



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

**Extracción supercrítica de antioxidantes lipofílicos en subproductos de
guayaba “*Psidium guajava* L”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTOR: Jiménez Quevedo, Geovanny Eliceo.

DIRECTOR: Meneses Chamba, Miguel Ángel PhD.

LOJA-ECUADOR

2015



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

Septiembre, 2015

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Doctor.

Meneses Chamba Miguel Ángel

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: **Extracción supercrítica de antioxidantes lipofílicos en subproductos de guayaba “*psidium guajava* L.”** realizado por **Jiménez Quevedo Geovanny Eliceo**, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, octubre de 2015.

f).....

PhD. Meneses Chamba Miguel Ángel

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo **Jiménez Quevedo Geovanny Eliceo** declaro ser autor del presente trabajo de fin de titulación: Extracción supercrítica de antioxidantes lipofílicos en subproductos de guayaba “*Psidium Guajava L.*”, de la Titulación de Ingeniería Química, siendo Dr. Meneses Chamba Miguel Ángel director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.

F:

Autor: Jiménez Quevedo Geovanny Eliceo

Cédula: 1104786965

DEDICATORIA

*A mi dios por confortarme cada día y empezar un nuevo amanecer
esperanzador.*

*Dedico a mis padres en recompensa a su esfuerzo diaria para permitirme
terminar con mis estudios universitarios.*

*A mis hermanos que de manera económica y emocional me brindaron su
apoyo*

AGRADECIMIENTO

En este papel plasmo mi sentimiento de gratitud a mis padres Carlos Jiménez y Albertina Quevedo, gracias a su sacrificio incondicional me permitieron dar un paso más en la vida. Agradezco a mis hermanos por ser soporte de apoyo para culminar mi carrera.

Agradezco al PhD Miguel Meneses por brindarme su conocimiento académico en la realización de esta tesis

Agradezco a la Ing. María del Cisne Guamán por compartirme su conocimiento para el desarrollo de esta investigación.

Agradezco al Ing. Geovanny Figueroa por la colaboración académica en la culminación de la tesis

ÍNDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	ix
NOMENCLATURA.....	x
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPÍTULO I.....	6
FUNDAMENTO TEÓRICO	6
1.1 Origen de guayaba (<i>Psidium guajava</i> L.).....	7
1.2 Producción de guayaba.	7
1.3 Composición del fruto de guayaba.	8
1.4 Compuestos extraídos empleado diferentes métodos de extracción.	8
1.5 Compuestos bioactivos.	10
1.6 Tecnologías y métodos de obtención de extractos naturales.	10
1.6.1 Método de extracción con disolventes.....	10
1.6.2 Método de extracción por Soxhlet.	10
1.6.3 Método de extracción por destilación.....	11
1.6.4 Tecnología de extracción por ultrasonido.....	11
1.6.5 Tecnología de extracción por microondas asistida.	11
1.6.6 Tecnología de extracción por fluidos supercríticos (FSC).	12
1.7 El dióxido de carbono (CO₂) como solvente supercrítico.	12
1.8 Proceso de extracción con fluidos supercríticos.	13
1.9 Determinación de fenoles totales y capacidad antioxidante (ABTS, DPPH)..	13
2.1 Materiales.....	16

