

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas

Determinación de parámetros experimentales para un modelo de
extracción sólido-líquido de una bebida nutracéutica

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniero Químico

Presentado por:

Oscar Eduardo Patiño Lopez

Ginger Nicole Prado Tutivén

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2022

DEDICATORIA

Esta obra se la dedico a mi madre Beatriz, por el amor, el esfuerzo y las múltiples enseñanzas que me ha brindado a lo largo de mi vida, además de ser esa fuente insaciable de palabras de apoyo para cada día motivarme a ser una mejor persona.

A mi hermano Jonathan, por acompañarme y brindarme su apoyo durante las diversas etapas de la vida, por sus palabras de alimento y motivación diarias.

Finalmente, a aquella persona especial que supo brindarme palabras de apoyo y de motivación en momentos complicados y que me acompañó durante gran parte de esta travesía.

OSCAR EDUARDO PATIÑO LOPEZ

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por brindarme salud y energía durante mi vida, por ser la fortaleza y refugio durante los momentos de adversidad. A mi amiga y compañera Ginger por su apoyo y dedicación incondicional.

Finalmente, un sentido agradecimiento a las PhD. Yris González, PhD (c) Suanny Mosquera e Ing. Alexander Alvarado por el apoyo, aliento y las observaciones realizadas semana a semana, las cuales permitieron terminar con éxito el presente trabajo.

OSCAR EDUARDO PATIÑO LOPEZ

DEDICATORIA

El presente proyecto se lo dedico a mis padres, que a lo largo de mi vida más allá de cualquier tipo de circunstancia, con su amor, paciencia y esfuerzo me han acompañado y ayudado. Les doy las gracias por enseñarme a luchar por mis sueños, por inculcarme el ejemplo de perseverancia, valentía, responsabilidad, de no temer ante cualquier adversidad porque Dios me acompaña y está siempre.

A mis hermanas por su apoyo incondicional durante todo este proceso, por estar conmigo.

Finalmente, a mis amigos porque ha sido un regalo conocerlos. Gracias por el apoyo, por ayudarme, acompañarme y por las alegrías y tristezas del tiempo vivido.

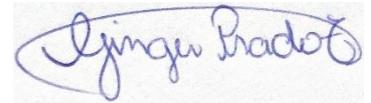
GINGER NICOLE PRADO TUTIVÉN

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Oscar Eduardo Patiño Lopez y Ginger Nicole Prado Tutivén* damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”



Oscar Eduardo Patiño
Lopez



Ginger Nicole Prado
Tutivén

EVALUADORES



Firmado electrónicamente por:
**SUANNY SOPHIA
MOSQUERA ROMERO**

.....
PhD (c). Suanny Mosquera Romero

PROFESOR DE LA MATERIA



Firmado electrónicamente por:
**YRIS KENELMA
GONZALEZ
TRIANA**

.....
PhD. Yris González Triana

PROFESOR TUTOR

**Patricia
Manzano
Santana**

Firmado digitalmente
por Patricia Manzano
Santana
Fecha: 2022.09.28
21:22:40 -07'00'

.....
PhD. Patricia Manzano Santana

PROFESOR TUTOR

RESUMEN

En el desarrollo de nuevos productos o mejoramiento de procesos existentes, se busca reducir el tiempo de experimentación en laboratorio para minimizar gastos tanto económicos como de tiempo. Para esto, se hace uso de herramientas de simulación que permiten representar un proceso de manera realista. Sin embargo, las mismas deben trabajar con datos reales de las materias primas que son parte del proceso. En el presente trabajo, se llevó a cabo la determinación de parámetros experimentales requeridos por un modelo mecanicista desarrollado previamente, para representar la operación de extracción en la elaboración de una bebida nutracéutica. Por ende, se llevó a cabo la elaboración de esta a escala de miniplanta para la cuantificación de polifenoles totales en la fase líquida como sólida mediante la técnica de Folin - Ciocalteu. La densidad de la mezcla sólida y la viscosidad del extracto se obtuvo mediante el método del picnómetro y de un viscosímetro rotacional, respectivamente. Se logró obtener la concentración experimental de polifenoles en ambas fases durante el tiempo de extracción, alcanzando el equilibrio al final de este. Por otra parte, se obtuvo una densidad de sólidos igual a 1.36 g/mL a 25.00°C, mientras que, el extracto de la bebida presentó una viscosidad de 10.83 cP a una temperatura de 31.56°C. Por último, mediante regresión no lineal de los datos experimentales se determinaron las constantes necesarias para validar el modelo, logrando representar la operación de extracción de la manera más realista posible.

Palabras claves: espectrofotometría, método de Folin – Ciocalteu, densidad, viscosidad.

ABSTRACT

In the development of new products or improvement of existing processes, the aim is to reduce the laboratory experimentation time to minimize both economic and time costs. For this purpose, simulation tools are used to represent a process in a realistic way. However, these tools must work with real data of the raw materials that are part of the process. In the present work, the determination of experimental parameters required by a mechanistic model previously developed was conducted to represent the extraction operation in the elaboration of a nutraceutical beverage. Therefore, it was conducted the elaboration of the beverage at mini-plant scale for the quantification of total polyphenols in the liquid and solid phase by means of the Folin-Ciocalteu technique. The density of the solid mixture and the viscosity of the extract were obtained using the pycnometer method and a rotational viscometer, respectively. It was possible to obtain the experimental concentration of polyphenols in both phases during the extraction time, reaching equilibrium at the end of the extraction time. On the other hand, a density of solids equal to 1.36 g/mL at 25.00°C was obtained, while the extract of the beverage presented a viscosity of 10.83 cP at a temperature of 31.56°C. Finally, by means of nonlinear regression of the experimental data, the constants necessary to validate the model were determined, thus representing the extraction operation as realistically as possible.

Key words: *spectrophotometry, Folin-Ciocalteu method, density, viscosity.*

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	I
ABSTRACT	II
ABREVIATURAS.....	VI
SIMBOLOGÍA	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	IIX
CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Descripción del problema	1
1.2 Justificación del problema	2
1.3 Objetivo	3
1.3.1 Objetivo General	3
1.3.2 Objetivos Específicos.....	3
1.4 Marco teórico.....	4
1.4.1 Bebidas nutraceuticas.....	4
1.4.2 Compuestos antioxidantes de la bebida	5
1.4.2.1 Ácido Gálico	5
1.4.2.2 Ácido clorogénico	6
1.4.2.3 Quercetina	6
1.4.3 Métodos de extracción y producción de la bebida nutraceutica.....	7
1.4.4 Modelos matemáticos	8
1.4.5 Curvas de extracción	8
1.4.6 Técnica para la determinación de curvas de extracción	10
1.4.7 Parámetros fisicoquímicos	11
1.4.7.1 Densidad	11
1.4.7.2 Técnicas para la determinación de la densidad.....	12

1.4.7.3	Viscosidad	13
1.4.7.4	Técnicas para la determinación de la viscosidad.....	14
CAPÍTULO 2.....		16
2.	METODOLOGÍA	16
2.1	Definición de caso de estudio.....	17
2.2	Proceso de elaboración de la bebida nutracéutica	17
2.2.1	Localización	17
2.2.2	Materiales, equipos y reactivos.....	17
2.2.3	Procedimiento.....	18
2.3	Comprobación del tamaño de partícula de la materia vegetal seca	19
2.3.1	Localización	19
2.3.2	Materiales, equipos y reactivos.....	19
2.3.3	Procedimiento.....	19
2.4	Toma de muestras y almacenaje.....	20
2.4.1	Localización	20
2.4.2	Materiales, equipos y reactivos.....	20
2.4.3	Procedimiento.....	20
2.5	Determinación de parámetros experimentales	21
2.5.1	Cuantificación de los polifenoles totales expresados en ácido gálico de la bebida nutracéutica elaborada	21
2.5.1.1	Localización.....	21
2.5.1.2	Materiales, equipos y reactivos.....	21
2.5.1.3	Procedimiento.....	21
2.5.2	Determinación de la densidad del sólido.....	22
2.5.2.1	Localización.....	22
2.5.2.2	Materiales, equipos y reactivos.....	22
2.5.2.3	Procedimiento.....	22

2.5.3	Determinación de viscosidad del extracto.....	23
2.5.3.1	Localización.....	23
2.5.3.2	Materiales y equipos.....	23
2.5.3.3	Procedimiento.....	23
CAPÍTULO 3.....		24
3.	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	24
3.1	Resultado y análisis de la elaboración de bebida nutracéutica	24
3.2	Resultado y análisis de la cuantificación de polifenoles en el extracto de la bebida nutracéutica	25
3.3	Resultado y análisis de la densidad del sólido seco.....	29
3.4	Resultado y análisis de la viscosidad experimental de extracto	30
3.5	Validación de modelo matemático.....	31
3.6	Comparación de condiciones de operación.....	34
CAPÍTULO 4.....		37
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	37
4.1	Conclusiones.....	37
4.2	Recomendaciones.....	38
BIBLIOGRAFÍA.....		40
ANEXOS.....		47

ABREVIATURAS

BPM	Buenas Prácticas de Manufactura
CIBE	Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
FCNM	Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas
FC	Folin-Ciocalteau
IR	Infrarrojo
LOPU	Laboratorio de Operaciones Unitarias
SILAB	Servicio Integrado de Laboratorios
SI	Sistema Internacional de Medidas
UV	Ultravioleta
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana

SIMBOLOGÍA

C	Centígrados
cP	Centipoise
ρ	Densidad
d_p	Diámetro de partícula
g	Gramos
Kg	Kilogramos
L	Litros
m	Masa
m^3	Metros cúbicos
μL	Microlitros
μm	Micrómetros
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
nm	Nanómetros
rpm	Revoluciones por minuto
Pa	Pascal
s	Segundos
t	Tiempo
μ	Viscosidad
V	Volumen

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Estructura química del ácido gálico	6
Figura 1.2 Estructura química del ácido clorogénico	6
Figura 1.3 Estructura química de la quercetina	7
Figura 1.4 Curva de extracción global tipo I.....	9
Figura 1.5 Curva de extracción global tipo II.....	9
Figura 1.6 Diagrama esquemático de un espectrofotómetro	11
Figura 1.7 Picnómetro de vidrio	12
Figura 1.8 Diagrama de un viscosímetro rotacional.....	15
Figura 2.1 Diagrama de flujo propuesto para elaboración de bebida nutracéutica	16
Figura 2.2 Diagrama de flujo propuesto para la obtención de los parámetros experimentales de la bebida nutracéutica.....	16
Figura 3.1 Curva de calibración obtenida usando ácido gálico como estándar.	26
Figura 3.2 Concentración de polifenoles obtenida en la fase líquida	28
Figura 3.3 Concentración de polifenoles obtenida en la fase sólida	29
Figura 3.4 Concentración de polifenoles experimental (o) y modelada (–) durante la extracción en la fase líquida	32
Figura 3.5 Concentración de polifenoles experimental (o) y modelada (–) durante la extracción en la fase sólida	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Propiedades de los antioxidantes presentes en la bebida nutracéutica.....	5
Tabla 3.1 Resultados obtenidos en la prueba del tamaño de partícula	25
Tabla 3.2 Concentraciones de polifenoles totales obtenidas en la fase sólida como en la fase líquida	27
Tabla 3.3 Resultados obtenidos en la prueba del picnómetro	29
Tabla 3.4 Resultados obtenidos en la prueba del viscosímetro rotacional	30
Tabla 3.5 Valores obtenidos para la validación del modelo matemático	31
Tabla 3.6 Comparativa de las condiciones de operación.....	34

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Descripción del problema

Hoy en día, el uso de herramientas tecnológicas permite obtener simulaciones realistas de un proceso y reducir los ensayos de laboratorio, logrando minimizar costos y tiempos, además de una proyección fidedigna en cuanto al diseño del proceso. Sin embargo, el problema primordial con el uso de modelos es que se debe contar con las propiedades y características experimentales (curva de extracción, viscosidad de extracto y densidad de sólido) de las sustancias de trabajo, para así representar de manera apropiada el comportamiento real del proceso. El uso de datos erróneos en las simulaciones implicaría representaciones poco precisas, lo que se traduciría en pérdidas económicas. Esta problemática abarca en gran parte a la industria que se dedica a la producción de bebidas nutracéuticas debido a que no se cuenta con un modelo adaptado para representar el proceso.

En el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) se ha elaborado una bebida nutracéutica a partir de *Ilex guayusa*, *Vernonanthura patens* y cascarillas de granos de cacao a nivel de laboratorio. Para la visualización temprana del proceso a nivel piloto se usan simuladores de proceso comercial, que ofrecen una base de componentes y termodinámicas para el sistema en estudio, además permite incorporar las operaciones unitarias requeridas en el proceso de elaboración: secado, triturado, tamizado, extracción sólido – líquido y filtrado.

En primera instancia esta visualización temprana se llevó a cabo a través de una primera aproximación en un simulador comercial desarrollado en el trabajo de Gabela & Villa. En el mencionado trabajo, cada operación unitaria fue representada lo más cercana a la realidad posible. Sin embargo, la operación de extracción se simuló mediante un separador, como un balance de materia, ya que no se pudo considerar la operación de extracción por cargas sólido-líquido regida por fenómenos de transferencia de masa, por lo que no se logró adaptar por completo

a los requerimientos de elaboración de la bebida nutracéutica (Gabela & Villa, 2021).

