



Universidad de San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ingeniería  
Escuela de Ingeniería Química

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LOS PIGMENTOS VEGETALES  
PRESENTES EN EL FRUTO DEL PALO DE ARRAYÁN (*Myrica cerífera* L.) PROVENIENTE  
DEL DEPARTAMENTO DE EL PROGRESO**

**Delmy Paola Estrada Marroquín**

Asesorado por el Ing. César Alfonso García Guerra

Guatemala, noviembre de 2011

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LOS PIGMENTOS VEGETALES  
PRESENTES EN EL FRUTO DEL PALO DE ARRAYÁN (*Myrica cerífera* L.) PROVENIENTE  
DEL DEPARTAMENTO DE EL PROGRESO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
POR

**DELMY PAOLA ESTRADA MARROQUÍN**

ASESORADO POR EL ING. Qco. CÉSAR ALFONSO GARCÍA GUERRA

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

**INGENIERA QUÍMICA**

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2011

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno
VOCAL II	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL III	Ing. Miguel Ángel Dávila Calderón
VOCAL IV	Br. Juan Carlos Molina Jiménez
VOCAL V	Br. Mario Maldonado Muralles
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

**TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO**

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. César Alfonso García Guerra
EXAMINADOR	Ing. Otto Raúl de León de Paz
EXAMINADOR	Ing. Jorge Godínez Lemus
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

## **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LOS PIGMENTOS VEGETALES  
PRESENTES EN EL FRUTO DEL PALO DE ARRAYÁN (*Myrica cerífera* L.) PROVENIENTE  
DEL DEPARTAMENTO DE EL PROGRESO**

Tema que me fuera asignado por la Escuela de Ingeniería Química, con fecha enero de 2010.

Delmy Paola Estrada Marroquín

Guatemala 11 de Julio del 2010

Ingeniero  
Williams Álvarez  
Director  
Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Ingeniero Álvarez:

Saludándolo cordialmente por medio de la presente, solicito que me sea asignada la fecha de presentación y defensa del informe final de mi trabajo de graduación el cual se titula **"Extracción y caracterización fitoquímica de los pigmentos vegetales presentes en el fruto del palo de Arrayán (*Myrica cerifera L.*) proveniente del departamento de El Progreso"**, cuyo asesor es el Ingeniero Qco. César Alfonso García Guerra, y co-asesor es la Inga. Qca. Adela María Marroquín Gonzáles.

Sin otro particular me suscribo de usted.

Atentamente,



Delmy Paola Estrada Marroquín  
Carné: 2005-15980



CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERIA  
FACULTAD DE INGENIERIA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



Nº 17224

Guatemala, 7 de Julio 2010

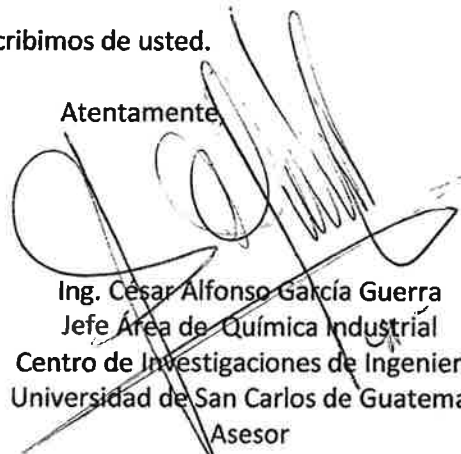
Ingeniero  
Williams Álvarez  
Director  
Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería  
Universidad de San Carlos

Ingeniero Álvarez:


Por medio de la presente HAGO CONSTAR que hemos revisado y dado nuestra aprobación al informe final del trabajo de graduación **“Extracción y caracterización fitoquímica de los pigmentos vegetales presentes en el fruto del palo de Arrayán (*Myrica cerifera L.*) proveniente del departamento de El Progreso”**, de la estudiante de Ingeniería Química Delmy Paola Estrada Marroquín quien se identifica con el carné número 2005-15980.

Sin otro particular nos suscribimos de usted.

Atentamente,



Ing. César Alfonso García Guerra  
Jefe Área de Química Industrial  
Centro de Investigaciones de Ingeniería  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Asesor



Ing. Adela María Marroquín Gonzales  
Laboratorio de Investigación  
De Extractos Vegetales-LIEXVE-  
Coasesora



**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA**

Guatemala, 21 de Septiembre de 2011  
Ref. EIQ.TG.187.2011


Ingeniero  
**Williams Guillermo Álvarez Mejía**  
DIRECTOR  
ESCUELA DE Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería  
Presente.

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el **Acta TG-09422010-B-IF** le informo que reunidos los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del informe final del trabajo de graduación, para optar al título de INGENIERA QUÍMICA a la estudiante universitaria, **Delmy Paola Estrada Marroquín**, identificada con el carné No. **2005-15980**, titulado: **"EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LOS PIGMENTOS VEGETALES PRESENTES EN EL FRUTO DEL PALO DE ARRAYÁN (*Myrica cerifera* L.) PROVENIENTE DEL DEPARTAMENTO DE EL PROGRESO"**, el cual ha sido asesorado por el Ingeniero Químico César Alfonso García Guerra.

Habiendo encontrado el referido informe final satisfactorio, se procede a recomendarle autorice a la estudiante **Estrada Paola**, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

  
Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía  
COORDINADOR  
Tribunal que revisó el informe final  
Del trabajo de graduación



C.c.: archivo



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

Ref.EIQ.TG.273.2011

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación de la estudiante, **DELMY PAOLA ESTRADA MARROQUÍN** titulado: **"EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LOS PIGMENTOS VEGETALES PRESENTES EN EL FRUTO DEL PALO DE ARRAYÁN (*Myrica cerifera L.*) PROVENIENTE DEL DEPARTAMENTO DE EL PROGRESO"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

  
Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía; C.Dr.

DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, noviembre de 2011

Cc: Archivo  
WGAM/ale





Facultad de Ingeniería  
Decanato

Ref. DTG.500.2011

El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LOS PIGMENTOS VEGETALES PRESENTES EN EL FRUTO DEL PALO DE ARRAYÁN (Myrica cerífera L.) PROVENIENTE DEL DEPARTAMENTO DE EL PROGRESO**, presentado por la estudiante universitaria **Delmy Paola Estrada Marroquín**, procede a la autorización para la impresión del mismo.

IMPRÍMASE.

  
Ing. Murphy Olimpo Paiz Recinos  
DECANO



Guatemala, noviembre de 2011

/cc

## **ACTO QUE DEDICO A:**

### **Dios**

Por ser la fuente de mi fortaleza, bendición y felicidad verdadera, gracias a él nunca se apagaron mis ganas de salir adelante y sé que siempre me ha acompañado en los momentos de tristeza, decepción, debilidad y alegría.

### **Mis padres**

Por amarme tanto, por apoyarme incondicionalmente siempre, por ser el mejor ejemplo de la perseveración y de amor por la familia. Por darme los valores que necesitaba para ser la persona que soy. Los amo.

### **Mis hermanos**

Por todo su amor, apoyo, comprensión y todas esas alegrías y tristezas que hemos compartido que realmente me han hecho feliz y son inolvidables, mil gracias. Los amo

### **Mi familia y amigos**

Por todos esos momentos lindos compartidos, por su apoyo y amor.

## **AGRADECIMIENTOS A:**

**Ing. César Alfonso García**

Por todo su tiempo invertido en explicarme, por su paciencia, apoyo y conocimientos que me brindo todo el tiempo y por ser un gran catedrático y verdadero profesional.

**Inga. Adela Marroquín**

Por todo el tiempo, apoyo y conocimientos transmitidos, por la orientación que me brindó durante todo el desarrollo de mi trabajo de graduación.

**Facultad de Ingeniería**

Por darme la oportunidad de desarrollarme y crecer como profesional, brindándome todas las herramientas para poder superarme y darme motivos para siempre buscar más allá y no conformarme.

**Universidad de San Carlos**

Por permitirme alcanzar el sueño de realizarme como ingeniera y por brindarme la oportunidad de ser parte de tan apreciada y respetable institución.

**Allan Raxón**

Por tu incondicional apoyo y amor, gracias por todo ese tiempo que compartimos y porque siempre velaste para que no me faltara nada y así cumplir mis metas, me ayudaste a ser mejor persona y me recordaste que para ser completamente feliz lo que es más importante es Dios en mi vida.

**Joan López, Mariajose Ortiz,  
Claudia Rosales y Julio Jiménez**

Gracias mis queridos y grandes amigos por todos los momentos en los cuales pudimos compartir todas esas alegrías y tristezas, pero siempre apoyándonos y animándonos a salir adelante para no desistir, y así cumplir nuestro sueño.

# ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	I
LISTA DE SÍMBOLOS.....	V
GLOSARIO.....	VII
RESUMEN.....	XI
OBJETIVOS.....	XIII
HIPÓTESIS.....	XIV
INTRODUCCIÓN.....	XV
1. ANTECEDENTES .....	1
2. MARCOTEÓRICO.....	5
2.1. Las Plantas.....	5
2.1.1. Familia del <i>Bayberry</i> .....	6
2.2. Solventes.....	8
2.2.1. Clasificación de solventes.....	9
2.2.2. Propiedades de los solventes .....	10
2.2.2.1. Volatilidad.....	10
2.2.2.2. El grado de inflamabilidad .....	11
2.2.2.3. Riesgo de intoxicación en alimentos .....	11
2.2.2.4. El peso molecular.....	11
2.2.2.5. Olor .....	11
2.2.3. La función del solvente .....	11
2.2.4. Efectos y características generales de los solventes industriales.....	13
2.2.4.1. Alcoholes.....	13

2.2.4.2.	El agua.....	14
2.2.5.	Constante dieléctrica de los solventes.....	16
2.3.	Extracción de sólidos con líquidos (lixiviación).....	18
2.3.1.	Variables de la extracción sólido-líquido.....	19
2.3.2.	Flujo a través de sólidos: capas límite .....	20
2.4.	Proceso de extracción .....	23
2.4.1.	Variables de la extracción sólido-líquido.....	24
2.4.1.1.	Extracción mediante maceración dinámica con reflujo a temperatura constante (60°C) .....	28
2.5.	Clasificación de taninos.....	29
2.5.1.	Taninos hidrolizables .....	30
2.5.2.	Taninos condensables o proantocianidinas .....	31
2.5.3.	Otros tipos de taninos .....	31
2.6.	Propiedades de los taninos .....	32
2.6.1.	Uso industrial de los taninos .....	33
2.6.1.1.	Industria del curtido de pieles .....	33
2.6.1.2.	Industria textil.....	33
2.6.1.3.	Industria de alimentos .....	34
2.6.1.4.	Industria farmacéutica.....	34
2.7.	Toxicidad de los taninos .....	34
2.8.	Compuestos fenólicos .....	35
2.8.1.	Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos fenil acéticos.....	36
2.8.2.	Ácidos cíamicos, crumarinas, isocumarinas y cromonoles .....	37
2.8.3.	Lignanós y neolignanós .....	37
2.8.4.	Flavonoides .....	37

3.	DISEÑO METODOLÓGICO .....	39
3.1.	Variables .....	39
3.1.1.	Variables en la determinación de propiedades Fisicoquímicas de los pigmentos vegetales presentes en el <i>berry</i> del palo de Arrayán ( <i>Myrica cerífera L.</i> ).....	39
3.2.	Delimitación de campo de estudio .....	41
3.3.	Recursos humanos disponibles .....	42
3.4.	Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos) .....	43
3.4.1.	Materia prima y reactivos .....	43
3.4.2.	Cristalería y equipo .....	43
3.4.2.1.	Equipo .....	43
3.4.2.2.	Cristalería.....	44
3.5.	Técnica cualitativa o cuantitativa .....	45
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información .....	46
3.6.1.	Tratamientos .....	46
3.6.2.	Diseño del experimento .....	46
3.6.3.	Unidad experimental .....	47
3.6.4.	Variable respuesta .....	47
3.6.5.	Manejo del experimento .....	48
3.6.5.1.	Recolección.....	48
3.6.5.2.	Preparación del material .....	48
3.6.5.3.	Extracción de colorante.....	51
3.6.5.4.	Toma de datos .....	51
3.6.5.5.	Métodos analíticos para la extracción por maceración dinámica y posterior determinación de metabolitos secundarios en extractos de ( <i>Myrica cerífera L.</i> ) .....	51

3.6.5.5.1.	Preparación extractos vegetales de ( <i>Myrica cerífera</i> L.) .....	52
3.6.5.5.2.	Determinación de condiciones de extracción .....	52
3.6.5.5.3.	Toma de datos.....	55
3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información.....	56
3.8.	Análisis estadístico .....	58
3.8.1.	Métodos y modelos de los datos según tipo de variables.....	58
3.8.1.1.	Análisis de varianza .....	58
3.8.1.2.	Cuadro de andeva .....	59
3.8.1.3.	Criterio de Tukey.....	61
4.	RESULTADOS.....	63
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....	69
	CONCLUSIONES.....	73
	RECOMENDACIONES .....	75
	BIBLIOGRAFÍA .....	77
	APÉNDICES .....	81
	ANEXOS .....	109



# ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

## FIGURAS

1. Detalles morfológicos del arrayán en el que se observan hoja, tallo, arbusto total detalle de la corteza, floración y frutos.....	7
2. Detalle de la morfología de la flor del arrayán ( <i>Myrica cerífera</i> L.).....	8
3. Esquema de clasificación de solventes.....	10
4. Esquema general de un alcohol.....	13
5. Estructura electrónica del agua.....	15
6. Polarización permanente de la molécula de agua .....	18
7. Cuadro con clasificación de solventes con su respectiva constante dieléctrica.....	18
8. Esquema de una transferencia sólido-líquido.....	21
9. Equipo de extracción con maceración dinámica con reflujo.....	29
10. Principales rutas de origen de los metabolitos secundarios.....	36
11. Detalle de la morfología del fruto ó drupa del Arrayán ( <i>Myrica cerífera</i> L.).....	41
12. Arbustos de <i>Myrica cerífera</i> L.....	42
13. Bloques completos al azar con 5 repeticiones.....	46
14. Tratamientos de extracción.....	47
15. Fruto de arrayán y palillo.....	48
16. Molino con aspas sin filo.....	49
17. Bateria de tamices.....	49
18. Separación de la mezcla molida del fruto del Arrayán.....	50
19. Rango de tamaño de partícula del <i>berry</i> .....	50
20. Partículas de <i>berry</i> del Arrayán.....	54

21. Calibración de los agitadores magnéticos.....	55
22. Gráfica de la prueba estadística de F ( <i>Fisher</i> ).....	60
23. Comparación de rendimientos de extracción entre las soluciones de agua a pHo= 8,9 y 10, y el tiempo máximo de extracción en zona buffer.....	62
24. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de <i>berry</i> del fruto del arrayán a $60 \pm 1^\circ\text{C}$ por 1 hr 40 min, usando como solución analítica de extracción etanol al 95 %.....	63
25. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de <i>berry</i> del fruto del arrayán a $60 \pm 1^\circ\text{C}$ por 2 hr 40 min, usando como solución analítica de extracción agua a pHo=7 y como coadyuvante 0,6495 ml de solución sulfito de sodio Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> al 3%.....	64
26. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de <i>berry</i> del fruto del arrayán a $60^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ por 2 hr 40min, usando como solución analítica de extracción agua a pHo=8 y como coadyuvante 1,6213 ml de solución sulfito de sodio Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> al 3%.....	65
27. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de <i>berry</i> del fruto del arrayán a $60^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ por 2 hrs, usando como solución analítica de extracción agua a pHo=9 y como coadyuvante 2,2698 ml de sulfito de Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> al 3 %.....	66
28. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de <i>berry</i> del fruto del arrayán a $60^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ por 3 hrs 20 min, usando como solución analítica de extracción agua a pHo=10 y como coadyuvante 3,2426 ml de solución sulfito de sodio Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> al 3 %.....	67

## TABLAS

I. Variables en el método de extracción por maceración dinámica a reflujo.....	40
II. Tabulación de datos de los resultados obtenidos para el rendimiento de extracción según cada solvente.....	56
III. Tabulación de familias de metabolitos secundarios que presentan propiedades de pigmentación, para cada solvente y sus repeticiones, usando un tamizaje fitoquímico.....	57
IV. Prueba de F de las hipótesis en el análisis de varianza, para los rendimientos obtenidos de las extracciones de pigmentos vegetales presentes en el <i>berry</i> del fruto del palo de arrayán ( <i>Myrica cerífera</i> L.), en función de los solventes utilizados.....	59
V. Tabla de decisión para escoger el tratamiento con mayor rendimiento de extracción de pigmentos vegetales presentes en el <i>berry</i> del arrayán.....	61
VI. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de <i>berry</i> del fruto del arrayán a $60^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 1 hr 40min, usando como solución analítica de extracción etanol al 95%.....	63
VII. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de <i>berry</i> del fruto del arrayán a $60^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 2 hr 40 min, usando como solución analítica de extracción agua a pH=7 y como coadyuvante 0,6495 ml de solución de sulfito de sodio $\text{Na}_2\text{SO}_3$ al 3 %.....	64

VIII. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de <i>berry</i> del fruto del arrayán a $60^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ por 2 hr 40 min, usando como solución analítica de extracción agua a $\text{pH} = 8$ y como coadyuvante 1,6213 ml de solución de sulfito de sodio $\text{Na}_2\text{SO}_3$ al 3 %.....	65
IX. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de <i>berry</i> del fruto del arrayán a $60^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ por 2 hrs, usando como solución analítica de extracción agua a $\text{pH} = 9$ y como coadyuvante 2,2698 ml de solución de sulfito de sodio $\text{Na}_2\text{SO}_3$ al 3 %.....	66
X. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de <i>berry</i> del fruto del arrayán a $60^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ por 3 hrs 20 min, usando como solución analítica de extracción agua a $\text{pH} = 10$ y como coadyuvante 3,2426 ml de solución sulfito de sodio $\text{Na}_2\text{SO}_3$ al 3 %.....	67
XI. Tiempo máximo de extracción dado por el límite inferior dado por $\text{pK}_2 - 1 = 6,21$ de la zona buffer en las extracciones con sulfito de sodio a diferente pH inicial.....	68
XI. Detección de familias de metabolitos secundarios con propiedades pigmentables en los extractos de pigmentos vegetales presentes en el <i>berry</i> del fruto de arrayán .....	69

## LISTA DE SÍMBOLOS

<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>
<b>C<sub>p</sub></b>	Capacidad calorífica
<b>C<sub>A</sub></b>	Concentración del componente A (moles)
<b>κ</b>	Constante dieléctrica
<b>ρ</b>	Densidad
<b>D<sub>AB</sub></b>	Difusividad del componente A al solvente utilizado
<b>g<sub>c</sub></b>	Factor de corrección cuyo valor depende del sistema de medidas utilizado (sistema internacional o sistema inglés)
<b>G</b>	Flujo másico
<b>N<sub>A</sub></b>	Flujo molar
<b>F</b>	Fricción
<b>Sc</b>	Número de <i>Schmidt</i>
<b>Spr</b>	Saturación residual promedio
<b>K</b>	Permeabilidad
<b>Z</b>	Profundidad del lecho
<b>Δp</b>	Variación de presión
<b>U<sub>y</sub></b>	Velocidad en el eje y
<b>U<sub>z</sub></b>	Velocidad en el eje z
<b>μ</b>	Viscosidad



## GLOSARIO

<b>Alifático</b>	Nombre genérico de los compuestos orgánicos.
<b>Amento</b>	Espiga articulada por su base y compuesta de flores de un mismo sexo.
<b>Arrayán</b>	Fruto del arbusto que será utilizado como materia prima.
<b>Baya</b>	Fruto con el endocarpo y mesocarpo carnosos y con varias semillas menudas.
<b>Concreto</b>	Es el producto sólido o semisólido obtenido tras la extracción de los principios activos de ciertas materias primas de origen vegetal, mediante el uso de solventes volátiles.
<b>Constante dieléctrica</b>	Número adimensional que indica si una molécula es polar o no polar.

<b>Difusividad</b>	Se refiere al movimiento molecular que realiza una solución para alcanzar la uniformidad de forma espontánea, debido a un gradiente de concentración.
<b>Dipolo</b>	Separación de cargas positivas y negativas en un átomo neutro.
<b>Drupa</b>	Pericarpio carnoso que tiene un solo hueso.
<b>Extracción</b>	Operación unitaria, en donde existe una transferencia de masa líquido a líquido o de sólido a líquido.
<b>Extracto</b>	Producto obtenido de la materia prima por la extracción.
<b>Maceración</b>	Operación unitaria consistente en sumergir un sólido en un líquido o solvente para extraer las partes solubles, llamada también lixiviación.
<b>Metabolitos secundarios</b>	Son aquellas moléculas responsable del efecto terapéutico comprobado que una planta ya sea aromática ó medicinal posea.



**Morfología**

Parte de la historia natural que trata de la forma de los seres orgánicos y sus transformaciones.

**Sulfito de sodio**

$\text{Na}_2\text{SO}_3$ , es un polvo cristalino blanco, soluble en agua y en glicerina; se usa para blanquear en la fotografía y también como antiséptico.

**Taninos**

Sustancias polifenólicas amorfas de color amarillo-café que poseen la cualidad de curtir las pieles (transformarlas en cuero); es un producto natural obtenido de la corteza y los frutos de muchas plantas; su fórmula química no está completamente dilucidada, ya que los taninos se clasifican en dos grupos de constituyentes fenólicos, hidrolizables y condensados.