2.1.1 Muestras.....	16
2.1.2 Reactivos.....	16
2.1.3 Descripción del proceso de extracción supercrítica.....	18
2.2 Métodos.....	19
2.2.1. Tratamiento de la muestra.....	19
2.2.2 Obtención de extractos.....	20
2.2.3 Cinética de extracción supercrítica.....	20
2.3. Determinación de capacidad antioxidante.....	20
2.3.1 Fenoles totales.....	20
2.3.2 Capacidad antioxidante: ABTS y DPPH.....	21
3.1 Rendimiento de extractos.....	24
3.2 Cuantificación de fenoles totales.....	25
3.3 Determinación de capacidad antioxidante.....	28
3.3.1 Método ABTS.....	28
3.3.2 Método DPPH.....	32
CONCLUSIONES.....	36
RECOMENDACIONES.....	37
BIBLIOGRAFÍA.....	38
ANEXOS.....	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del fruto de guayaba.....	8
Tabla 2. Compuestos presentes en el fruto de guayaba.....	9
Tabla 3. Rendimientos de extracción de fluidos supercríticos <i>en un tiempo de seis horas</i>	49
Tabla 4. Ensayo 1. Cuantificación de fenoles totales.....	51
Tabla 5. Ensayo 2. Cuantificación de fenoles totales.....	53
Tabla 6. Ensayo 1. Determinación de capacidad antioxidante por método ABTS.....	56
Tabla 7. Ensayo 2. Determinación de capacidad antioxidante por método ABTS.....	59
Tabla 8. Ensayo 1. Determinación de capacidad antioxidante por método DPPH.....	62
Tabla 9. Ensayo 2. Determinación de capacidad antioxidante por método DPPH.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación geográfica de la provincia de Guayaquil.	16
Figura 2. Diagrama de flujo del equipo de fluidos supercríticos.	17
Figura 3. Fotografía del Equipo de FSC ubicado en el laboratorio de alimentos de la Universidad técnica Particular de Loja.	19
Figura 4. (a) Rendimiento (peso/peso) durante seis horas. (b) curva de rendimiento (P 100 bar T 45 °C)	24
Figura 5. (a) Cinética a presión constante 100 bar (b) Rendimiento final de fenoles totales a presión constante 100 bar (6 horas).	25
Figura 6. (a) Cinética a temperatura constante 35 °C (b) Rendimiento final fenoles totales, temperatura constante 35 °C (6 horas).	26
Figura 7. (a) Cinética a presión constante de 150 bar (b) Rendimiento final de fenoles totales a presión constante 150 bar (6 horas).	26
Figura 8. (a) Cinética temperatura constante 40 °C (b) Rendimiento final de fenoles totales a temperatura constante 40 °C (6 horas).	26
Figura 9. (a) Cinética presión constante 200 bar (b) Rendimiento final de fenoles totales presión constante 200 bar (6 horas).	27
Figura 10. (a) Cinética temperatura constante de 45 °C (b) Rendimiento final de fenoles totales presión constante 45 °C (6 horas).	27
Figura 11. (a) Cinética temperatura constante de 60 °C (b) Rendimiento final de fenoles totales temperatura constante 60 °C (6 horas).	27
Figura 12. (a) Cinética presión constante 100 bar (b) Capacidad antioxidante por ABTS presión constante 100 bar (6 horas).	29
Figura 13. (a) Cinética temperatura constante 35 °C (b) Capacidad antioxidante por ABTS temperatura constante 35 °C (6 horas).	29
Figura 14. (a) Cinética presión constante 150 bar (b) Capacidad antioxidante por ABTS presión constante 150 bar (6 horas).	30
Figura 15. (a) Cinética temperatura constante 40 °C (b) Capacidad antioxidante por ABTS temperatura constante 40 °C (6 horas).	30
Figura 16. (a) Cinética presión constante 200 bar (b) Capacidad antioxidante por ABTS a presión constante 200 bar (6 horas).	31
Figura 17. (a) Cinética temperatura constante 45 °C (b) Capacidad antioxidante por ABTS temperatura constante 45 °C (6 horas).	31
Figura 18. (a) Cinética temperatura constante 60 °C (b) Capacidad antioxidante por ABTS a temperatura constante 60 °C (6 horas).	31
Figura 19. (a) Cinética presión constante 100 bar (b) Capacidad antioxidante por DPPH presión constante 100 (6 horas).	33
Figura 20. (a) Cinética temperatura constante 35 °C (b) Capacidad antioxidante por DPPH a temperatura constante 35 °C (6 horas).	33
Figura 21. (a) Cinética presión constante 150 bar (b) Capacidad antioxidante por DPPH a presión constante 150 bar (6 horas).	33
Figura 22. (a) Cinética temperatura constante de 40 °C (b) Capacidad antioxidante por DPPH temperatura constante 40 °C (6 horas).	34

