayos a 50, 60 y 70°C.

El modelo de Simpson mostró correlaciones por arriba de 0.99 para los tres ensayos (Cuadro 18), pero dado que el valor de (n) depende de la microestructura del material vegetal, Simpson

et al., (2017) buscó un valor único para (n) en las diferentes temperaturas, al igual que la constante K1 la cual referencia la geometría de la muestra. Tomando los tres modelos del cuadro 18 y promediando estas variables, (n) fue igual a 0.9209 mientras que K1 a 1.01608, recalculando las correlaciones se obtuvieron los siguientes modelos (Cuadro 19).

Cuadro 18. Valores de correlación por el modelo de Simpson.

Ensayo	Modelo	SSE	RMSE	R ²
50	$C = 1.799e4(1 - 0.9262e^{-0.01334 * t^{1.134}})$	3.74E+08	168	0.99843
60	$C = 1.886e4(1 - 0.9813e^{-0.03926 * t^{1.064}})$	2.80E+08	145	0.99834
70	$C = 3.099e4(1 - 1.143e^{-0.2479 * t^{0.5647}})$	1.23E+09	306	0.99575

Donde SSE: Suma de cuadrados del error, RMSE: Error cuadrático medio y R²: Coeficiente de correlación, K1, k2 y n constantes de los modelos.

Cuadro 19. Valores de correlación por el modelo de Simpson con n y K1 constantes.

Ensayo	Modelo	SSE	RMSE	R ²
50	$C = 1.829e4(1 - 1.01608e^{-0.03265 * t^{0.9209}})$	1.12E10	923	0.96153
60	$C = 1.894e4(1 - 1.01608e^{-0.06405 * t^{0.9209}})$	1.01E09	277	0.99579
70	$C = 3.01e4(1 - 1.01608e^{-0.08256 * t^{0.9209}})$	6.88E08	228	0.99593

Donde SSE: Suma de cuadrados del error, RMSE: Error cuadrático medio y R²: Coeficiente de correlación, K1, k2 y n constantes de los modelos.

3.3.7. Estudio termodinámico

La influencia de la temperatura en la velocidad de extracción inicial se evaluó usando la Ec. 17 de Arrhenius.

$$K = A. e^{-\frac{Ea}{R.T}} \quad \text{Ecuación 17}$$

Donde: K representa la velocidad de extracción, A es la constante de Arrhenius, R la constante universal de los gases, Ea la energía de activación y T la temperatura.

De la correlación gráfica entre $\ln(k_2)$ con respecto a $1/(R * T)$ se obtuvo la energía de activación (Ea) del proceso de extracción y la intersección fue la constante de Arrhenius (Figura 59). Los parámetros termodinámicos de activación se calcularon usando las Ec. 18, 19 y 20, según la teoría de transición.

$$A = \frac{R.T}{N.h} \cdot e^{\frac{\Delta S^\ddagger}{R}} \quad \text{Ecuación 18}$$

$$\Delta H^\ddagger = Ea - R.T \quad \text{Ecuación 19}$$

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T.\Delta S^\ddagger \quad \text{Ecuación 20}$$

Donde: N es el número de Avogadro, h es la constante de Planck, ΔS^\ddagger es la entropía de activación, ΔH^\ddagger es la entalpia de activación y ΔG^\ddagger es la energía libre de activación o energía libre de Gibbs.

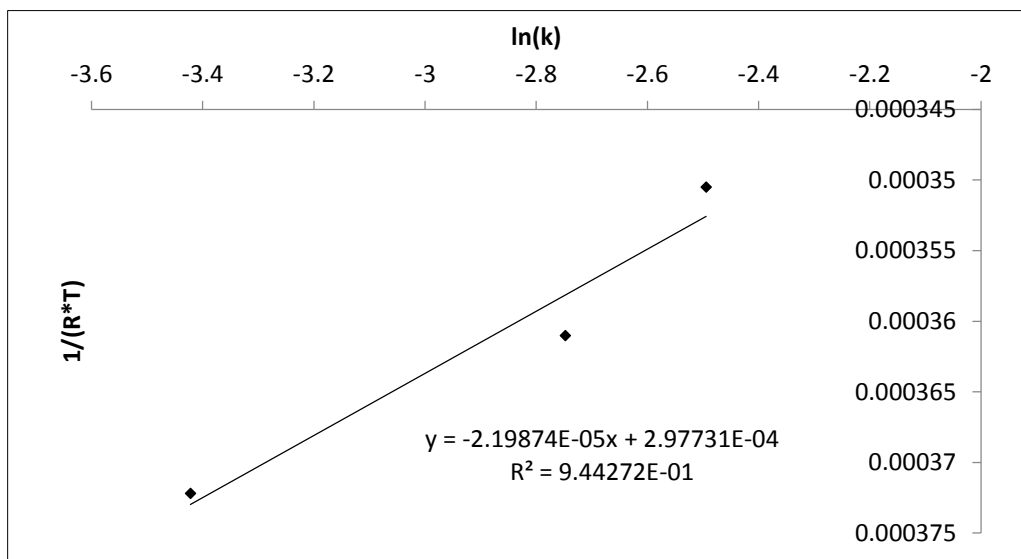


Figura 59. Ecuación linealizada de Arrhenius en un rango de 50 a 70°C.

La energía de activación calculada fue de $2.19874E-05$ kJ mol⁻¹, de acuerdo con los resultados obtenidos, los valores negativos de la entalpia de activación (ΔH) indicaron que el proceso fue exotérmico y que no requirió de una fuente externa de energía para su estado de transición. Considerando que los valores de la entropía, fueron negativos en las condiciones experimentales. Los valores negativos de la entropía de activación (ΔS) pueden surgir como resultado del mecanismo de asociación de las moléculas reaccionantes, puede ser que los

grados de libertad se perdieron o disminuyeron debido a la formación del estado activado a partir de los reactivos, lo que significa que las especies reaccionantes se unieron para formar la transición de estado durante el proceso de extracción, teniendo así un estado más ordenado en la estructura del estado fundamental (Borsato *et al.*, 2014). La energía libre de Gibbs (ΔG) se usó para determinar la espontaneidad del proceso de extracción para todas las temperaturas probadas. Los valores positivos indicaron que los procesos de extracción fueron endergónicos y no espontáneos, la energía libre de Gibbs fue mayor en los ensayos a 50 °C (323.15 °K), lo que señaló que a menor temperatura mayor requerimiento de energía para la extracción, y a mayor temperatura de extracción se requiere emplear menos energía para realizar el proceso, pero considerando que a 60 °C (333.15 °K) y 70 °C (343.15 °K) la energía libre de Gibbs empleada en el proceso de extracción resultó muy cercana, reveló que a 60 °C sería la mejor temperatura empleada para el proceso de extracción al ser la más viable en cuanto al consumo de energía (Cuadro 20).

Cuadro 20. Parámetros termodinámicos para análisis de la extracción sólido-líquido.