Posteriormente Lucas & Tenorio desarrollaron un modelo mecanicista para representar apropiadamente la cinética de la extracción sólido – líquido presente en el proceso de elaboración de la bebida. Este modelo se fundamenta en la transferencia de masa y fue acoplado como unidad añadida en el simulador comercial. Además, su desarrollo permitió determinar el tiempo de residencia necesario para alcanzar las especificaciones requeridas en la bebida, y adicionalmente se tomó en cuenta la disolución de sólidos con el disolvente (Lucas & Tenorio, 2022). El modelo permite que se pueda completar la simulación del proceso, previo a su validación mediante datos experimentales correspondiente a la bebida nutracéutica.

Algunas restricciones que se identifican para el desarrollo de este proyecto son, la disponibilidad de la materia prima vegetal como la *Ilex guayusa*, *Vernonanthura patens* y las cáscaras de cacao. Por lo tanto, se convierte en uno de los factores a tomar en cuenta para la elaboración de la bebida. A su vez, el acceso a reactivos, como el estándar de ácido gálico, necesario para la determinación de la concentración de los compuestos de interés durante la operación de extracción representa otra de las limitaciones en la realización de esta obra, debido a que permitirá definir la repetibilidad de los ensayos. Por otra parte, con respecto a los equipos necesarios para la determinación de la densidad de sólidos y viscosidad del extracto no se tienen restricciones, ya que se encuentran disponibles en ESPOL (SILAB, 2022).

1.2 Justificación del problema

En los últimos años a nivel mundial se ha tornado más relevante el mejorar la salud y calidad de vida, ya que la alimentación es una parte esencial; son objetos de estudio todos aquellos alimentos o ingredientes que puedan brindar beneficios para la salud y no ser tan procesados. Un campo poco estudiado en Ecuador es el uso de nutracéuticos, sustancias de origen biológico natural que se pueden

encontrar como componentes de los alimentos o ser agregados, y que previenen enfermedades brindando mejoras para el organismo (Heidy, 2006).

Los simuladores y modelos matemáticos son herramientas que han sido utilizadas para el estudio de la extracción sólido-líquido que se da en el proceso de obtención de una bebida nutracéutica. Adicionalmente, las ventajas de contar con un modelo matemático con data experimental son las siguientes: describe adecuadamente el comportamiento del proceso, permite pronosticar los resultados acordes a determinadas condiciones y optimizar el proceso, buscando reducir costos al escalar un proceso de nivel laboratorio a planta piloto (Garulo, Valencia, Garrido, Yáñez, & Cerón, 2021).

Para el caso de estudio propuesto, la elaboración de la bebida desarrollada por el CIBE se elaboró en estudios previos mediante una simulación del proceso, así como de un modelo que representa la operación de extracción. Ambos trabajos fueron desarrollados en base a bibliografía, ya que no se contaba con la información experimental de este extracto. En esta obra, se propone obtener el extracto de la bebida nutracéutica, para determinar los parámetros experimentales requeridos por el modelo como la concentración de polifenoles a través del tiempo, viscosidad y densidad, logrando así obtener un modelo que permite la simulación completa del proceso, así como una herramienta que a futuro permita escalar el proceso a nivel industrial.

1.3 Objetivo

1.3.1 Objetivo General

Determinar los parámetros experimentales en una bebida nutracéutica mediante técnicas de análisis cuantitativas para la validación de un modelo matemático que representa la operación extracción sólido – líquido.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Elaborar la bebida nutracéutica a nivel de miniplanta mediante el uso de los equipos adecuados para la obtención del producto objeto de estudio.

2. Desarrollar la curva del comportamiento del extracto a través de las concentraciones de polifenoles, así como sus propiedades mediante técnicas de espectrofotometría y pruebas físicas para complementar el modelo matemático
3. Validar el modelo matemático mediante regresión no lineal de los datos experimentales para la evaluación de la respuesta del proceso de extracción sólido – líquido.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Bebidas nutraceuticas

Los suplementos nutraceuticos son compuestos bioactivos que colaboran al equilibrio de las bacterias en nuestro organismo. Se presentan en matriz no alimenticia es decir en cápsulas, comprimidos, o polvos enfocados en prevenir enfermedades (Civeira et al., 2007).

Otra manera de aprovechar las propiedades de estos suplementos es en la elaboración de bebidas o alimentos diseñados a base de hierbas. Por ejemplo, el CIBE desarrolló una bebida nutraceutica a base de extractos acuosos de hojas de *Ilex guayusa*, *Vernonanthura patens*, y residuos de cacao (Paladines et al., 2021).

Una infusión de estos tres tipos de productos vegetales tiene una alta capacidad para detener la producción de radicales libres. Además, pueden aportar beneficios terapéuticos como antioxidantes, fuentes de energía, antiinflamatorios y estimulantes debido que están correlacionados con los siguientes compuestos fenólicos presentes en las materias vegetales: ácido gálico, ácido clorogénico, quercetina, entre otros (Quijano et al., 2021).

A pesar de las oportunidades de mejora para la salud reduciendo costos de atención médica y de aportar al desarrollo económico dentro de una sociedad, se presentan varios desafíos para su producción como las regulaciones nacionales de cada país ya que se pueden presentar problemas legislativos por utilizar

organismos vivos y la poca innovación de la industria de alimentos con respecto a estos compuestos (Mishra, Behera, Kar, & Ray, 2018).

1.4.2 Compuestos antioxidantes de la bebida

Los compuestos de mayor proporción en la bebida son: ácido gálico, ácido clorogénico, quercetina. En la Tabla 1.1 que se detalla a continuación, se presentan algunas de las propiedades de dichos compuestos.

Tabla 1.1 Propiedades de los antioxidantes presentes en la bebida nutracéutica (National Center for Biotechnology Information, 2022).

	Quercetina	Ácido gálico	Ácido clorogénico
Formula molecular	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	C ₇ H ₆ O ₅	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
Masa molecular [g/mol]	302.23	170.12	354.31
Punto de fusión [°C]	205-209	258-265	316-318

1.4.2.1 Ácido Gálico

El ácido gálico es un compuesto polifenólico natural que se lo puede encontrar en bebidas procesadas como vinos tintos y té verde, así como en plantas en forma de ácidos libres, ésteres, y taninos hidrolizables. Es un compuesto altamente estudiado en los últimos años debido a su actividad farmacológica como captadores de radicales libres, además es considerada una molécula líder prometedora para el desarrollo de nuevos fármacos. Se ha demostrado que brinda efectos preventivos y terapéuticos en enfermedades que impliquen estrés oxidativo, enfermedades cardiovasculares, y cáncer (Manish Pal, Avneet, & Siddhraj, 2018).

Adicionalmente, el ácido gálico es de gran utilidad en industrias como la de la piel y del cuero, y en la industria alimenticia debido a que sirve como conservante (Fernandes & Salgado, 2016). El rango de absorbancia en el espectro UV-Visible para este compuesto es de 0 a 0.5 en un rango de longitud de onda de 765 nm (Tadesse, Hymete, Bekhit, & Mohammed, 2015).

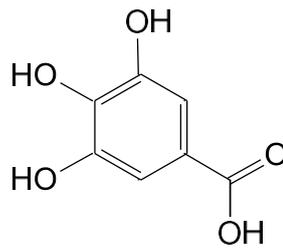


Figura 1.1 Estructura química del ácido gálico

1.4.2.2 Ácido clorogénico

El ácido clorogénico es un tipo de compuesto polifenólico, éster de ácido cafeico y ácido quínico, se encuentra presente en una gran variedad de plantas. Presenta propiedades biológicas, como antiespasmódica y antioxidante, además de inhibir la integrasa del VIH-1 (Gil & Wianowska, 2017). Adicionalmente, este compuesto ha sido utilizado en ensayos que estudian el tratamiento contra el cáncer avanzado y la intolerancia a la glucosa. El rango de absorbancia en el espectro UV-Visible para este compuesto es de 0.55 a 1 en un rango de longitud de onda entre 255 a 331 nm (National Center for Biotechnology Information, 2022a).

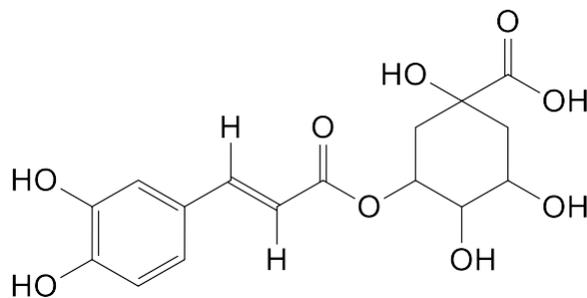


Figura 1.2 Estructura química del ácido clorogénico

1.4.2.3 Quercetina

La quercetina es un compuesto de tipo bioflavonoides, considerado de los más importantes, se pueden encontrar en un sinnúmero de vegetales, granos, frutas y plantas. Este compuesto presenta una importante actividad farmacológica debido a que actúa como anticancerígeno, antiviral, ayuda con

el tratamiento de trastornos alérgicos o metabólicos y enfermedades cardiovasculares (El-Saber Batiha et al., 2020). Además, presenta propiedades antioxidantes, debido que actúa como neutralizador de radicales libres (Vicente, Prieto, & Morales, 2013). El rango de absorbanza en el espectro UV-Visible para este compuesto es de 0.7 a 0.76 en un rango de longitud de onda entre 365 a 407 nm (National Center for Biotechnology Information, 2022b).

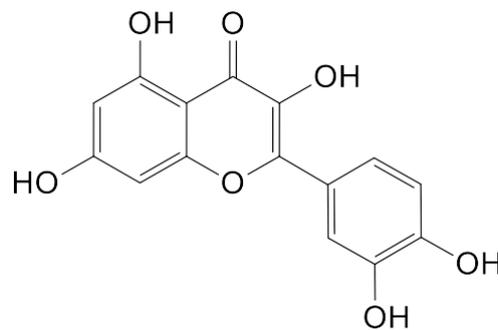


Figura 1.3 Estructura química de la quercetina

1.4.3 Métodos de extracción y producción de la bebida nutracéutica

- I. El proceso desarrollado por el CIBE para la obtención de la bebida nutracéutica que cuenta con materias primas vegetales como: *Ilex guayusa*, *Vernonanthura patens*, y residuos de cacao consta de las siguientes etapas (Chóez, Ruíz, Ruales, & Manzano, 2020):
- II. Secado de las materias primas a 45°C en un horno de bandeja.
- III. Molido de la materia prima seca hasta la obtención de una mezcla fina (180 - 710 µm).
- IV. Tamizado de la mezcla para asegurar que todas las partículas cuenten con el tamaño requerido (500 µm).
- V. El proceso de extracción se realiza en un baño de agua donde se coloca la muestra seca en agua y se utiliza una proporción solvente a sólido 1:10 durante 5 minutos sin mezclar.
- VI. Se filtra el extracto acuoso obtenido en la etapa anterior, utilizando papel Whatman #1.
- VII. El almacenamiento de las muestras se realiza a -17°C para futuros ensayos.

1.4.4 Modelos matemáticos

Los modelos matemáticos son utilizados con frecuencia para desarrollar nuevos procesos químicos y predecir con precisión el comportamiento de los procesos en la industria. Por ejemplo, estos modelos se usan en los siguientes casos: i) establecer nuevas condiciones de operación, ii) producir nuevos productos usando la misma planta y iii) mejorar la calidad del producto final para obtener mejoras en la tasa de producción (McLean & McAuley, 2012).

Su resolución inicia con el planteamiento de las ecuaciones basadas en investigación y asunciones. Estas ecuaciones se resuelven numéricamente usando valores iniciales estimados de los parámetros y de bibliografía o estudios previos. Finalmente se utiliza información experimental que permita modelar los parámetros para validar el modelo (McLean & McAuley, 2012).

1.4.5 Curvas de extracción

La tasa de recuperación de un soluto de interés en una operación de extracción (curva de extracción) es una función no lineal respecto al tiempo. La representación de la tasa de extracción $\left(\frac{\Delta m_{\text{ext}}}{\Delta t}\right)$ o del grado de extracción ($w(t)$) respecto al tiempo o masa del disolvente hace posible la construcción de curvas de extracción, las cuales pueden tener una diversidad de comportamientos dependiendo del proceso analizado (Cavalcanti & Meireles, 2012).

Las curvas globales de extracción pueden ser de tipo I y tipo II, véase en la Figura 1.4 y Figura 1.5. Las curvas tipo I presentan una tasa de extracción que tiende a aumentar constantemente al inicio de la operación, pero va disminuyendo después de cierto periodo de tiempo, debido a que la matriz que contiene el soluto inicialmente presenta un alto contenido de este, y a su vez el solvente puede acceder fácilmente al soluto. En las curvas de tipo II, la tasa de extracción disminuye continuamente durante todo el tiempo de extracción. Este comportamiento se debe al bajo contenido de soluto en la materia prima o a la poca accesibilidad del solvente al soluto (Cavalcanti & Meireles, 2012).