Figura 23. (a) Cinética presión constante de 200 Bar (b) Capacidad antioxidante por DPPH a presión constante 200 Bar (6 horas).	34
Figura 24. Cinética temperatura constante 45 °C (b) Capacidad antioxidante por DPPH temperatura constante 45 °C (6 horas).	34
Figura 25. (a) Cinética temperatura constante 60 °C (b) Capacidad antioxidante por DPPH a temperatura constante 60 °C (6 horas).	35

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Esquema de metodología.....	45
Anexo B. Esquema de procedimiento de fenoles totales.	46
Anexo C. Esquema de procedimiento del método ABTS.	47
Anexo D. Esquema de procedimiento del método DPPH.....	48
Anexo E. Cuantificación de fenoles totales.	50
Anexo F. Determinación de capacidad antioxidante por el método ABTS.....	55
Anexo G. Determinación de capacidad antioxidante por el método DPPH.....	61
Anexo H. Análisis estadístico.....	66

NOMENCLATURA

FSC: fluidos supercríticos

SC: Supercrítico

EtOH: Etanol absoluto

MeOH: Metanol

SFE: Extracción con fluidos supercríticos

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

ABTS: 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolín-6-sulfónico)

TPTZ: 2, 4, 6 - tripiridil-s-triazina

TROLOX: ácido 6- hidroxil-2, 5, 7, 8- tetrametilcromo- 2- ácido carboxílico

μmol ET/ g: micromoles equivalentes de trolox/ gramo de muestra seca

mg GAE/ 100 g: miligramos equivalentes de ácido gálico/ 100 gramos de muestra

ml: mililitro

μL: microlitro

mM: milimolar

g: gramo

ρ: densidad

mg: miligramo

N: Normal

RESUMEN

En la presente investigación se buscó determinar la capacidad antioxidante y rendimiento de extracción en subproductos de guayaba (*Psidium guajava* L). La extracción se efectuó con CO₂ supercrítico. El tamaño de partícula de la muestra estuvo entre 250 - 500 micras, la muestra fue tratada con un flujo de CO₂ 10000 mL/min durante 6 horas. Como parámetro de estudio se varió temperatura (35, 40, 45, y 60 °C) y presión (100, 150 y 200 bares). Se determinó un rendimiento de 3.45% (P: 150 bar, T: 45 °C). Se determinó que el contenido de fenoles totales fue de 56,6 mg GAE/100 g (P: 100 bar, T: 60°C) usando el método Folin-Ciocalteu. La cuantificación de capacidad antioxidante se determinó mediante los métodos ABTS y DPPH los mayores valores fueron: 82.11 µmol ET/g (P: 200 bar, T: 35°C) 68.7 µmol ET/g (P: 200 bar, T: 60°C) respectivamente.

Palabras clave: capacidad antioxidante, guayaba, rendimiento, subproductos, tamaño de partícula, fluidos supercríticos.

ABSTRACT

In the present investigation the aim was to determine the extraction yield and the antioxidant capacity related to supercritical extracts of guava (*Psidium guajava* L) by-products consisted of skin with added pulp. Extraction was performed with supercritical carbon dioxide at different conditions. The particle size of the sample was between 250 to 500 microns, the samples were treated with a continuous flow of carbon dioxide (10000 mL/min at standard conditions) for 6 hours. The parameters tested were temperature 35, 40, 45, and 60 °C, pressure 100, 150 and 200 bar. The major extraction yield 3.45% was obtained at 150 bar and 45 °C. In all cases, the extraction time was observed to be conditioning, for this all extraction were performed during the same time.

The highest content of total phenols, using the Folin-Ciocalteu method, was 56.6 mg GAE/100 g ext at 100 bar and 60°C. The quantification of antioxidant capacity, determined by ABTS and DPPH methods, shown values of 82.11 mol TE/g for 200 bar and 35°C; and 68.7 mol TE/g for 200 bar and 60°C, respectively.