Extracto	E_a / kJ mol ⁻¹	T/°C	T/°K	ΔH / kJ mol ⁻¹	ΔS / Jk ⁻¹ mol ⁻¹	ΔG /kJ mol ⁻¹
Brácteas de alcachofa	2.19874E-05	50	323.15	-2686.8216	-313.0954	9.84900E+04
		60	333.15	-2769.9663	-313.3488	1.01622E+05
		70	343.15	-2853.1110	-313.5947	1.04757E+05

3.4. CONCLUSIONES

- Los mejores rendimientos y tiempos de extracción de acuerdo con la máxima intensidad de detección de sustancias bioactivas por el monitoreo en línea, fue para los ensayos a 60°C.
- Los extractos de brácteas de alcachofa tuvieron mayor actividad antioxidante y mayores rendimientos de fenoles totales en los ensayos a 60°C.
- De acuerdo con el análisis de la matriz ortogonal de Taguchi, el principal efecto en los rendimientos de extracción de fenoles totales, actividad antioxidante y tiempos de extracción fue la temperatura. Con el mismo análisis se determinaron las condiciones de operación en el proceso de extracción (60°C, 500rpm, relación sólido-líquido 1:35 y tamaño de partícula 2mm). Demostrando que un análisis de factores influyentes puede proporcionar información útil sobre los efectos de las variables del proceso en la extracción de polifenoles de brácteas de alcachofa.
- Con el análisis de masas se determinaron algunas de las sustancias presuntivas del extracto de brácteas de alcachofa de la cuales en su mayoría fueron, derivados de los ácidos hidroxicinámicos y flavonas como sustancias más abundantes y características de la alcachofa.
- Basándose en la comparación de los valores obtenidos por los coeficientes de correlación y los errores cuadráticos medios, el modelo de Simpson fue el que mejor se ajustó para la descripción de los datos experimentales del proceso de extracción.
- El estudio termodinámico indicó que los procesos de extracción fueron exotérmicos, endergónicos y no espontáneos. A mayor temperatura empleada para la extracción, menor energía requerida para llevar a cabo el proceso de extracción de brácteas de alcachofa. Considerando que altas temperaturas degradan los polifenoles del extracto de alcachofa la temperatura que más beneficia al proceso de extracción de acuerdo al estudio termodinámico es la de 60°C.

3.5. REFERENCIAS

- Abu M., Arráez D., Segura A., Fernández A. (2013) Extensive characterisation of bioactive phenolic constituents from globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) by HPLC–DAD-ESI-QTOF-MS. *Food Chemistry* 141. Pp 2269–2277.
- Alcaraz M. (2017). Propuesta de diseño mecánico para sistema de extracción de monitoreo continuo. Universidad Tecnológica de Tecámac. Pág. 56.
- Angelov G., Georgieva S., Boyadzhieva S., Boyadzhiev L. (2015). Optimizing the extraction of globe artichoke wasteS. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*. Tome 68, No 10. Pp 1234-1240.
- Benzie I. y Strain J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasm (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, Pp. 70-76.
- Borsato D., Galvan D., Pereira J., Orives J., Angilelli K., Coppo R. (2014). Kinetic and thermodynamic parameters of biodiesel oxidation with synthetic antioxidants: simplex centroid mixture design. *J. Braz. Chem. Soc.* 25 (11), 1984–1992.
- Bucić A., Planinić M., Tomas S., Bilić M., Velić D. (2007): Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering*, 81. Pp 236–242.
- Casas L., Mantell C., Rodríguez E., Martínez E., Roldán A., De Ory I., Caro I. y Blandino A. (2010). Extraction of resveratrol from the pomace of Palomino fino grapes by supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering* 96(2). Pp 304–308.
- Cavdarova M. y Makris D. (2014). Extraction kinetics of phenolics from carob (*Ceratonia siliqua* L.) kibbles using environmentally benign solvents. *Waste Biomass Valorization* 5. Pp 1–7.
- Cerón G. (2008). Implementación de un sistema monitoreado por ordenador para la extracción y purificación de antocianinas del maíz azul. Centro De Investigación En Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional. Pág. 61-68.
- Coulson J. y Richardson J. (2003) . *Chemical Engineering, Volume 1, Sixth edition. Fluid Flow, Heat Transfer and Mass Transfer.*
- Crank J. (1975). *The mathematics of diffusion.* Oxford University Press. London. Pp 1-11.
- Cruz K. (2016). Implementación de un sistema continuo de extracción y evaluación en *Cynara scolymus*. Universidad Tecnológica de Tecámac. Pág. 34.
- Doulia D., Tzia K. y Gekas V. (2000). A knowledge base for the apparent mass diffusion coefficient of foods. *International Journal of Food Properties*. 3. Pp 1-14.
- El Seoud O. (2009) *Understanding solvation, Pure Appl. Chem.*, 81, Pp. 697–707.
- El Senousy A., Farag M., Al-Mahdy D., Wessjohann L. (2014). Developmental changes in leaf phenolics composition from three artichoke cvs. (*Cynara scolymus*) as determined via UHPLC–MS and chemometrics. *Phytochemistry* (108). Pp. 67-76.
- Escribano M., Santos B. (2003) Polyphenol extraction from foods, in: C. Santos-Buelga, G. Williamson (Eds.), *Methods in Polyphenol Analysis*. Pp. 1–16.

Frank T., Downey J. y Gupta S. (1999). Quickly screen solvent for organic solids. Chemical Engineering Progress.

Fritsche J., Beindorff C., Dachtler M., Zhang H. y Lammers J. (2002). Isolation, characterization and determination of minor artichoke (*Cynara colymus L.*) leaf extract compounds. European Food Research and Technology, 212. Pp 149–157.

Gekas V. (2001). Mass transfer modeling. Journal of Food Engineering. 49:Pp 97-102.

Gertenbach D. (2001). Solid-Liquid extraction technologies for manufacturing nutraceuticals from botanicals. In J. Shi. G. Mazza, and M. Le Maguer, Eds. Functional foods: biochemical and processing aspects. Pp 331-366.

Gouveia S., Castilho P. (2012). Phenolic composition and antioxidant capacity of cultivated artichoke, Madeira cardoon and artichoke-based dietary supplements. Food Research International 48. Pp 712–724.

Horžić D., Komes D., Bel'sćak A., Kovačević G., Iveković D., Karlović D. (2009) The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. Food Chem. 115. Pp 441–448.

Ibarz A. y Barbosa G. (2005). Extracción sólido-líquido en: Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos. Mundi-Prensa. Pág. 767-805.

Jokić S., Velić D., Bilić M., Bucić A., Plan M., Srećko T. (2010).Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans. Faculty of Food Technology, University of J. J. Strossmayer in Osijek, Osijek, Croatia. Vol. 28, No. 3: Pp 206–212.

Jurinjak A., Benković M., Bel'sćak A., Valinger D., Jurina T., Gajdoš K. (2016). Kinetics and thermodynamics of the solid-liquid extraction process of total polyphenols, antioxidants and extraction yield from Asteraceae plants. Journal Industrial Crops and Products 91. Pp 205–214.

Kubola J. y Siriamornpun S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis Spreng*). Food Chemistry, 127. Pp 1138-1145.

Lapornik B., Prošek M., Golc W. (2005): Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvent and extraction time. Journal of Food Engineering, 71. Pp 214-222.

Loncin M and Merson R. (1979). Food engineering. Principles and selected applications. Academic Press Inc. New York p. 494.

Mafart P., Béliard E., Génie E.(1992) Industriel Alimentaire, Tome II: Techniques S'éparatives.

Martínez M. (20016). Residuos de alcachofa (*Cynara scolymus L.*) variedad lorca' como fuente de compuestos fenólicos y su aplicación como antioxidantes. Universidad Nacional Agraria la Molina. Pág. 46-49.

Mazza G. y Miniati E. (1993). Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains. Boca Raton. CRC Press p. 362.

Mc Cabe W.,Smith J., Harriott P. (1991). Operaciones Unitarias en Ingeniería Química. Cuarta Edición. Ed. Mc. Graw Hill. Pp 618-638.