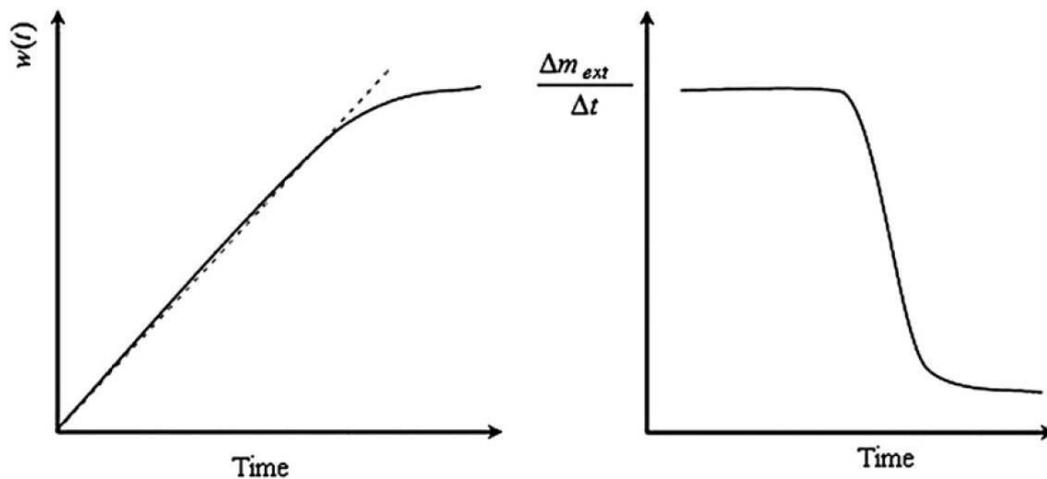


Figura 1.4 Curva de extracción global tipo I

(Cavalcanti & Meireles, 2012)

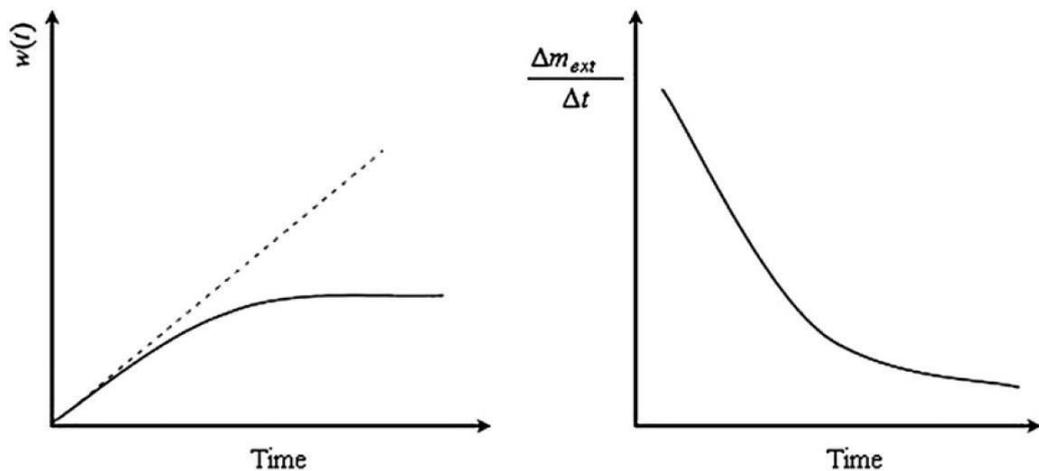


Figura 1.5 Curva de extracción global tipo II

(Cavalcanti & Meireles, 2012)

Estas curvas permiten la generación de ciertos parámetros para lograr una representación adecuada de la cinética de extracción, a su vez contribuye al correcto diseño y dimensionamiento para el escalado de procesos en los que incluye una operación de extracción (Cavalcanti & Meireles, 2012).

En un proceso de extracción se dan una serie de etapas, las cuales se describen a continuación (Cavalcanti & Meireles, 2012):

- i) En la primera etapa de un proceso de extracción sólido – líquido, la tasa de extracción es constante, debido a que en el sólido se encuentra una gran

cantidad de soluto. La transferencia de masa por convección domina esta etapa, en otras palabras, el flujo de solvente controla el proceso.

- ii) En la segunda etapa, la tasa de extracción es decreciente, puesto que se agota el soluto de fácil acceso en la superficie de las partículas. Como no todas las partículas están cubiertas por el soluto, la tasa de transferencia de masa disminuye rápidamente debido a la reducción de la transferencia de masa efectiva. En esta etapa, la resistencia a la transferencia de masa se encuentra tanto en la fase sólida como en la líquida, y los procesos de difusión y convección se vuelven relevantes en la extracción.
- iii) La etapa final, se denomina difusión controlada, y se caracteriza por la ausencia de soluto fácilmente accesible en la superficie de la partícula. La tasa de extracción está controlada mayormente por la difusión del solvente en el interior de las partículas sólidas (Cavalcanti & Meireles, 2012).

1.4.6 Técnica para la determinación de curvas de extracción

Para la obtención de curvas de extracción se utilizan varias técnicas, entre las más comunes se tiene la cromatografía líquida de alta resolución que se utiliza para la separación y determinación de especies en compuestos orgánicos, inorgánicos y biológicos (Skoog, West, Holler, & Crouch, 2015). Otra de las técnicas comúnmente usada es la espectrofotometría, la cual mediante la absorción de energía radiante por parte de las moléculas en una muestra permite la cuantificación y caracterización de diversos compuestos en una solución (Gómez & Tito, 2017).

Espectrofotometría

La espectrofotometría es el estudio de la reflexión o propiedades de transmisión de una sustancia en función de su onda de longitud. Se usa para mediciones cuantitativas que permiten identificar sustancias o medir sus concentraciones en una solución. En algunos casos se busca encontrar la absorbancia absoluta de una sustancia desconocida y en otros, la concentración está relacionada empíricamente con soluciones estándares de concentraciones conocidas (Morris, 2015).

Dependiendo del rango de la onda de longitud se pueden clasificar en:

- I) Espectrofotómetro UV-visible: usa rangos ultravioletas de 185-400nm y rangos visibles entre 400-700 nm de espectro de radiación electromagnética. En la espectrofotometría de rango visible, la absorción o transmisión de las sustancias puede ser determinado por el color final observado.
- II) Espectrofotómetro IR: usa rangos infrarrojos entre 700-15000 nm de espectro de radiación electromagnética (Morris, 2015)

En la Figura 1.6 se puede observar el diagrama esquemático típico de un espectrofotómetro. El procedimiento dentro del equipo inicia cuando se transmite un haz de luz que pasa por un monocromador (prisma), y se divide el haz en diferentes longitudes de onda, el selector de longitud de onda transmitirá únicamente el valor deseado. A continuación, la muestra recibe este valor seleccionado de haz, y mediante el fotodetector se mide la cantidad de fotones absorbidos, finalmente se entrega este resultado a la pantalla digital (Morris, 2015).

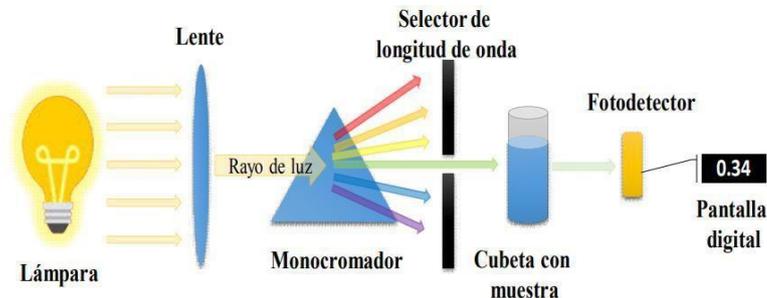


Figura 1.6 Diagrama esquemático de un espectrofotómetro

(R. García, 2018)

1.4.7 Parámetros fisicoquímicos

1.4.7.1 Densidad

Es una propiedad física, misma que no se ve alterada debido a la cantidad de masa de un material, las cuales son también llamadas intensivas, por lo que para un material determinado se mantiene constante la relación entre masa y volumen (ecuación 1.1) (Chang & Goldsby, 2013). No obstante, a medida que se aumenta la masa del objeto el volumen también lo hará y debido a que las sustancias cambian su volumen al enfriarse

o calentarse, esta propiedad dependerá de la temperatura (Brown, LeMay, Bursten, & Burdge, 2004).

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (1.1)$$

1.4.7.2 Técnicas para la evaluación de la densidad de sólidos.

Es una propiedad que puede ser obtenida experimentalmente mediante el principio de Arquímedes el cual hace referencia a la fuerza de impulso que experimenta un fluido cuando un sólido se sumerge total o parcialmente, siendo igual al peso del líquido que se ha desalojado (Mohazzabi, 2017). Otro método para obtenerla es el picnómetro, instrumento que permite determinar la densidad de sólidos homogéneos y de líquidos (Semnani, 2017).

Método del picnómetro

El picnómetro o también llamado botella de gravedad específica, es un frasco el cual posee un tapón provisto de un capilar generalmente fabricado en vidrio, y un volumen interior calibrado por métodos gravimétricos (Obando, 2015).

En sólidos, el método del picnómetro es de alta precisión, se utiliza un líquido de trabajo con densidad conocida y que adicional no sea capaz de presentar disolución con el sólido (Semnani, 2017). La masa del sólido se determina mediante el pesado. Luego, el volumen del sólido en estudio se determina mediante el peso del volumen del líquido que ha sido desplazado por el sólido (Merino, De La Jara, & Gómez, 2013).

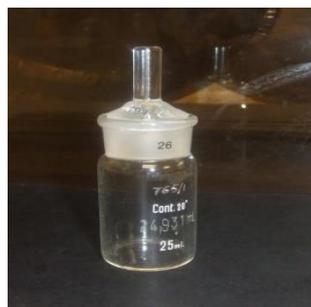


Figura 1.7 Picnómetro de vidrio

(Atarés, 2013)

En un estudio realizado por Durango & Oquendo (2016), se determinó la densidad de pellets hechos a partir de biomasa agroindustrial para la evaluación y caracterización de biocombustibles elaborados a partir de estos. En arreglos con 70% de residuos de coco y 30% de carbón mineral se obtuvo valores de densidad de 1.12 g/mL, mientras que para configuraciones con composiciones de 70% algodón y 30% de carbón el resultado fue de 1.16 g/mL (Durango & Oquendo, 2016).

Resultados similares se obtuvieron en un estudio realizado por Okoye, Awotunde & Morales (2013), donde se determinó la densidad de las partículas de hojas de *Moringa Oleifera*, aplicando el método del picnómetro y usando xileno como fluido de desplazamiento. Se obtuvo un valor de densidad de 1.12 ± 0.007 g/mL (Okoye, Awotunde, & Morales, 2013).

Analizando estos estudios, se espera que para la densidad del sólido a obtener de la bebida nutracéutica sea mayor o igual a 1.12 g/mL.

1.4.7.3 Viscosidad

Se puede definir a la viscosidad como la propiedad que cuantifica la resistencia que presentan ciertas sustancias líquidas a fluir, por lo que mientras más viscoso sea una sustancia esta fluirá más lentamente (Brown et al., 2004). La unidad en el SI de la viscosidad es el Pa*s.

Esta propiedad está íntimamente ligada a las fuerzas intermoleculares presentes en una sustancia, por lo tanto, aquellos líquidos que tienen fuerzas intermoleculares fuertes son más viscosos que aquellos que presentan fuerzas intermoleculares débiles (Chang & Goldsby, 2013). No obstante, a temperaturas altas la viscosidad tiende a disminuir debido a que las moléculas tienen una mayor cantidad de energía cinética y pueden vencer las fuerzas de atracción existente entre ellas (Brown et al., 2004).

En un estudio realizado por Asgharpour, Pouramir & Moghadamnia (2012) se realizó la evaluación de la viscosidad en extractos de plantas

medicinales. La viscosidad más alta se presentó en el extracto proveniente de la *Pyrus bioesseri* con un valor de 1.69 cP, por otra parte, el valor más bajo lo registro el extracto proveniente de la *Securigera Securidaca*, el cual es de 1.46 cP (Asgharpour, Pouramir, & Moghadamnia, 2012).

Otro estudio realizado por Chillagana & Veloz (2019) en el que se determinó la viscosidad dinámica media en un extracto acuoso de mucílago de yausabara, utilizando 10 configuraciones distintas en el tiempo, la relación sólido-solvente y el tamaño del triturado en la operación de extracción, dio como resultado un límite inferior de 11.70 cP y un límite superior de 80.8 cP, los cuales muestran un intervalo de confianza del 95% y un valor de R^2 de 0.995 (Chillagana & Veloz, 2019).

De acuerdo con las características del extracto de la bebida nutracéutica, se espera obtener un rango de 1.46 - 11.70 cP, con un máximo posible de 80.80 cP.

1.4.7.4 Técnicas para la determinación de la viscosidad

La determinación de la viscosidad de una sustancia se puede realizar mediante el uso de viscosímetros capilares o rotacionales. Los capilares son de utilidad en la determinación de viscosidad de fluidos de baja viscosidad como agua, solventes orgánicos o soluciones muy diluidas (Lewis, 1990), mientras que los rotacionales permiten medir la viscosidad o caracterizar las propiedades viscoelásticas de un fluido tanto newtoniano como no newtoniano. (Sosa & Vertiz, 2021).

Viscosímetro rotacional

Los viscosímetros de tipo rotatorio son equipos que sirven para medir la resistencia del fluido al movimiento. Se componen de un cilindro que gira dentro del envase donde se encuentra la muestra (Galán, 2018). Adicionalmente poseen instrumentos de control, donde al detectar la mínima desviación se corrige, lo que permite controlar de mejor manera las condiciones de operación. Este tipo de métodos, permiten medir la viscosidad

o caracterizar las propiedades viscoelásticas de un fluido tanto newtoniano como no newtoniano (Sosa & Vertiz, 2021).