Keywords: antioxidant capacity, guava by-products, supercritical extraction

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de alimentos funcionales y nutraceuticos, es un reto para la ciencia y tecnología de los alimentos, y la farmacéutica. Las frutas son especies que cumplen con estas características. Las frutas como alimentos son fuente potencial de antioxidantes la guayaba (*Psidium guajava* L.) es un ejemplo (Zapata et al, 2013). Los antioxidantes son sustancias químicas que inactivan los radicales libres o inhiben su producción, impidiendo así el deterioro en las células, estos ceden un electrón al radical libre, oxidándose y transformándose en un radical libre débil que es menos reactivo (Gómez et al, 2011). El interés en las propiedades antioxidantes de las frutas es reciente, algunos autores han evaluado la capacidad atrapadora de radicales libres y el contenido de fenoles de frutas tropicales como mora, mango, guayaba, granadilla, fresa, maracuyá, uchuva, lulo, piña, mortiño entre otros (Zapata et, al 2013). La guayaba (*Psidium guajava* L.) es una fruta tropical perteneciente a la familia Myrtaceae consumida tanto fresca como procesada en forma de pulpas, jugos, mermeladas y conservas (Marquina et al, 2008).

El estudio de antioxidantes naturales ha cobrado un papel importante como resultado de su relación directa con la disminución del riesgo a sufrir y/o desarrollar enfermedades coronarias, cáncer, entre otras. Diversas investigaciones muestran que los frutos de guayaba tienen aportes importantes en vitamina C, en compuestos fenólicos y que su ingesta puede contribuir a una adecuada actividad antioxidante. De otro lado, es claro que tanto el contenido de este tipo de sustancias, como la actividad antioxidante pueden ser diferente dependiendo de la variedad de guayaba en estudio (Rojas-Barquera, 2009). En la producción de puré de guayaba se genera gran cantidad de subproductos; alrededor del 25 % del peso total de la fruta se desecha, estos provienen de las diferentes etapas de producción: trituración 5 %, refinación 12 % y tamizado 8 %. Estos subproductos se convierten en un grave problema para la industria alimentaria, debido a que se debe incurrir en gastos adicionales para su eliminación y/o manejo (Narvárez-Cuenca 2009).

En la actualidad se utilizan diversas tecnologías para extracción de antioxidantes con la finalidad de usarlos en la industria alimentaria. La extracción con fluidos supercríticos (FSC) es una técnica recientemente aplicada en alimentos, presenta algunas ventajas ante los métodos tradicionales, como el uso de bajas temperaturas, mejoramiento de

calidad, periodo reducidos de extracción y reducción del consumo de energía (Castro-Vargas et al 201).

Este trabajo tiene por objeto extraer con CO₂ SC los compuestos lipofílicos y evaluar la capacidad antioxidante en sub productos de guayaba (*Psidium guajava*. L).

OBJETIVOS

Propósito u objetivo de la investigación.

- Evaluar el aprovechamiento de los recursos vegetales a través de la extracción supercrítica de antioxidantes lipofílicos en subproductos de guayaba "*Psidium guajava* L."

Componentes u objetivos específicos de la investigación.

- Extracción de antioxidantes en subproductos de guayaba (*Psidium guajava* L.) empleando CO₂ SC como solvente y determinación del rendimiento de extracción.
- Determinación de antioxidante en los extractos de los subproductos de guayaba mediante métodos in vitro DPPH y ABTS.
- Determinación del contenido de fenoles totales de los extractos mediante método de Folin-Ciocalteu.

CAPÍTULO I

FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1 Origen de guayaba (*Psidium guajava* L.).