NMX-F-527-1992. Alimentos. Determinación de sólidos totales, sólidos disueltos y sólidos en suspensión en agua. Dirección general de normas.

Paunović D., Mitić S., Kostić D., Mitić M., Stojanović T., Pavlović J. (2014). Kinetics and thermodynamics of the solid-liquid extraction process of total polyphenols from barley. Department of Chemistry, Faculty of Sciences and Mathematics, University of Nis, Nis, Serbia. Pp 58-63.

Perry R., Green D., Maloney J. (1984). Perry's Chemical Engineers' Handbook, McGraw-Hill, New York.

Peleg M. (1988). An empirical model for the description of moisture sorption curves. J. Food Sci. 53. Pp 1216-1219.

Pinelo M., Sineiro J., Nuñez M. (2006) Mass transfer during continuous solid-liquid extraction of antioxidants from grape by products, J. Food Eng. 77. Pp 57-63.

Piowowska N., González J. (2012). Extraction of antioxidants from forestry biomass: kinetics and optimization of extraction conditions. Int. J. Mol.Sci. 43. Pp 42-51.

Pistón M., Machado I., Branco C., Cesio V., Heinzen H., Ribeiro D., Fernandes E., Campos C., Freitas M. (2014) Infusion, decoction and hydroalcoholic extracts of leaves from artichoke (*Cynara cardunculus L. subsp. Cardunculus*) are effective scavengers of physiologically relevant ROS and RNS. Food Research International 64. Pp 150-156.

Prommuak C., De W., y Shotipruk A. (2008) Extraction of flavonoids and carotenoids from Thai silk waste and antioxidant activity of extracts. Separation and Purification Technology 62(2). Pp 444-448.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. y Rice C. (1999). Antioxidant Activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radicals in Biology and Medicine: 26(9/10).Pp 1231- 1237.

Segovia F., Corral J., Almajano M. (2013). Estudio cinético de la extracción sólido-líquido de los compuestos polifenólicos del residuo del aguacate. Jornades de recerca EUETIB. Pág. 131-138.

Simal S., Femenia A., Garau M. y Rosselló C. (2005). Use of exponential, Page's and diffusional models to simulate the drying kinetics of kiwi fruit. Journal of Food Engineering, Pág. 323-328.

Silva E., Rogez H., Larondelle Y. (2007) Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. Separation and Purification Technology 55(3). Pp 381-387.

Singleton V. y Rossi J. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. American Journal of Enology and Viticulture 16.Pp 144-158.

Simpson R., Ramírez C., Nuñez H., Jaques A., Almonacid S. (2016) Understanding the success of Page's 1 model and related 2 empirical equations in fitting experimental data of diffusion 3 phenomena in food matrices. Trend in Food Science and Technology.

Schwartzberg H. y Chao R. (1982). Solute diffusivities in leaching processes. Food Technology, 2. Pp 73-86.

Schutz K., Kammerer D., Carle R., Schieber A. (2004). Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus L.*) heads, juice, and

pomace by HPLC–DAD-ESI/MSn. *J. Agric. Food Chem.* 52. Pp 4090-4096.

Sherwood T. (1931) Application of the theoretical diffusion equations to the drying of solids. *Transactions AIChE* 27: Pp. 190-202.

Spigno G., Tramelli L., De D. (2007): Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81. Pp 200–208.

Treybal R. (1998). *Operaciones sólido-fluido en: Operaciones de transferencia de masa.* McGrawHill. Pp 792-822.

Wilches M., Ruiz L. y Valdivieso M. (1997). *Bioingeniería Tomo VI.* Universidad de Antioquia. Pág. 43-46.

Zuorro A., Maffei G., Lavecchia R. (2016) Reuse potential of artichoke (*Cynara scolymus* L.) waste for the recovery of phenolic compounds and bioenergy. *Journal of Cleaner Production.* Pp 1-6.

Zuorro A., Maffei G., Lavecchia R. (2014) Effect of solvent type and extraction conditions on the recovery of phenolic compounds from artichoke waste. *Chem. Eng. Trans.* 39, Pp 463-468.

<http://procesosbio.wikispaces.com/Extracción+sólido-l%C3%ADquido>. (2016)

ANEXO I

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales y equipos

Se utilizaron alcachofas de la variedad blanca de Tudela, de los sembradíos de la PyME “Siempre alcachofa” ubicados en la privada 16 de Septiembre s/n San Andrés Riva Palacio, municipio de Texcoco Estado de México, Cp. 56200. Los equipos utilizados en la experimentación se listan en el cuadro 21.

4.1.2. Almacenamiento, lavado y selección de la alcachofa

Las alcachofas se cosecharon en un área de 3 x 3 m., se transportaron a temperatura ambiente en bolsas de poli-estireno y se almacenaron forradas por individual con película termo-encogible de polietileno a - 4°C, para mantener de un 90 a 95% de su humedad, hasta su posterior uso (Norma Técnica Ecuatoriana-INEN-1977:2003).

Las alcachofas fueron sumergidas durante 15 minutos en agua purificada con peróxido de hidrógeno al 4% (Figura 60), para eliminar la contaminación biológica directamente desde el campo, posteriormente se escurrieron hasta secarse. Una vez en mesa de laboratorio, se seleccionaron de acuerdo a su peso (180 g), circunferencia (25cm), diámetro (7.95 cm) y color. Se eliminaron unidades dañadas y de calidad pobre, con base en su apariencia fresca y olor característico de acuerdo con la NOM-251-SSA1-2009.



Figura 60. Lavado y selección de la alcachofa.

Cuadro 21. Equipos utilizados para la experimentación

EQUIPO	MARCA Y MODELO
Balanza	OHAUS SCOUT PRO
Balanza analítica	OHAUS EXPLORER
Espectrofotómetro	UV PERKIN ELMER LAMBDA 35
Flujómetro	COLE-PARMER # 32908-44
Pirómetro	TIMESWITCH-SERIE 901/401
Malla # 100 equivalente a 149 μm	DAIGGER SCIENTIFIC
Membrana de microfiltración de fibra hueca de poliéster sulfona de 0.05 μm	FIBERFLO
Detector UV-Vis C-640	BÜCHI
UPLC Acquity	CLASE I XEVO QTOF G2-XS
Mezclador digital ultra compacto	COLE-PARMER
Tanque agitado (acero 304)	DISEÑO ECONÓMICO
Bomba peristáltica, modulador de velocidad y cabezal	MASTER FLEX
Lector de micro-placas de detección múltiple	SYNERGY-BIOTEK

4.1.3. Extracción convencional

Se utilizaron tres cabezas de alcachofa con diámetro de 7.95 cm y peso de 180 g., cada una de ellas fue partida en trozos no uniformes, posteriormente se tomó la cantidad de 100g y se mezcló con 2000g de agua purificada. La extracción se llevó a cabo en un recipiente de plástico sellado, con agitación a 300 rpm y temperatura a $20\pm 3^{\circ}$ C durante 8 horas en una incubadora de agitación.

4.1.4. Extracción para la evaluación del sistema de extracción

Se utilizaron las brácteas de tres cabezas de alcachofa con diámetro de 7.95 cm y peso de 180 g., las cuales fueron cortadas en trozos de 5X5 cm. Los ensayos se realizaron a diferentes velocidades de agitación (295, 395 y 465 rpm), con relaciones sólido-líquido de (1:5, 1:20 y 1:25), a temperatura de $20^{\circ}\text{C}\pm 3$ y con un tiempo de extracción de 240 minutos. El registro de las lecturas por espectrofotómetro UV-Vis en (UA) del sistema embebido, fue cada minuto de manera manual en las longitudes de onda de 200, 210, 325 y 275 nm.