## RESUMEN

Se caracterizaron los pigmentos vegetales presentes en los extractos acuosos y etanólicos, obtenidos del berry del fruto del arrayán (*Myrica cerífera* L.). La materia prima en estudio provino del bosque silvestre del departamento del El Progreso, recolectada de los bosques naturales del área nor-central de Guatemala, luego de una molienda y posterior separación por tamices, se utilizó el berry retenido en el tamiz (-No.50, +No.60) que corresponde a un tamaño de partícula de 300µm.

Se llevó a cabo utilizando como método de extracción, una maceración dinámica con reflujo a temperatura constante de 60°C. Se logró determinar que los extractos que presentaron mayor rendimiento, fueron los procesos en los que se utilizó agua a pH= 8, 9 y 10. Se realizó un tamizaje fitoquímico de los extractos en el cual se logró determinar que la familia de metabolitos secundarios presentes en todos los extractos fueron los flavonoides.



## OBJETIVOS

### General

Extraer y caracterizar fitoquímicamente los pigmentos vegetales presentes en el fruto del palo de arrayán (*Myrica cerífera* L.)

### Específicos

1. Evaluar el rendimiento de metabolitos secundarios extractables en función del solvente utilizando agua en función del pH y etanol al 95%, utilizando el proceso de maceración dinámica con reflujo a 60°C, como método de extracción.
2. Identificar las familias de metabolitos secundarios presentes que posean propiedades de pigmentación, a través de un tamizaje fitoquímico.

## HIPÓTESIS

### Nula

No existe diferencia significativa en el rendimiento de extracción de pigmentos vegetales presentes en el fruto del palo de cera de arrayán proveniente de los bosques de Sierra de las Minas en el departamento de El Progreso, en función del solvente y su pH: agua  $\text{pH}_0=7$ ,  $\text{pH}_0=8$ ,  $\text{pH}_0=9$ ,  $\text{pH}_0=10$  y etanol.

$$H_0: \forall i \ i=1, 2, 3 \quad \mu_i = \mu$$

### Alternativa

Existe diferencia significativa en el rendimiento de extracción de pigmentos vegetales presentes en el fruto del palo de cera de arrayán proveniente de los bosques de Sierra de las Minas en el departamento de El Progreso, en función del solvente y su pH: agua  $\text{pH}_0=7$ ,  $\text{pH}_0=8$ ,  $\text{pH}_0=9$ ,  $\text{pH}_0=10$  y etanol.

$$H_1: \exists i \ i=1,2,3 \quad \mu_i \neq \mu$$

## INTRODUCCIÓN

El palo de cera de arrayán (*Myrica cerífera* L.) se encuentra en varias regiones de Guatemala. Su importancia se debe a que actualmente el Proyecto Ecológico Quetzal, orienta a la recolección de cera cruda de arrayán, en la población rural, de la región nor-oriental de Guatemala. Además éste posee metabolitos secundarios que bien pueden ser aprovechados al igual que su cera, por la extracción con algún solvente.

Debido a que se ha realizado la caracterización de la mayoría de los componentes del fruto del palo de arrayán y se ha determinado su composición y propiedades, el objeto de estudio para este trabajo de tesis, es un constituyente del fruto el cual está adherido a la almendra, por las ceras blancas y grises de la semilla, el cual recibe el nombre de *berry* que en español significa cereza, este agente le da la pigmentación a la cera cuando esta es extraída. Pigmentación que se puede ser de utilidad para extraer un colorante el cual se podría utilizar para coloraciones específicas. Para llevar a cabo las extracciones se emplearon dos solventes, polar y prótico, agua y alcohol etílico.

Luego se utilizó ese extracto de pigmento vegetal y se procedió a realizar un tamizaje fitoquímico, con el cual se logró determinar las familias de metabolitos secundarios presentes, las cuales presentan propiedades pigmentables en las extracciones con etanol 95% y las soluciones analíticas usando agua a  $pH_0=7$ ,  $pH_0=8$ ,  $pH_0=9$ ,  $pH_0=10$ .

La materia prima recolectada para el estudio provino de bosques silvestres del departamento de El Progreso, el cual se encuentra situado en la región III , su cabecera departamental es Guastatoya, limita al norte con el departamento de Alta Verapaz; al sur con Guatemala y Jalapa; al este con Zacapa y Jalapa; y al oeste con Baja Verapaz y Guatemala. Se ubica en la latitud 14° 51' 14" y longitud 90° 04' 07", y se encuentra a 518 metros sobre el nivel del mar.

Se manejó un diseño experimental cuya finalidad fue determinar si existen diferencias significativas entre los extractos del *berry* en el fruto del arrayán, debidas a la naturaleza de los solventes a utilizar. Se tomaron como parámetros de comparación los rendimientos obtenidos así como las propiedades fitoquímicas de los extractos obtenidos, con el fin de analizar el efecto del solvente utilizado sobre la cantidad y propiedades de los pigmentos vegetales extractables de las semillas del árbol de Arrayán (*Myrica cerífera* L.).

El proceso de la investigación se llevó a cabo en los laboratorios de la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería, Laboratorio del Área de Química Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales LIEXVE y el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT, todos estos pertenecientes a la Universidad de San Carlos de Guatemala.



## 1. ANTECEDENTES

Se han realizado ocho estudios de tesis dentro del enfoque de graduación, del fruto de arrayán (*Myrica cerífera* L.), las cuales han sido asesoradas por el Ing. César Alfonso García Guerra.

Evaluación preliminar de la cera extraída del árbol de Arrayán (*Myrica cerífera* L.). Realizado por el estudiante Héctor Estrada, en 1990. En este estudio se determinó que no hay diferencias significativas entre los parámetros evaluados (índice de saponificación, índice de yodo, punto de fusión y gravedad específica), utilizando 3 métodos de extracción soxleth usando como solventes el n-hexano y etanol. También se determinó que el contenido de material céreo del fruto del palo de arrayán es de un valor máximo promedio de 45% en peso.

Evaluación del proceso de blanqueo de la cera de arrayán (*Myrica cerífera* L.) en suspensión con hipoclorito de calcio ( $\text{Ca}(\text{OCl})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) a diferentes concentraciones y valores de pH. Realizado por el estudiante Carlos Cardona Cabrera, en 1994. En este estudio se determinó que el proceso de blanqueo de la cera de Arrayán, es función de los factores (concentración de hipoclorito de calcio y el pH inicial de la solución, y este pH cambia durante el proceso de blanqueo, debido a las reacciones redox que se llevarán a cabo durante el proceso.

Evaluación de la influencia de la temperatura y el tiempo de proceso en el blanqueo de la cera de arrayán (*Myrica cerífera* L.) a nivel de laboratorio, crudo fundido con hipoclorito de calcio di-hidratado  $\text{Ca}(\text{OCl})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Realizado por el estudiante Gerson Pérez Cardoza, en 1994. En este estudio se determinó que no existe diferencia significativa del blanqueo final de la cera en los resultados de los tratamientos, en los cuales se varió el tiempo y así también se determinó que existen diferencias significativas del blanqueo final de la cera, en los resultados de los tratamientos en los cuales se varió la cantidad de agente blanqueador.

Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los concretos y cera refinada, obtenidos del fruto de arrayán (*Myrica cerífera* L.) mediante la extracción con solventes orgánicos (etanol y hexano) y agua. (Recolectados de los bosques naturales del área nor-central de Guatemala). Realizado por el estudiante Diego Omar Hernández Aguilar en octubre de 2003. Durante el proceso se logró obtener un producto (cera blanqueada), a la cual se le evaluó el color, para determinar el grado de refinamiento obtenido.

A la cera refinada se le realizó otra serie de evaluaciones adicionales como los índices de saponificación, equivalente de saponificación, yodo, peróxido, acidez, porcentaje de ácidos libres, ésteres y densidad. Entre los resultados del perfil de ácidos, se encontraron el ácido mirístico y palmítico. Además se realizó una evaluación proximal de la almendra o endocarpo, obteniendo entre los resultados un contenido de nutrimentos bajos comparados con los granos de maíz, sin embargo es potencialmente aprovechable como complementos para la nutrición animal.

Identificación de familias de metabolitos secundarios en *Myrica cerífera*. Siendo realizado por el estudiante de farmacia Ivo Santizo Rodas en Febrero del 2004. Como resultados se observó que los métodos y técnicas utilizadas en la identificación de familias de metabolitos secundarios de la planta *Myrica cerífera* son realizables con las condiciones, materiales y equipo disponible en nuestro medio; que la técnica de lixiviación es la mejor para obtener los extractos y que realizar la extracción de los metabolitos secundarios de la *Myrica cerífera L.*

Evaluación del rendimiento de concretos obtenidos en la secuencia extractiva por lixiviación mediante técnica soxhlet con tres solventes (hexano, etanol y agua) a partir de frutos de arrayán (*Myrica cerífera L.*) recolectados de los bosques naturales del área nor-central de Guatemala. Realizado por el estudiante Gustavo Adolfo Recinos Mendoza en Mayo del 2004. Con el estudio se establece que si se presentan diferencias significativas y que es lote 1 recolectado del bosque natural ubicado entre de Sierra de las Minas y Sierra Chuacús, departamento del Progreso, el que posee mayor rendimiento de extracción de concreto.

La secuencia de extracción de concretos con los 3 solventes (hexano, etanol y agua) en forma consecutiva si depende del orden de extracción, obteniéndose rendimientos máximos en las secuencias en función del lote L1-W-Et-He 45,15% y L2 Et-He-W 37,86%.

Estudio de la saponificación de la cera del arrayán (*Myrica Cerífera L.*) evaluando el álcali alternativo ceniza de leña de encino respecto al carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ). Realizado por el estudiante Álvaro Esaú Miranda Moscoso, en 1994. En la investigación se determino si era factible la saponificación de la cera del árbol del Arrayán, así como el procedimiento

óptimo para llevar a cabo dicho experimento. La alta alcalinidad de la ceniza por su composición química, favorece la completa saponificación de la cera del arrayán (*Myrica Cerífera L.*).

Evaluación del contenido de taninos (ácido tánico) en el extracto acuoso y etanólico a nivel laboratorio, obtenido del fruto del palo de arrayán o cera San Pascual (*Myrica cerífera L.*) recolectados de los bosques del área Nor-central de Guatemala. Realizado por el estudiante Otto Javier Cerezo Quezada, en Febrero 2005.

Estudio en el cual, según el análisis estadístico de los datos obtenidos, existe diferencia significativa en el contenido total de taninos obtenido por medio del solvente polar (agua) y por medio del prótico (etanol al 70%) utilizado, debido a la capacidad de cada uno de extraer diferente tipo de taninos. Para el caso del contenido total de taninos obtenido a partir de las dos procedencias (Baja Verapaz y El Progreso) no existe diferencia significativa.

También de la línea de investigación del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACYT), se realizó el proyecto No. 50 - 2 000 denominado: caracterización de las fracciones extractables contenidas en el fruto del palo de cera, palo de arrayán o palo de cera San Pascual (*Myrica cerífera L.*). En el cual el investigador principal fue el Ing. César Alfonso García Guerra, en el 2001.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Las plantas**

La ciencia fitoterapia (cura por las plantas) también ha hecho progresos. Antiguamente se sabía que ciertas hierbas servían para curar determinadas dolencias, pero no se sabía por qué. Hoy se explican los efectos por las causas.

Las virtudes de las plantas medicinales, se deben al contenido de metabolitos secundarios que éstas poseen. Estos metabolitos contienen principios activos que son los responsables de las propiedades terapéuticas de las plantas.

La historia de la química abunda en intentos por separar sustancias puras de los vegetales. Entre ellos destacan el aislamiento de la sacarosa por Margraff en 1747 y la obtención por Scheele, entre 1769 y 1786, de los ácidos láctico, oxálico, málico, gálico y tartárico. En 1806, Serturmer señaló una etapa importante en la ciencia con la obtención del primer alcaloide: la morfina.

A partir de 1917, Robinsón empezó a estudiar la biogénesis de alcaloides, pigmentos vegetales y otros productos de las plantas, mientras que otros investigadores trataron de encontrar la relación entre las sustancias aisladas de los vegetales y su clasificación taxonómica, sus condiciones de cultivo y otros factores externos.

Se sabe que varios de los compuestos aislados, son productos de degradación o transposición que ocurren durante el aislamiento y se deben a la influencia de enzimas o agentes químicos.

### **2.1.1. Familia *Bayberry***

“Se conforman de 150 géneros, de los que 74 especies están distribuidas en regiones tropicales y templadas. Existe referencia de su primer cultivo en 1699, el palo de cera de arrayán es un arbusto aromático. Posee hojas verdes las cuales tienen una distribución alternada, dentadas, lobuladas con contenido de resina, sin estípulas. Puede crecer de siete hasta una altura de ocho metros.

Sus flores son pequeñas, monoicas y dióicas con amentos globulares u oblongos, flores solitarias en la bráctea, no posee periantes, flor estaminífera, de 4 a 8 estambres, insertados en el receptáculo, con filamentos cortos distinguibles o muy poco unidos, flor con pistilo de una sola célula ovárica subtenida por 2 a 8 brácteas, óvulo solitario, ortóptero, estilo muy corto, los dos estigmas lineales, frutos o drupas pequeños, con exocarpo ceroso, semilla simple, endocarpo duro, cotiledón plano convexo.”<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACYT). *Caracterización de las fracciones extractables contenidas en el fruto del palo de cera, palo de arrayán o palo de cera San Pascual (Myrica cerifera L.)* proyecto 50-2000. p.56.

Figura 1. **Detalles morfológicos del arrayán en el que se observan hoja, tallo, arbusto total detalle de la corteza, floración y frutos**



Fuente: FONACYT. Caracterización del fruto de arrayán. p. 3.

El género *Myrica* L., cuenta con tres especies principales las cuales son: *Myrica cerífera*, *Myrica lindeliana* y *Myrica pringlei*. Su distinción se basa fundamentalmente en las hojas. La *Myrica cerífera*, es de hojas agudas acuminado, dentadas en forma sinuosa o subenteras, con hojas obtusas o muy obtusas. La *lindeliana* presenta hojas oblongas obloceadas, de 5 a 11 centímetros de longitud, conspicuamente dentadas o aserradas en toda su longitud. La *priinglei* presenta hojas ovaladas de 2 a 4 centímetros de longitud enteras o sinuosamente dentadas.

Las regiones en donde se han localizado mayores concentraciones de esta planta, han sido los departamentos de Alta y Baja Verapaz, Izabal, Zacapa, Chiquimula, Jalapa, Escuintla, Sacatepéquez, Chimaltenango, Quetzaltenango, Quiché y Huehuetenango. Su cosecha depende la altitud de la región en donde se encuentra la planta. Para zonas altas se cosecha entre los meses de noviembre a enero, y para zonas bajas, de marzo a mayo.

Información complementaria del Palo de cera de arrayán: abreviación MYRCER, sinónimos: Gua-ut (kekchí) que significa comida de pájaros, Chac olol (Chiapas), Morella cerífera, Ceroethamnus pumilus, Ceroethamnus cerífera, Myrica carolinensis, Myrica pusilla, Myrica mexicana. Nombres comunes: Palo de Cera, Palo de Cera de San Pascual, Palo Cerero, Candleberry, Waxmyrtle, Bayberry.

Figura 2. **Detalle de la morfología de la flor del arrayán (*Myrica cerífera* L.)**



Fuente: FONACYT. Caracterización del fruto de arrayán. p. 4.

## 2.2. Solventes <sup>2</sup>

Un solvente es un líquido en cual se introduce una o más sustancias para constituir una fase homogénea: la solución. El solvente no es definido por su estructura química sino más bien por su estado físico, el estado líquido, y por su uso. Hay una infinita variedad de solventes: agua, compuestos orgánicos simples a la temperatura ambiente (alcoholes, ácidos e hidrocarburos, etc.).

---

<sup>2</sup> Fuller R. Wayne. *Solventes*. Estados Unidos de América: Federación de Sociedades para la Tecnología en pintura, 1967. p.51.



Estos últimos los más tradicionales, pero los gases condensados a bajas presiones tales como el amoníaco o el dióxido de carbono, y muchas sales (por ejemplo, criolita líquida a más de 1 000 °C) son también usados como solventes.

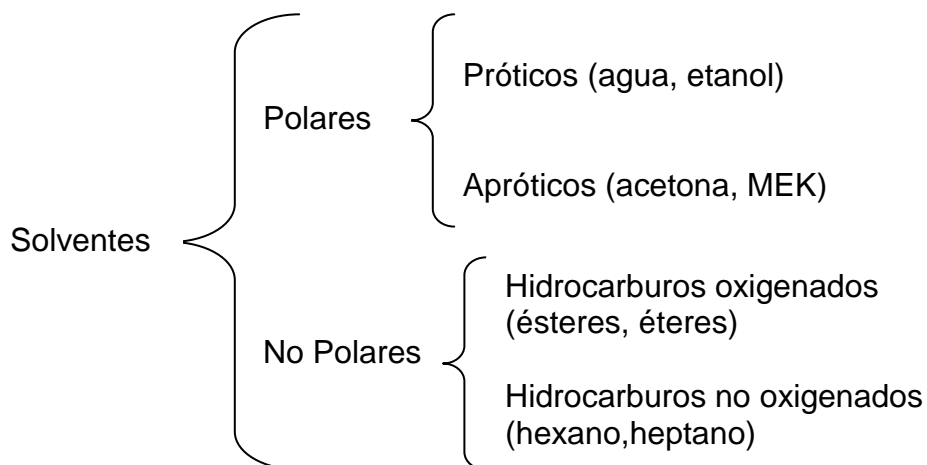
### **2.2.1. Clasificación de los solventes**

La polaridad es una de las características más importantes de los solventes, ya que establece una diferencia en la carga eléctrica sobre varias porciones de una molécula. Ésta es la diferencia fundamental entre los solventes, ya que establece un punto a partir del cual pueden clasificarse. De lo anterior, los solventes pueden catalogarse de dos maneras: polares y no polares. Además pueden subdividirse en solventes polares próticos, polares apróticos, solventes no polares no oxigenados y no polares oxigenados.

Un solvente polar prótico es aquel que puede liberar un hidrógeno por ionización o bien es aquel que dona un protón, por ejemplo el agua. Caso contrario es el del solvente aprótico pues éste no libera ningún protón, ejemplo el n-propilacetato.

Así, un solvente no polar oxigenado, es aquel que contiene oxígeno en su estructura, pero éste no ayuda a la polaridad de la molécula, Ej: éter metílico. Queda claro que un solvente no polar y que no es oxigenado son únicamente los formados por hidrocarburos. Ej: hexano, heptano.

Figura 3. **Esquema de clasificación de solventes**



Fuente: FULLER, R. Wayne. *Solventes*. p. 7.

Los solventes polares poseen una mejor capacidad de solvatación que el resto de los solventes, en la industria son empleados para formar soluciones con resinas vinílicas, acrílicas, nitrocelulósicas, epóxicas, resinas con silicón y poliuretano. Su gran versatilidad las hace muy importantes, pero su alto costo hace que en muchas ocasiones se use una mezcla y no sólo un solvente para formar las soluciones.

## **2.2.2. Propiedades de los solventes**

### **2.2.2.1. Volatilidad**

Se refiere a la cantidad de presión de vapor mensurable en una sustancia, o también a la concentración respectiva de un determinado componente en fase líquida y en fase gaseosa, la velocidad de evaporación

generalmente es evaluada al ser comparada con otros como el acetato de butilo.

#### **2.2.2.2. El grado de inflamabilidad**

Es la temperatura a la cual el solvente emite suficiente vapor para formar una mezcla que puede explotar o bien inflamarse al ser puesta en contacto con una flama, superficie caliente, etc. Y tener contacto con el aire.

#### **2.2.2.3. Riesgo de intoxicación en alimentos**

Debido a su toxicidad, ciertos solventes son prohibidos en tintas para empaques de comida. Otros en cambio son tolerados, pero en cantidades limitadas. Su medida es expresada en miligramos por kilogramo de comida.

#### **2.2.2.4. El peso molecular**

El peso molecular de los solventes les permite mejores condiciones de movilidad y por lo tanto una mayor solvatación.

#### **2.2.2.5. Olor**

El solvente nunca es evaporado en su totalidad. Con la misma concentración, diferentes solventes poseen muy diferentes residuos olfativos.

### **2.2.3. La función del solvente**

El papel del disolvente no es pequeño. Las moléculas del soluto no existen en solución como partículas desnudas; están solvatadas. Hay muchas moléculas de disolventes unidas por enlaces a cada partícula disuelta y es la

formación de dichos enlaces la que proporciona la energía necesaria para que se rompan las fuerzas de atracción que mantienen unidas las partículas del soluto. Dichas fuerzas de atracción o enlaces son las siguientes:

- Enlaces ion-ion: muestra la atracción entre las cargas opuestas de un catión y un anión.
- Enlaces dipolo-dipolo: atracción entre el extremo positivo de una molécula polar y el negativo de otra, también polar.
- Fuerzas de *Van der Waals*: es la atracción entre los extremos con cargas opuestas de dipolos momentáneos e inducidos en moléculas vecinas. Estas fuerzas actúan entre todas las moléculas, incluidas las no polares.
- Enlaces ion-dipolo: atracción de un ion positivo por el extremo negativo de las moléculas de un disolvente polar, y de un ion negativo por el extremo positivo.