Proviene del idioma griego "psidion", significa granada por la apariencia entre sus frutos. El origen es incierto pero se sabe por referencias que se ubica en Mesoamérica Fue diseminada por los españoles y portugueses a todas las zonas tropicales del mundo donde se ha naturalizado con ayuda de los pájaros (Concha, 2012). La Guayaba corresponde a la familia de las Mirtáceas del griego que significa myrtos, perfume, y es emparentada con algunas especies como: Arrayán, Feijoa, Jaboticaba, y Pomarrosa. Crece en forma silvestre desde México hasta Brasil y Perú (Flores Iturralde, 2012).

La planta de guayaba se produce en varias áreas tropicales del continente americano. Existen investigaciones arqueológicas que datan de 5,700 y 3,000 a.c. de restos orgánicos, que se cultivaba en La Paloma, en el Valle de Chilca (Perú); también existen referencia de su cultivo en Centroamérica hasta la Amazonía y los Andes. El nombre Guayaba viene de la lengua de los taínos, esta cultura cultivaba el árbol junto de sus casas porque sabían sus propiedades alimenticias. Ellos ingerían la fruta fresca, elaboraban vinos exquisitos y perfumados, las hojas utilizaban para elaborar un jarabe que servía para aliviar el dolor de estómago, la madera se utilizaba para hacer arcos, flechas, cucharas y otros utensilios. (Flores Iturralde, 2012)

Las requerimientos climatológicos comprende una precipitación de 1000 - 2000 cm³ /h por año, entre 800 y 2000 m.s.n.m. de altura con temperatura promedio de 18 °C, humedad relativa de 78% y el pH del suelo debe de estar entre 5,0 y 6,0 (Castillo Ulloa, 2011). La fruta de guayaba concibe forma de baya ovoide de 5 cm de diámetro, en el mesocarpio (pulpa) se encuentran pequeñas semillas y varía de color dependiendo de la variedad. Las flores surgen en la base de las hojas con gran conjunto de estambres y un único pistilo. La forma del fruto depende de la variedad, al igual que el color de la pulpa y la corteza (Kowalczewski et al, 2010).

1.2 Producción de guayaba.

La guayaba está catalogada entre el grupo de frutos más producidos en el mundo. La producción mundial de guayaba está distribuida en zonas tropicales de todo el mundo. México produce el 50%, y un 25% producen Colombia, Egipto y Brasil (Yam Tzec et al., 2010).

Producción mundial de guayaba en el 2011 fue de 39 millones de toneladas métricas según FAO y en Ecuador en 2012 fue de 1.353 toneladas métricas (INEC, 2012).

1.3 Composición del fruto de guayaba.

La guayaba es una de las frutas con mayor contenido vitamínico se estima que tiene 16 vitaminas diferentes. Contiene minerales como el calcio, fósforo, hierro; sustancias albuminoides, ácido tánico, vitamina A, B1, B2, B3 y C (Agila Bustos, 2013). El contenido de vitamina C, en ocasiones sobrepasa los 400 mg / 100 g pulpa. Esto puede estar asociado a la forma de cultivo, el estado de madurez del fruto y a la época del año (Concepción et al., 2005).

Tabla 1. Composición química del fruto de guayaba

Componente	Contenido en porción de 100 g
Humedad	81.2 %
Proteína	1.1 g
Grasa	0.2 g
Carbohidratos	10 g
Fibra	6.8 g
Volátiles	0.7 mg
Calcio	33 mg
Fósforo	15 mg
Hierro	1.2 mg
Sodio	23 mg
Potasio	12 mg
Beta caroteno	60 ug
Vitamina B1	10 ug
Vitamina B2	0.05 ug
Niacina	1.1 mg
Vitamina C	152 mg
Energía total	46 calorías

Fuente: (Cabezas G, 2010).

1.4 Compuestos extraídos empleado diferentes métodos de extracción.

En la presente tabla se presenta diferentes técnicas de extracción aplicadas a algunas variedades de guayaba los compuestos difieren según el origen geográfico y el método de extracción aplicado (León Sinuco, 2009).

Tabla 2. Compuestos presentes en el fruto de guayaba.