4.1.5. Extracción en el sistema de embebido.

De los ensayos de extracción anteriores, se encontraron los factores y los niveles que influyeron de manera principal en la extracción (Cuadro 22). Para determinar el orden y número de experimentos se empleó el diseño L9 (3^4) de la matriz ortogonal de Taguchi (Cuadro 23). Para esto se utilizaron las brácteas de diez alcachofas con diámetro de 7.95 cm y peso de 180 g.

Cuadro 22. Factores propuestos para la experimentación

Factores	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
Temperatura ($^{\circ}$ C)	20	40	60
Agitación (rpm)	300	400	500
Tamaño de partícula (mm)	2	5	8
Relación sólido/líquido	1:20	1:35	1:50

Cuadro 23. Corridas experimentales por el arreglo L9 (3^4) de la matriz ortogonal de Taguchi

Corrida	Temperatura ($^{\circ}$ C)	Agitación (rpm)	Relación sólido/Líquido (g)	Tamaño de partícula (mm)
1	20	300	1:20	2
2	20	400	1:35	5
3	20	500	1:50	8
4	40	300	1:35	8
5	40	400	1:50	2
6	40	500	1:20	5
7	60	300	1:50	5
8	60	400	1:20	8
9	60	500	1:35	2

El muestreo de las nueve corridas experimentales, se llevó en intervalos de tiempo de (5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 300 y 360 minutos). Las variables de respuesta fueron:

- Rendimientos de sólidos disueltos totales $Y_{360\text{min}}$ en (mg extraídos/g sólidos)
- Rendimiento de fenoles totales $Y_{360\text{min}}$ en (mg GAE/g) y
- Rendimiento de capacidad antioxidante $Y_{360\text{min}}$ en ($\mu\text{mol ET/g}$) por FRAP y ABTS.

El registro de las lecturas por espectrofotómetro UV-Vis en (UA) del sistema embebido, fue cada segundo por el software a una longitud de onda de 200nm. La variable de respuesta fue rendimiento de $Y_{360\text{min}}$ (UA/sólido).

4.1.6. Perfil fitoquímico para la determinación de metabolitos secundarios

Determinación de alcaloides

Se tomó 1ml del extracto de alcachofa, posteriormente se adicionó de 5 a 10 ml de ácido clorhídrico al 10%, luego se llevó a ebullición por 5 min, se enfrió y se filtró. La preparación se hizo en 4 tubos de ensaye. Tubo 1: Reacción de Dragendorff, 1 gota del reactivo, esta se considera positiva cuando se forma un precipitado naranja. Tubo 2: Reacción de Mayer, 1 gota del reactivo, se considera positiva cuando se forma un precipitado blanco. Tubo 3: Reactivo Wagner, 1 gota del reactivo, se considera positiva cuando se forma un precipitado naranja. Tubo 4: Bco.

Determinación de fenoles

El ensayo colorimétrico se realizó por el método de cloruro férrico (FeCl_3). Se agregó por goteo la solución de cloruro férrico, a 3 ml de extracto de alcachofa. Un cambio de color a azul oscuro indica la presencia de fenoles o taninos pirogálicos (hidrosolubles); o un cambio verde oscuro indica presencia de fenoles o taninos de tipo catecol (flavonoides o taninos condensados).

Determinación de flavonoides

Se disolvió 0.5 ml del extracto de alcachofa en 2ml de etanol absoluto y se dividió en tres tubos. Tubo 1. Bco. Tubo 2. Reacción Shinoda, se adicionó 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado (color rojizo presencia de auronas o chalconas). En caso de haber cambio, se coloca un trozo de magnesio metálico, el cambio de (naranja a rojo presencia de flavonas, rojo flavonoles y si es magenta indica presencia de flavononas). Tubo 3. Reacción de hidróxido de sodio al 10%. Se adicionó 3 gotas de hidróxido de sodio, la (coloración amarilla a rojo indica presencia de xantonas y flavonas, café a naranja de flavonoides, de púrpura a rojizo de chalconas y azul de antocianinas).

Determinación de cumarinas

Cápsula de porcelana 1: reacción de Erlich, se colocó 0.5 ml de extracto de alcachofa, se concentró y se agregó 2 gotas del reactivo de Erlich y 1 gota de ácido clorhídrico (Coloración naranja indica presencia de cumarinas). Cápsula de porcelana 2: Reacción de hidróxido de amonio, se concentró el extracto y se adicionó 0.5 ml de etanol y 2 gotas de hidróxido de amonio concentrado (positiva si se tiene coloración azul-violeta).

Determinación de azúcares reductores

Se utilizó 2 ml del extracto de alcachofa, se midió su pH (en caso de ser necesario se adiciona hidróxido de sodio al 10% para ajustarlo a 11), posteriormente se agregó en 2 tubos. Tubo 1. Reacción de Fehling, se adicionó 0.5 ml de solución Fehling A y 0.5 ml de Fehling B, más 1 ml

de agua destilada (Blanco). Tubo 2. Reacción de Benedict, se adicionó 0.5 ml de reactivo Benedict y 1 ml de agua destilada (Blanco). Tubo 3. Reacción de Fehling, se adicionó 0.5 ml de solución Fehling A y 0.5 ml de Fehling B, más 1 ml de agua destilada y 1 ml del extracto. Tubo 4. Reacción de Benedict, se adicionó 0.5 ml de reactivo Benedict y 1 ml de agua destilada y un 1 ml del extracto. Posteriormente los tubos se llevaron a baño María durante 15 minutos, la prueba es positiva si presenta una coloración naranja indicando presencia de azúcares.

Determinación de taninos

A 1 ml de extracto de alcachofa se le adicionó 2 ml de agua destilada y 3 gotas de cloruro de sodio al 2%. Se llevó a ebullición por 1 minuto, se enfrió y filtró, posteriormente se dividió en 4 tubos. Tubo 1. Reacción con gelatina, se adicionó 2 gotas del reactivo gelatina (un precipitado blanco indica presencia de taninos). Tubo 2. Reacción de cloruro férrico, se adicionó 1 gota del reactivo al 1% (la coloración azul o negro indica presencia de derivados del ácido gálico y verdes derivados del catecol). Tubo 3. Se agregó 1 gota de ferrocianuro de potasio al 1% (la coloración azul indica presencia de componentes fenólicos). Tubo 4. Bco.

Determinación de glicósidos cianogénicos

En un tubo se colocó 0.5 ml del extracto de alcachofa, más 1 ml de ácido clorhídrico al 10% y 1 ml de cloroformo, se calentó a baño María y se colocó en la boca del tubo una tira de papel filtro impregnado con reactivo de Grignard durante 3 horas (la formación de una mancha rosa a roja indica prueba positiva).

Determinación de esteroides

Se evaporó 1 ml del extracto de alcachofa en cápsula de porcelana y se adicionó de 3 a 4 gotas de cloroformo y se dejó secar al ambiente, posteriormente se adicionó de 3 a 4 gotas de anhídrido acético y ácido sulfúrico concentrado a la misma proporción. Estos cambios de color indican, azul o verde (esteroides), rojo, rosado o violeta (triterpenos), amarillo pálido (esteroides o triterpenos saturados).

4.1.7. Cuantificación de fenoles totales

La técnica empleó un lector de microplacas, primero se realizó la curva de calibración (Figura 61), con la preparación de una solución stock de 1 mg/mL de ácido gálico con agua destilada (Cuadro 24). A partir de esta disolución tomar las alícuotas indicadas en el cuadro 1 y aforar a 1000 μ L con agua destilada.