Las características de la solubilidad de los solutos no iónicos dependen principalmente de su polaridad y en particular de su capacidad para formar puentes de hidrógeno. La simple premisa que la estructura molecular determina el comportamiento químico y la que menciona que una sustancia disuelve a otra semejante, dan idea del porqué sustancias que son polares no son solubles en disolventes orgánicos

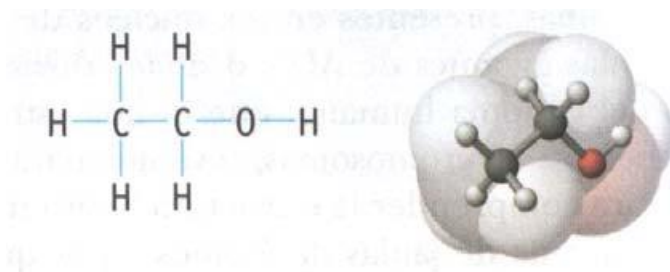
En realidad un buen solvente debe presentar el llamado poder de solvatación: o la capacidad de formar enlaces. El dicho poder no depende simplemente de un elevado momento dipolar, sino que también tiene que ver con la naturaleza de los enlaces químicos formados.

## 2.2.4. Efectos y características generales de los solventes industriales

### 2.2.4.1. Alcoholes

Compuestos alquílicos con un grupo funcional hidroxilo. Constituyen una de las clases más importantes de solventes industriales. Los dos alcoholes industriales más importantes son el metanol y el etanol. Estos alcoholes se absorben bien por todas las vías, aunque su absorción dérmica o mucosas difícilmente pueda dar intoxicaciones agudas. Sufren deshidrogenación por las enzimas: alcohol deshidrogenasa, MAOS y catalasas, transformándolos en formaldehído y luego en ácido fórmico. Su altísima hidrosolubilidad, como su volatilidad hacen que sean eliminados fácilmente tanto por vía renal como por vía respiratoria.

Figura 4. Esquema general de un alcohol



Fuente: John. Kotz. Química. p. 82.

#### 2.2.4.2. El agua

El agua es una sustancia tan común en la Tierra que con frecuencia se menosprecia su naturaleza única. El agua participa en todos los procesos vitales. Es un magnífico disolvente para muchos compuestos iónicos, como para otras sustancias que son capaces de formar enlaces de hidrógeno con el agua. Ej: alcoholes.

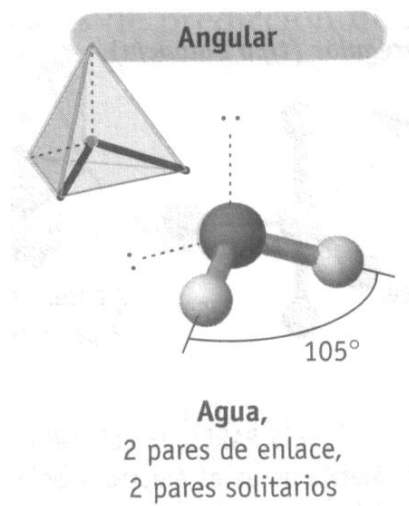
El agua tiene un calor específico elevado ( $4,184 \text{ J/g}^{\circ}\text{C}$ ). La razón de ello es que para elevar la temperatura del agua (es decir, para aumentar la energía cinética promedio de las moléculas), primero se deben romper muchos enlaces de hidrógeno intermoleculares. Por ello, puede absorber una gran cantidad de calor mientras que su temperatura aumenta ligeramente. De la misma manera, el agua puede proporcionar mucho calor con una ligera disminución de su temperatura.

Por esta razón, las enormes cantidades de agua que se encuentran en los lagos y océanos pueden moderar de manera eficaz el clima de las zonas circundantes al absorber calor en verano y liberar calor en invierno, con pequeños cambios de temperatura.

La propiedad más sobresaliente del agua es que su forma sólida es menos densa que su forma líquida: el hielo flota en la superficie del agua líquida. Mientras que la densidad de casi todas las demás sustancias es mayor en el estado sólido que en el estado líquido.

La forma de comprender por qué el agua es distinta, es la de examinar su estructura electrónica, en el átomo de oxígeno hay dos pares de electrones no enlazantes, o pares libres.

Figura 5. **Estructura electrónica del agua**



Fuente: John. Kotz. Química y reactividad química. p. 361.

Aunque muchos compuestos pueden formar enlaces de hidrógeno intermoleculares, la diferencia entre el agua y otras moléculas polares, como  $\text{NH}_3$  y  $\text{HF}$ , es que cada átomo de oxígeno puede formar dos enlaces de hidrógeno, el mismo número de los pares libres de electrones del átomo de oxígeno. Así, las moléculas de agua se enlazan en una extensa red tridimensional en la que cada átomo de oxígeno forma casi un tetraedro con cuatro átomos de hidrógeno, dos unidos por enlaces covalentes y dos por enlaces de hidrógeno.

Esta igualdad en el número de átomos de hidrógeno y de pares libres no es característica del  $\text{NH}_3$ , ni del  $\text{HF}$  o, para ser más preciso, de ninguna otra molécula que sea capaz de formar enlaces de hidrógeno. Por consiguiente, esas moléculas pueden formar anillos o cadenas, pero no estructuras tridimensionales.

### 2.2.5. Constante dieléctrica de los solventes

Un dieléctrico es un material no conductor, como el caucho, el vidrio o el papel encerado. Cuando un material dieléctrico se inserta entre las placas de un capacitor aumenta la capacitancia en un factor adimensional  $\kappa$ , conocido como la constante dieléctrica.

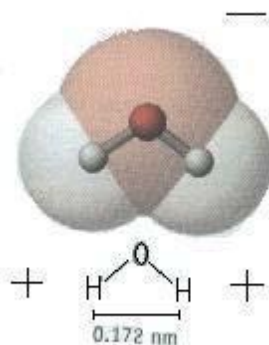
En cuanto a los solventes, la relación de la constante dieléctrica muestra que tanto una sustancia está polarizada y la capacidad de asociación del solvente a otras moléculas.

En el primer caso a escala atómica, se afirma que las moléculas están polarizadas cuando hay una separación entre el “centro de gravedad” de las cargas negativas y la correspondiente a las cargas positivas de la molécula. En algunas moléculas como el agua, esta condición siempre está presente. Esto puede entenderse al examinar la geometría de la molécula del agua. Ésta se encuentra arreglada de modo que el átomo de oxígeno está ligado a los átomos de hidrógeno con un ángulo de  $105^\circ$  entre los dos enlaces (ver figura 7).

El centro de la carga negativa está cerca del átomo de oxígeno, y el centro de la carga positiva está en un punto a la mitad de la línea que une los átomos de hidrógeno (punto medio en el diagrama). Los materiales compuestos de moléculas que están polarizadas permanentemente de este modo tienen constantes dieléctricas elevadas. Por ejemplo, la constante dieléctrica del agua es de ( $\kappa = 78,3$ ).



Figura 6. **Polarización permanente de la molécula de agua**



Fuente: John. Kotz. Química y reactividad química. p. 52.

Si las moléculas del dieléctrico no poseen un momento de dipolo permanente, se les conoce como moléculas no polares. En este caso, un campo eléctrico externo produce cierta separación de carga y un momento de dipolo inducido. La capacidad de asociación puede expresarse en términos de la constante dieléctrica. Cuanto más polar sea un solvente, mayor será su respectiva constante dieléctrica. Compuestos ionizables y/o altamente polares se disuelven en solventes de elevada constante dieléctrica; al igual que compuestos apolares se disolverán en solventes de baja constante dieléctrica.

Los hidrocarburos oxigenados y no oxigenados quedan también dentro de esta clasificación y su solubilidad dependerá de su constante.

En algunos casos la capacidad de una mezcla de solventes de inducir un momento dipolar puede ser calculada. La constante dieléctrica del sistema depende de la constante de cada uno de ellos y de su respectivo porcentaje en la mezcla.

Siendo así, se puede calcular la constante dieléctrica ( $\kappa$ ) del sistema a través de la fórmula:

$$(\kappa) = \frac{(k_A x\%A + k_B x\%B + \dots + k_n x\%n)}{100}$$

Figura 7. **Cuadro con clasificación de solventes con su respectiva constante dieléctrica**

	División	Sub-división	Solvente	Cte. Dieléctrica a 25° C
Solventes	Polares	Próticos	Agua	78,3
			Etanol	24,3
		Apróticos	Acetona	20,7
			Acetato de etilo	6,02
	No Polares	Hidrocarburos oxigenados	Éter etílico	4,34
		Hidrocarburos no oxigenados	Hexano	1,89

Fuente: FULLER, R. Wayne. *Solventes*. p.17.

### 2.3. Extracción de sólido con líquidos (lixiviación)

El intercambio de materia entre una fase sólida y una líquida interviene en numerosos procesos de interés químico-técnico. La disolución de materias sólidas, con o sin transformaciones químicas, constituye uno de los primeros

pasos en un buen número de industrias (procesos metalúrgicos por vía húmeda, nítricos a partir de nitratos, caustificación de sosa, etc.), en las que se trata de utilizar un componente valioso presente entre los sólidos.

En determinados procesos y operaciones el intercambio de materia tiene lugar de forma inversa: por paso de la fase líquida a la sólida (cristalización, tratamientos decolorantes, absorción, cromatografía), o mixta (intercambio iónico). En el caso de la lixiviación, se trata de la disolución en un disolvente apropiado de un componente o grupo de componentes que forman parte de un sólido, el cual contiene otros componentes insolubles. Existen, por tanto, dos fases: la sólida y la disolución. Las variables son temperatura, presión y concentración de soluto en la disolución.

Aplicaciones importantes de la extracción de sólidos con líquidos, son la extracción de aceites y grasas animales y vegetales, la lixiviación de minerales, el lavado de precipitados, la obtención de extractos de materias vegetales o animales, el proceso de disolución en obtención de azúcar de remolacha.

### **2.3.1. Variables de la extracción sólido-líquido**

Como en el estudio de otras muchas operaciones, hay que considerar aquí el equilibrio que se tiende a alcanzar durante la operación y la velocidad con que se alcanza, en función de los diversos factores que pueden afectar a uno y a otra. El conocimiento que se posee de la interfase líquido-sólido es escaso y por ello el mecanismo primario del cambio de fase de un soluto presente inicialmente en forma sólida, de la cual depende como es lógico, la cinética del proceso, permanece oscuro, haciendo difícil el desarrollo de una teoría general para esta operación.

Los factores que influyen en el equilibrio son:

- La naturaleza del soluto
- La naturaleza del disolvente
- La presión
- La temperatura

### 2.3.2. Flujo a través de sólidos: capas límite

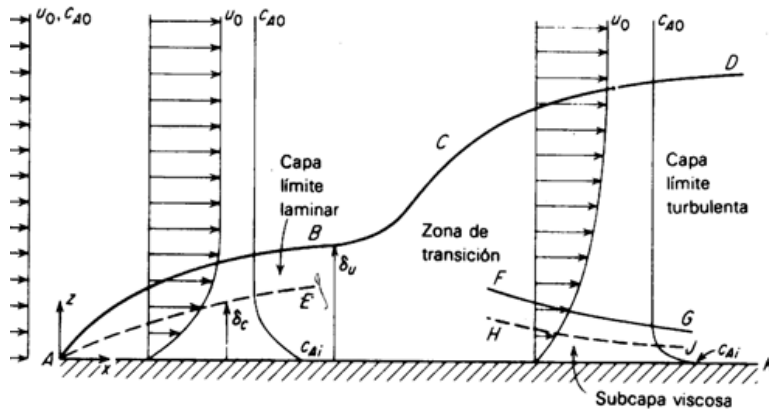
En el caso cuando una de las fases es un sólido, la velocidad paralela a la superficie en la interfase debe ser cero. En la figura 9, un fluido con una velocidad uniforme  $u_o$  y una concentración uniforme de soluto  $c_{AO}$ , la cual puede ser cero, se encuentra con una superficie sólida lisa AK. Puesto que la velocidad  $u_x$  es cero en la superficie y aumento a  $u_x$  a cierta distancia arriba de la placa, la curva ABCD separa la región de velocidad  $u_o$  de la región de menor velocidad, llamada capa límite. “La capa límite puede caracterizarse por un flujo laminar o turbulento.”<sup>3</sup>

Si la transferencia de masa se efectúa desde la superficie hasta el fluido, tal como sucede cuando un sólido se sublima en un gas o cuando un sólido se disuelve en un líquido, la concentración del soluto en el fluido es  $c_{AO}$ , en la superficie del sólido y es mayor que  $c_{AO}$ . Va a existir una curva AE y también una HJ, que separa regiones de concentración uniforme  $c_{AO}$  de regiones con valores más elevados de  $c_A$ , que corresponden a una capa límite de concentración.

---

<sup>3</sup> Robert, Treybal. *Operaciones de transferencia de masa*. Segunda edición. México Editorial McGraw-Hill, 2001. p.90.

Figura 8. Esquema de una transferencia sólido-líquido



Fuente: Robert Treybal. Operaciones de transferencia de masa. p.73.

En el caso especial en que la velocidad es igual a cero y no hay reacción química, se utiliza la segunda ley de Fick

$$D_{AB} \left( \frac{d^2 c_A}{dx^2} + \frac{d^2 c_A}{dy^2} + \frac{d^2 c_A}{dz^2} \right) = \frac{dc_A}{dt} \quad (1)$$

$D_{AB}$  difusividad del soluto A en el disolvente B (distancia/ tiempo)

El balance de cantidad de movimiento o la ecuación de movimiento (Ecuación *Navier-Stokes*) para la dirección x se vuelve:

$$\left( \frac{d^2 u_x}{dx^2} + \frac{d^2 u_x}{dz^2} \right) \nu = u_x \frac{d^2 u_x}{dx^2} + u_z \frac{d^2 u_x}{dz^2} \quad (2)$$

Si existe transferencia de calor entre el fluido y el sólido un balance general de energía proporciona:

$$\left( \frac{d^2 u_x}{dx^2} + \frac{d^2 u_x}{dz^2} \right) \alpha = u_x \frac{du_x}{dx} + u_z \frac{du_x}{dz} \quad (3)$$

Estas ecuaciones deben de ser resueltas junto con la ecuación de continuidad de forma simultánea.

$$\frac{du_x}{dx} + \frac{du_y}{dy} + \frac{du_z}{dz} = 0 \quad (4)$$

Todas las ecuaciones tienen la misma forma, si  $u_x$ ,  $c_A$  y  $t$  y las tres difusividades de cantidad de movimiento  $\nu$ , masa  $D_{AB}$  y calor  $\alpha$  se reemplazan entre sí en los lugares apropiados en las ecuaciones.

Al resolver dichas ecuaciones, generalmente se sustituyen formas adimensionales de las variables

$$\frac{u_y - (u_y^*_{z=0} = 0)}{u_o - (u_x^*_{z=0} = 0)} \quad \frac{C_{Ai} - C_A}{C_{Ao} - C_A} \quad \text{y} \quad \frac{t - t_i}{t - t_o}$$

Entonces las condiciones de frontera se vuelven idénticas en  $z = 0$  las tres variables son 0 y  $z = \infty$ , las tres son iguales a la unidad.

En consecuencia la forma de las soluciones, que proporcionan perfiles adimensionales de velocidad, concentración y temperatura, son iguales. Las pendientes iniciales de los perfiles de concentración, temperatura y velocidad

proporcionan los medios para calcular los respectivos coeficientes de transferencia locales

$$N_A = D_{AB} \left[ \frac{d^2 C_A}{dz^2} \right]_{z=0} = K_L (C_{A,i} - C_{A,O}) \quad (5)$$

$$q = -\alpha \left[ \frac{d(tC_p A_p)}{dz} \right]_{z=0} = h (t_i - t_o) \quad (6)$$

$$g_{tc} = -v \left[ \frac{d(U_x \rho)}{dz} \right]_{z=0} = \frac{f u_o (\rho t_o - 0)}{2} \quad (7)$$

En donde  $k_L$ ,  $h$  y  $(f u_o/2)$  son los coeficientes de transferencia de masa locales para masa, calor y cantidad de movimiento, el término  $t$  se refiere a la fuerza cortante sobre el plano y  $f$  es el factor fricción adimensional.

En las regiones en que existe una capa límite turbulento y una subcapa viscosa, los cálculos para los coeficientes de transferencia de masa, dependen de la expresión que se escoja para la variación de las difusividades de remolino con la distancia. Alternativamente, se confía bastante en las mediciones experimentales.

#### 2.4. Proceso de extracción

Los procesos de extracción varían en función de la escala de producción, de la naturaleza y calidad de la materia prima y de la naturaleza del solvente. Los procesos de extracción pueden ser divididos en dos grupos:

- Procesos que dan como resultado un equilibrio de la concentración entre el soluto y el residuo.

- Procesos que agotan completamente la materia prima.

Los procesos que dan como resultado un equilibrio de la concentración son la maceración y la maceración dinámica. Los procesos que agotan completamente la materia prima son: la percolación, la reperlación y la extracción en contra corriente.

Los procesos de maceración y de percolación están descritos en la mayoría de las farmacopeas. La primera edición de la Farmacopea Brasileña describe cuatro procesos generales de preparación de extractos. Todas las farmacopeas especifican el solvente, la relación entre la materia prima y el solvente, y la técnica a ser utilizada.

Las descripciones precisas de la técnica eran la garantía de la calidad del extracto en una época en que pocos constituyentes activos de las materias primas eran conocidos y las técnicas analíticas eran menos sofisticadas. Modernamente, los extractos se caracterizan por el contenido de sus constituyentes activos, determinación del residuo seco y del contenido alcohólico, no detallándose el proceso de su obtención.

#### **2.4.1. Maceración**

El proceso de maceración consiste en poner en contacto la materia prima y el solvente, durante cierto tiempo. Se trata de un proceso que da como resultado un equilibrio de concentración entre la materia prima y el solvente, y depende de factores que están unidos a la materia prima, como por ejemplo, su naturaleza, el tamaño de partícula, su contenido de humedad y cantidad y factores que están relacionados con el solvente, como por ejemplo, la selectividad y la cantidad.



El rendimiento del extracto disminuye cuando la relación materia prima/solvente aumenta. El hinchamiento de la materia prima es factor importante, porque aumenta la permeabilidad de la pared celular y la difusión del solvente.

La velocidad con que se obtiene el equilibrio está en función del tamaño de partícula de la materia prima molida, así como, del grado de hinchamiento de las células y de las propiedades del solvente, como por ejemplo, su viscosidad y polaridad.

El proceso clásico de maceración consiste en dejar la materia prima en contacto con el solvente durante varios días, con agitación ocasional. Este proceso, también conocido como maceración simple o estática, es sumamente lento. Para abreviar el tiempo de operación, la materia prima y el solvente deben mantenerse en movimiento constante.

Este procedimiento es conocido como maceración dinámica. Tanto la maceración simple como la maceración dinámica pueden ser ejecutadas a una temperatura ambiente o a temperaturas más elevadas. En este último caso el procedimiento es conocido como digestión.

Las grandes desventajas del proceso de maceración son la lentitud del proceso y el hecho de no ser posible alcanzar la extracción completa de la materia prima. Para disminuir las pérdidas del extracto en el residuo de la extracción, la operación de maceración (estática o dinámica) puede repetirse dos o tres veces. Después de haber escurrido el solvente de la extracción anterior. Este procedimiento disminuye la cantidad de extracto retenido en el residuo, pero aumenta la cantidad de solvente a ser recuperado. Este

inconveniente puede superarse, adoptándose el esquema de procesamiento en serie, conforme es descrito para la percolación.

La presencia o ausencia de turbulencia en un recipiente agitado mediante un impulsor se puede correlacionar con un número de *Reynolds* del impulsor, que se define como sigue:

$$N_{Re} = \frac{D_a^2 N \rho}{\mu} \quad \text{[Ecuación No.8]}$$

Donde N = velocidad de rotación, r/s;  $D_a$  = diámetro del agitador, m (ft);  $\rho$  = densidad del fluido, kg/m<sup>3</sup> (lb/ft<sup>3</sup>); y  $\mu$  = viscosidad, Pa.s [lb/(ft.s)]. El flujo en el tanque es turbulento cuando  $N_{Re}$  es mayor de 1 0000. Así pues, la viscosidad, por sí sola, no constituye una indicación válida del tipo de flujo que se puede esperar.

Entre números de *Reynolds* de 1 0000 y, aproximadamente 10, en el agitador y laminar en las partes más alejadas del recipiente cuando el número de *Reynolds* es menor a 10, el flujo sólo es laminar.

No sólo se relaciona con el número de *Reynolds* del impulsor este tipo de flujo, sino también algunas características de rendimiento del proceso, como el tiempo de mezclado, la capacidad de bombeo del agitador, el consumo de energía del impulsor y los coeficientes de transferencia de calor y masa, que se pueden correlacionar con ese grupo adimensional.

Durante el movimiento del fluido en un recipiente se producen varios fenómenos que pueden ser utilizados para mejorar el rendimiento global del proceso.