Método	Variedad de guayaba, origen geográfico	Compuestos	Bibliografía
HS-Dinámico (muestreo por espacio de cabeza)	Cortibel (Brasil):	Aldehídos C6, ésteres, monoterpenos, sesquiterpenos (cariofileno).	(Soares et al, 2007)
Extracción con solvente simultanea (DES)	Lucknow-49 (India)	Ácidos C2, C4 y C6, aldehídos C6, ésteres, benzoato de metilo y benzoato de etilo.	(Toth-Markus et al, 2005)
Ultrasonido	Indefinida (Jakarta-Indonesia) Pulpa amarilla	Cinámico, acetato de (Z)-3-hexenilo y alcohol cinámico. y aldehídos C6 como (E)-2-hexenal y hexanal.	(Fernandez et al, 2001)
Microextracción fase sólida (HS-MEFS)	Indefinida (Francia)	Compuestos C6, aldehídos, ésteres y lactonas	(Paniandy et al, 2000)
Extracción Líquido-Líquido	Palmira ICA-1 y Glum Sali (Colombia)	Acetato de cinámico, acetato de (Z)-3-hexenilo y alcohol cinámico. hidrocarburos y aldehídos C6 como (E)-2-hexenal y hexanal	(Quijano et al, 1999)
Destilación al vacío-extracción con solventes	Indefinida (Taiwán) Pulpa blanca maduras e Inmaduras	1,8-cineol,(E)-2-hexenal y (E)-3-hexenal hexanoato de etilo y acetato de (Z)-3-hexenilo. Cariofileno presente en la cáscara	(Chyau et al, 1992)
Hidrodestilación	Indefinida (Nigeria-África)	Sesquiterpenos y ácidos grasos de cadena larga C8-C16.	(Ekundayo et al, 1991)
Extracción con solventes	Indefinida (El Cairo-Egipto)	Aldehídos C6, ésteres C3-C18	(Vernin et al 1991)
Extracción Líquido-Líquido	Indefinida (Isla Amami-Japón)	Compuestos C6 (aldehídos, alcoholes y ácidos), Alcohol cinámico acetato de 3-fenilpropilo	(Nishimura et al 1989)
Destilación Extracción al vacío Líquido-Líquido	Indefinida (Brasil)	Norisoprenoides: 4-oxo-dihidro-beta-ionol	(Idstein et al, 1985)

1.5 Compuestos bioactivos.

La capacidad antioxidante presente en un fruto depende de sus diferentes compuestos bioactivos: fenólicos, carotenos, antocianinas y ácido ascórbico. Es decir aportan su potencial antioxidante. La madurez del fruto influye en el contenido de compuestos bioactivos, por que durante la madurez se sintetizan en mayor grado aumentando la capacidad antioxidante. Los compuestos bioactivos presentes en mayor cantidad en pulpa de guayaba son: Polifenoles totales, carotenoides y vitamina C (Carrasco, 2008 ; Ramirez and Pacheco, 2011) .

1.6 Tecnologías y métodos de obtención de extractos naturales.

Para extraer un extracto se debe identificar el tipo de matriz vegetal. El proceso de extracción se constituye fenómenos químicos: interacción molecular del disolvente con los compuestos de la matriz vegetal y físicos: difusión de compuestos de la pared celular (Vinatoru, 2001)

1.6.1 Método de extracción con disolventes.

Este método consiste en la selección de disolventes adecuados, temperatura y agitación, con el propósito de incrementar la solubilidad de la matriz vegetal y aumentar la tasa de transferencia de masa (Gao and Liu, 2005). En este método se utiliza disolventes con base soluble, por lo general agua y disolventes orgánicos. En procesos industriales la extracción de compuestos se realiza en procesos continuos mezclando disolventes orgánicos y acuosos permitiendo el intercambio iónico (Azuola et al., 2007).

1.6.2 Método de extracción por Soxhlet.

Consiste en un proceso físico químico mediante la recirculación del vapor condensado que pasa por un sifón a través de la fuente del disolvente que se encuentra en

evaporación continua arrastrando los compuestos presentes en la matriz vegetal. Para la recuperación del compuesto deseado se evapora el solvente (Caldas, 2012).