Es importante añadir, que mientras más grande sea el tamaño de cilindro y la velocidad de rotación se podrán medir las viscosidades desde 15 mPa/s, en contraparte, mientras más pequeño sea el cilindro y la velocidad de rotación se podrán medir las viscosidades en el rango máximo hasta 60,000,000 mPa/s (González, 2009).

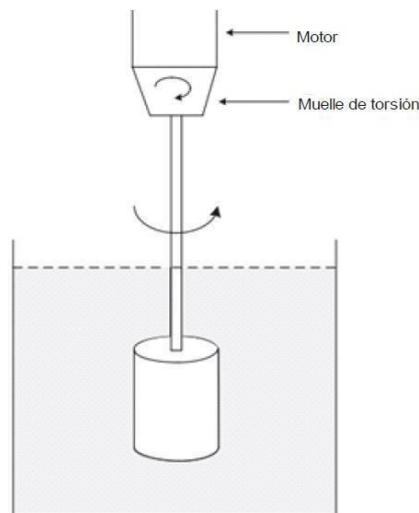


Figura 1.8 Diagrama de un viscosímetro rotacional

(Sosa & Vertiz, 2021)

Los viscosímetros rotacionales generan tres magnitudes de relevancia después de la experimentación, las cuales son, el gradiente de velocidad proporcionado por la velocidad del cilindro giratorio, el esfuerzo de cizalla medido por la torsión y la temperatura que es proporcional a la viscosidad de la sustancia (Galán, 2018).

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

Para cumplir el propósito del presente trabajo se desarrolló una metodología la cual consiste en dos etapas: 1) Elaboración del extracto de la bebida nutracéutica a escala de miniplanta (Véase Figura 2.1), y 2) Obtención de parámetros experimentales del extracto de la bebida (véase Figura 2.2).

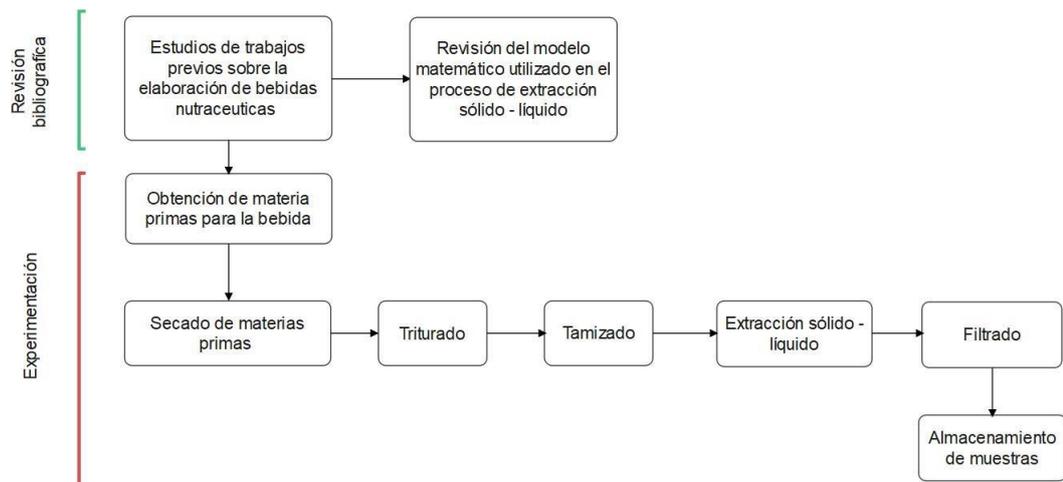


Figura 2.1 Diagrama de flujo propuesto para elaboración de bebida nutracéutica

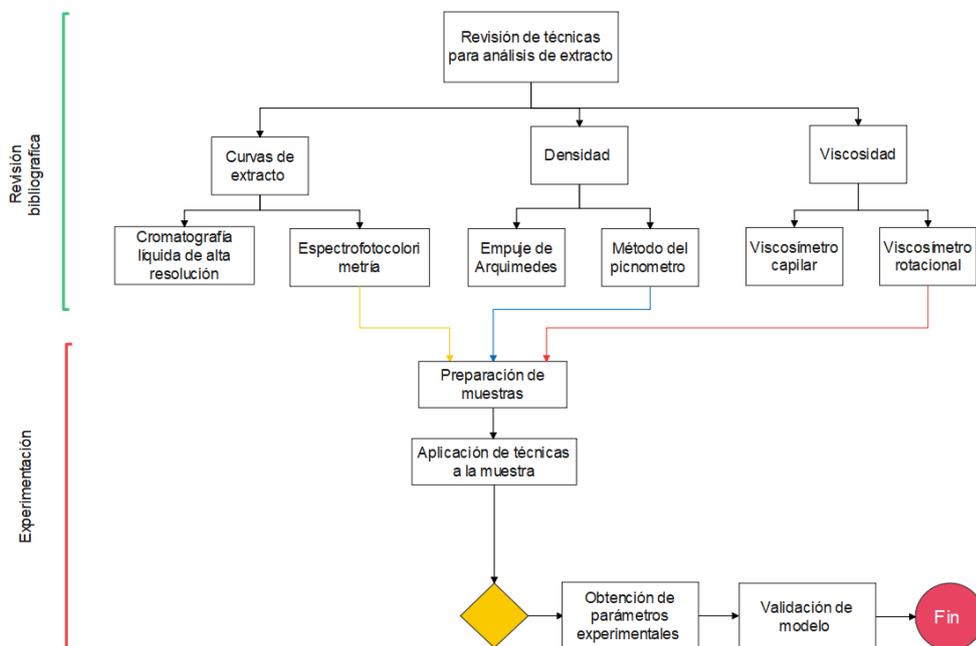


Figura 2.2 Diagrama de flujo propuesto para la obtención de los parámetros experimentales de la bebida nutracéutica

2.1 Definición de caso de estudio

Inicialmente se llevó a cabo la revisión de trabajos previos sobre la elaboración de la bebida nutracéutica desarrollada por el CIBE a escala laboratorio, así como, las técnicas apropiadas para la posterior determinación de los parámetros experimentales requeridos. En adición, se revisó el modelo matemático desarrollado por Lucas & Tenorio para la operación de extracción sólido – líquido presente en el proceso (Lucas & Tenorio, 2022).

Posteriormente se realizó el montaje de una línea de producción a escala de miniplanta con el objetivo de producir la bebida. En primera instancia, se obtuvo la materia prima vegetal para luego ser sometida a las diferentes operaciones involucradas en el proceso, entre las cuales tenemos: secado, triturado, tamizado, extracción y filtrado. Luego, se tomó muestras del extracto de la bebida nutracéutica, y se almacenaron a condiciones específicas de temperatura para preservar sus propiedades antioxidantes.

A continuación, se construyó la curva de concentración de los polifenoles durante el proceso de extracción en la fase líquida como sólida. Además, se llevó a cabo la estimación de la viscosidad del extracto y la densidad de la materia vegetal seca. Por último, a partir de los resultados experimentales, se realizó una regresión no lineal para determinar las constantes necesarias y validar el modelo desarrollado por Lucas & Tenorio (2022).

2.2 Proceso de elaboración de la bebida nutracéutica

2.2.1 Localización

El extracto de la bebida nutracéutica se elaboró en el Laboratorio de escalado de productos naturales y nutracéuticos, el cual pertenece al CIBE, ubicada en Guayaquil – Ecuador.

2.2.2 Materiales, equipos y reactivos

Durante el proceso de producción del extracto de la bebida nutracéutica se utilizaron los siguientes equipos: Horno de convección (VWR ScientificProducts),

molino, tamiz mecánico con tamaño de poro de 0.5 mm, digestor, papel filtro Whatman No 1 (Chóez et al., 2020). Las materias primas usadas fueron *Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa*, residuos de cacao y agua. La metodología seguida se describe a continuación:

2.2.3 Procedimiento

Secado

Se alimentó la materia prima al horno, las composiciones másicas de materias primas (*Vernonanthura patens*, *Ilex guayusa*, residuos de cacao), fueron suministradas por el CIBE debido a que se compone como un secreto industrial. Se procedió a eliminar el agua libre presente en la materia vegetal, mediante fenómenos de masa y calor para aumentar su estabilidad tanto química como microbiológica. Esta operación se realizó a 45°C durante 24 horas con el objetivo de obtener una materia prima con una humedad menor al 12% (Chóez et al., 2020).

Molienda

En esta etapa se redujo el tamaño de la materia vegetal seca obtenida en la etapa anterior, ya que afecta de forma indirecta al producto final y además ayuda a incrementar el área de superficie. Se usó un molino mecánico y se obtuvo un tamaño de partícula entre 180 - 710 μm (Chóez et al., 2020).

Tamizado

En esta etapa se realizó la separación de la materia vegetal de diferente tamaño, obteniendo así el tamaño adecuado para el proceso posterior además de homogenizar el flujo del sólido que se ingresó al proceso de extracción. Se filtró a través de una membrana con tamaño de poro de 500 μm (Chóez et al., 2020).

Extracción sólido – líquido

Para la operación extracción sólido-líquido se usó como solvente, agua y la relación solvente-sólido fue de 1:10, es decir 100 gramos de materia prima con 10 litros de solvente. Inicialmente se alimentó el solvente al digestor, el cual se calentó hasta que alcanzó su punto de ebullición (100°C).

Posteriormente se procedió a estabilizar el sistema a una temperatura de 60°C. Inmediatamente después, se adicionó al digestor la materia prima vegetal y se dejó en contacto durante 15 minutos, alcanzando así las especificaciones adecuadas en el extracto de la bebida nutracéutica (Quijano et al., 2021).

Filtrado

Finalmente, se filtró el producto proveniente de la extracción sólido – líquido con la ayuda de un papel filtro Whatman No.1. El objetivo de esta etapa es eliminar el remanente de material vegetal que permanece en el extracto de la bebida nutracéutica al final del proceso (Manzano et al., 2017).

2.3 Comprobación del tamaño de partícula de la materia vegetal seca.

2.3.1 Localización

La prueba para la comprobación del tamaño de partícula de la muestra de sólido seca que se alimentó al digestor se llevó a cabo en el Laboratorio de Operaciones Unitarias (LOPU) de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas perteneciente a la Escuela Superior Politécnica del Litoral ubicado en Guayaquil – Ecuador.

2.3.2 Materiales, equipos y reactivos

Se usaron los siguientes equipos y materiales: balanza (KERN FKB 36KO.5A), tamiz (W.S Tyler RX-812), mallas para polvo fino con tamaños de poro de 425, 212, 80, 50 y 25 μm , vaso de precipitación (Glassco) de 2000 mL, mientras que como materia prima se usó materia vegetal seca.

2.3.3 Procedimiento

En este ensayo se utilizó un tamiz con configuración en cascada descendente para la comprobación del tamaño de partícula de la muestra alimentada al digestor. Se inició armando la cascada descendente con una malla de tamaño de poro de 425 μm , luego de 212, 80, 50 y 25 μm . En segundo lugar, se trasvasaron 189.5 gramos de material seca en un vaso de precipitación, colocándolos sobre la malla superior.

Una vez asegurada la configuración de tamices para evitar la pérdida de material, se procedió a encender el equipo estableciendo como tiempo de operación 10 minutos, y vibración continua. Finalmente, se pesó la cantidad de muestra obtenida en cada uno de los tamices utilizados con la finalidad de cuantificar la materia vegetal seca en los distintos tamaños de poro utilizado.

2.4 Toma de muestras y almacenaje

2.4.1 Localización

La recolección y almacenamiento de muestras se realizó en el Laboratorio de escalado de productos naturales y nutraceuticos del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador perteneciente a la Escuela Superior Politécnica del Litoral ubicado en Guayaquil – Ecuador.

2.4.2 Materiales, equipos y reactivos

Para el almacenaje del extracto de la bebida nutraceutica se usaron los siguientes equipos: congelador horizontal (Indurama CI-400), y viales cónicos plásticos de 2 mL.

2.4.3 Procedimiento

Se tomó una muestra del extracto de la bebida nutraceutica cada 1.5 minutos durante la duración del proceso de extracción sólido-líquido para garantizar que se obtenga información completa del comportamiento de los compuestos de interés en la extracción. Las muestras se depositaron en recipientes de vidrio, debido a que es un material inerte evitando así, la reacción no deseada con el compuesto de interés.

Las muestras tomadas se almacenaron a una temperatura de 4°C, con la finalidad de disminuir en gran medida la degradación térmica de los compuestos bioactivos presentes en la bebida nutraceutica, entre ellos, los polifenoles, compuestos de interés del presente trabajo (Quijano et al., 2021).

2.5 Determinación de parámetros experimentales

2.5.1 Cuantificación de los polifenoles totales expresados en ácido gálico de la bebida nutracéutica elaborada.

2.5.1.1 Localización

La medición de la cantidad de compuestos fenólicos en la bebida nutracéutica se realizó en el Laboratorio de Bioprocesos y Bioproductos ubicado en el CIBE, en la ciudad de Guayaquil – Ecuador.

2.5.1.2 Materiales, equipos y reactivos

Para la determinación de polifenoles totales, los equipos y materiales usados fueron: un lector de microplacas (BioTek Cytation™ 5), y tubos de ensayo de 2 mL. Los reactivos usados fueron estándar ácido gálico con una pureza mayor al 97%, carbonato de sodio (7.5 %v/v) y reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10 v/v) (Viteri, Giordano, Montenegro, & Zacconi, 2021).