- Se desarrollan esfuerzos cortantes en un fluido cuando una capa de fluido se desplaza con mayor o menor rapidez que otra capa adyacente o una superficie sólida. En flujo laminar, el esfuerzo (la tensión) es igual al producto de la viscosidad del fluido y el gradiente de velocidad o esfuerzo cortante.
- En condiciones de flujo laminar, las fuerzas cortantes son mayores que las de inercia en el fluido. Con flujo turbulento, el esfuerzo cortante también se produce como consecuencia de la formación de turbulencias (de remolinos) aleatorias y transitorias, incluyendo los remolinos de gran tamaño, que se descomponen en pequeñas turbulencias o fluctuaciones.
- El tamaño de los grandes remolinos depende del tamaño del recipiente. Por otra parte, los pequeños remolinos, que disipan energía principalmente a través del rozamiento viscoso, son casi independientes del tamaño del agitador y del tanque. El esfuerzo cortante en el fluido es mucho mayor cerca del impulsor que junto a la pared del tanque.
- Se desarrollan fuerzas de inercia cuando un fluido cambia de dirección o de velocidad. Con flujo turbulento, las fuerzas de inercia son mayores que las de viscosidad. El fluido en movimiento tiende a seguir desplazándose, hasta que se encuentra con una superficie sólida u otro fluido que se mueva en una dirección diferente. Se desarrollan tensiones durante la transferencia de cantidad de movimiento que tiene lugar. Las fuerzas que actúan sobre las palas de los impulsores fluctúan de una manera aleatoria, en relación con la escala y la intensidad de la turbulencia en el impulsor.

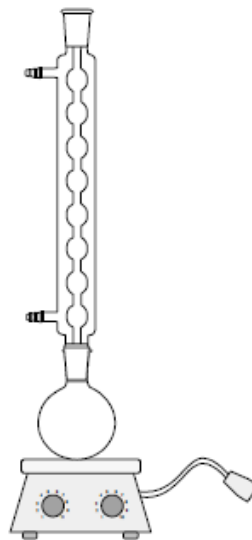
- El área interfacial entre gases y líquidos, líquidos inmiscibles, sólidos y líquidos, se pueden ampliar o reducir mediante esas fuerzas de viscosidad y de inercia cuando interactúan con fuerzas interfaciales, como la tensión superficial.
- Las diferencias de concentración y de temperatura se reducen mediante un flujo másico o circulación volumétrica dentro del recipiente. Las regiones de fluido de diferente composición o temperatura se reducen en espesor mediante un movimiento másico, en el que existen gradientes de velocidad. Este proceso se denomina difusión másica o de Taylor.
- La difusión turbulenta y molecular reducen la diferencia entre estas regiones. Con flujo laminar, la difusión de Taylor y la molecular son los mecanismos de reducción de las diferencias de concentración y de temperatura.
- Las concentraciones de equilibrio, que tienden a desarrollarse en la interfase sólido-líquido, gas-líquido o líquido-líquido, se desplazan o modifican debido a la difusión molecular y turbulenta entre la masa de fluido y el fluido adyacente a la interfase. El movimiento masivo (difusión de Taylor) contribuye también a este mecanismo de transferencia de masa.

#### **2.4.1.1. Extracción mediante maceración dinámica con reflujo a temperatura constante (60°C)**

En este método de extracción las dos fases son móviles. Se colocará la muestra en un matraz con boquilla esmerilada 24/40 y se puso en contacto directo con el solvente, debido a que la temperatura de ebullición del solvente es baja y su presión de vapor es alta, al sistema se acopló un condensador de

Allihn, al llevar la temperatura del sistema a 60 °C y a la temperatura de ebullición del solvente la presión de vapor aumenta, por lo que el uso de un condensador de Allihn se hace más necesario. Ambas fases se someten a un proceso de agitación durante todo el tiempo extractivo.

Figura 9. **Equipo de extracción con maceración dinámica con reflujo**



Fuente: GARCÍA, C. A.; H. ESTRADA. Evaluación preliminar de la cera extraída del árbol de Arrayán (*Myrica cerífera L.*). p.14.

## 2.5. Clasificación de taninos

Los taninos no son idénticos en todos los vegetales, ellos difieren en cuanto a su composición y a sus propiedades químicas especiales según el género botánico donde se encuentren. La clasificación más acertada es la propuesta por Freudenberg en 1920 y que considera dos grupos.

### 2.5.1. Taninos hidrolizables

Los extractos tánicos hidrolizables o pirogálicos son aquellos que por hidrólisis en medio ácido y a ebullición forman productos solubles en agua. Su constitución está caracterizada por el hecho de que el núcleo bencénico está unido al segundo compuesto por intermedio de átomos de oxígeno.

Depositán, habitualmente, ácido elágico (compuesto amarillento, cristalizado y poco soluble en agua) finamente dividido que forma eflorescencias en el cuero. Con sales de hierro dan coloración negro-azulada. Estos taninos como su denominación indica se hidrolizan con facilidad tanto por ácidos y álcalis como por vía enzimática y son generalmente de formación patológica. Se localizan en algunas Dicotiledóneas especialmente en *Fagaceae*, *Anacardiaceae* y *Leguminosae*.

Los extractos tánicos hidrolizables se pueden clasificar en dos grandes grupos:

- Aquellos que forman ácido gálico y glucosa a través de hidrólisis llamados extractos gálicos.
- Aquellos otros que dan ácido elágico y glucosa llamados extractos elágicos.

### **2.5.2. Taninos condensados o proantocianidinas.**

Los extractos condensados o catequínicos que en las mismas condiciones forman precipitados. Sus núcleos constituyentes están reunidos entre sí con intervención de átomos de carbono. Se los llama catequínicos porque sometidos a destilación seca, casi todos, dan pirocatequina.

Los taninos condensados son una clase de flavonoides (sintetizados por las plantas por la vía biosintética de los flavonoides) que son los pigmentos principales de muchas semillas, y también están presentes en los tejidos vegetativos de algunas plantas de forrajeo. Son polímeros formados por unidades de antocianidina (un flavonoide).

### **2.5.3. Otros tipos de taninos**

Para algunos autores existe un tercer tipo de taninos, los florotanimos, que se han aislado de diversas especies de algas pardas y están constituidos por acoplamiento oxidativo únicamente de unidades de floroglucinol C-C y/o C-O. Se habla también de los llamados taninos complejos que son elagitaninos más o menos modificados. Resultan de la unión de un derivado fenilcrománico sobre un éster de glucosa con el ácido hexahidroxidifénico.

Se conocen también como no hidrolizables, ya que se hidrolizan con dificultad y por el contrario, el tratamiento con calor y ácidos minerales origina polímeros de alto peso molecular (flobáfenos). Este tipo de taninos se producen en el metabolismo normal de los vegetales por lo que se consideran fisiológicos y se encuentran ampliamente repartidos en el reino vegetal.

## 2.6. Propiedades de los taninos

A pesar de su constitución química muy variable, los taninos presentan un cierto número de propiedades comunes:

- La mayor parte son compuestos incristalizables, de naturaleza coloidal y dotados de propiedades astringentes.
- Son solubles en el agua y el alcohol; sus soluciones acuosas tienen carácter ligeramente ácido.
- Forman con las proteínas combinaciones insolubles e imputrescibles, particularidad que es usada en la industria de curtidos.
- Producen, en contacto con sales de hierro, combinaciones fuertemente coloreadas en azul o verde oscuros y más o menos solubles en agua.
- Sus soluciones son precipitados por muchas sales metálicas (hierro, cobre, plomo, estaño, mercurio, etc.) y forman compuestos pardos con soluciones de bicromato de potasio y ácido crómico.
- Sus soluciones son precipitados por diversas sustancias básicas tales como: colorantes orgánicos básicos, el agua de cal, el agua de barita, los alcaloides, etc.
- Las soluciones de tanino expuestas al aire absorben el oxígeno oxidándose, tomando rápidamente tintes oscuros y perdiendo parcialmente sus cualidades curtientes. La tendencia a la oxidación de los taninos se manifiesta cuando el pH sube por encima de 6. Esta es la razón



por la cual el curtido en licores básicos no ha respondido a las esperanzas que se habían fundado en ese proceso. La oxidación se manifiesta netamente sobre el cuero en el momento en que se expone al aire. Después de poco tiempo de curtida la piel la oxidación es mayor.

- Ella aumenta con la concentración de los taninos y disminuye con la concentración de no taninos. Además es máxima con ciertos taninos como el castaño y mínima con otros como el quebracho y el zumaque. La oxidación es acelerada por los álcalis, excepción hecha de la mezcla bórax-sulfito. Es más lenta con los ácidos y ciertas sales neutras que precipitan los taninos como el sulfato de magnesio.

## **2.6.1. Uso industrial de taninos**

### **2.6.1.1. Industria del curtido de pieles**

En la industria de curtido se utilizan para la fabricación de tintas y el curtido de pieles, gracias a la capacidad de los taninos para transformar las proteínas en productos resistentes a la descomposición. En este proceso se emplean determinados taninos, los más utilizados son los procedentes de la acacia, el castaño, la encina, el pino o la bastarda.

### **2.6.1.2. Industria textil**

Se emplean en la industria textil por su capacidad de reaccionar con las sales férricas, los cuales dan lugar a productos negro-azulados adecuados para tintes. Igualmente son utilizados como mordientes para la aplicación de tintes en tejidos, coagulantes de gomas, o aprestos para papeles o sedas.

### **2.6.1.3. Industria de alimentos**

En alimentación, los taninos originan el característico sabor astringente a los vinos tintos (de cuyo *bouquet* son, en parte, responsables), al té, al café o al cacao. Las propiedades de precipitación de los taninos son utilizadas para limpiar o clarear vinos o cerveza.

### **2.6.1.4. Industria farmacéutica**

Externamente, los preparados a base de drogas ricas en taninos, como las decocciones, se emplean para detener pequeñas hemorragias locales; en inflamaciones de la cavidad bucal, catarros, bronquitis, quemaduras, hemorroides, etc. Internamente, son útiles contra la diarrea, enfriamiento intestinal y afecciones vesiculares, aunque pueden producir alguna intolerancia en personas con estómago delicado, por ello es conveniente administrar en forma de tisanas maceradas, con objeto de extraer también de la planta otras sustancias activas. Los taninos también son útiles como contraveneno en caso de intoxicación por alcaloides vegetales.

## **2.7. Toxicidad de los taninos**

Las plantas medicinales que contienen taninos, son utilizadas medicinalmente en las proporciones adecuadas, proporcionan remedios adecuados para el tratamiento de muchas enfermedades. Sin embargo un uso inadecuado de plantas que contienen proporciones inadecuadas de estos componentes resulta tóxica.

## **2.8. Compuestos fenólicos**

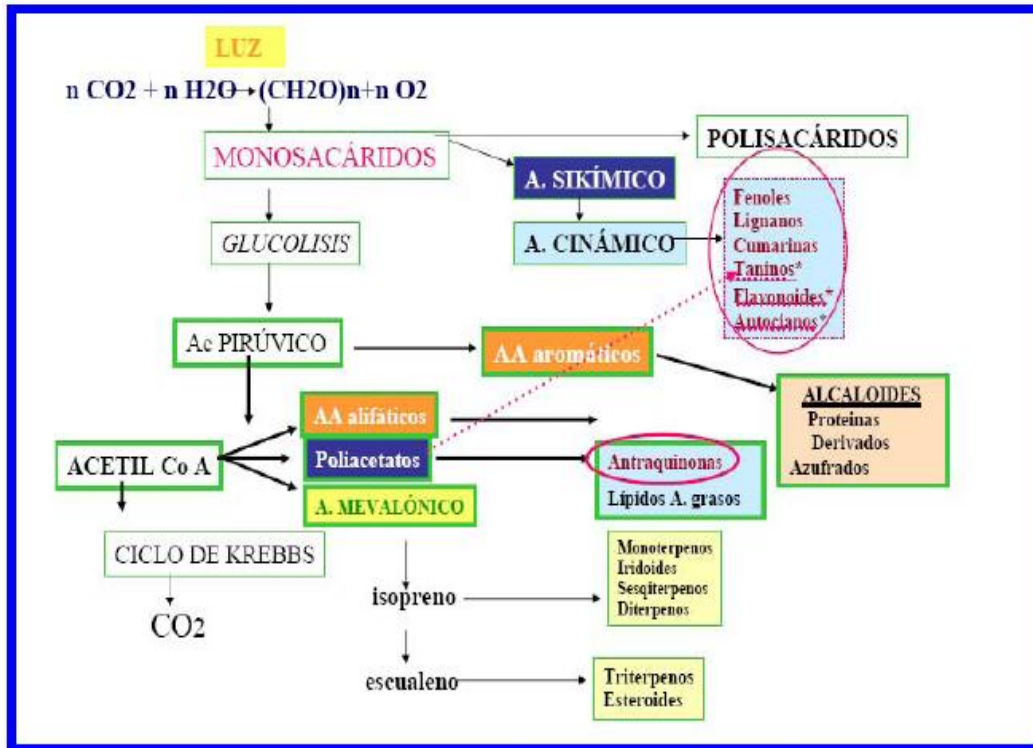
Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad, englobando más de 8 000 compuestos distintos.

Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias químicas que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidróxidos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc.). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático.

Por ello la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos.

Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, y ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos.

Figura 10. Principales rutas de origen de los metabolitos secundarios



Fuente: FONACYT. Caracterización del fruto de arrayán. p. 25.

### 2.8.1. Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos fenil acéticos

Dentro de este grupo los fenoles simples como el fenol, cresol, timol y resorcinol están ampliamente distribuidos entre todas las especies vegetales. Igualmente, los ácidos fenólicos tales como el gálico, vainill plantas superiores y helechos. Por el contrario existe poca información en la literatura científica sobre los ácidos fenilacéticos en los vegetales.

### **2.8.2. Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonoles**

Los ácidos cinámicos (cafeíco, ferúlico, p-cumárico y sináptico) se encuentran raramente libres, ya que por regla general se hayan presentes en forma de derivados. Así por ejemplo, el ácido cafeíco se encuentra esterificado con el ácido químico como ácidos clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico. Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido, mientras que los cromonoles son menos conocidos, y se forman a partir de las antocianidinas ante incrementos del pH del medio.

### **2.8.3. Lignanos y neolignanos**

Son metabolitos de las plantas de bajo peso molecular formados por el acoplamiento oxidativo de unidades de phidroxi fenilpropano, las cuales se unen mediante puentes de hidrógeno. Son monómeros y dímeros del ácido hidroxicinámico y también del alcohol cinámico, propenilbenceno y alilbenceno. El término lignano se aplica cuando el compuesto está formado a partir de uniones entre el ácido y/o el alcohol, mientras que cuando se unen las moléculas de propenilbenceno y/o alilbenceno la molécula resultante se denomina neolignano.

### **2.8.4. Flavonoides**

Los flavonoides constituyen el grupo más importante dentro de esta clasificación, dividiéndose en varias subclases con más de 5,000 compuestos, siendo los polifenoles más distribuidos en las plantas. Son sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenilpiranos: dos anillos benceno unidos a través de un anillo pirona o pirán heterocíclico.

Esta estructura básica presenta o permite una multitud de sustituciones y variaciones en el anillo pirona dando lugar a flavonoles, flavonas, flavanololes, isoflavonoides, catequinas, dihidrocalconas, antocianidinas, leucoantocianidinas y proantocianidinas o taninos condensados (taninos no hidrolizables). Dentro de todos estos grupos las flavonas (Ej: apigenina, luteolina y diosmetina), los flavonoles (Ej: quercitina, mirecitina y kampferol) y sus glicósidos son los compuestos más abundantes en vegetales.

## 2. DISEÑO METODOLÓGICO

### 3.1. Variables

El estudio realizado está dividido en dos etapas significativas, en cada etapa se utilizó el método de extracción por lixiviación con la técnica maceración dinámica con reflujo usando cinco solventes:

- Agua a  $\text{pH}_0=7$ ,  $\text{pH}_0=8$ ,  $\text{pH}_0=9$  y  $\text{pH}_0=10$
- Etanol 95%

A partir de las etapas mencionadas y como resultado de la revisión bibliográfica sobre los factores que influyen en el método a utilizar (Maceración dinámica a  $60^\circ\text{C}$  con reflujo), se determinan y definen operacionalmente las variables de entrada a manipular para medir el efecto sobre los resultados.

#### 3.1.1. Variables en determinación de propiedades fitoquímicas de los pigmentos vegetales presentes en el *berry* del palo de Arrayán (*Myrica cerifera* L.)

La evaluación de las propiedades fitoquímicas de los pigmentos vegetales presentes en el *berry* del fruto de arrayán, obtenidos mediante la extracción por maceración dinámica con reflujo fueron, en función del medio acuoso según el tipo de solvente y su concentración.

- Variable Dependiente: Rendimiento de extracto colorante
- Variable Independiente: Tipo de solvente y su pH

- Variable respuesta: porcentaje de rendimiento de extracción de metabolitos secundarios según el tipo de solvente

Tabla I. **Variables en el método de extracción por Maceración dinámica a reflujo**

Parámetro	Constante	Variable	Controlable	Independiente	Dependiente
Rendimiento de extracto colorante		X	X	X	
Tamaño de partícula	X		X	X	
Temperatura control	X		X	X	
Tiempo de maceración	X		X		X
Concentración del coadyuvante en la solución	X		X		X
pH		X	X		X
Agitación	X		X	X	
Volumen de solvente por cada gramo de muestra	X		X	X	
Solvente		X	X	X	
Tamizaje fitoquímico		X			X
Sólidos totales		X			X
Índice de refracción		X			X

Fuente: elaboración propia.



### 3.2. Delimitación del campo de estudio

Debido a que se ha realizado la caracterización de la mayoría de los componentes de la semilla del palo de arrayán y se ha determinado su composición y propiedades, el objeto de estudio para este trabajo de tesis, es el fruto de la semilla el cual recibe el nombre de *berry* que en español significa cereza, el cual es el que le da la pigmentación a la cera cuando esta es extraída.

Esto es con el objetivo de ver que tipos pigmentación se obtiene de estos *berrys*, según el solvente utilizado. Para luego utilizar ese extracto de pigmento vegetal y proceder a realizarle un tamizaje fitoquímico y con esto determinar los metabolitos secundarios presentes en las extracciones con el solvente puro y soluciones acuosas a utilizar y con lo cual se podrá dar la caracterización total a la semilla del palo de arrayán (*Myrica cerífera L.*).

Figura 11. **Detalle de la morfología del fruto ó drupa del Arrayán**



Fuente: FONACYT. Caracterización del fruto de arrayán. p. 5.

Se estudiarán únicamente los *berrys* o cerezas del fruto del arrayán (*Myrica cerífera* L.) proveniente del departamento del progreso. Estos *berrys* se obtendrán por la separación mecánica de la almendra y las ceras, llamada molienda la cual se realizará en una licuadora cuyas aspás no tienen filo.

Figura 12. **Arbustos de *Myrica cerífera* L**



Fuente: FONACYT. Caracterización del fruto de arrayán. p. 8.

Se seleccionó el *berry* del fruto del palo de arrayán (*Myrica cerífera* L.) sembrado en el bosque natural silvestre, ubicado entre la Sierra de Chuacús y Sierra de las Minas.

### 3.3. Recursos humanos disponibles

- Investigadora: Delmy Paola Estrada Marroquín
- Asesor: Ing. Qco. César Alfonso García Guerra
- Co-Asesora: Inga.Qca. Adela María Marroquín González

### **3.4. Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos)**

Todos los procedimientos que se llevarán a cabo para alcanzar los objetivos de esta investigación se llevarán a cabo en las instalaciones de los siguientes laboratorios de la Universidad de San Carlos de Guatemala:

- Laboratorio de la Sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería
- Laboratorio del Área de Química de la Escuela de Ingeniería Química
- Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales LIXVE, del Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería
- Laboratorio del LIPRONAT, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

#### **3.4.1. Materia prima y reactivos**

- Semillas del árbol de Arrayán (*Myrica cerífera L.*)
- Etanol 95%
- Agua desmineralizada, marca salvavidas
- Sulfito de Sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , grado analítico. Envase 500 g peso molecular 126g/mol

#### **3.4.2. Cristalería y equipo**

##### **3.4.2.1. Equipo**

- Batería de tamices No. 10, 30,40, 50, 60, 80, 100
- Máquina Tamizadora, Sound Enclosure W.S TYLER

- Plancha de calentamiento con agitación, marca Corning, modelo PC-620, 120V/100V, frecuencia 60 Hz, potencia 1113 w, rango 0 – 480 °C, 0 – 1100 rpm.
- Balanza Marca: Adventur serie: G1231202040133 voltaje 8 - 14,5 V frecuencia 50/60 Hz. Máxima capacidad 150 g, lectura mínima 0,001g hecha en U.S.A.
- Campana de extracción de 110 V y 900 Watts, marca Serproma de motor con capacidad de ¾ Hp.
- Potenciómetro H1221 HI223 (pH/mV/ °C) Bench Meters with calibration check. HANNA instruments manufacturer since 1978. Hecho en Portugal.
- Cronómetro digital. Con control manual utiliza baterías alcalinas con marcador de segundos, minutos y hora, marca CASIO.
- Licuadora Oster
- Refractómetro, marca: Abbe, rango de temperatura: 0 a 70 °C, Precisión: ± 0,0002, rango de medición: 1,3000 – 1,7000.
- Lámpara estroboscópica, marca AMETEK Mansfield & Green Division, corriente AC 110V; rango de flash por minuto 2 a 60 (X 100) ( 200 rpm-6000 rpm); rango de trabajo intermitente (1/2 time ON, ½ time OFF) 10 minutes for ambient up to 300C (80 °F) 5 minutes for ambient up to 50°C (1200F).