Cuadro. 24 Diluciones.

Alícuotas de la disolución madre de ácido gálico (µL)	Agua destilada (µL)	Concentración final (µg mL ⁻¹)
25	975	6.25
50	950	12.5
75	925	18.7
100	9.00	25
125	8.75	31.2
150	8.50	37.5
175	8.25	43.7
200	8.00	50

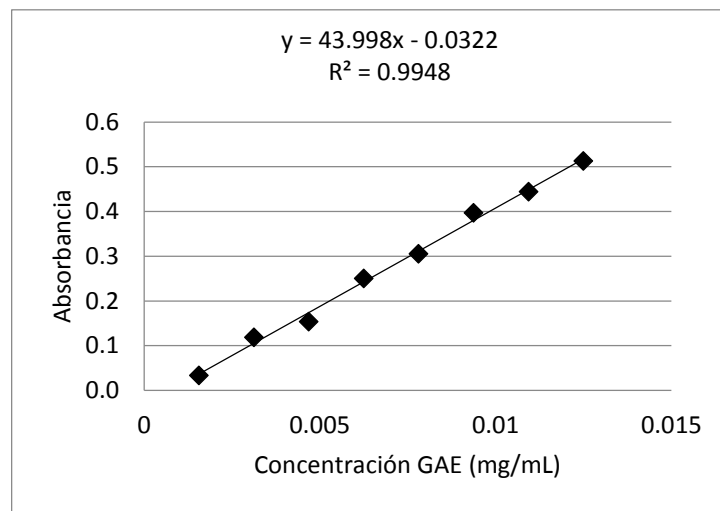


Figura 61. Curva de calibración de ácido gálico para fenoles totales.

Con 25 µL del estándar o muestra correspondiente, por triplicado, se le agregaron 125 µL de agua destilada, 20 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu, después se agregaron 30 µL de solución de carbonato de sodio al 20 %, se dejó reposar por 30 minutos en la oscuridad. Posteriormente se midió la absorbancia a 765 nm en un lector de microplacas de detección múltiple espectrofotómetro UV-Vis Biotek (Figura 62). La concentración de fenoles se calculó con base en la curva de calibración y se expresó como mg equivalentes de ácido gálico/mL.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Curva de ácido gálico	A	25	50	75	100	125	150	175	200				
	B	25	50	75	100	125	150	175	200				
	C	25	50	75	100	125	150	175	200			B	
	D	25	50	75	100	125	150	175	200			L	
	E											A	
	F											N	
	G			M	U	E	S	T	R	A	S		C
	H												O
	A												

Figura 62. Distribución en microplaca recomendada para fenoles totales

4.1.8. Cuantificación de flavonoides

Se realizó la curva de calibración con catequina (29 mg de catequina aforados a 1ml con metanol al 80%) (Figura 63), posteriormente se colocó 250 μL de la disolución stock en un matraz aforado de 25 mL y se aforó con metanol al 80%. A partir de esta disolución se tomaron las alícuotas indicadas en el cuadro 25, colocar como blanco 0.5 mL de metanol al 80%.

Cuadro 25. Diluciones.

Disolución std.	Alícuotas de la disolución stock de Trolox (μL)	mL de metanol al 80%
1	20	980
2	50	950
3	100	900
4	200	800
5	400	600
6	600	400
7	800	200
8	1000	0

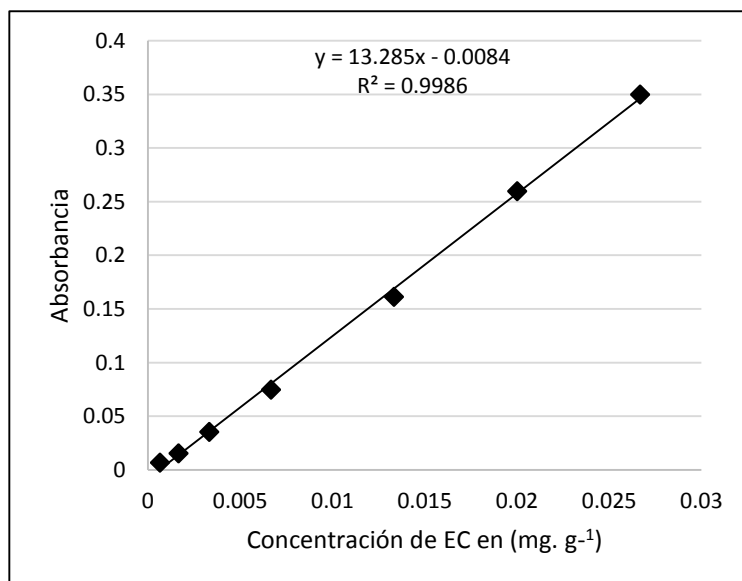


Figura 63. Curva de calibración de catequina para flavonoides totales.

Posteriormente en tubos falcon, se mezcló 0.5 mL de extracto, blanco ó 0.5 mL de las diferentes disoluciones de catequina con 2.5 mL de agua destilada y 0.15 mL de solución de NaNO_2 al 5%. Después de 6 minutos, se adiciono 300 μL de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ al 10 %. Se dejó reposar durante 5 minutos y enseguida se adicionó 1 mL de NaOH al 5%. Se agitó la mezcla en vortéx (3000 rpm, 3 min). Se transfirió 200 μL de cada disolución a los pozos de una microplaca (por cuadruplicado) y se midió la absorbancia a 510 nm. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de catequina por gramo de muestra en base seca o húmeda, según sea el caso mg EC g^{-1} .

4.1.9. Actividad antioxidante por el método 2,2-Azinobis-3-Etilbenzotiazolin-6-Ácido Sulfónico (ABTS).

Preparación de la disolución stock: Se pesó 12.5 mg de Trolox y se aforó a 50 mL (concentración inicial $0.25 \text{ mg mL}^{-1} = 250 \mu\text{g mL}^{-1}$) con metanol al 80% (Cuadro 26). A partir de esta disolución se tomaron las alícuotas indicadas en el cuadro 3 y se aforó a 1mL. Posteriormente se realizó la curva de calibración (Figura 64).

Nota: La disolución stock de Trolox se puede utilizar también para preparar la curva de calibración de los métodos DPPH y FRAP, porque la concentración es la misma.

Cuadro 26. Diluciones.

Disl. std.	Alícuotas de la disolución stock de Trolox (μL)	μL de metanol al 80%	Concentración final ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
1	50	950	12.5
2	100	900	25
3	150	850	37.5
4*	200	800	50
5*	300	700	75
6	400	600	100
7	500	500	125
8	600	400	150

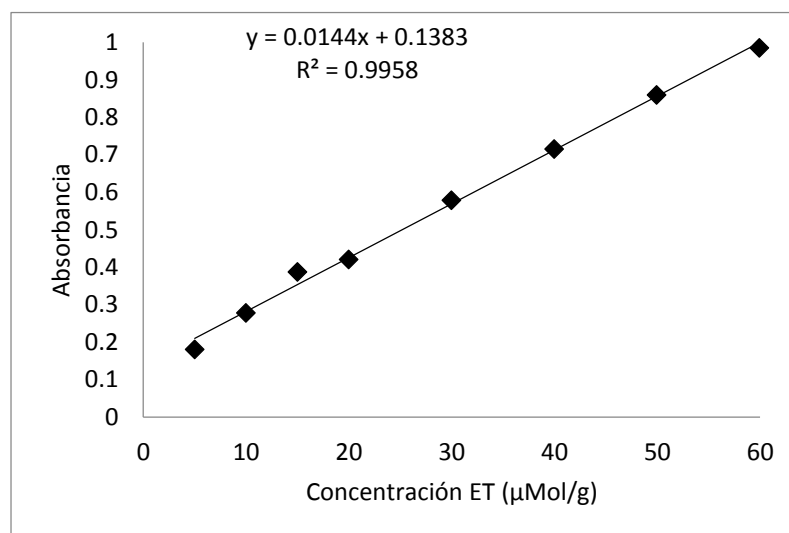


Figura 64. Curva de calibración Trolox para ABTS.