2.5.1.3 Procedimiento

Se usó el método de Folin-Ciocalteu (FC) propuesto en un trabajo anterior desarrollado por (Ghareeb et al., 2017), con la mezcla de 20 µL de la muestra de la bebida nutracéutica y 80 µL de solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 7.5% v/v y 100 µL de una solución del reactivo de FC a una relación volumétrica 1:10. La mezcla resultante se dejó incubar por alrededor de 60 minutos a temperatura ambiente (Viteri et al., 2021).

Posterior, se elaboró la curva de calibración de ácido gálico como estándar a diferentes concentraciones 10, 20, 40, 60, 80, 150, 175 y 200 ppm respectivamente, y su consecuente lectura de la absorbancia a una longitud de onda de 760 nm (Viteri et al., 2021), para obtener la regresión lineal del conjunto de datos obtenidos, donde la variable dependiente es la absorbancia y la variable independiente es la concentración.

A continuación, se determinó la absorbancia de las muestras preparadas utilizando un espectrofotómetro UV-Visible con longitud de onda de 760 nm (Viteri et al., 2021). Por último, se determinó la concentración de los polifenoles en la muestra aplicando regresión lineal de la curva de calibración, para posteriormente despejar y calcular la variable independiente. El contenido de total de polifenoles en la muestra analizada se expresó en mg de equivalente de ácido gálico por litro de extracto.

2.5.2 Determinación de la densidad del sólido

2.5.2.1 Localización

La determinación de la densidad del sólido se llevó a cabo en el Laboratorio de Físicoquímica ubicado en Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas (FCNM) perteneciente a la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), ubicada en Guayaquil – Ecuador.

2.5.2.2 Materiales, equipos y reactivos

Se utilizó los siguientes materiales: balanza de precisión (KERN ALJ 250-4AM), picnómetro de 25 mL (Glassco), pipeta volumétrica de 25 mL, probeta de 25 mL, balón volumétrico de 100 mL (DNI), vidrio reloj y espátula. Se utilizó muestra de materia vegetal seca con tolueno.

2.5.2.3 Procedimiento

Se empleó el método del picnómetro haciendo uso de un líquido no soluble. Se tomó el picnómetro vacío, se pesó y se registró como m_0 , posteriormente se introdujo tolueno al picnómetro, la cantidad fue igual a 1/3 del volumen de este, se procedió a pesar y a registrar el valor como m_1 . Luego, se introdujo 2 gramos de la materia vegetal, se pesó y se registró el valor como m_2 . Finalmente, se completó el llenado del picnómetro con tolueno, se llevó a cabo el pesaje y se registró como m_3 (Organisation Internationale de Metrologie Legale, 2011).

Para la determinación de la densidad por este método se utilizó la ecuación 2.1, donde, ρ y ρ_v representan la densidad del sólido y del líquido de trabajo

a la temperatura de medición, V es el volumen de picnómetro (Organisation Internationale de Metrologie Legale, 2011).

$$\rho = 0.99985 \frac{m_2 - m_1}{V - 0.99985 \frac{(m_1 - m_0) - (m_2 - m_3)}{\rho_v - 0.0012}} + 0.0012 \quad \left[\frac{\text{g}}{\text{mL}} \right] \quad (2.1)$$

2.5.3 Determinación de viscosidad del extracto

2.5.3.1 Localización

La determinación de la viscosidad del extracto de la bebida nutracéutica se llevó a cabo en el Laboratorio de Hidrocarburos ubicado en Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas (FCNM) perteneciente a la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), ubicada en Guayaquil – Ecuador.

2.5.3.2 Materiales y equipos

Para la determinación de la viscosidad del extracto se utilizó como materiales un viscosímetro rotacional (Brookfield RVDV-II+P); vaso de precipitación de 1000 mL (Multiciencias del Ecuador), y como reactivo se usó el extracto de la bebida nutracéutica.

2.5.3.3 Procedimiento

Inicialmente se tomaron 700 mL de extracto de la bebida nutracéutica y se la transfirió a un vaso de precipitación de 1000 mL. Se seleccionó el husillo con mayor diámetro de cilindro (S01) apretando el botón “Select Spindle”. Se configuró el viscosímetro a una velocidad de agitación de 100 rpm en el botón “Set Speed”. La muestra del extracto se colocó en el vaso de precipitación y se midió la viscosidad al iniciar el equipo mediante la opción “Motoron/off”.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Resultado y análisis de la elaboración de bebida nutracéutica

En primera instancia, el extracto de la bebida nutracéutica se planificó producir a escala piloto, pero la producción a esta escala presentó inconvenientes debido a una falla estructural del molino previsto para llevar a cabo la operación de triturado de la materia vegetal seca. La falla en la estructura implicaba una alta vibración de los componentes que conforman el equipo, lo cual generaba un riesgo en la seguridad física de los operarios. Por lo que, se procedió a disminuir la escala del proceso y llevar la producción de la bebida a escala de miniplanta.

Para la producción del extracto a escala de miniplanta se usó materia vegetal provista por el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), la cual ya se encontraba seca y triturada, por lo que se procedió a comprobar el tamaño de partícula de esta. La comprobación consistió en hacer pasar la muestra sólida por un tamiz con una configuración en cascada, teniendo en la parte superior una malla con tamaño de poro de 425 μm mientras que en el fondo se tenía una con poro de 25 μm . En esta prueba, se mantuvo una vibración constante durante 10 minutos.

En la Tabla 3.1 se puede observar los resultados obtenidos en la prueba para la comprobación del tamaño de partícula de la materia vegetal seca proporcionada. Así pues, del total de la muestra analizada, se obtuvo que alrededor del 44.60% de la misma presentó un tamaño de poro menor a 425 μm y mayor a 212 μm , mientras que apenas el 3.15% de la muestra poseía un tamaño de poro menor a 25 μm . Por lo tanto, se tiene que toda la materia vegetal sólida proporcionada cuenta con un diámetro de partícula menor a 500 μm . Adicionalmente no fue posible llevar un análisis diferencial de tamizado propuesta por (McCabe, Smith, & Harriot, 1991) y determinar el diámetro de partícula promedio, debido a la rigidez del análisis puesto que no se contaba con los serie de tamices completos en el Laboratorio de operaciones unitarias. Se contaba con 5 tamices de los 8 necesarios para completar

la serie, siendo estos los tamices No. 40, 70, 80, 100 y 120, con un tamaño de malla de 425, 212, 80, 50 y 25 μm respectivamente.

Tabla 3.1 Resultados obtenidos en la prueba del tamaño de partícula

Diámetro partícula [μm]	masa [g]	Porcentaje [%]
$d_p > 425$	38.50	20.32%
$425 < d_p < 212$	84.50	44.59%
$212 < d_p < 80$	26.00	13.72%
$80 < d_p < 50$	20.50	10.82%
$50 < d_p < 25$	14.00	7.39%
$d_p < 25$	6.00	3.17%

Adicionalmente la operación de extracción para la obtención de la bebida nutracéutica constó de una sola etapa, ya que se puso en contacto una única carga de sólidos y solvente fresco. Finalmente, se obtuvieron dos salidas: el extracto y los residuos vegetales desgastados (Chanioti, Liadakis, & Tzia, 2014).

La agitación en el sistema se realizó manualmente, por lo que no se pudo mantener constante durante la operación. Adicionalmente, el control de la temperatura se realizó con una termocupla, debido a que no se contaba un sistema automático para la medición y control de este parámetro, lo cual impidió mantener una temperatura fija durante la extracción.

3.2 Resultado y análisis de la cuantificación de polifenoles en el extracto de la bebida nutracéutica

Las muestras tomadas durante el proceso de extracción fueron analizadas con el fin de determinar la cantidad de polifenoles presentes, por lo que se utilizó el método de Folin - Ciocalteu. En este método se provocó una reacción de reducción-oxidación entre los polifenoles presentes en el extracto de la bebida y el reactivo de FC, a pH básico. El reactivo de FC inicialmente presentó una coloración amarilla, ya que en su composición están presentes el ácido fosfotúngstico y el ácido fosfovanádico. A causa del ambiente básico los polifenoles del extracto formaron iones fenolatos los cuales redujeron al reactivo de FC, formando complejos de vanadio que presentaron coloración azul - verdosa y su intensidad varió dependiendo de la cantidad de polifenoles contenidas en la muestra. A las muestras

coloreadas se les determinó la absorbancia mediante espectrofotometría UV-Visible (E. García, Fernández, & Fuentes, 2015).

En la Figura 3.1 se puede observar la curva de calibración obtenida mediante espectrofotometría de UV-Visible, con la cual se determinó la concentración de los polifenoles totales en las muestras del extracto de la bebida nutracéutica. Se utilizó como estándar el ácido gálico y se utilizaron soluciones que iban desde las 10 a las 200 ppm de ácido gálico respectivamente. Adicionalmente, se logró conseguir la regresión lineal de los puntos obtenidos en la curva de calibración, obteniendo un valor de $R^2 = 0.9909$, lo cual indica un buen ajuste de los datos experimentales con la ecuación lineal obtenida.

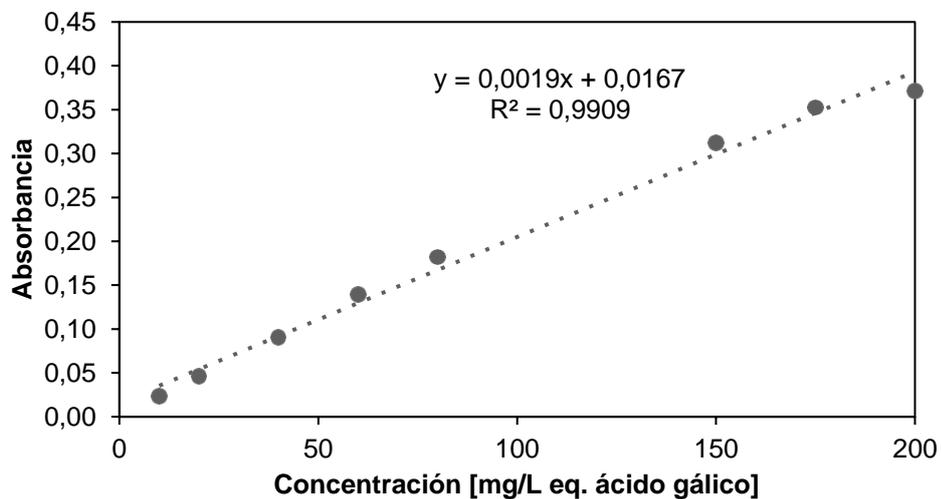


Figura 3.1 Curva de calibración obtenida usando ácido gálico como estándar.

El Anexo A.1 muestra los valores de absorbancia de las muestras obtenidos del espectrofotómetro UV-Visible, así como la varianza y desviación estándar en cada una de las mediciones. Los valores obtenidos en estas variables estadísticas nos indican que los datos experimentales presentan poca desviación con respecto a la media aritmética. El ensayo se realizó por triplicado, es decir, que se tomaron tres lecturas de absorbancia para cada muestra con la finalidad de aumentar la fiabilidad de los datos.

En la Tabla 3.2 se puede observar la concentración de polifenoles durante el tiempo de extracción tanto en la fase líquida como en la sólida, así como la

desviación estándar entre las mediciones. La concentración de la fase líquida se determinó mediante el uso de la curva de calibración usando ácido gálico como estándar. Por otro lado, para la concentración de polifenoles en la fase sólida, se realizó mediante un balance de materia propuesto en un trabajo de Bonfigli, Godoy, Reinheimer, & Scenna (2017). En el mismo, se usaron correlaciones entre la concentración en la fase líquida, volumen del sólido y del solvente (Bonfigli, Godoy, Reinheimer, & Scenna, 2017).

Tabla 3.2 Concentraciones de polifenoles totales obtenidas en la fase sólida como en la fase líquida.

Tiempo [min]	Fase Líquida		Fase Sólida	
	Concentración [mg/L]		Concentración [mg/L]	
	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar
0.000	0.000	0.000	32238.425	0.000
1.500	174.719	12.917	8388.611	1754.636
3.000	215.070	2.191	2907.416	297.653
4.500	211.035	1.096	3455.536	148.826
6.000	213.667	4.088	3098.066	555.325
7.500	198.053	3.287	5219.050	446.479
9.000	212.965	1.215	3193.392	165.108
10.500	225.947	6.574	1429.877	892.958
12.000	222.088	4.476	1954.165	608.048
13.500	224.719	6.323	1596.696	858.918
15.000	231.035	7.669	738.770	1041.784

Para la fase líquida, la concentración promedio de los polifenoles totales alcanza un valor de 215 mg/L durante los primeros tres minutos de operación, y una concentración de 231 mg/L al final del tiempo de operación. Por otro lado, para fase sólida, durante los tres primeros minutos iniciales la concentración promedio de polifenoles disminuye hasta los 2907mg/L, mientras que al final de la operación quedan 738 mg/L de compuestos fenólicos.

Por lo tanto, la curva de extracción en la elaboración de la bebida nutracéutica es de tipo I, debido al rápido aumento de la concentración de los polifenoles presentes en la bebida durante los primeros tres minutos de extracción. Puesto que en la matriz sólida hay una alta cantidad de soluto (2.37 g de polifenoles por cada

100 g de sólido), el solvente puede acceder con mayor facilidad al mismo, lo que incrementa en gran medida la transferencia de masa hacia la fase líquida, adicionalmente la resistencia entre fases en esta etapa es despreciable. En este periodo de tiempo, la transferencia de masa se ve regida a la cantidad de solvente presente para la extracción, es decir se encuentra controlada por la convección (Cavalcanti & Meireles, 2012).