#### **3.4.2.2. Cristalería**

- Earlenmeyers boquilla 24/40 de 125ml, marca Cornin-Pirex
- Condensador de bolas Alhin boquilla 24/40, marca Cornin-Pirex
- Pipetas de 10 mL, 50 mL y de 5 mL
- Beackers de 50 mL , 100 mL, 250 mL, 600 mL, marca Pirex
- Embudos de vidrio marca Pirex

- Varillas de agitación
- Probeta de 10 mL, 50 mL, 250 mL
- Termómetro de mercurio 0°C – 100°C
- Vidrios de reloj
- Agitadores magnéticos

Otros materiales:

- Bolsas ziploc
- Masking tape
- Papel filtro
- Marcadores gruesos
- Papel aluminio
- Papel mayordomo
- Pinza larga

### **3.5. Técnica cualitativa o cuantitativa**

A los extractos obtenidos en los distintos solventes de las soluciones acuosas, se les realizará una caracterización fitoquímica en la cual se analizarán de forma cuantitativa, el tipo de pigmento vegetal presente y el rendimiento de la extracción.

### 3.6. Recolección y ordenamiento de la información

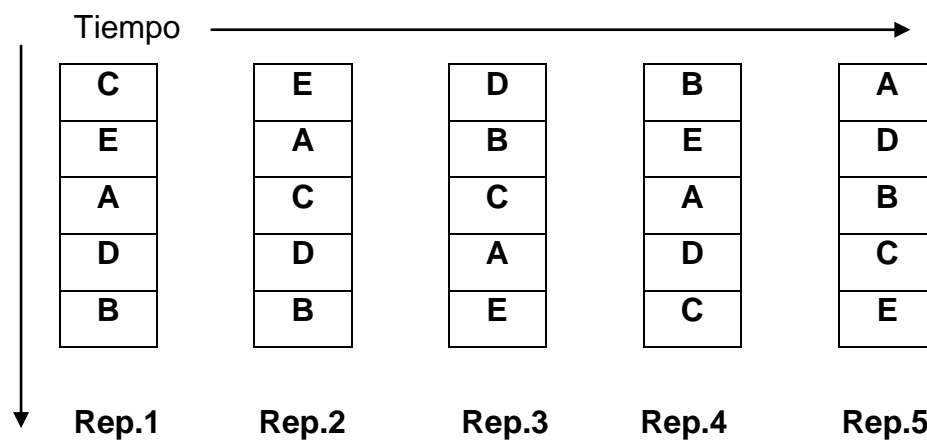
#### 3.6.1. Tratamientos

Cinco tratamientos:

- Agua pH<sub>0</sub> = 7
- Agua pH<sub>0</sub> = 8
- Agua pH<sub>0</sub> = 9
- Agua pH<sub>0</sub> = 10
- Etanol 95%

#### 3.6.2. Diseño del experimento

Figura 13. Bloques completos al azar con 5 repeticiones



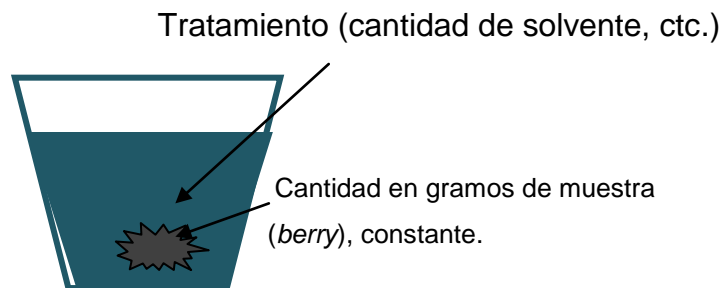
Fuente: elaboración propia.

**Nota:** El cuadro anterior de bloques, es conocido como aleatorización del experimento, el cual sirve para eliminar los errores sistemáticos. Se realizarán 5 sorteos independientes.

### 3.6.3. Unidad experimental

Es la cantidad de materia prima en estudio a utilizar la cual es la misma para todos los tratamientos, tal como se muestra en el siguiente esquema:

Figura 14. **Tratamientos**



Fuente: elaboración propia.

### 3.6.4. Variable respuesta

Para este estudio la variable respuesta es el rendimiento del extracto colorante el cual se define como:

$$R = \frac{\Delta \text{Peso}_{(\text{inicial} - \text{final})}}{P_o \text{ (sólido inicial)}} \quad [\text{Ecuación No.9}]$$

Donde:

R= rendimiento de extracción

$\Delta$  Peso= La diferencia entre el peso inicial de la solución a rota evaporar y el peso final del extracto colorante

$P_o$ = Peso inicial de *berry*

### **3.6.5. Manejo del experimento**

#### **3.6.5.1. Recolección**

La materia prima a utilizar que es el fruto del palo de arrayán, el cuál proviene de los arbustos ubicados en los bosques de la zona nor-oriental de Guatemala, en las montañas ubicadas en el departamento del Progreso.

#### **3.6.5.2. Preparación del material**

- Separación del fruto y el palillo.

Figura 15. **Fruto de arrayán y palillo**



Fuente: imagen tomada en el Laboratorio de Química Industrial, de la Facultad de Ingeniería.



- Molienda del fruto del arrayán.

Figura 16. **Molino con aspas sin filo**



Fuente: imagen tomada en el Laboratorio de Química Industrial, de la Facultad de Ingeniería.

- Tamizado en una batería de tamices para separar físicamente en un equipo tamizador, la mezcla molida en: almendra, cera y el *berry*.

Figura 17. **Batería de tamices**



Fuente: imagen tomada en el Laboratorio de Química Industrial, de la Facultad de Ingeniería.

Figura 18. **Separación de la mezcla molida del fruto del Arrayán**



Fuente: imagen tomada en el Laboratorio de Química Industrial, de la Facultad de Ingeniería.

- Tamizado final para una mejor separación de las ceras del *berry*, con los tamices No. 50 (300  $\mu\text{m}$ ) y No.60 (250  $\mu\text{m}$ ).

Figura 19. **Rango de tamaño de partícula del *berry***



Fuente: imagen tomada en el Laboratorio de Química Industrial, de la Facultad de Ingeniería.

### **3.6.5.3. Extracción de colorante:**

La extracción se realizará por medio de un método de lixiviación conocido como maceración dinámica con reflujo a temperatura constante de 60°C, por un tiempo necesario hasta que el pH de la solución llegue a ser constante de nuevo dando con esto un pH final, y midiendo a la vez el índice de refracción hasta que este también sea constante.

### **3.6.5.4. Toma de datos**

El extracto colorante obtenido con cada solvente se debe rota evaporar a 80°C, para poder obtener el peso real de extracto sin solvente y sin coadyuvante en su caso, el cual dará como resultado un peso final, que será restado del peso inicial de la solución y dividir tal como lo indica la ecuación No.9.

### **3.6.5.5. Métodos analíticos para la extracción por maceración dinámica y para la posterior determinación de las familias de metabolitos secundarios en extractos de (*Myrica cerífera* L.)**

El material que se utilizará como muestra serán los extractos ya filtrados, pero por la importancia de conocer las condiciones preanalíticas de las muestras se describe a continuación el proceso de extracción y todas las variables que intervienen en dichos procesos.

#### **3.6.5.5.1. Preparación de los extractos vegetales de (*Myrica cerífera* L.)**

La primera etapa consiste en realizar 5 extracciones con cinco solventes distintos (agua destilada, agua destilada a pHo= 8, pHo=9 y pHo= 10 y etanol al 95%) y una misma técnica extractiva (maceración dinámica con reflujo a 60°C); la proporción masa del *berry* / volumen de solvente, establecida para realizar la extracción será de 1:20, por lo que 2g del *berry* del fruto de arrayán.

Serán colocados en tres erlenmeyer con boquilla esmerilada 24/40 con una capacidad de 125 mL y se agregará 40 mL del solvente extractor a cada uno, en este caso cada erlenmeyer tendrá un solvente diferente; se mantendrá en agitación continua con un magneto mecánico a 500 rpm, a 60°C en reflujo (lixiviación), se filtrará utilizando equipo de filtrado al vacío y papel filtró *Wathman 1*. Posterior a las extracciones se obtendrán los extractos acuosos y etanólicos.

#### **3.6.5.5.2. Determinación de condiciones de extracción**

Las variables que interfieren en el proceso de extracción, independientemente de la escala de producción o del tipo de producto final son: naturaleza del solvente, el estado de división de la planta, la agitación, la temperatura, el pH y el tiempo de extracción.

- Solventes

Respecto a los solventes utilizados, la polaridad se encuentra muy relacionada con la solubilidad, es por ello que un compuesto que forma enlaces de hidrógeno con el agua tiende a ser más soluble en ella que uno no los forma.

Por tanto, se puede decir que el agua es un excelente disolvente de compuestos iónicos. Así también, el metanol forma puentes de hidrógeno y puede disolver compuestos iónicos, pero en menos proporción; mientras que el hexano no puede disolver compuestos iónicos. Dependiendo de la finalidad deseada, el solvente utilizado extrae, selectivamente o no, ciertas clases de compuestos.

Entre los solventes generales, los más utilizados son los alcoholes alifáticos de hasta 3 carbonos o mezclas de estos con agua, hexano y agua. Estos solventes logran extraer la gran mayoría de las sustancias naturales de interés. Debido a su poder extractivo, estos solventes son los indicados para los casos en que los constituyentes activos de las plantas no son bien conocidos, siendo necesario agotar, completamente, la planta.

- Estado de división de la planta

La eficiencia del proceso extractivo sería mayor cuando menor sea el tamaño de la partícula ya que, así, se obtiene una mayor área de contacto con el solvente. En la práctica, la presencia de partículas muy finas dificulta el proceso de extracción, pues presentan compactación y los procesos de maceración, en donde las partículas pasan al extracto, hacen necesaria la realización de la etapa adicional de filtración, la cual no siempre es de fácil ejecución.

La penetración del solvente en fragmentos mayores de la planta es lenta y la salida de las sustancias extraíbles es difícil. Por esta razón, se recomienda la utilización de tamaños de partícula semejante a polvos moderadamente gruesos en el proceso extractivo.

Figura 20. **Partículas de *berry* del Arrayán**



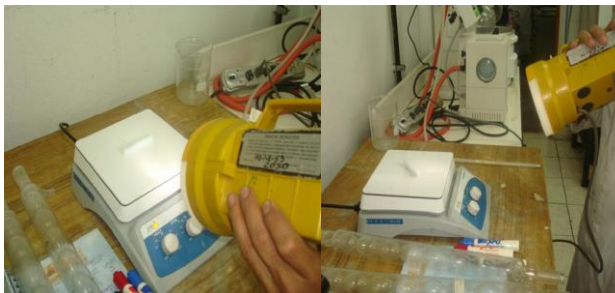
Fuente: imagen tomada en el Laboratorio de Química Industrial, de la Facultad de Ingeniería.

- **Agitación**

La eficiencia del proceso extractivo es función del equipo de saturación del solvente. La agitación hace que nuevas cantidades de solvente, pobre en las sustancias extraíbles, entre en contacto con el sólido y un nuevo punto de equilibrio de saturación es alcanzado.

El movimiento del líquido con agitadores magnéticos, desplaza el equilibrio en el sentido de la saturación del solvente, aumentando la eficacia del proceso. Los agitadores magnéticos fueron calibrados a 500 rpm, con ayuda de la lámpara estroboscópica.

Figura 21. **Calibración de los agitadores magnéticos**



Fuente: imagen obtenida en Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales LIXVE, del Centro de Investigaciones de la Facultad de Ingeniería.

- **Temperatura**

La disolución de las sustancias extraíbles es facilitada por el aumento de la temperatura; de la misma manera que la agitación, la temperatura contribuye al desplazamiento de la constante de equilibrio de saturación y aumenta la eficiencia del proceso. Sin embargo, muchos principios activos son termolábiles y pueden ser degradados, total o parcialmente, a temperaturas elevadas. El aumento de la temperatura también puede causar la pérdida de sustancias volátiles, por lo cual se estableció una temperatura constante de 60°C, la cual es la temperatura en la que no entra en ebullición la solución del etanol al 95% con el *berry*.

### **3.6.5.5.3. Toma de datos**

El extracto colorante obtenido con cada solvente se rotavaporó según el solvente a diferente temperatura como las soluciones de agua a pH=7,8,9 y 10 las cuales se rotavaporaron a 80°C y las extracciones de etanol al 95% a 70°C, para poder obtener el peso real de extracto sin solvente y sin coadyuvante en

su caso, el cual dará como resultado un peso final, que será restado del peso inicial de la solución y dividir tal como lo indica la ecuación No.9, para poder obtener el rendimiento de cada extracción.

### 3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

Tabla II. **Tabulación de datos de los resultados obtenidos para el rendimiento de extracción según cada solvente**

Solvente Caliente * proporción masa berry /volumen de solvente (1-20)	Agua				Etanol 95%
	Medio				
Repetición No.	pH <sub>0</sub> =7	pH <sub>0</sub> =8	pH <sub>0</sub> =9	pH <sub>0</sub> =10	
1	4,87	27,65	34,35	34,66	23,28
2	6,22	31,55	32,97	32,96	26,72
3	2,79	22,23	33,74	33,34	20,13
4	6,37	33,93	33,89	33,86	30,11
5	5,20	31,00	34,26	34,30	19,81

\*Caliente equivale en el proceso a mantener la temperatura de las soluciones a 60°C.

Fuente: elaboración propia.



Tabla III. **Tabulación de familias de metabolitos secundarios que presentan propiedades de pigmentación, para cada solvente y sus repeticiones, usando un tamizaje fitoquímico**

Metabolitos Secundarios	Extracto Acuoso				Extracto Etanólico
	pHo=7	pHo=8	pHo=9	pHo=10	
Alcaloides	-	-	-	-	-
Coumarinas	-	-	-	+	-
Saponinas	-	-	-	-	-
Flavonoides	+	+	+	+	+
Triterpenos	-	-	-	-	-
Emoides	-	-	-	-	-
Chalconas y uronas	-	-	-	-	-
Flavofenos	-	-	-	-	-
Mucílados	-	-	-	-	-
Lactonas	-	-	-	-	-
Esteroles	-	-	-	-	-
Taninos	-	-	-	+	-
Cromonoles	-	-	-	-	-
Antocianidinas	-	-	-	-	-
Isocumarinas	-	-	-	-	-
Lignanós	-	-	-	-	-
Neolignanós	-	-	-	-	-

Fuente: elaboración propia.

### 3.8. Análisis estadístico

#### 3.8.1. Métodos y modelos de los datos según tipo de variables

##### 3.8.1.1. Análisis de varianza

Se realizó un análisis de varianza para un experimento en bloques al azar, con cinco tratamientos y cinco repeticiones, mediante el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + \alpha_j + \varepsilon_{ij} \quad \begin{array}{l} i = 1,2,\dots,t \\ j = 1,2,\dots,r \end{array}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Variable de respuesta, que es el rendimiento de extracto colorante obtenido con el i-ésimo solvente en la j-ésima repetición

$\mu$  = Efecto de la media general del rendimiento de extracción de pigmentos colorantes

$\alpha_j$  = Efecto del j-ésimo bloque o repetición

$\varepsilon_{ij}$  = Efecto del error experimental o variabilidad no controlada asociada a la ij-ésima unidad experimental

### 3.8.1.2. Cuadro de andeva

Tabla IV. Prueba de F de las hipótesis en el análisis de varianza, para los rendimientos obtenidos de las extracciones de pigmentos vegetales presentes en el *berry* del fruto del palo de arrayán (*Myrica cerifera* L.), en función de los solventes utilizados

Fuentes de Variación (FV)	Grados de libertad (GL)	Suma de Cuadrados (SC)	Cuadrados Medios (CM)	FC	Probabilidad (P)
Total	24				
Bloques	4	72,39	18,098		
Tratamientos	4	2 848,42	712,104	116,02	0,0000
Error experimental	16	98,21	6,138		

Fuente: resultados de programa estadístico informático Statistix, en anexos 3.

Regla de decisión:

Rechazar  $H_0$  si  $(Pr > F) \leq \alpha$

En base a los datos obtenidos en la tabla No.5, se puede tomar la decisión de aceptar o rechazar la hipótesis nula  $H_0$ , en base a dos criterios en función de la siguiente ecuación:

$$F = \frac{\text{Varianza explicada}}{\text{Varianza no explicada}} \quad [\text{Ecuación No.10}]$$

Donde:

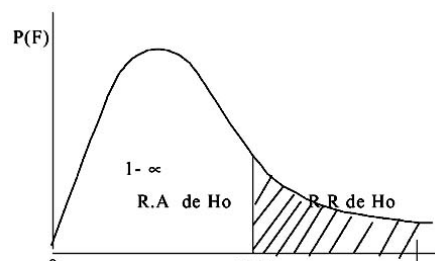
Varianza explicada: es la varianza correspondiente a los solventes.

Varianza no explicada: es la varianza correspondiente al error.

Por lo cual los dos criterios son:

- Si  $H_0$  es verdadera,  $F$  tiende a cero.
- Si  $F$  es grande, hay mucha varianza explicada, la cual corresponde a la varianza de los solventes y hay poca varianza no explicada la cual corresponde al error. Lo cual significa que las medias obtenidas del rendimiento de los solventes son muy diferentes, por lo cual se rechaza  $H_0$ .

Figura 22. **Gráfica de la prueba estadística de F (Fisher)**



Fuente: TREYBAL, Robert. Operaciones de transferencia de masa.p.75.

Si la probabilidad es grande ( $P > 0,05$ ), entonces no se rechaza la hipótesis nula, pero si la probabilidad es pequeña ( $P \leq 0,05$ ), entonces si se rechaza  $H_0$ , como se muestra en la tabla No.5, por lo cual:

$$P (F \geq 116,02) = 0,0000 \leq 0,05 = \alpha$$

Basados en el criterio anterior se rechaza la hipótesis nula, lo que indica que el rendimiento obtenido de los extractos de pigmentos vegetales presentes en el *berry* del fruto de arrayán (*Myrica cerifera* L.), difiere significativamente según el solvente utilizado.

### 3.8.1.3. Criterio de *Tukey*

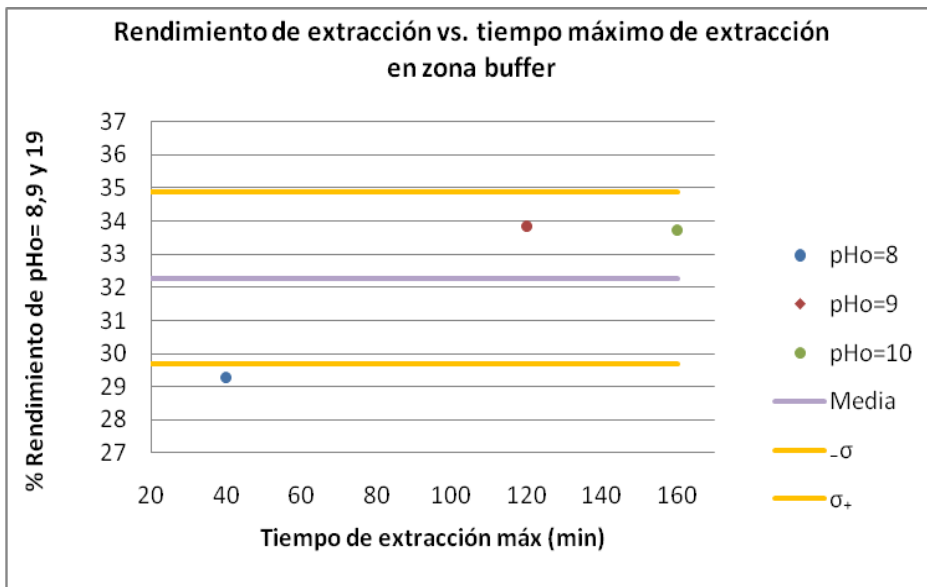
Tabla V. **Tabla de decisión para escoger el tratamiento con mayor rendimiento de extracción de pigmentos vegetales presentes en el *berry* del arrayán**

<b>Solventes</b>	<b>Media</b>	<b>Grupo</b>
Agua pHo=7	5,090	C
Agua pHo=8	29,272	A
Agua pHo=9	33,842	A
Agua pHo=10	33,720	A
Etanol 95%	24,010	B

Fuente: resultados de programa estadístico informático Statistix, en anexos No.3.

En base a los valores obtenidos en tabla VI se puede observar que el agua a pHo= 8, 9 o 10 es la solución analítica produce el mejor rendimiento de extracto, clasificados con la letra A), el rendimiento intermedio le corresponde al etanol 95% con la letra B y el menor rendimiento se obtuvo al utilizar agua con pHo=7.

Figura 23. **Comparación de rendimientos de extracción entre las soluciones de agua a pHo=8,9 y10 y el tiempo máximo de extracción en zona buffer**



Fuente: datos de tabla V. p. 58.