En una microplaca se colocó 20 μL de la disolución del extracto óptima o de trolox (con micropipetas) y 180 microlitros de ABTS (con el inyector 2), y como blanco se agregó 200 μL de la disolución de ABTS (Figura 65). La disminución de la absorbancia se registró a 734 nm

después de 10 minutos. Con los datos obtenidos se generó una curva de calibración de Trolox. Con base en la ecuación obtenida se determinaron los micro moles de muestra equivalentes a trolox para capturar el radical ABTS.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Curva de trolox	A	50	100	150	200	300	400	500	600			
	B	50	100	150	200	300	400	500	600			
	C	50	100	150	200	300	400	500	600			B
	D	50	100	150	200	300	400	500	600			L
	E											A
	F											N
	G			M	U	E	S	T	R	A	S	C
	H											O
	A											

Blanco 200 μ L de la disolución de ABTS

Figura 65. Distribución en microplaca recomendada para ABTS.

4.1.10. Actividad antioxidante por el método FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

Para la disolución stock de Trolox: Se pesó 12.5 mg de Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, PM 250.29) y se aforó a 50 mL con metanol al 80 %. A partir de esta disolución se tomaron las alícuotas indicadas en el cuadro 3 y se aforó a 1 mL. Posteriormente se realizó la curva de calibración (Figura 66).

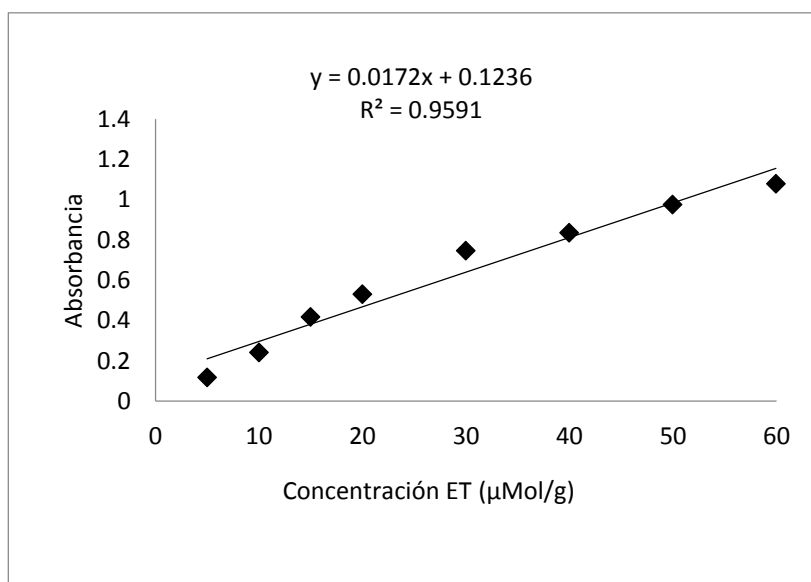


Figura 66. Curva de calibración Trolox para FRAP.

En una microplaca de 96 pozos se colocaron las disoluciones de Trolox o dilución óptima del extracto (20 μ L). Posteriormente se agregó 180 μ L de disolución de FRAP en cada uno de los pozos con el (inyector 2) y 60 μ L de agua destilada (inyector 1) para llegar a un volumen final de

260 µL. Se usó como blanco 260 µL de FRAP (Figura 67). En el protocolo de operación del equipo se programó una agitación de 30 segundos y medición a 595 nm.

Curva de Trolox

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	50	100	150	200	300	400	500	600				
B	50	100	150	200	300	400	500	600				
C	50	100	150	200	300	400	500	600				B
D	50	100	150	200	300	400	500	600				L
E												A
F												N
G			M	U	E	S	T	R	A	S		C
H												O
A												

Blanco
Colocar 260
µL de la

Figura 67. Distribución en microplaca recomendada para FRAP.

4.1.11. Actividad antioxidante por el método 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

Se realizó una curva de calibración a partir de una solución stock (Figura 68), se preparó la disolución stock de DPPH con 100 mL al 1mM DPPH en metanol al 80 % y disolución stock de trolox al 1mM con 12.5 mg de trolox aforado a 50 mL con metanol al 80%. De las disoluciones preparadas anteriormente, se tomaron las alícuotas indicadas en el cuadro 3 y se aforó a 10 mL con metanol al 80 %.

Pruebas previas con el extracto:

Se hicieron pruebas para determinar la concentración de extracto, que degradó aproximadamente un 50 % del DPPH. Se utilizó el extracto puro, esto se hizo mezclando 200 µL del extracto, con 50 µL de la disolución de DPPH. El color de la mezcla (después de 15 min) debe ser rosa pálido. Si la decoloración ocurre antes de los 15 min y presenta un color amarillo indica que se tiene una alta capacidad antioxidante, por lo tanto se deben hacer diluciones del extracto, hasta encontrar la concentración que proporcione una coloración rosa pálido. **Nota:** La concentración del extracto debe tener una lectura entre 0.25-0.30 de absorbancia.

En cada pozo de la microplaca se colocó 200 µL de las disoluciones de Trolox o del extracto de alcachofa. Se usó como blanco metanol al 80% (250 µL). En los pozos control se adicionó 200 µL de metanol al 80 %. Después se adicionó, usando los inyectores automáticos del equipo, 50 µL de la disolución de DPPH (Inyector 2). Se adicionó a todos los pozos con excepción de los que contienen al blanco (Figura 69).

Nota: Control (200 uL de MeOH al 80% con 50 uL de DPPH. Bco (250 uL MeOH al 80%).

Se calculó el porcentaje de DPPH degradado de acuerdo a la ecuación:

$$\%DPPH_{Degradado} = \left[1 - \frac{Am - Ab}{Ac - Ab} \right] \times 100$$

Donde:

Am, Ab y Ac Representan las absorbancias de las diferentes concentraciones de la muestra, blanco y control, leídas a 515 nm después de 30 minutos de reacción con el DPPH.

El valor de CI_{50} se calculó a partir de la gráfica de DPPH degradado vs concentración de la muestra.

La capacidad antioxidante se expresa como micro moles equivalente de Trolox sobre gramo de muestra seca o húmeda, según sea el caso.