A partir del tercer minuto, el soluto se encuentra en poca cantidad en la matriz sólida, por lo que no tendrá contacto directo con el solvente, disminuyendo así la razón de transferencia de los polifenoles desde el sólido hacia la fase líquida. Es decir, la resistencia entre las fases deja de ser despreciable, y tanto la difusión como la convección pasan a ser factores relevantes en el proceso de extracción (Cavalcanti & Meireles, 2012).

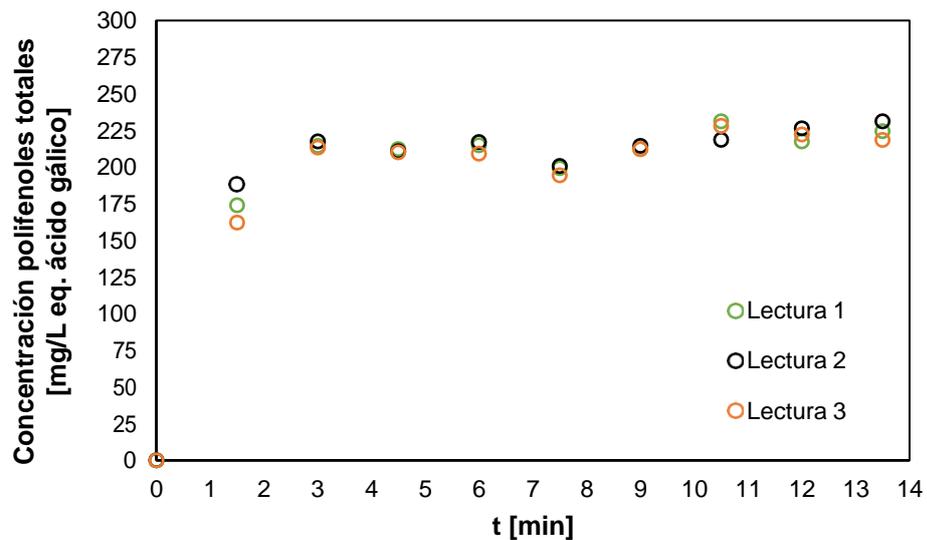


Figura 3.2 Concentración de polifenoles obtenida en la fase líquida.

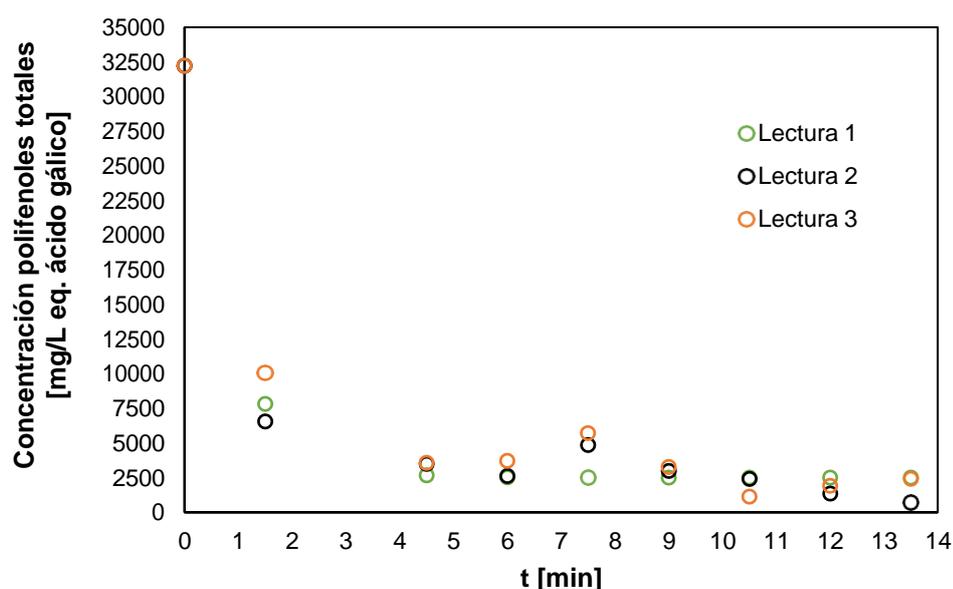


Figura 3.3 Concentración de polifenoles obtenida en la fase sólida.

3.3 Resultado y análisis de la densidad del sólido seco.

El uso de tolueno como líquido de trabajo permitió reducir el error en la medición que se podía generar por la solubilidad del líquido con el sólido, puesto que presenta una mayor tensión superficial que el agua. Con la finalidad de garantizar la precisión de los datos se llevó la prueba con una repetibilidad de 3 ensayos.

En la Tabla 3.3 se pueden observar la densidad obtenida durante la experimentación (ρ), así como la densidad media (ρ media), la masa del picnómetro vacío (m_0), masa del picnómetro con tolueno (m_1), masa del picnómetro con tolueno y materia vegetal (m_2), y masa del picnómetro completamente lleno con tolueno y materia vegetal (m_3).

Tabla 3.3 Resultados obtenidos en la prueba del picnómetro

	1er ensayo	2do ensayo	3er ensayo
m_0 [g]	21.310	21.403	21.371
m_1 [g]	31.219	31.771	30.926
m_2 [g]	33.226	33.779	32.923
m_3 [g]	43.741	43.822	43.863
$V_{\text{picnómetro}}$ [mL]	25	25	25
$\rho_{\text{tolueno a } 25^\circ\text{C}}$ [g/mL]	0.87	0.87	0.87
ρ [g/mL]	1.343	1.331	1.41
ρ media [g/mL]		1.363	

Varianza	0.002
Desviación estándar	0.044

Se obtuvo una densidad promedio a temperatura ambiente (25°C) de la mezcla de sólidos secos (*Ilex Guayusa*, *Vernonanthura Patens* y cascarillas de cacao) de 1.363 gramos por cada mililitro, con una varianza entre los datos de 0.002 y una desviación estándar de 0.044. El valor obtenido es similar a los estudios propuestos sobre materia vegetal en la sección 1.4.7.2 (≥ 1.12 g/ml)

3.4 Resultado y análisis de la viscosidad experimental de extracto.

Este parámetro se obtuvo midiendo la resistencia que presentó el extracto de la bebida al movimiento generado por el cilindro o husillo del viscosímetro rotacional. Se llevaron a cabo 3 repeticiones con la finalidad de aumentar la fiabilidad de los resultados obtenidos, los cuales detallan en la Tabla 3.4

Tabla 3.4 Resultados obtenidos en la prueba del viscosímetro rotacional

	1^{er} ensayo	2^{do} ensayo	3^{er} ensayo
T [°C]	31.900	31.900	30.900
T media [°C]		31.567	
μ [cP]	11.500	10.600	10.400
μ media [cP]		10.833	
Varianza		0.343	
Desviación estándar		0.586	

Se obtuvo una viscosidad dinámica promedio en el extracto de 10.83 cP a una temperatura promedio de 31.56°C, con una varianza y una desviación estándar de 0.343 y 0.586 respectivamente, lo cual indica poca variación de las mediciones con respecto a la media aritmética. Estos valores se encuentran dentro del rango esperado de los estudios propuestos en la sección 1.4.7.3 (1.46 – 11.7 cP).

El extracto de la bebida nutracéutica analizado presentó una viscosidad dinámica baja, esto se debe esencialmente a la pequeña cantidad de polifenoles extraídos durante la operación de extracción sólido-líquido. Esto se puede corroborar gracias a la prueba de espectrofotometría realizada en el extracto, ya

que se obtuvo una concentración de polifenoles promedio de 231.03 mg/L, con respecto al solvente.

Por lo tanto, la viscosidad es una propiedad que presenta relación de dependencia con la concentración y el peso molecular de las diferentes sustancias que conforman la muestra bajo análisis. En otras palabras, debido a la baja concentración de polifenoles, estos no fueron capaces de interactuar (adherirse) entre sí de manera efectiva, lo que generó una alta deformación en el extracto, es decir, poca resistencia al movimiento (Muhammed, 2017).

La relación entre la viscosidad y la concentración en una solución se corroboró en un estudio realizado por Yu, Zhan, Wang, Zheng, Xie & Wang (2020), donde se llevó a cabo el análisis de los factores que influyen en la viscosidad en soluciones de agar. En consecuencia, soluciones con concentraciones entre el 0 al 3% la viscosidad aumenta linealmente, mientras que a soluciones con concentraciones mayores al 3% la viscosidad tiende a aumentar abruptamente (Yu et al., 2020).

3.5 Validación de modelo matemático.

Para la validación del modelo matemático se utilizaron los datos experimentales obtenidos en el presente trabajo, puesto que se realizó una regresión no lineal de las concentraciones experimentales en la fase líquida como sólida mediante la ayuda del lenguaje de programación Python. La Tabla 3.5 muestra los valores de las constantes obtenidas para el modelo desarrollado en el trabajo realizado por Lucas & Tenorio (2022).

Tabla 3.5 Valores obtenidos para la validación del modelo matemático

<u>Variables</u>	<u>Valor</u>
C ₁	7.79E-02
C ₂	9.22E-01
C ₃	6.78E-03
C ₄	-6.78E-03
r ₁	-2.97E-09
r ₂	-1.91E-02

En la Figura 3.4 se puede observar la concentración experimental como modelada de polifenoles totales presentes en la fase líquida a medida que el proceso de extracción se va desarrollando. La concentración de polifenoles tanto experimental como modelada presentan la tasa de extracción más alta durante los 1.5 minutos iniciales, alcanzando valores de 174.72 y 179.48 mg/L de equivalentes de ácido gálico respectivamente. Posteriormente en ambos sistemas la tasa de extracción se reduce drásticamente logrando extraer únicamente 56.32 y 39.10 mg/L respectivamente durante los posteriores 12 minutos de operación. Por otra parte, al final del proceso de extracción se alcanza una concentración de polifenoles experimental y modelada de 231.04 mg/L y 218.58 mg/L de equivalentes de ácido gálico respectivamente.

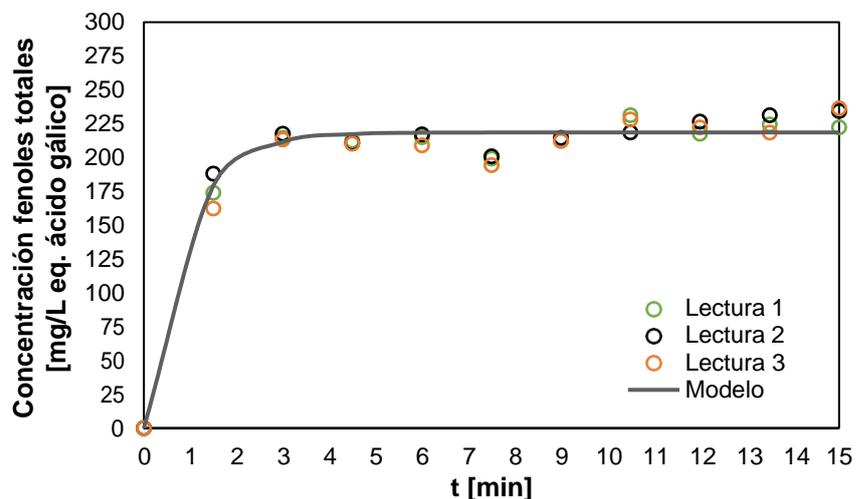


Figura 3.4 Concentración de polifenoles experimental (o) y modelada (–) durante la extracción en la fase líquida.

En la Figura 3.5 se puede observar la concentración experimental así como modelada de los polifenoles presentes en la fase sólida durante el proceso de extracción de la bebida nutracéutica. Se puede observar que la máxima transferencia de polifenoles desde la fase sólida a la fase líquida se da durante los primeros 1.5 minutos. Posteriormente, se da un descenso en la transferencia de masa efectiva durante el proceso, alcanzando el equilibrio a los 10.50 minutos de operación con un valor de 2511 mg/L de equivalentes de ácido gálico.

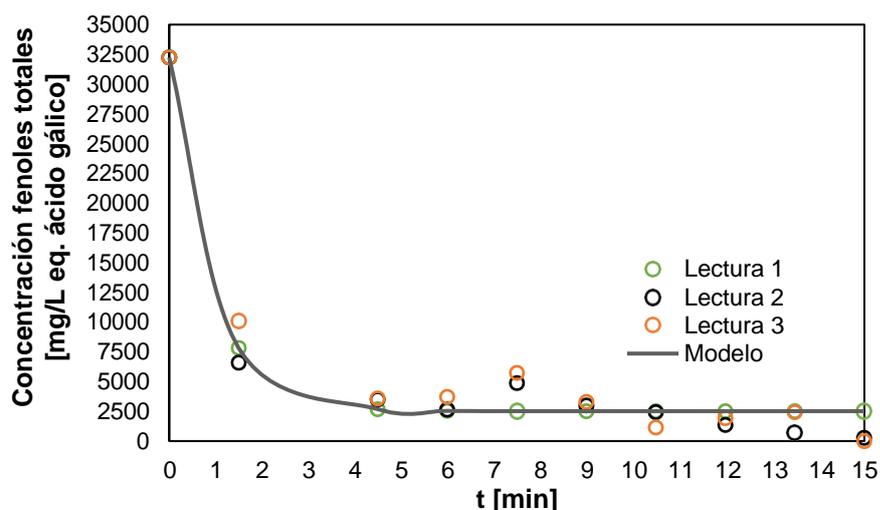


Figura 3.5 Concentración de polifenoles experimental (o) y modelada (–) durante la extracción en la fase sólida.