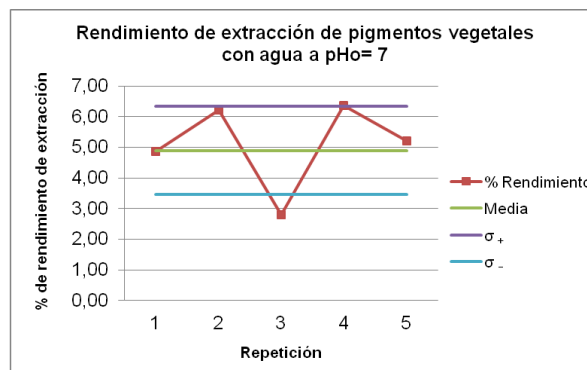
## 4. RESULTADOS

Tabla VI. Rendimientos de extracción obtenidos por maceración dinámica, de 2 g de *berry* del fruto del arrayán a  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 1 hr 40 min, usando como solución analítica de extracción etanol al 95%

Corrida	% Rendimiento
1	23,28
2	26,72
3	20,13
4	30,11
5	19,81
<b>Media</b>	23,69
<b>Desviación estándar</b>	4,41

Fuente: datos calculados tabla XIX, apéndice 5.

Figura 24. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica, de 2 g de *berry* del fruto del arrayán a  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 1 hr 40 min, usando como solución analítica de extracción etanol al 95%



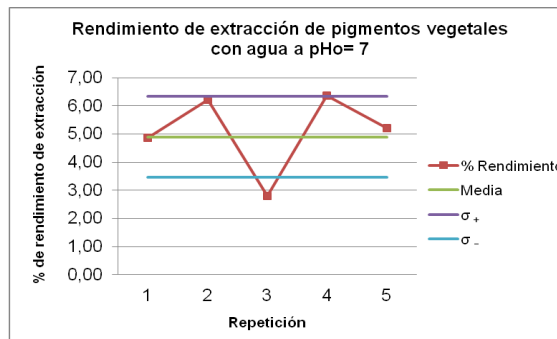
Fuente: datos obtenidos de tabla VI, resultados.

Tabla VII. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de *berry* del fruto del arrayán a  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 2 hr 40 min, usando como solución analítica de extracción agua a  $\text{pHo}=7$  usando como coadyuvante 0,6495 ml de solución sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3% y  $\beta_T= 1,67\text{E}^{-06}$

Corrida	% Rendimiento
1	4,87
2	6,22
3	2,79
4	6,37
5	5,20
<b>Media</b>	4,89
<b>Desviación estándar</b>	1,44

Fuente: datos calculados tabla XX, apéndice 5.

Figura 25. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de *berry* del fruto del arrayán a  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 2 hr 40 min, usando como solución analítica de extracción agua a  $\text{pHo}=7$  usando como coadyuvante 0,6495 ml de solución sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3% y  $\beta_T=1,67\text{E}^{-06}$



Fuente: datos obtenidos de tabla VII, resultados.

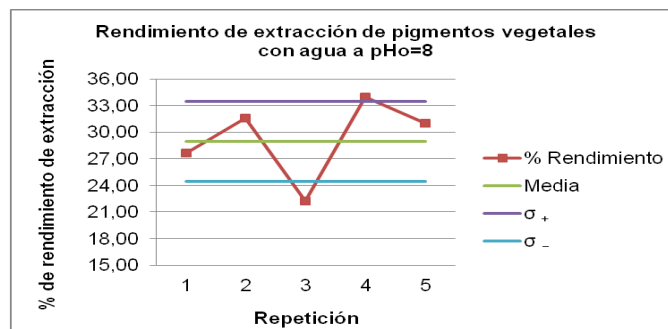


Tabla VIII. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de *berry* del fruto del arrayán a  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 2 hr 40 min, usando como solución analítica de extracción agua a  $\text{pH}=8$  usando como coadyuvante 1,6213 ml de solución sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3% y  $\beta_T = 3,15\text{E}^{-06}$

Corrida	% Rendimiento
1	27,65
2	31,55
3	22,23
4	33,93
5	31,00
<b>Media</b>	28,97
<b>Desviación estándar</b>	4,53

Fuente: datos calculados tabla XXI, apéndice 5.

Figura 26. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de *berry* del fruto del arrayán a  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 2 hr 40 min, usando como solución analítica de extracción agua a  $\text{pH}=8$  usando como coadyuvante 1,6213 ml de solución sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3% y  $\beta_T = 1,67\text{E}^{-06}$



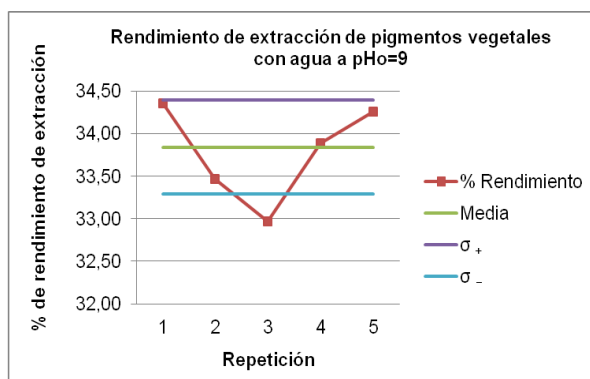
Fuente: datos obtenidos de tabla VIII, resultados.

Tabla IX. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de *berry* del fruto del arrayán a  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 2 hrs, usando como solución analítica de extracción agua a  $\text{pH}=9$  usando como coadyuvante 2,2698 ml de solución sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3% y  $\beta_T = 7,12 \text{E}^{-04}$

Corrida	% Rendimiento
1	34,35
2	32,97
3	33,74
4	33,89
5	34,26
<b>Media</b>	33,84
<b>Desviación estándar</b>	0,55

Fuente: datos calculados tabla XXII, apéndice 5.

Figura 27. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de *berry* del fruto del arrayán a  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 2 hrs, usando como solución analítica de extracción agua a  $\text{pH}=9$  usando como coadyuvante 2,2698 ml de solución sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3% y  $\beta_T = 7,12\text{E}^{-04}$



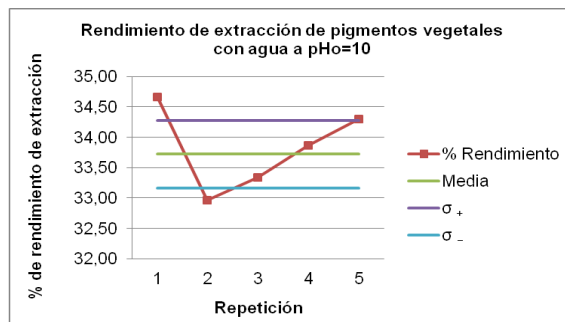
Fuente: datos obtenidos de tabla IX, resultados.

Tabla X. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de *berry* del fruto del arrayán a  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 3 hrs con 20 min, usando como solución analítica de extracción agua a  $\text{pH}=10$  usando como coadyuvante 3,2426 ml de solución sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3% y un  $\beta_T = 1,67\text{E}^{-03}$

Corrida	% Rendimiento
1	34,66
2	32,96
3	33,34
4	33,86
5	34,30
<b>Media</b>	<b>33,72</b>
<b>Desviación estándar</b>	<b>0,56</b>

Fuente: datos calculados tabla XXIII, apéndice 5.

Figura 28. Rendimiento de extracción obtenido por maceración dinámica de 2 g de *berry* del fruto del arrayán a  $60^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$  3 hrs con 20 min, usando como solución analítica de extracción agua a  $\text{pH}=10$  usando como coadyuvante 3,2426 ml de solución sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3% y  $\beta_T=1,67\text{E}^{-03}$



Fuente: datos obtenidos de tabla X, resultados.

Tabla XI. **Tiempo máximo de extracción dado por el límite inferior  $pK_2 - 1 = 6,21$  de la zona *buffer* de las extracciones con sulfito de sólido al 3% a diferente pH inicial**

Tiempo máximo de extracción (min)	Agua			
	pHo=7	pHo=8	pHo=9	pHo=10
	19,78	42,35	122,15	168,21

Fuente: datos obtenidos de anexo 3, figuras 31 a la 34.

Tabla XII. **Detección de familias de metabolitos secundarios con propiedades pigmentables en los extractos de los pigmentos vegetales presentes en el *berry* del fruto de arrayán**

Metabolitos Secundarios	Agua				Etanol 95%
	pHo=7	pHo=8	pHo=9	pHo=10	
Antraquinonas	negativo	negativo	negativo	positivo	negativo
Taninos	negativo	negativo	negativo	positivo	negativo
Cumarinas	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Flavonoides	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo

Fuente: resultados obtenidos de tamizaje fitoquímico, anexo 2. Tablas I, II, III y IV.

## 5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El objetivo del presente estudio fue extraer y caracterizar fitoquímicamente los pigmentos vegetales presentes en el fruto de arrayán (*Myrica cerífera* L.). Específicamente se evaluó el rendimiento de metabolitos secundarios extractables en función de la solución analítica: agua a pH= 7, 8, 9 y 10 y etanol al 95%, utilizando el proceso de maceración dinámica con reflujo a 60°C, como método de extracción. Y posteriormente identificar las familias de metabolitos secundarios presentes que posean propiedades de pigmentación a través de un tamizaje fitoquímico.

Para el estudio se utilizó frutos de arrayán recolectados en el bosque natural del departamento del Progreso, el cual se encuentra situado en la región III, su cabecera departamental es Guastatoya, limita al Norte con el departamento de Alta Verapaz; al Sur con Guatemala y Jalapa; al Este con Zacapa y Jalapa; y al Oeste con Baja Verapaz y Guatemala. Se ubica en la latitud 14° 51' 14" y longitud 90° 04' 07", y se encuentra a 518 metros sobre el nivel del mar.

Se realizó la separación por molienda en un molino de aspas sin filo, con lo cual se logró separar en los diferentes componentes que son (semilla, cera y *berry*), luego se procedió a tamizar la mezcla de los componentes, en una batería de tamices No.10, 30, 40, 50, 60, 80 y 100, con lo cual se logró retener la mayor cantidad de *berry* en el tamiz entre los tamices (- No.50 y +No.60).

Para la obtención de los pigmentos vegetales extractables de los *berrys* se realizó el proceso de lixiviación (maceración dinámica), con la técnica de reflujo a 60 °C. Las soluciones acuosas analíticas utilizadas fueron agua desmineralizada y como coadyuvante el sulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) al 3%, el cual se utilizó para ir estabilizando las soluciones alcalinas a pH=7, 8, 9 y 10 y etanol al 95%.

Previo al proceso de lixiviación se trató el *berry* con lo cual se determinó que el porcentaje de humedad del sólido se encontraba en 6%, el cual es un rango aceptable para el proceso, para que este no interfiera aportando agua significativamente al sistema como para que variara la concentración de las soluciones analíticas inicialmente.

Posteriormente se procedió a tamizar y se elaboró una curva granulométrica que comprendió los tamices No.10, 30, 40, 50, 60, 80 y 100, correspondientes a (2 mm, 600  $\mu\text{m}$ , 425  $\mu\text{m}$ , 300  $\mu\text{m}$ , 250  $\mu\text{m}$ , 212  $\mu\text{m}$  y 149  $\mu\text{m}$ ) respectivamente, para ello se referencia en la tabla XVII de la sección de apéndice 3. De esta granulometría se escogió el tamaño de partícula que se retuvo entre los tamices (-No.50 y +No.60), (Ver figura 35 del apéndice 3).

Para el proceso de lixiviación se utilizó la técnica de maceración dinámica con reflujo a 60 °C, para ello se preparó la solución alcalina con sulfito de sodio al 3%, ajustando la solución hasta estabilizarla a un pH= 7, en total se usaron 40 mL de solvente, luego se agregaron 2 gramos de *berry* (-No.50 y +No.60) y se procedió a realizar la maceración dinámica por 2 horas con 40 min, se fue monitoreando el pH cada 20 minutos, para que la evolución del pH en la maceración diera pauta para el tiempo máximo de extracción, esto se detalla en la tabla XIII de la sección de apéndice 3, en la cual se observa que el comportamiento del pH fue descendiente.

El mismo procedimiento se utilizó para la lixiviación de los tratamientos a  $pH_0 = 8,9$  y  $10$ , para ello se refieren sus comportamientos y monitoreos de  $pH$  en las tablas XIV, XV y XVI, observando que el comportamiento de descenso del  $pH$  en las diferentes maceraciones.

Para la maceración dinámica o proceso de lixiviación con etanol al 95% se procedió a medir 40 mL de dicho solvente y se vertieron 2 g de *berry* (-No.50 y +No.60), para ello el proceso de reflujo se llevó a cabo durante 2 horas con 20 minutos, monitoreando el  $pH$  como se muestra en las tablas XII del apéndice 3.

Después del proceso de lixiviación se rota evaporaron todas las muestras obtenidas, determinando el rendimiento de cada uno de los procesos como se muestra en las tablas VI a la X de resultados y los cálculos detallados de las tablas anteriores en la sección de apéndice 5 en las tablas XVIII a la XXIII.

De los procesos de maceración con reflujo, los que presentaron mayor rendimiento (sin diferencia significativa entre ellos), fueron los procesos en los que se utilizó las soluciones acuosas a  $pH_0 = 8, 9$  y  $10$ . (Ver criterio de *Tukey* tabla V). De los cuales se determinó que la solución acuosa a  $pH_0 = 9$  es la adecuada para realizar la extracción debido a que se observa que durante todo el tiempo extractivo, se mantiene la extracción dentro de la zona buffer la cual está dada por  $pK_2 \pm 1$  del sulfito de sodio, manteniendo la extracción durante un tiempo máximo de 122,15 min (tabla 11).

Para la determinación de las familias de metabolitos secundarios presentes se realizó un tamizaje fitoquímico (anexo 1 tablas 3 y 4), estudio en el cual de acuerdo a los resultados obtenidos que se observa en el caso de la materia prima del *berry* del arrayán (*Myrica cerifera* L.) no se observa diferencia entre las muestras de los cinco extractos en la detección de los siguientes metabolitos secundarios: cumarinas y flavonoides.

En el caso de la detección de cumarinas los cinco extractos no presentan dicho metabolito debido que en la prueba realizada en papel revelada con hidróxido de potasio 0,5 N posteriormente expuesta bajo la luz UV a 365 nm no presentó fluorescencia de color azul o verde a diferencia de los flavonoides que en los cinco extractos están presentes dando el resultado esperado con la especificación de coloración de las bandas amarillo y verde, se puede identificar la presencia de ácido clorogénico.

En el caso de los metabolitos de taninos y antraquinonas si existió diferencia entre los extractos, como se observa en el extracto de pH=10, el cual fue el único que al exponerlo con cloruro férrico cambio de coloración observándose el cambio negro-azulado el cual indica la presencia de compuestos fenólicos, de igual forma presentó el cambio en la prueba de Bornträger tornando una coloración rojo-anaranjado indicando la presencia de antraquinonas (anexo 1, tablas 1 y 2).



## CONCLUSIONES

1. Se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ), por lo cual el rendimiento de extracción obtenido de pigmentos vegetales presentes en el *berry* de fruto de arrayán, difiere significativamente de acuerdo al solvente utilizado.
2. Se considera que la solución de sulfito de sodio a  $pH=9$ , es suficientemente adecuada para obtener un buen rendimiento de extracción, ya que esta provee una capacidad amortiguadora de  $\beta_T=7,12E^{-04}$ , manteniendo la extracción durante 120 minutos en la zona buffer (tabla V, figura 23).
3. La familia de metabolitos secundarios identificada en todas las soluciones extractoras utilizadas fueron los flavonoides (ver tabla XI).
4. Se puede llevar a cabo una extracción controlando su efectividad en el tiempo, si durante el inicio el pH se mantiene en un rango entre el  $pK_2 \pm 1$  (ver figura 23).
5. No existe diferencia significativa en la extracción obtenida en función de las diferentes soluciones salinas, pero si se recomienda mantener la estabilidad de la capacidad buffer del sistema sulfito/bisulfito y del tiempo de extracción requerido.



## RECOMENDACIONES

1. Evaluar otros coadyuvantes buffer para realizar las extracciones, a pH más alcalino para observar si se obtiene mayor rendimiento de extracción.
2. Realizar la aplicación de los extractos vegetales obtenidos, como colorantes o curtientes en fibras vegetales como el algodón y maguey.



## BIBLIOGRAFÍA

1. BADUI, S. *Química de los alimentos*. México: Alambra, 1995. 67 p. ISBN: 9789702606703.
2. BRAVERMAN, J.B.S. *Introducción a la bioquímica de los alimentos*. México: El Manual Moderno, 1980. 45 p. ISBN: 9702606705.
3. CARDONA CABRERA, Carlos. *Evaluación del proceso de blanqueo de la cera de arrayán (Myrica cerífera L.) en suspensión con hipoclorito de calcio (Ca(OCl)2·2H2O) a diferentes concentraciones y valores de pH*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 1994. 65 p.
4. ESTRADA, Héctor. *Evaluación preliminar de la cera extraída del árbol de arrayán. (Myrica lindeliana)*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 1991. 72 p.
5. Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACYT). *Caracterización de las fracciones extractables contenidas en el fruto del palo de cera, palo de arrayán o Palo de cera San Pascual (Myrica cerífera L.)* Proyecto 50-2000. Guatemala: CII/USAC, 2002. 53 p.
6. FULLER, R. Wayne. *Solventes*. Estados Unidos de América: Federación de Sociedades para la Tecnología en pintura, 1967. 51 p.

7. GARCÍA, C. A.; ESTRADA, H. *Evaluación preliminar de la cera extraída del árbol de Arrayán (Myrica cerífera L.)*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 1991. 87 p.
8. GARCÍA, C. A.; HERNÁNDEZ, D. *Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los concretos y cera refinada, obtenidos del fruto de Arrayán (Myrica cerífera L.) Mediante la extracción con solventes orgánicos (etanol y hexano) y agua. (Recolectados de los bosques naturales del área nor-central de Guatemala)*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2003. 95 p.
9. MONZÓN VALDEZ, Víctor. *Evaluación del proceso de blanqueo de la cera del fruto de arrayán (Myrica cerífera) a pH = 5 y diferentes concentraciones de Hipoclorito de Calcio. Ca(OCl)2 y tiempos de contacto*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 1994. 68 p.
10. PÉREZ CARDOZA, Gerson. *Evaluación de la temperatura y tiempo de proceso en el blanqueo de la cera de arrayán (Myrica cerífera) crudo fundido con hipoclorito de Calcio dihidratado Ca(OCl)2H2O2 a nivel de laboratorio*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 1994. 59 p.
11. TREYBAL, Robert. *Operaciones de transferencia de masa*. 2a ed. México: McGraw-Hill, 2001. 845 p. ISBN: 0824704886.

12. SANTIZO RODAS, Ivo Mahelly. *Identificación de familias de metabolitos secundarios en Myrica cerífera*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, 2004. 100 p.