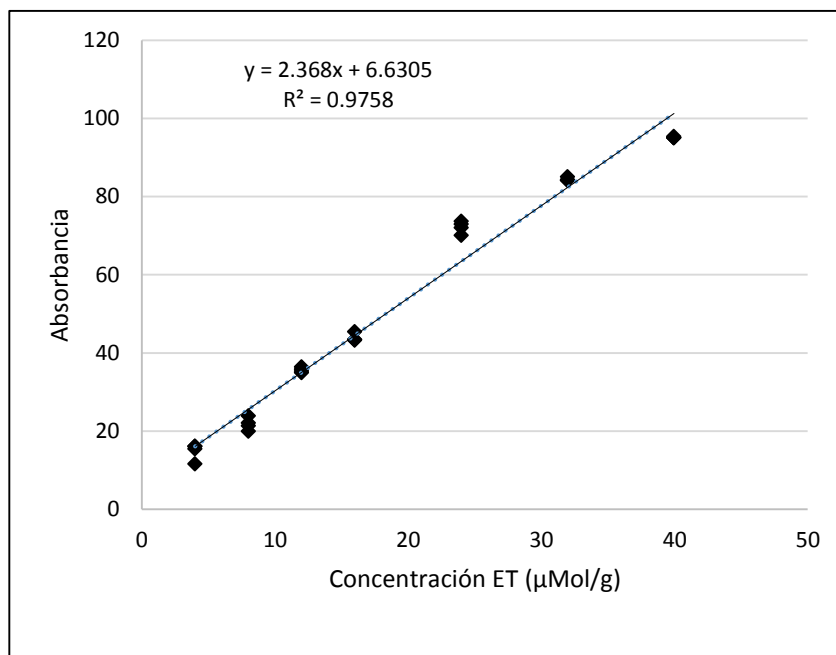


Figura 68. Curva de calibración Trolox para DPPH.

Curva de Trolox

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	50	100	150	200	300	400	500					
B	50	100	150	200	300	400	500				C	
C	50	100	150	200	300	400	500				O	B
D	50	100	150	200	300	400	500				N	L
E											T	A
F											R	N
G			M	U	E	S	T	R	A	S	O	C
H											L	O
A												

Control 200 µL de MeOH al 80% con 50 µL de DPPH.

Blanco 250 µL de MeOH al 80%.

Figura 69. Distribución en microplaca recomendada para DPPH.

4.1.12. Sólidos disueltos totales (SDT)

Sólidos disueltos totales por la técnica de peso seco, se colocaron cápsulas de porcelana a peso constante durante 24 horas a 100° C, posteriormente se tomaron 10g de extracto con pipeta volumétrica y fueron depositados en las cápsulas de porcelana a peso constante, estas se llevaron a secar en un horno a 100°C y finalmente se pesaron las cápsulas con la muestra seca.

4.1.13. Análisis mediante espectrofotometría infrarrojo FT-IR

Se hizo un análisis del extracto de brácteas de alcachofa, en un FT-IR con el accesorio ATR universal (Reflectancia Total Atenuada), realizando un barrido de 4000 a 500 cm^{-1} (Espectro medio). Los extractos tuvieron tratamiento de microfiltración y liofilización previo al análisis.

4.1.14. Análisis mediante espectrofotometría UV-Vis

Se hizo un análisis por UV-Vis del extracto de brácteas de alcachofa, en un espectrofotómetro UV-Vis, se realizó un barrido de 200 a 800 nm utilizando agua como blanco de referencia. Fue necesario realizar diluciones del extracto (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) para obtener absorbancias por debajo de 1.

4.1.15. Análisis mediante espectrometría de masas UPLC

Se realizó un análisis del extracto de brácteas de alcachofa por un UPLC con las siguientes condiciones. El instrumento fue equipado con una columna Acquity HSS C18, 2.1x 100 mm, 1.8 μm , a temperatura en columna de 40°C, un flujo de 0.4 mL/min. Utilizando una fase móvil A (10mM Acetato de Amonio en agua) y fase móvil B (Metanol). El gradiente se programó 0 min, 10% B y 90% A; 40 min, 90% de B y 10% de A; 55 min, 90% de B y 10% de A; 56 min, 10% de B y 90% de A; 60 min, 10% de B y 90% de A. Con un tiempo total de la corrida de 60 min y con un volumen de Inyección de 10 μL . Los espectros de masas fueron adquiridos con un intervalo de exploración de m/z de 100 a 1000. Las condiciones del sistema MS (Xevo QToF G2-XS); Modo de fuente de ionización por electrospray (ESI Negativo); Voltaje del capilar (1.5 kV); Temperatura de desolvatación (550°C); Flujo del gas de desolvatación (1000L/h); Voltaje del cono (40V).

4.1.16. Análisis estadístico

- Se utilizó MINITAB 16 Statistical para análisis del diseño L9 (3^4) de la matriz ortogonal de Taguchi.
- Se realizó un análisis de varianza con diferencia estadística ($p < 0.05$). Se usó la prueba de Tukey y Fisher para la comparación de medias. Los datos se analizaron con MINITAB 16 Statistical.
- Para el modelamiento matemático se utilizó MATLAB 7.12.0. (R2011a).

ANEXO II

4.1.17. Implementación del sistema embebido de extracción

El sistema estuvo constituido por un tanque agitado de acero inoxidable con capacidad de 2431.2 ml, cuatro baffles, un agitador digital Cole Parmer de paleta sencilla y una chaqueta térmica acoplada a un pirómetro análogo digital. Internamente el tanque agitado llevó una malla # 100 equivalente a 149 μm , la cuál funcionó como barrera física a la retención de sólidos mayores a su tamaño. Posteriormente la alimentación del extracto fue por una bomba peristáltica (motor Cole-Palmer modelo 7553-70, cabezal Master flex easy-load 2 modelo 77200-62) y tubería plástica (master flex PharMed número 24), las cuales dirigieron el extracto, a un módulo de microfiltración (FiberFlo) de fibra hueca de 0.05 μm de material de poliestersulfona, para la retención de algunos sedimentos, células vegetales, patógenos y ciertas proteínas. El extracto del permeado y retenido regresaron nuevamente al tanque de extracción, pero antes el extracto permeado pasó por una celda del detector UV-Vis C-640 BÜCHI, donde se registró la lectura continuamente y gráfico las absorbancias en cuatro longitudes de onda con el software Sephacore Control BÜCHI. Posteriormente el extracto permeado continuó su paso por un flujómetro Cole Parmer # 32908-44, detectando temperatura en °C y flujo en ml/min. Finalmente el extracto permeado se incorporó nuevamente al tanque de extracción. Se muestra el sistema embebido utilizado (Figura 70). Las variables de diseño del sistema embebido fueron, tamaño del impulsor, sistema de muestreo, puertos y posición de la malla de filtrado. Las variables de respuesta por el monitoreo continuo del sistema embebido fueron:

- Cinéticas de extracción en (UA) Vs tiempo (min)
- Rendimientos de extracción Y_{360min}
- Tiempos de extracción al (80%, 85%, 90%, 95% y 100%) del avance del proceso.