La drástica reducción de la tasa de extracción de polifenoles en el proceso generó que se tengan pequeños gradientes en la concentración experimental de las muestras tomadas durante la etapa final de extracción. Adicionalmente, la concentración de polifenoles obtenida mediante el modelado se vuelve constante a partir de los 10.50 minutos empezada la extracción tanto en la fase líquida como en la sólida. Por lo tanto, el sistema alcanza el equilibrio, sin embargo las pequeñas varianzas en los datos se deben a la naturaleza experimental de las mediciones y los errores inherentes de la misma. Por lo tanto, se logró validar el modelo matemático desarrollado por Lucas & Tenorio (2022), debido a que este responde perfectamente a los datos experimentales obtenidos.

En un trabajo realizado por Espinoza, Vargas, Robles, Rodríguez & García (2007), se obtuvieron resultados similares. En este, se realizó el modelado matemático de la cinética de la cafeína durante la extracción sólido-líquido de granos de café. En este proceso, el tiempo de operación fue de 7 horas alcanzando el equilibrio después de transcurrido 1 hora del proceso extractivo (Espinoza, Vargas, Robles, Rodríguez, & García, 2007). Adicionalmente, en un trabajo realizado por Setford, Jeffery, Grbin & Muhlack (2018) se desarrolló el modelado de la transferencia de masa de malvidin-3-glucósido durante la extracción de sólidos

de uva fresca en condiciones similares al vino. En dicho proceso, se obtuvo una concentración constante del compuesto de intereses a las 25 horas de operación de 40 horas totales de proceso (Setford, Jeffery, Grbin, & Muhlack, 2018).

3.6 Comparación de condiciones de operación

En la Tabla 3.6 se presenta una comparación entre las condiciones de operación del proceso de extracción desarrollado en el presente trabajo y estudios previos donde se desarrollan procesos similares.

Tabla 3.6 Comparativa de las condiciones de operación ^b(Espinoza et al., 2007), ^c(Setford et al., 2018), ^e(Sparrow, Smart, Dambergs, & Close, 2016)

	Extracción bebida nutracéutica	Extracción cafeína^b	Extracción Malvidin- 3- Glucosido^c
tiempo extracción [min]	15.0	420.0	2400.0
T. extracción [°C]	65.0	90.0	23.1
Tamaño de partícula [mm]	Menor a 0.5	3.57	19 ^e
Relación solvente-sólido [L: g]	1:10	1:5	1:10
Masa sólido [g]	100	100	150
Solvente	Agua	Agua	Agua
Agitación	Si	Si	Si
Escala	Miniplanta	Miniplanta	Miniplanta

Por lo tanto, la extracción de la cafeína, la extracción de Malvidin 3-glucosido y la extracción de la bebida nutracéutica, se realizaron a una temperatura de 23.1, 90 y 65°C respectivamente. Las altas temperaturas en procesos de extracción provocan una afectación a la solubilidad del compuesto extraído, así como a la difusividad. Puesto que, son variables que se incrementan a altas temperaturas, sin embargo, se debe tener en cuenta, que existe un límite de temperatura. Por lo tanto, dicho límite viene restringido de acuerdo con la degradación de los compuestos de interés en el material sólido y la volatilización del solvente utilizado (Chanioti et al., 2014).

Adicionalmente, tanto en el estudio de extracción de cafeína como en el presente trabajo, y en la extracción de malvidin-3-glucosido, se aplicó agitación al solvente, esto genera un aumento en la transferencia de material al incrementar la

difusión turbulenta (Chanioti et al., 2014), además de evitar que los sólidos sedimenten (Encalada, 2015).

Por otra parte, para la extracción de la bebida nutracéutica, se utilizaron tamaños pequeños del sólido, esto logra una mayor superficie de contacto, acrecentando la transferencia de masa entre fases dando como resultado extracciones más rápidas. Sin embargo, sólidos con partículas pequeñas en exceso pueden ocasionar que al entrar en contacto con el solvente se compacten dificultando así la extracción (Encalada, 2015). Para evitar aquello se busca romper las paredes celulares de los materiales vegetales a usar con la finalidad que el solvente tenga acceso directo al soluto. Para una amplia variedad de materia vegetal se recomienda un tamaño de partícula entre 100 a 500 μm (Palacios & Sanchez, 2008).

En el presente trabajo como en los estudios consultados se usó como solvente el agua. Con el fin de obtener una extracción sólido-líquido más eficiente, el soluto debe presentar una solubilidad específica con el disolvente seleccionado, así como baja tensión superficial y viscosidad, debe ser recuperable y que no sea peligroso ni de alto valor económico. Adicionalmente, el extracto de la bebida nutracéutica es de consumo humano, por lo que la elección de solvente se limita a ciertos compuestos que se ajustan a los requisitos de salud humana, aunque ciertos solventes como propano, etanol, entre otros son aceptables en cantidades residuales según las BPM (Chanioti et al., 2014).

No obstante, la cantidad de polifenoles extraídos en la muestra analizada se vuelve un parámetro dependiente de una serie de variables, entre las cuales tenemos, el tamaño de partícula de la materia prima alimentada al digestor, la temperatura de extracción, la naturaleza del solvente y la agitación del sistema (Encalada, 2015).

Adicionalmente, tanto en el estudio propuesto como en los trabajos consultados se trabaja a escala de miniplanta, la cual se encuentra intermedia entre la etapa de laboratorio y de planta piloto. La operación a escala de miniplanta es de

suma importancia puesto que será la encargada de indicar si un proceso es viable y económicamente prometedor, para ser llevada a escala de planta piloto disminuyendo la incertidumbre en la construcción y operación de esta. Por otra parte, la escala miniplanta permite probar los modelos matemáticos debido a que permite encontrar límites y defectos de este (Lievo, Almark, Purola, Pyhälähti, & Aittamaa, 2003).

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- La bebida nutracéutica se elaboró experimentalmente a nivel miniplanta, por lo que, no se contaban con los equipos adecuados para realizarlo a nivel piloto. Se comprobó el tamaño de partícula, ya que el CIBE proveyó la materia prima seca, molida y triturada, con lo que se confirmó que la materia sólida presenta un tamaño de partícula óptimo debido a que fue menor a 500 μm .
- Se obtuvo la curva de calibración usando ácido gálico como estándar, para lograr cuantificar la cantidad de polifenoles en el extracto mediante regresión lineal de la curva obtenida por espectrofotometría UV-Visible. La curva de calibración resultó ser $y = 0.0019x + 0.0167$, la cual mostró un buen ajuste de los datos experimentales ya que se obtuvo un $R^2 = 0.9909$.
- Se logró representar el comportamiento de la fase líquida del extracto, el cual indica que durante los 3 primeros minutos de operación se tiene un valor de 215 mg/L y finaliza con 231 mg/L. Fue posible además identificar el comportamiento en la fase sólida mediante un balance de materia usando correlaciones en la fase líquida, volumen del sólido y del solvente, para el cual en los 3 primeros minutos disminuye hasta los 2907 mg/L y finaliza con 738 mg/L de compuestos fenólicos.
- Se considera que la curva de extracción es de tipo I, ya que la concentración de polifenoles aumenta significativamente en los primeros minutos de operación, porque el solvente es capaz de acceder con facilidad al soluto presente en la matriz sólida y además influye en la transferencia de masa que se rige por convección debido al gradiente de concentración en el fluido al contacto con el sólido. La disminución que se observa en las curvas de la concentración de polifenoles luego de los 3 minutos se debe a que ya el soluto se encuentra en poca cantidad en la matriz sólida por lo que disminuye el contacto con el

solvente, es decir la transferencia de los polifenoles desde el sólido hasta la fase líquida.

- La densidad del sólido se obtuvo experimentalmente por triplicado a temperatura ambiente dando un resultado de 1.36 g/ml con desviación estándar de 0.044, este valor se encontraba dentro del rango esperado (≥ 1.12 g/ml) acorde a estudios previos de materias vegetales. Por otro lado, para la viscosidad del extracto se obtuvo un valor de 10.83 cP, con desviación de 0.58, de igual manera se encontró dentro del rango esperado (1.46 – 11,60 cP).
- Finalmente, con los parámetros experimentales se realizó la validación del modelo matemático, con lo que se obtuvo que la concentración más alta de polifenoles en ambos casos se dio a los 1.5 minutos de operación, alcanzando valores de 174.72 y 179.8 mg/L respectivamente. Al llegar al equilibrio, a partir de los 10.50 minutos el modelado se vuelve constante, finalizando con concentraciones de 231.04 mg/L y 218.58 mg/L. Los valores entre sí son cercanos, aunque presenta pequeñas diferencias pero esto se debe a la naturaleza experimental de las mediciones.

4.2 Recomendaciones

- Se recomienda llevar estudios de análisis estructural en el molino debido, con la finalidad de brindar soluciones que vuelvan viable el uso del equipo, y se pueda llevar en trabajos posteriores el escalado del proceso de la elaboración de la bebida nutracéutica en condiciones de seguridad óptimas.
- Para el proceso de extracción sólido-líquido incorporar en el digestor un agitador mecánico para controlar este parámetro con precisión, ya que influye directamente en la obtención final del extracto.
- Incorporar un controlador de temperatura en el digestor para evitar llegar a valores altos que degraden la calidad de la materia prima seca, así como influir negativamente en la transferencia de materia en el proceso de extracción.

- Realizar un análisis de tamizado mediante el método diferencial usando una configuración de tamices en cascada con la serie completa de tamices para obtener una mejor distribución de partículas y por lo tanto disminuir el error al determinar el tamaño de partícula promedio en la mezcla de sólido.

BIBLIOGRAFÍA

- Asgharpour, F., Pouramir, M., & Moghadamnia, A. (2012). Evaluation of Viscosity of Traditional Medicinal Antihyperglycemic Plant Extracts and Relationship with Glucose Diffusion In vitro. *Journal of Medicinal Plants*, 1(41), 671–677.
- Atarés, L. (2013). *Determinación de la densidad de un líquido con el método del picnómetro*. Retrieved from <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/12655/11>. Artículo docente. *Determinación de la densidad de un líquido con el método del picnómetro.pdf?sequence=1*
- Bonfigli, M., Godoy, E., Reinheimer, M. A., & Scenna, N. J. (2017). Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling. *Journal of Food Engineering*, 207, 56–72. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.011>
- Brown, T., LeMay, H., Bursten, B., & Burdge, J. (2004). *Química. La Ciencia Central* (9th ed.). Naucalpan de Juárez: Pearson Educación de México, S.A. de C.V.
- Cavalcanti, R., & Meireles, M. (2012). Fundamentals of supercritical fluid extraction. In *Comprehensive Sampling and Sample Preparation* (Vol. 2). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00039-9>
- Chang, R., & Goldsby, K. (2013). *Química* (11th ed.). México, D. F.: McGRAW-HILL/INTERAMERICANA EDITORES, S.A DE C.V.
- Chanioti, S., Liadakis, G., & Tzia, C. (2014). *Food Engineering Handbook* (1st ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Chillagana, E., & Veloz, D. (2019). Extracción acuosa y secado del mucílago de yausabara (*Pavonia sepium* A. St.-Hil.). Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Chóez, I., Ruíz, O., Ruales, J., & Manzano, P. (2020). Antioxidant activity optimization and GC-MS profile of aqueous extracts of *Vernonanthura patens*

- (Kunth) H. Rob. leaves. *Natural Product Research*, 34(17), 2505–2509. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1539978>
- Civeira, F., Cordero, A., Delgado, J., Ferreira, I., Grima, A., Jarauta, E., ... Sastre, A. (2007). Alimentos funcionales o nutraceuticos. In *Revista Española de Cardiología* (Vol. 57).
- Durango, E., & Oquendo, J. (2016). *Caracterización y evaluación energética de biocombustibles sólidos elaborados a partir de biomasa agroindustrial y carbón mineral del departamento de córdoba*. Universidad de Córdoba.
- El-Saber Batiha, G., Beshbishy, A., Ikram, M., Mulla, Z., Abd El-Hack, M., Taha, A., ... Ali Elewa, Y. (2020). The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: Quercetin. *Foods*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/foods9030374>
- Encalada, D. (2015). *Diseño de un equipo para extraer los aceites grasos de sachá inchi (plukenetia volúbilis) del ecotipo de napo, a nivel de laboratorio*. Universidad Central del Ecuador.
- Espinoza, J., Vargas, A., Robles, V., Rodríguez, G., & García, M. (2007). Mathematical modeling of caffeine kinetic during solid-liquid extraction of coffee beans. *Journal of Food Engineering*, 81(1), 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.10.011>
- Fernandes, F., & Salgado, H. (2016). Gallic Acid: Review of the Methods of Determination and Quantification. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46(3), 257–265. <https://doi.org/10.1080/10408347.2015.1095064>
- Gabela, E., & Villa, P. (2021). *Caracterización de las materias primas Vernonanthurá Patens, Ilex Guayusa y residuos de cáscara de cacao en un simulador comercial para la elaboración de una bebida con propiedades nutraceuticas*. Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Galán, C. (2018). *Diseño de prototipo de viscosímetro y validación manual en fluidos de alta, media y baja viscosidad*. Universidad de Las Américas.