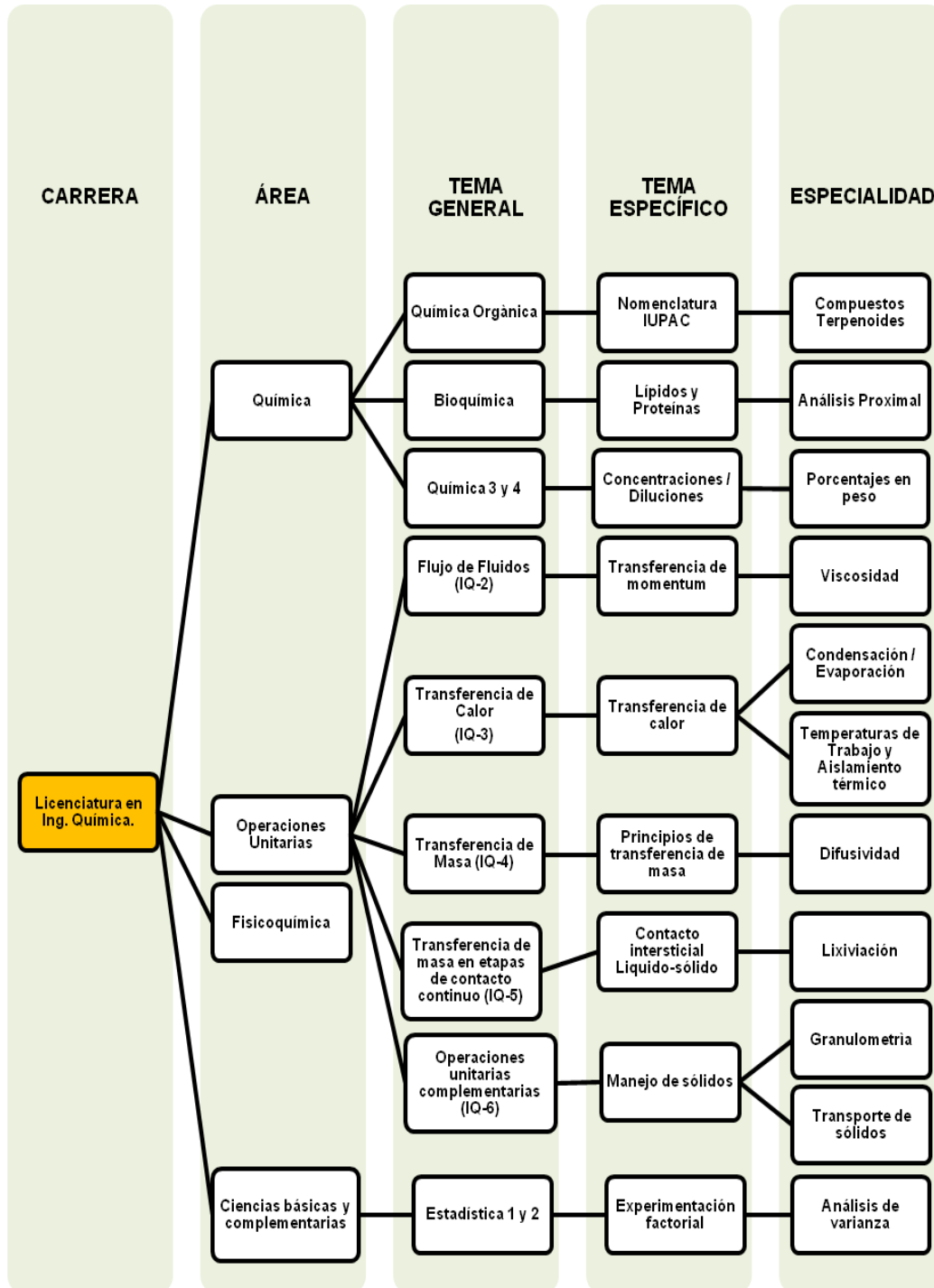




## APÉNDICE 1



## Tabla de requisitos académicos



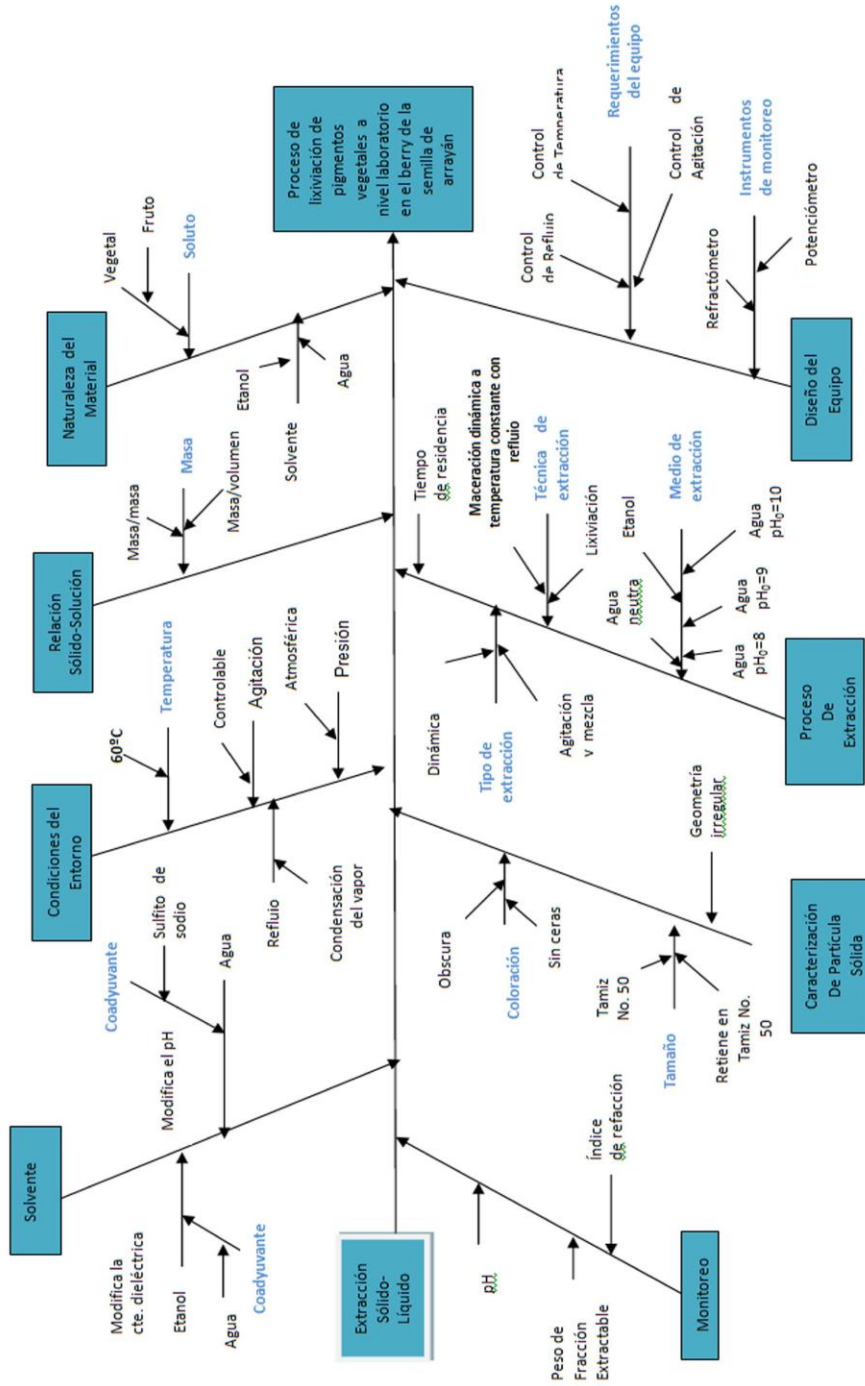
Fuente: elaboración propia.



## APÉNDICE 2



# DIAGRAMA DE ISHIKAWA







## APÉNDICE 3



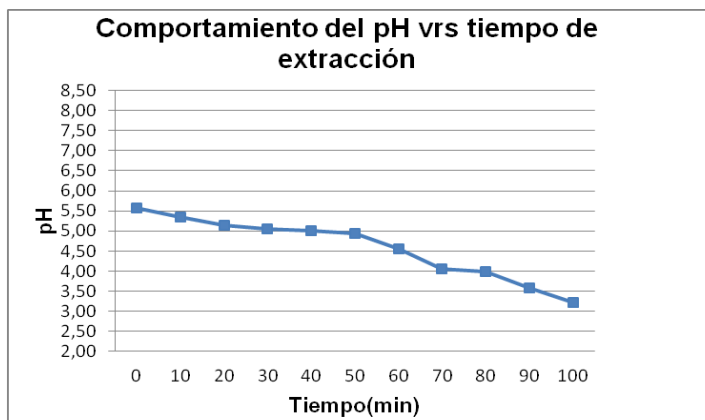
## ANÁLISIS PRELIMINARES

Tabla XIII. **Monitoreo del comportamiento del pH de las extracciones realizadas con etanol 95%**

TIEMPO (min)	REPETICIÓN agua a pH=7					Media
	1	2	3	4	5	
0	6,54	6,45	6,67	6,52	6,48	6,53
20	6,08	6,19	6,35	6,12	6,25	6,19
40	6,05	6,11	6,12	6,09	6,14	6,10
60	5,93	5,98	6,08	5,95	6,05	5,99
80	5,85	5,79	6,00	5,78	5,65	5,81
100	5,45	5,64	5,88	5,48	5,58	5,60
120	5,23	5,31	5,65	5,28	5,34	5,36
140	5,10	5,20	5,38	5,13	5,28	5,21
160	5,07	5,15	5,12	5,05	5,14	5,10

Fuente: tiempo tomado con Cronómetro digital; pH obtenidos de la lectura del potenciómetro H1221 HI223 (pH/mV/ 0C) Bench Meters with calibration check. HANNA instruments Manufacturer since 1978. Hecho en Portugal.

Figura 30. **Monitoreo del comportamiento del pH de las extracciones realizadas con etanol 95%**



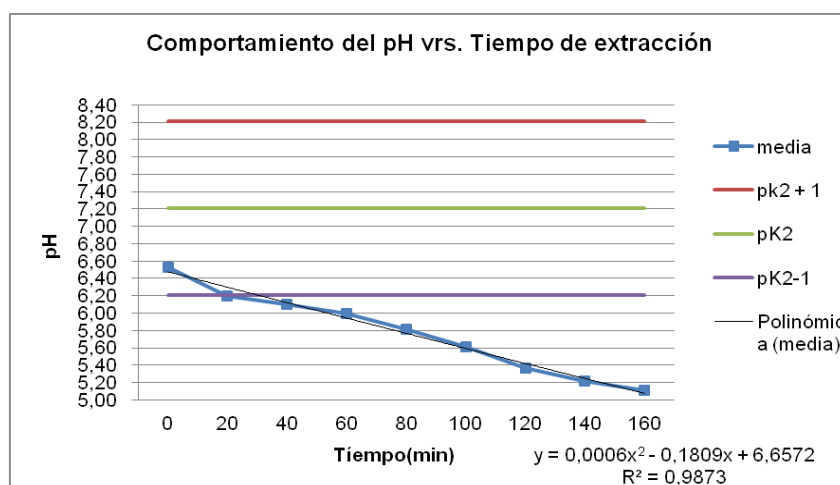
Fuente: datos obtenidos de tabla XII.

Tabla XIV. **Monitoreo del comportamiento del pH de las extracciones realizadas con agua a pHo=7 usando como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso y  $\beta_T=1,67E^{-06}$**

Tiempo (min)	Repetición agua a pHo=8					Media
	1	2	3	4	5	
0	7,52	7,06	7,21	6,73	7,15	7,13
20	6,98	6,19	6,35	6,12	6,25	6,37
40	6,76	6,11	6,12	6,09	6,14	6,24
60	6,48	5,98	6,08	5,95	6,05	6,10
80	6,25	5,79	6,00	5,78	5,65	5,89
100	5,63	5,64	5,88	5,48	5,58	5,64
120	5,55	5,31	5,65	5,28	5,34	5,42
140	5,43	5,20	5,38	5,13	5,28	5,28
160	5,14	5,15	5,12	5,05	5,14	5,12

Fuente: tiempo tomado con Cronómetro digital; pH obtenidos de la lectura del potenciómetro H1221 HI223 (pH/mV/ 0C) Bench Meters with calibration check. HANNA instruments Manufacturer since 1978. Hecho en Portugal.

Figura 31. **Monitoreo del comportamiento del pH de las extracciones realizadas con agua a pHo=7 usando como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso y  $\beta_T=1,67E^{-06}$**



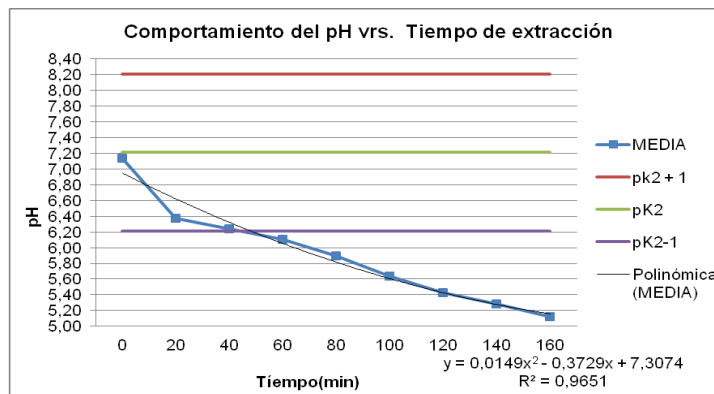
Fuente: datos obtenidos de tabla XIII.

Tabla XV. **Monitoreo del comportamiento del pH de las extracciones realizadas con agua a pHo= 8 usando como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso y  $\beta_T= 3,15E^{-06}$**

Tiempo (min)	Repetición agua a pHo=7					Media
	1	2	3	4	5	
0	6,54	6,45	6,67	6,52	6,48	6,53
20	6,08	6,19	6,35	6,12	6,25	6,19
40	6,05	6,11	6,12	6,09	6,14	6,10
60	5,93	5,98	6,08	5,95	6,05	5,99
80	5,85	5,79	6,00	5,78	5,65	5,81
100	5,45	5,64	5,88	5,48	5,58	5,60
120	5,23	5,31	5,65	5,28	5,34	5,36
140	5,10	5,20	5,38	5,13	5,28	5,21
160	5,07	5,15	5,12	5,05	5,14	5,10

Fuente: tiempo tomado con Cronómetro digital; pH obtenidos de la lectura del potenciómetro H1221 HI223 (pH/mV/ 0C) Bench Meters with calibration check. HANNA instruments Manufacturer since 1978. Hecho en Portugal.

Figura 32. **Monitoreo del comportamiento del pH de las extracciones realizadas con agua a pHo=8 usando como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso y  $\beta_T= 3,15E^{-06}$**



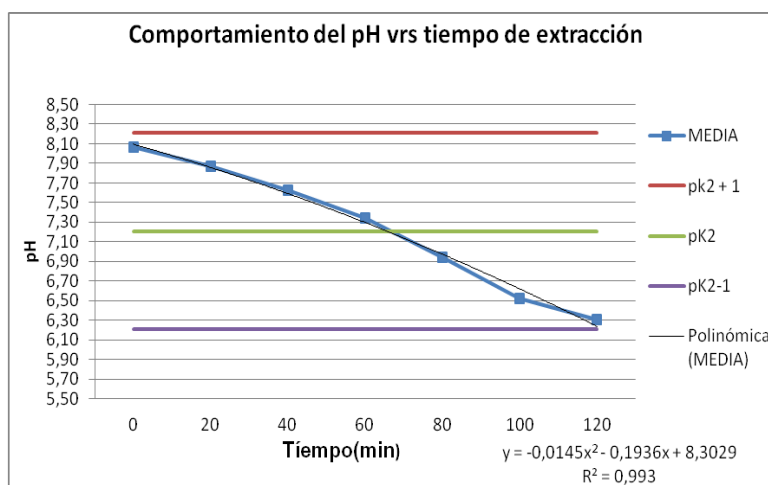
Fuente: datos obtenidos de tabla XIV.

Tabla XVI. **Monitoreo del comportamiento del pH de las extracciones realizadas con agua a pHo= 9 usando como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso y  $\beta_T = 7,12 E^{-04}$**

TIEMPO (min)	REPETICIÓN agua a pHo=9					MEDIA
	1	2	3	4	5	
0	8,45	7,88	7,89	7,91	8,21	8,06
20	8,25	7,72	7,73	7,83	7,80	7,86
40	7,68	7,68	7,40	7,68	7,69	7,62
60	7,34	7,54	6,85	7,52	7,48	7,34
80	7,18	6,96	6,72	6,86	6,97	6,93
100	6,85	6,51	6,38	6,45	6,43	6,52
120	6,28	6,31	6,25	6,30	6,38	6,30

Fuente: tiempo tomado con Cronómetro digital; pH obtenidos de la lectura del potenciómetro H1221 HI223 (pH/mV/ 0C) Bench Meters with calibration check. HANNA instruments Manufacturer since 1978. Hecho en Portugal.

Figura 33. **Monitoreo del comportamiento del pH de las extracciones realizadas con agua a pHo=9 usando como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso y  $\beta_T = 7,12E^{-04}$**



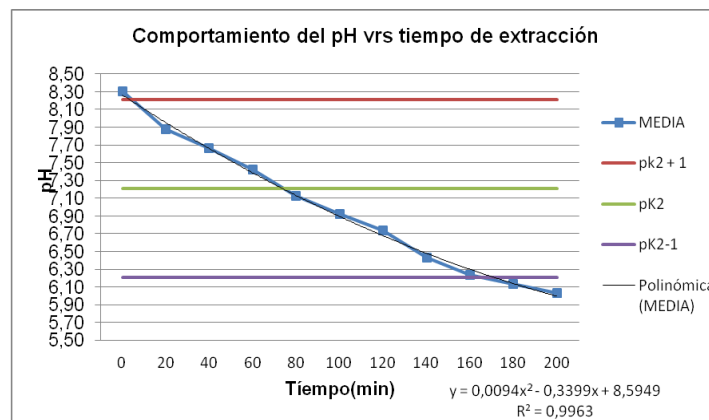
Fuente: datos obtenidos de tabla XV.

Tabla XVII. **Monitoreo del comportamiento del pH de las extracciones realizadas con agua a pHo= 10 usando como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso y  $\beta_T = 1,67E^{-03}$**

TIEMPO (min)	REPETICIÓN agua a pHo=10					Media
	1	2	3	4	5	
0	8,07	8,90	8,50	7,93	8,10	8,30
20	7,87	7,90	7,83	7,85	7,92	7,87
40	7,60	7,84	7,24	7,78	7,87	7,66
60	7,55	7,68	7,14	7,25	7,48	7,42
80	7,40	7,08	6,98	6,98	7,19	7,12
100	6,89	7,00	6,79	6,89	7,05	6,92
120	6,75	6,75	6,65	6,75	6,78	6,73
140	6,50	6,47	6,49	6,43	6,25	6,42
160	6,34	6,23	6,25	6,25	6,10	6,23
180	6,20	6,18	6,12	6,15	6,03	6,13
200	6,10	5,95	6,05	6,09	5,98	6,03

Fuente: tiempo tomado con Cronómetro digital; pH obtenidos de la lectura del potenciómetro H1221 HI223 (pH/mV/ OC) Bench Meters with calibration check. HANNA instruments Manufacturer since 1978. Hecho en Portugal.

Figura 34. **Monitoreo del comportamiento del pH de las extracciones realizadas con agua a pHo=10 usando como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso y  $\beta_T = 1,67E^{-03}$**



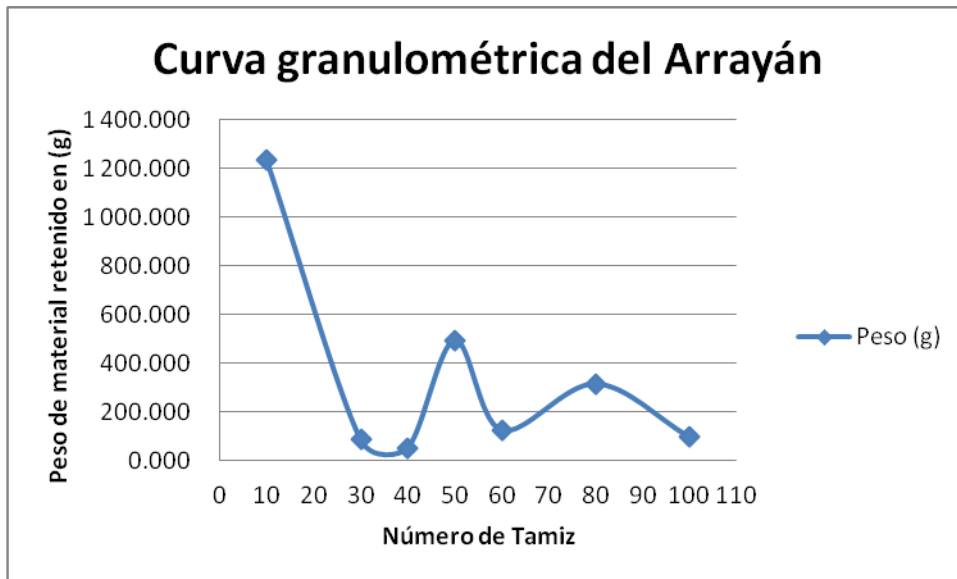
Fuente: datos obtenidos de tabla XVI.

Tabla XVIII. **Curva granulométrica del tamizaje del Arrayán**

Tamiz No.	Mesh	Peso (g)
10	2 mm	1 233,50
30	600 µm	87,50
40	425 µm	52,00
50	300 µm	494,50
60	250 µm	127,00
80	212 µm	316,50
100	149 µm	98,00

Fuente: datos obtenidos de balanza digital marca Kingship SW-1.5 capacity: 1,5 Kg \* 0,5 g.

Figura 35. **Curva granulométrica del Arrayán**



Fuente: datos obtenidos de tabla XVII, curva granulométrica del tamizaje del Arrayán.

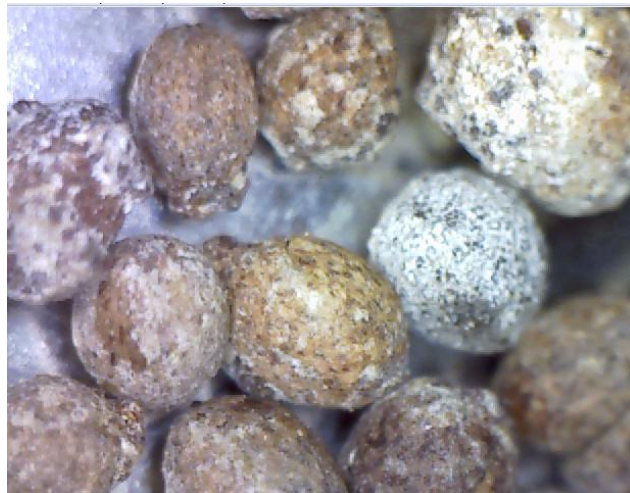


Figura 36. **Fotografía de aumento del palillo del palo de Arrayán**



Fuente: fotografía tomada con el microscopio digital, DIGIMICR 1,3MP, con aumento de 400x, tamaño 110 MM (L) X 33 MMM(R).

Figura 37. **Fotografía de aumento material retenido en el tamiz No.10 (2 mm) del palo de Arrayán**



Fuente: fotografía tomada con el microscopio digital, DIGIMICR 1,3MP, con aumento de 400x, tamaño 110 MM (L) X 33 MMM(R).

Figura 38. **Fotografía de aumento material retenido en el tamiz No.30 (600  $\mu$ m) del palo de Arrayán**



Fuente: fotografía tomada con el microscopio digital, DIGIMICRO 1,3MP, con aumento de 400x, tamaño 110 MM (L) X 33 MMM(R).

Figura 39. **Fotografía de aumento material retenido en el tamiz No.40 (425  $\mu$ m) del palo de Arrayán**



Fuente: fotografía tomada con el microscopio digital, DIGIMICRO 1,3MP, con aumento de 400x, tamaño 110 MM (L) X 33 MMM(R).