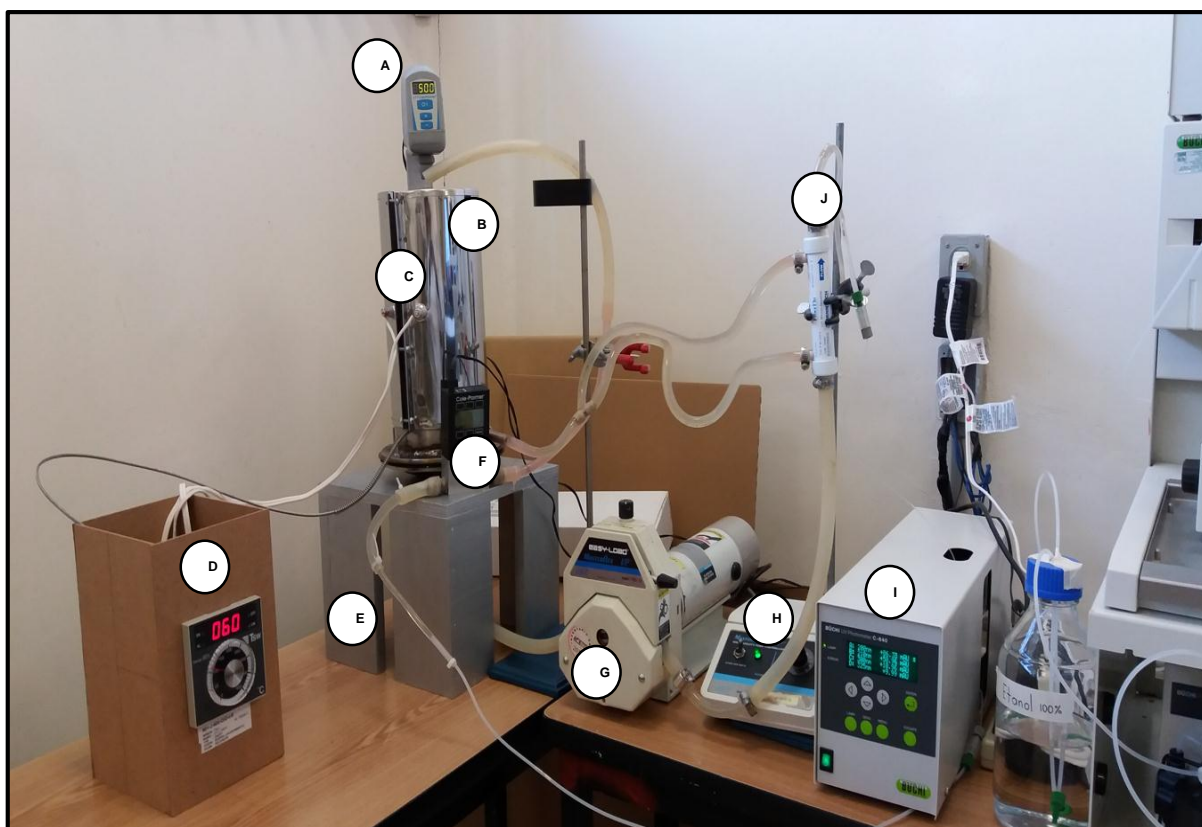


Figura 70. Sistema de extracción de monitoreo en línea.

Agitador digital Cole Parmer de paleta sencilla A), Tanque de acero inoxidable B), Resistencia cromada en forma de chaqueta C), Pirómetro análogo digital D), Base de madera para el sostén del tanque agitado E), Flujoímetro F), Bomba peristáltica, cabezal y tubería plástica G), Control de velocidad para bomba peristáltica H), Detector Uv-Vis acoplado a Software Sephacore Control BÜCHI I) y Modulo de microfiltración J).

4.1.18. Especificaciones del tanque agitado

Se utilizó un tanque de agitación de acero inoxidable grado (304) (Figura 71), con capacidad de 2431.2 ml (100%), capacidad de operación 1847.7 ml (75.9%), diámetro externo 13.68 cm, diámetro interno 13.3 cm, altura del tanque 17.5 cm y tipo de agitador de paleta plana.



Figura 71. Tanque agitado utilizado en la experimentación.

Partes que componen el tanque agitado A), Empaques, tornillos y tuercas para ajustar la malla de acero inoxidable al tanque B), Tanque visto de la parte superior C), Malla de acero inoxidable de 149 μm D) y Tanque armado E).

4.1.19. Determinación del volumen de operación del tanque agitado

Se conocía el volumen total del tanque de 2431.2ml al (100%), por lo que el volumen empleado para la extracción fue de 1847.7ml al (75.9%).

$$V_{ext} = H x \frac{\pi D^2}{4}$$

$$V_{ext} = 4.2\text{cm} x \frac{(3.1416)(13.3\text{cm})^2}{4} = 583.5\text{ml}$$

$$\text{Volumen total del tanque} = V_{ext} 583.5\text{ml} + V_{ope} 1847.7\text{ml} = 2431.2\text{ml}$$

$$\% \text{Volumen empleado} = \frac{V_{op} 1847.7\text{ml}}{V_{total} 2431.2} X 100 = 75.9\%$$

El volumen empleado para la extracción fue de 2000 ml, de este 1847.7ml fueron para el volumen de operación del tanque; 49.3ml para tuberías y módulo de microfiltración; 43 ml para el fondo del reactor y 60ml de toma de muestras.

$$V_{ope} 1847.7\text{ml} + V_{fuera} 152.3\text{ml} = 2000\text{ml} \text{ Volumen empleado en la extracción}$$

Donde: V_{ope} : Volumen de operación, V_{fuera} : Volumen fuera del tanque, V_{ext} : Volumen extra que puede ocupar el tanque.

4.1.20. Control de la velocidad de flujo dentro del sistema de extracción

Se determinaron los flujos tanto para el permeado y el retenido de la membrana de microfiltración, caudales que dan paso al extracto de alcachofa para incorporarse nuevamente al tanque agitado. Se hizo de manera directa desviando la corriente del canal de la manguera que conecta al permeado y retenido hacia una probeta volumétrica verificando el tiempo que demora su llenado por medio de un cronómetro.

Flujo permeado + Flujo retenido = Flujo de recirculación del sistema embebido

$$32\text{ml}/\text{min} + 666\text{ml}/\text{min} = 698\text{ml}/\text{min}$$

4.1.21. Control de temperatura en el sistema de extracción

La medición de temperatura en el sistema de extracción se realizó con ayuda de un pirómetro análogo digital también conocido como termopark. Para su instalación en el tablero, se insertó en la unidad de abertura del pirómetro un cable para la corriente (color rojo) y otro para la tierra (color blanco) en los postes de fijación A). En la resistencia de chaqueta se colocó un cable para tierra y corriente el cual se acopló a la conexión del pirómetro B), a este cable se le hizo otra salida alterna el cual fue adaptado a una clavija para un voltaje de 120V (Figura 72).

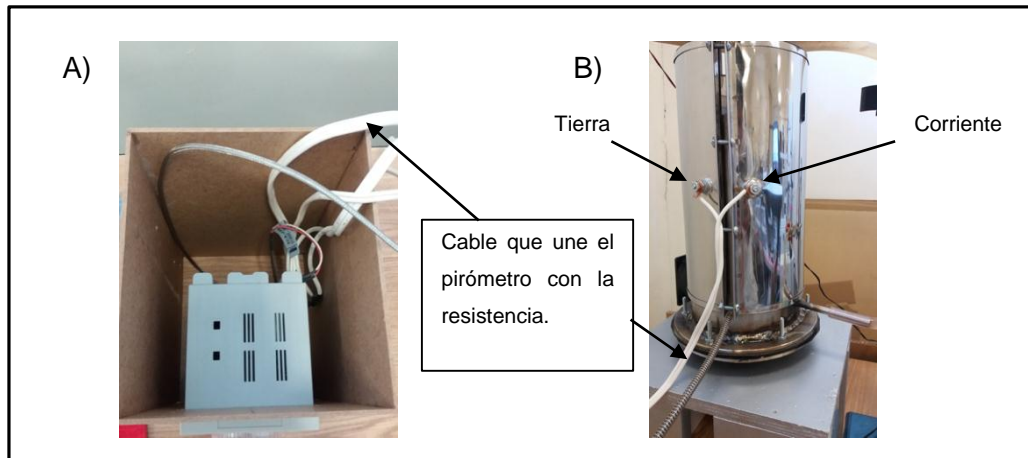


Figura 72. Acoplamiento del pirómetro análogo digital a la chaqueta del tanque.