- García, E., Fernández, I., & Fuentes, A. (2015). *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu*. Retrieved from <https://riunet.upv.es/handle/10251/52056>
- García, R. (2018). Instrumentos que revolucionaron la química: la historia del espectrofotómetro. *Avances En Química*, 13(3), 79–82. Retrieved from www.saber.ula.ve/avancesenquimicaAvancesenQuímica,13
- Garulo, A., Valencia, N., Garrido, A., Yáñez, J., & Cerón, G. (2021). Modelación de la extracción de polifenoles de semillas de uva. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI*, 9, 179–186. <https://doi.org/10.29057/icbi.v9iespecial2.8041>
- Ghareeb, M., Mohamed, T., Saad, A., Refahy, L., Sobeh, M., & Wink, M. (2017). HPLC-DAD-ESI-MS/MS analysis of fruits from Firmiana simplex (L.) and evaluation of their antioxidant and antigenotoxic properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 70(1), 133–142. <https://doi.org/10.1111/jphp.12843>
- Gil, M., & Wianowska, D. (2017). Chlorogenic acids – their properties, occurrence and analysis. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska, Sectio AA – Chemia*, 72(1), 61. <https://doi.org/10.17951/aa.2017.72.1.61>
- Gómez, M., & Tito, V. (2017). *Análisis multivariado de componentes terpénicos, en aceite esencia de hierba luisa (Cymbopogon citratus), mediante espectrofotometría UV-Visible derivada*. Universidad Politécnica Salesiana.
- González, S. (2009). *Diseño mecánico de un equipo para medida de la viscosidad en fluidos no newtonianos*. Universidad Politécnica de Cartagena.
- Heidy, L. (2006). Nutracéuticos: Componentes emergentes para el beneficio de la salud. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar, XL*, 20–28. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120665003>
- Lewis, M. (1990). *Physical Properties of Foods and Food Processing Systems* (1st ed.). London: Woodhead Publishing Limited.
- Lievo, P., Almark, M., Purola, V. M., Pyhälähti, A., & Aittamaa, J. (2003). Miniplant-

Effective tool in process development and design. *Computer Aided Chemical Engineering*, 14(C), 761–766. [https://doi.org/10.1016/S1570-7946\(03\)80208-0](https://doi.org/10.1016/S1570-7946(03)80208-0)

Lucas, K., & Tenorio, S. (2022). *Modelo de un extractor como una unidad añadida en un simulador comercial para la elaboración de una bebida nutracéutica*. Escuela Superior Politécnica del Litoral.

Manish Pal, S., Avneet, G., & Siddhraj, S. (2018). Gallic Acid: Pharmacological Promising Lead Molecule: A Review. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 10(4), 132–138. <https://doi.org/10.25258/phyto.10.4.2>

Manzano, P., Hernández, J., Quijano, M., Barragán, A., Chóez, I., Viteri, R., & Valle, O. (2017). Polyphenols extracted from Theobroma cacao waste and its utility as antioxidant. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(1), 45–50. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-04-388>

McCabe, W., Smith, J., & Harriot, P. (1991). *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química* (4th ed.). Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España, S.A.U.

McLean, K., & McAuley, K. (2012). Mathematical modelling of chemical processes-obtaining the best model predictions and parameter estimates using identifiability and estimability procedures. *Canadian Journal of Chemical Engineering*, 90(2), 351–366. <https://doi.org/10.1002/cjce.20660>

Merino, C., De La Jara, A., & Gómez, B. (2013). *Operaciones básicas de laboratorio* (2nd ed.). McGraw-Hill Interamericana de España S.L.

Mishra, S., Behera, P., Kar, B., & Ray, R. (2018). Advances in Probiotics, Prebiotics and Nutraceuticals. *Innovations in Technologies for Fermented Food and Beverage Industries*, 121–141. https://doi.org/10.1007/978-3-319-74820-7_7

Mohazzabi, P. (2017). Archimedes' Principle Revisited. *Journal of Applied Mathematics and Physics*, 05(04), 836–843. <https://doi.org/10.4236/jamp.2017.54073>

Morris, R. (2015). Spectrophotometry. *Current Protocols in Essential Laboratory*

- Muhammed, N. (2017). Review in Causes of Viscosity in Fluids. *Journal of Bio Innovation*, 6(1), 117–123. Retrieved from www.jbino.com
- National Center for Biotechnology Information. (2022). PubChem Compound Summary for CID 5280343, Quercetin. Retrieved June 21, 2022, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quercetin>
- National Center for Biotechnology Information. (2022). PubChem Compound Summary for CID 1794427, Chlorogenic acid. Retrieved June 21, 2022, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chlorogenic-acid#section=3D-Conformer>
- Obando, N. (2015). *Calibración y ajuste de densímetros oscilatorios para medición de flujo en línea*. Universidad de Costa Rica.
- Okoye, E., Awotunde, T., & Morales, T. (2013). Formulation and characterization of Moringa oleifera leaf granules. I: Micromeritic properties. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 6(1), 66–74.
- Organisation Internationale de Metrologie Legale. (2011). *GUIDE OIML G14 : Density Measurement* (Vol. 2011). Paris.
- Palacios, J., & Sanchez, R. (2008). *Diseño, construcción y evaluación de parámetros de operación de un equipo de extracción sólido-líquido para el laboratorio de procesos unitarios de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del centro del Perú*. Universidad Nacional del Centro de Perú.
- Paladines, G., Orellana, A., Sarmiento, G., Piloza, G., Iñiga, E., Zaruma, F., ... Vanden Berghe, W. (2021). Acute oral toxicity of a novel functional drink based on Ilex guayusa, Vernonia patens, and cocoa husk. *Toxicology Reports*, 8, 747–752. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2021.03.026>
- Quijano, M., Chóez, I., Viteri, R., Barragán, A., Sosa, D., & Manzano, P. (2021). Effect of Cocoa Bean Shell Addition on Metabolite Profile and Antioxidant

Activity of Herbal Infusions. *International Journal of Food Science*, 2021.

<https://doi.org/10.1155/2021/9915797>

Semnani, D. (2017). Geometrical characterization of electrospun nanofibers. In

Electrospun Nanofibers. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100907-9.00007-6>

Setford, P., Jeffery, D., Grbin, P., & Muhlack, R. (2018). Modelling the mass transfer process of malvidin-3-glucoside during simulated extraction from fresh grape solids under wine-like conditions. *Molecules*, 23(9), 1–16.

<https://doi.org/10.3390/molecules23092159>

SILAB. (2022). Servicio Integrado de Laboratorios. Retrieved June 25, 2022, from

<http://www.lab.espol.edu.ec/>

Skoog, D., West, D., Holler, F., & Crouch, S. (2015). *Fundamentos de Química Analítica* (9th ed.). México, D.F.: Cengage Learning Editores, S.A. de C.V.

Sosa, A., & Vertiz, V. (2021). *Diseño y validación de un viscosímetro rotacional para fluidos no newtonianos*. Universidad Nacional del Centro de Perú.

Sparrow, A., Smart, R., Damberg, R., & Close, D. (2016). Skin particle size affects the phenolic attributes of pinot noir wine: Proof of concept. *American Journal of Enology and Viticulture*, 67(1), 29–37. <https://doi.org/10.5344/ajev.2015.15055>

Tadesse, A., Hymete, A., Bekhit, A., & Mohammed, S. (2015). Quantification of total polyphenols, catechin, caffeine, L-theanine, determination of antioxidant activity and effect on antileishmanial drugs of ethiopian tea leaves extracts. *Pharmacognosy Research*, 7, S7–S14. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.157991>

Vicente, L., Prieto, M., & Morales, A. (2013). Efficacy and safety of quercetin as dietary supplement. *Revista de Toxicología*, 30(2), 171–181. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/919/91931189008.pdf>

Viteri, R., Giordano, A., Montenegro, G., & Zacconi, F. (2021). *Eucryphia cordifolia* extracts: Phytochemical screening, antibacterial and antioxidant activities. *Natural Product Research*. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1960525>

Yu, Z., Zhan, J., Wang, H., Zheng, H., Xie, J., & Wang, X. (2020). Analysis of influencing factors on viscosity of agar solution for capsules. *Journal of Physics: Conference Series*, 1653(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1653/1/012059>

ANEXOS

ANEXO A.1 Resultados obtenidos en la prueba de la cuantificación de polifenoles mediante espectrofotometría en la fase líquida

Tiempo [min]	Absorbancia					Desviación estándar
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	Promedio	Varianza	
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.00E+00	0.00E+00
1.500	0.347	0.374	0.325	0.349	6.02E-04	2.45E-02
3.000	0.424	0.430	0.422	0.425	1.73E-05	4.16E-03
4.500	0.420	0.417	0.416	0.418	4.33E-06	2.08E-03
6.000	0.425	0.429	0.414	0.423	6.03E-05	7.77E-03
7.500	0.395	0.398	0.386	0.393	3.90E-05	6.24E-03
9.000	0.420	0.424	0.420	0.421	5.33E-06	2.31E-03
10.500	0.456	0.432	0.450	0.446	1.56E-04	1.25E-02
12.000	0.430	0.447	0.439	0.439	7.23E-05	8.50E-03
13.500	0.443	0.456	0.432	0.444	1.44E-04	1.20E-02
15.000	0.439	0.462	0.466	0.456	2.12E-04	1.46E-02

Anexo A.2 Cálculo de la curva de calibración usando ácido galico como estándar.

Curva de calibración en eq. de ácido galico						
ppm	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	Lectura 4	Promedio	
10	0.019	0.025	0.024	0.026	0.024	
20	0.043	0.043	0.050	0.050	0.047	
40	0.082	0.090	0.093	0.097	0.091	
60	0.129	0.142	0.135	0.153	0.140	
80	0.173	0.205	0.188	0.162	0.182	
150	0.304	0.301	0.316	0.328	0.312	
175	0.355	0.355	0.336	0.366	0.353	
200	0.389	0.332	0.381	0.383	0.371	

Anexo A.3 Cálculo de la concentración de polifenoles experimental en la fase líquida mediante espectrofotometría UV-Visible.

Extracción en la fase líquida										
Muestra	Absorbancia			Concentración			tiempo [min]	tiempo [s]	Concentración promedio	Modelo [mg/L]
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3				
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1	0.347	0.374	0.325	173.842	188.053	162.263	1.500	90.000	174.719	179.479
2	0.424	0.430	0.422	214.368	217.526	213.316	3.000	180.000	215.070	211.587
3	0.420	0.417	0.416	212.263	210.684	210.158	4.500	270.000	211.035	217.331
4	0.425	0.429	0.414	214.895	217.000	209.105	6.000	360.000	213.667	218.359
5	0.395	0.398	0.386	199.105	200.684	194.368	7.500	450.000	198.053	218.543
6	0.420	0.424	0.420	212.263	214.368	212.263	9.000	540.000	212.965	218.575
7	0.456	0.432	0.450	231.211	218.579	228.053	10.500	630.000	225.947	218.581
8	0.430	0.447	0.439	217.526	226.474	222.263	12.000	720.000	222.088	218.582
9	0.443	0.456	0.432	224.368	231.211	218.579	13.500	810.000	224.719	218.582
10	0.439	0.462	0.466	222.263	234.368	236.474	15.000	900.000	231.0351	218.582

Anexo A.4 Cálculo de la concentración de polifenoles experimental en la fase sólido mediante espectrofotometría UV-Visible

Extracción en la fase sólida										
Muestra	Absorbancia			Concentración			tiempo [min]	tiempo [s]	Concentración promedio	Modelo [mg/L]
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3				
0	0.000	0.000	0.000	32238.425	32238.425	32238.425	0.000	0.000	32238.425	32238.425
1	0.347	0.374	0.325	8507.767	6577.433	10080.631	1.500	90.000	8388.611	7829.254
3	0.420	0.417	0.416	3288.717	3503.198	3574.692	4.500	270.000	3455.536	2681.412
4	0.425	0.429	0.414	2931.247	2645.272	3717.680	6.000	360.000	3098.066	2541.664
5	0.395	0.398	0.386	5076.063	4861.581	5719.507	7.500	450.000	5219.050	2516.663
6	0.420	0.424	0.420	3288.717	3002.741	3288.717	9.000	540.000	3193.392	2512.190
7	0.456	0.432	0.450	714.938	2430.791	1143.901	10.500	630.000	1429.877	2511.389
8	0.430	0.447	0.439	2573.778	1358.383	1930.334	12.000	720.000	1954.165	2511.246
9	0.443	0.456	0.432	1644.358	714.938	2430.791	13.500	810.000	1596.696	2511.219
10	0.439	0.462	0.466	1930.334	285.975	0.000	15.000	900.000	738.770	2511.214

Anexo A.5 Cálculo de la viscosidad en el extracto de la bebida nutracéutica.

	1er ensayo	2do ensayo	3er ensayo
Temp. [°C]	31.900	31.900	30.900
Temp. media [°C]	31.567		
Viscosidad [cP]	11.500	10.600	10.400
Viscosidad media [cP]	10.833		
Varianza	0.343333333		
Desviación estandar	0.585946528		

Anexo A.6 Cálculo de la densidad en el sólido

	1er ensayo	2do ensayo	3er ensayo
m0 [g]	21.310	21.403	21.371
m1 [g]	31.219	31.771	30.926
m2 [g]	33.226	33.779	32.923
m3 [g]	43.741	43.822	43.863
V [mL]	25	25	25
rho_tol a 25 °C [g/mL]	0.87	0.87	0.87
rho [g/mL]	1.343	1.331	1.413
rho media [g/mL]	1.363		
Varianza	0.001963084		
Desviación estandar	0.044306701		