Figura 40. **Fotografía de aumento material retenido entre los tamices (- No.50, + No.60) (300  $\mu$ m) del palo de Arrayán**



Fuente: fotografía tomada con el microscopio digital, DIGIMICRO 1,3MP, con aumento de 400x, tamaño 110 MM (L) X 33 MMM(R).

Figura 41. **Fotografía de aumento material retenido en el tamiz No.60 (250  $\mu$ m) del palo de Arrayán**



Fuente: fotografía tomada con el microscopio digital, DIGIMICRO 1,3MP, con aumento de 400x, tamaño 110 MM (L) X 33 MMM(R).

Figura 42. **Fotografía de aumento material retenido en el tamiz No.80 (212  $\mu$ m) del palo de Arrayán**



Fuente: fotografía tomada con el microscopio digital, DIGIMICRO 1,3MP, con aumento de 400x, tamaño 110 MM (L) X 33 MMM(R).

Figura 43. **Fotografía de aumento material retenido en el tamiz No.100 (149  $\mu$ m) del palo de Arrayán**



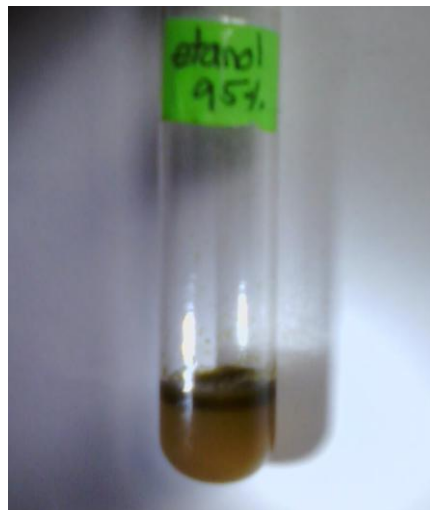
Fuente: fotografía tomada con el microscopio digital, DIGIMICRO 1,3MP, con aumento de 400x, tamaño 110 MM (L) X 33 MMM(R).

Figura 44. **Fotografía de aumento material retenido en el fondo del palo de Arrayán**



Fuente: fotografía tomada con el microscopio digital, DIGIMICRO 1,3MP, con aumento de 400x, tamaño 110 MM (L) X 33 MMM(R).

Figura 45. **Extracto de pigmentos vegetales obtenidos por maceración dinámica usando como solución analítica el etanol 95%**



Fuente: fotografía tomada con cámara marca LG de 2 MP, auto focus.

Figura 46. **Extracto de pigmentos vegetales obtenidos por maceración dinámica usando como solución analítica agua a pH=7 y como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso**



Fuente: fotografía tomada con cámara marca LG de 2 MP, auto focus.

Figura 47. **Extracto de pigmentos vegetales obtenidos por maceración dinámica usando como solución analítica agua a pH=8 y como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso**



Fuente: fotografía tomada con cámara marca LG de 2 MP, auto focus.

Figura 48. **Extracto de pigmentos vegetales obtenidos por maceración dinámica usando como solución analítica agua a pH=9 y como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso**



Fuente: fotografía tomada con cámara marca LG de 2 MP, auto focus.

Figura 49. **Extracto de pigmentos vegetales obtenidos por maceración dinámica usando como solución analítica agua a pH=10 y como coadyuvante sulfito de sodio al 3% en peso**



Fuente: fotografía tomada con cámara marca LG de 2 MP, auto focus.

## MUESTRA DE CÁLCULO

1. Cálculo de la densidad de las soluciones de agua a pH= 7,8,9 y 10:

Para determinar la densidad de la solución es necesario tomar medición de masa y volumen de agua y de solución de sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3%. Se utiliza la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{\text{masa total (g)}}{\text{volumen total (mL)}} \quad [\text{Ecuación 10}]$$

Ejemplo:

Datos obtenidos para la medición de la densidad de la solución de agua a pH=7 usando como coadyuvante una solución de sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3%.

Masa total (agua + solución sulfito de sodio al 3%) = 200,31 g

Volumen total (agua + solución sulfito de sodio al 3%) = 200,65 mL

Utilizando la ecuación 10:

$$\rho = \frac{200,31 \text{ g}}{200,65 \text{ mL}} = \frac{0,9983 \text{ g}}{\text{mL}}$$

2. Cálculo del porcentaje de rendimiento de pigmentos vegetales presentes en el *berry* del arrayán:



Para determinar el rendimiento de extracción se requieren dos datos específicos, el primero es la masa de materia prima utilizada en el proceso extractivo y el segundo es la masa de la oleorresina recuperada, luego se aplica la siguiente ecuación:

$$\% R = \frac{\Delta \text{ peso sólido}}{P_o \text{ sólido}} \times 100 \quad [\text{Ecuación 11}]$$

Donde:

R= rendimiento de extracción (%).

$\Delta$  Peso= La diferencia entre el peso final del extracto y el peso del balón (g).

P<sub>o</sub>= Peso inicial de muestra de *berrys* (g).

Ejemplo:

Datos obtenidos para la determinación del porcentaje de rendimiento de obtenido de la maceración dinámica a pH=10 con temperatura constante de 60°C, para la corrida 1:

P<sub>o</sub> = 2,00 g

Peso final de la muestra= 68,63 g

Peso del balón= 68,28 g

Utilizando la ecuación 11:

$$\% R = \frac{(68,83 - 68,29)}{2,04} \times 100 = 34,66$$

## DATOS CALCULADOS

Tabla XVIII. **Densidad de las soluciones utilizadas como solventes de extracción**

Solvente		Densidad (g/mL)
<b>A g u a</b>	<b>pHo=7</b>	0,9983
	<b>pHo=8</b>	0,9984
	<b>pHo=9</b>	0,9985
	<b>pHo=10</b>	0,9987
<b>Etanol 95%</b>		0,789

Fuente: muestra de cálculo. Apéndice 4.

Tabla XX. **Rendimientos de extracción para cada corrida utilizando como solvente el etanol al 95%**

Corrida	Peso de muestra (g)	Peso de balón+ muestra final (g)	(mL) etanol residual	Densidad del etanol 95% (g/mL)	Peso de etanol (g)	Peso real (g)	% Rendimiento
1	2,00	69,54	1,00	0,789	0,789	68,75	23,28
2	2,04	69,62	1,00	0,789	0,789	68,83	26,72
3	2,00	69,47	1,00	0,789	0,789	68,69	20,13
4	2,01	69,68	1,00	0,789	0,789	68,89	30,11
5	2,00	69,47	1,00	0,789	0,789	68,68	19,81

Fuente: muestra de cálculo. Apéndice 4.

Tabla XXI. Rendimientos de extracción para cada corrida utilizando como solvente agua a pH=7, con solución de sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3%

Corrida	Peso de muestra (g)	Peso de balón+ muestra final	(mL) de solución residual	Densidad $\text{Na}_2\text{SO}_3$ 3% (g/mL)	Peso de solución (g)	Peso real (g)	% Rendimiento
1	2,01	69,84	1,00	0,9983	0,9983	68,84	27,65
2	2,05	69,93	1,00	0,9983	0,9983	68,93	31,55
3	2,00	69,73	1,00	0,9983	0,9983	68,73	22,23
4	2,02	69,97	1,00	0,9983	0,9983	68,97	33,93
5	2,00	69,90	1,00	0,9983	0,9983	68,91	31,00

Fuente: muestra de cálculo. Apéndice 4.

Tabla XXII. Rendimientos de extracción para cada corrida utilizando como solvente agua a pH=8, con solución de sulfito de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  al 3%

Corrida	Peso de muestra (g)	Peso de balón+ muestra final	(mL) de solución residual	Densidad $\text{Na}_2\text{SO}_3$ 3% (g/mL)	Peso de solución (g)	Peso real (g)	% Rendimiento
1	2,01	69,84	1,00	0,9984	0,9984	68,39	1,00
2	2,05	69,93	1,00	0,9984	0,9984	68,41	1,00
3	2,00	69,73	1,00	0,9984	0,9984	68,34	1,00
4	2,02	69,97	1,00	0,9984	0,9984	68,42	1,00
5	2,00	69,90	1,00	0,9984	0,9984	68,39	1,00

Fuente: muestra de cálculo. Apéndice 4.

Tabla XXIII. Rendimientos de extracción para cada corrida utilizando como solvente agua a pH=9, con solución de sulfito de sodio Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> al 3%

Corrida	Peso de muestra (g)	Peso de balón+ muestra final	(mL) de solución residual	Densidad Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> 3% (g/mL)	Peso de solución (g)	Peso real (g)	% Rendimiento
1	2,01	70,07	1,00	0,9985	0,9985	69,04	35,06
2	2,03	69,93	1,00	0,9985	2,9955	66,94	32,97
3	2,01	69,75	1,00	0,9985	1,9970	67,75	33,74
4	2,00	69,84	1,00	0,9985	1,9970	67,85	33,89
5	2,00	69,61	1,00	0,9985	0,9985	68,62	34,26

Fuente: muestra de cálculo. Apéndice 4.

Tabla XXIV. Rendimientos de extracción para cada corrida utilizando como solvente agua a pH=10, con solución de sulfito de sodio Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> al 3%

Corrida	Peso de muestra (g)	Peso de balón+ muestra final	(mL) de solución residual	Densidad Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> 3% (g/mL)	Peso de solución (g)	Peso real (g)	% Rendimiento
1	2,01	69,63	1,00	0,9987	0,9987	68,63	34,66
2	2,03	69,90	3,00	0,9987	2,9961	66,90	32,96
3	2,01	68,94	2,00	0,9987	1,9974	66,94	33,34
4	2,00	69,79	2,00	0,9987	1,9974	67,79	33,86
5	2,00	69,69	1,00	0,9987	0,9987	68,69	34,30

Fuente: muestra de cálculo. Apéndice 4.

## **ANEXO 1**



# RESULTADOS DE TAMIZAJE FITOQUÍMICO

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS  
DE GUATEMALA



FACULTAD DE CC. QQ.  
Y FARMACIA  
EDIFICIO T-12  
Ciudad Universitaria, zona 12  
Guatemala, Centroamérica

Laboratorio de Investigación de  
Productos Naturales (LIPRONAT)

**Análisis:** Tamizaje Fotoquímico  
**Solicitante:** Delmy Paola Estrada Marroquín  
**Fecha:** 04 de Abril de 2011. **No.:** L-20110401

- 1. Técnicas empleadas:**  
Cromatografía en capa fina  
Prueba en Papel  
Prueba en tubos

## 2. Resultados:

### 2.1 Tamizaje fitoquímico:

Se analizaron mediante cromatografía en capa fina, prueba en papel y prueba en tubos 5 extractos de *Myrica cerifera* L. (arrayán) para identificar los metabolitos secundarios presentes en la materia prima, para ellos se utilizó la metodología descrita por LOCK Y WAGNER.

**Tabla No.1:** Prueba en tubos para detección de Antraquinonas

**Especificación:** Prueba de Bornträger; observar cambios de color en la fase alcalina rojo, rosada: POSITIVO

Extracto	Resultado
Etanol 95%	cambió a blanco (-)
pH 7	Sin cambio (-)
pH8	Sin cambio (-)
pH 9	cambió a blanco (-)
pH 10	Cambió a rojo-naranja (+)

**Tabla No.2:** Prueba en tubos para la detección de Taninos

**Especificación:** Observar con gelatina al 1% y gelatina al 1% con NaCl al 10% la formación de precipitado y/o cambio de coloración, con cloruro férrico coloración grisáceo-negro: presencia de catecol; negro-azulado: presencia de pirogalol.

Extracto	Testigo	Gelatina 1%	Gelatina 1%+NaCl 10%	FeCl3
Etanol 95%	Transparente	no hay cambio (-)	no hay cambio (-)	Amarillo fuerte (-)
pH 7	Café pálido, translucido	no hay cambio (-)	no hay cambio (-)	Café verdoso (-)
pH8	Café pálido, translucido	no hay cambio (-)	no hay cambio (-)	Café verdoso (-)
pH 9	Café pálido, translucido	no hay cambio (-)	no hay cambio (-)	Café verdoso (-)
pH 10	Color ladrillo, translúcido	no hay cambio (-)	no hay cambio (-)	Negro azulado (+)



FACULTAD DE CC. QQ.  
Y FARMACIA  
EDIFICIO T-12


Ciudad Universitaria, zona 12  
Guatemala, Centroamérica


posteriormente expuesta bajo la luz UV a 365 nm no presentó fluorescencia de color azul o verde a diferencia de Flavonoides que en los cinco extractos están presentes dando el resultado esperado con la especificación de coloración de las bandas amarillo y verde, se puede identificar la presencia de Ácido clorogénico.

En el caso de los metabolitos de Taninos y Antraquinonas si existió diferencia entre los extractos, como se observa el extracto de *M. cerifera* de pH 10 fue el único que al exponerlo con cloruro férrico cambio de coloración observándose el cambio negro-azulado el cual indica la presencia de compuestos fenólicos, de igual forma presentó el cambio en la prueba de Bornträger tomando una coloración rojo-anaranjado indicando la presencia de antraquinonas.

#### 4. Bibliografía:

- WAGNER, H. et al. (1984). Plant Drug Analysis. Berlin, Springer-Verlag. 320 p.
- LOCK, O. (1994). Investigación Fitoquímica. 2da. Ed. Fondo Editorial. Perú. 300 p.

  
Monica Montengro  
Auxiliar de Laboratorio

  
Licda. Lily Cruz  
Coordinadora de LIPRONAT







**Tabla No.3:** Prueba en papel para la detección de Cumarinas

**Especificación:** Al agregar hidróxido de sodio 0.5N, observar bajo luz UV de 365 nm fluorescencia azul o verde: POSITIVO

Extracto	Resultado
Etanol 95%	negativo
pH 7	negativo
pH8	negativo
pH 9	negativo
pH 10	negativo

**Tabla No.4:** Cromatografía en capa fina para la detección de Flavonoides

**Fase móvil utilizada:** Acetato de etilo-Ácido Fórmico-Ácido Acético Glacial-Agua.

**Revelador:** Reactivo de Productos Naturales (NP/PEG)

**Especificación:** Sin tratamiento químico UV 254 nm fluorescencia, zonas azules o amarillas. UV 365 nm, dependiendo estructura fluorescen amarillo, azul o verde.

**Rf:** Factor de retención, es la medida de la migración de una sustancia determinada en un disolvente dado. Rf: distancia recorrida por la sustancia / distancia recorrida por el disolvente.

Extracto	Resultado luz UV 365 nm	No. De Bandas	Rf	Dictamen
Etanol 95%	Amarillo	1	0.76	Positiva
pH 7	verde	2	0.76, 0.61	Positiva
pH8	verde	2	0.76, 0.61	Positiva
pH 9	verde	2	0.76, 0.61	Positiva
pH 10	verde	2	0.76, 0.61	Positiva
Ácido clorogénico	verde	1	0.76	Positiva

**3. Discusión de Resultados:**

De acuerdo a los resultados obtenidos se observa que en el caso de la materia prima de *M. cerifera* no se observa diferencia entre las muestras de los cinco extractos en la detección de los siguientes metabolitos secundarios: Cumarinas y Flavonoides. En el caso de la detección de Cumarinas los cinco extractos no presentan dicho metabolito debido que en la prueba realizada en papel revelada con hidróxido de potasio 0.5N

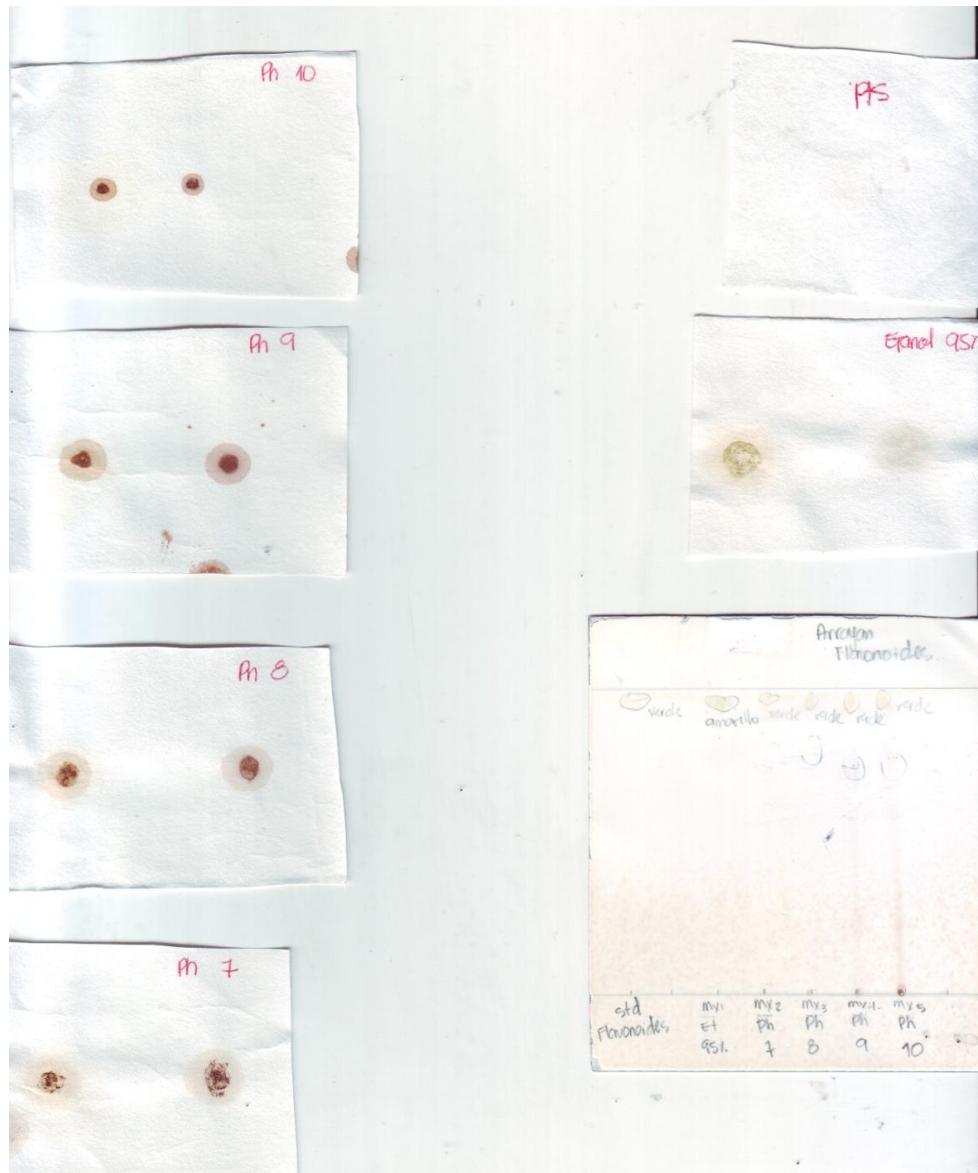


## **ANEXO 2**



## PRUEBAS DE TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Figura 29. Pruebas de tamizaje fitoquímico para determinar familias de metabolitos secundarios presentes con propiedades pigmentables



Fuente: laboratorio de investigación de productos naturales (LIPRONAT).



## **ANEXO 3**





## RESULTADOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Statistix 9.0  
23:29:04

22/03/2011,

### Randomized Complete Block AOV Table for Rendiment

Source	DF	SS	MS	F	P
Bloque	4	72.39	18.098		
Solvente	4	2848.42	712.104	116.02	0.0000
Error	16	98.21	6.138		
Total	24				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

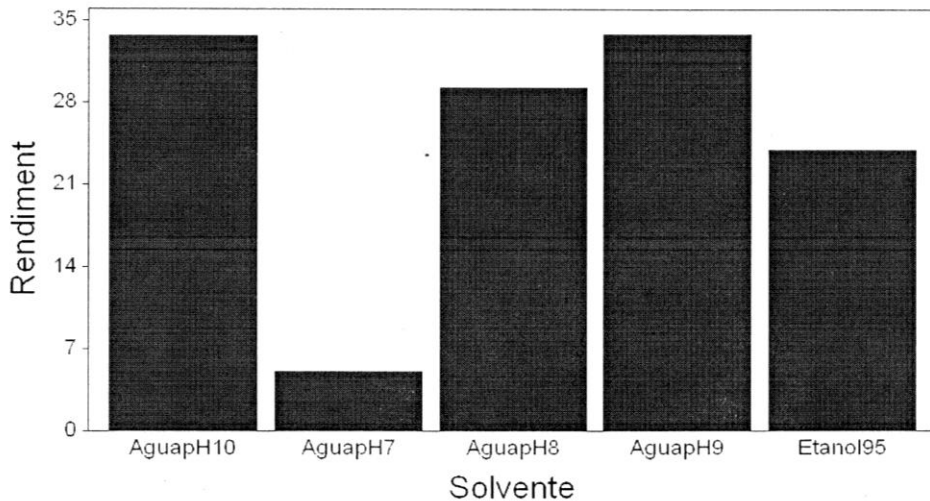
Grand Mean 25.187      CV 9.84

### Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Rendiment for Solvente

Solvente	Mean	Homogeneous Groups
AguapH9	33.842	A
AguapH10	33.720	A
AguapH8	29.272	A
Etanol95	24.010	B
AguapH7	5.090	-C

Alpha                      0.05                      Standard Error for Comparison    1.5669  
 Critical Q Value    4.333                      Critical Value for Comparison    4.8009  
 Error term used: Bloque\*Solvente, 16 DF  
 There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means  
 are not significantly different from one another.

### Means of Rendiment for Solvente



### Diagrama de cajas y alambres