1.6.3 Método de extracción por destilación.

En este método el material vegetal es mezclado con agua, sometido posteriormente a calentamiento o a una corriente de vapor (Vinatoru, 2001). Los compuestos son arrastrados por el vapor. Para este método se requiere: un generador de vapor, un reactor o cámara de extracción, un condensador y un vaso florentino. Es un método sencillo, económico. Requiere largos periodos de tiempo y en algunos casos se obtiene bajos rendimientos (Peredo et al., 2009)

1.6.4 Tecnología de extracción por ultrasonido.

El ultrasonido (US) se fundamenta en el fenómeno de cavitación, consiste en formación, crecimiento y colapso de burbujas de vapor o gas debido al efecto del campo ultrasonoro dentro del líquido. Se emplea ondas de una frecuencia determinada que facilitan la extracción de los compuestos bioactivos del material vegetal (Rodríguez-riera et al., 2014)

El mecanismo de extracción de los compuestos se produce por rompimiento de la pared celular en consecuencia se liberan los compuestos de la célula. Esta tecnología asistida se ha reportado como más ventajosa en comparación con la técnica de extracción con solventes (A, Robles-Ozuna L E, 2013).

1.6.5 Tecnología de extracción por microondas asistida.

El principio de esta técnica se basa en la absorción de energía de la muestra producida por un microondas, esto incrementa la temperatura y la presión, permitiendo la difusión de los componentes desde la matriz hasta el disolvente que rodea la muestra (Lopez et al., 2000).

Las microondas son una radiación no-ionizante (frecuencia de 300 a 300000 MHz) causando el movimiento molecular por migración de iones y rotación de dipolo. La

rotación dipolar hace referencia al alineamiento, debido al campo eléctrico, de las moléculas de disolvente y de la muestra, por los momentos dipolares. (Pino Estévez, 2004). Permite una extracción selectiva de principios activos en matrices vegetales se fundamenta en el calentamiento selectivo produciendo fricción molecular debida a la alineación de iones y dipolos al campo eléctrico. Se necesita una frecuencia de 2,45 GHz (Mosquera et al., 2012).

1.6.6 Tecnología de extracción por fluidos supercríticos (FSC).

Es una técnica amigable con el medio ambiente, rápida y segura, con mínimo empleo de disolventes líquidos. Las ventajas, fraccionamiento de los compuestos extraídos mediante la despresurización en etapas, lo que se designa precipitación selectiva, la reutilización del FSC en diferentes procesos constituyendo un alto ahorro de costes, y la eliminación del fluido del extracto por simple descompresión, (Illera, 2012). Esta tecnología utiliza fluidos supercríticos, los mismos que se encuentra a temperatura y presión superiores a los valores correspondientes al punto crítico. Las densidades de los FSC son cercanas a los líquidos, lo que influye en la solubilidad. La viscosidad es próxima a los gases, facilitando la movilidad de los compuestos(Ovejero, 2008).Los fluidos empleados como solventes de extracción supercrítico son: dióxido de carbono, propano, agua, amoníaco, hexano, etileno, tolueno y el óxido nitroso. De los cuales el dióxido de carbono es más empleado (Esquível and Bernardo-Gil, 1993).

La aplicación industrial con Extracción Supercrítica (FSC) principalmente en los alimentos se ha desarrollado en los últimos 20 años, es muy usado en el descafeinado de café, té y obtención de aromas en frutas(Calero Consuegra, 2011;Muñoz et al., 1999). El CO₂ en estado supercrítico puede ser empleado en extracción de productos nutracéuticos, funcionales y alimenticios, lo que en la actualidad es de importancia relevante por el aporte beneficioso a la salud (Rodríguez et al., 2004).

1.7 El dióxido de carbono (CO₂) como solvente supercrítico.

El empleo de CO₂ para realizar extracciones está registrado como una tecnología limpia permite conservar las propiedades nutricionales y funcionales intactas (Mendiola et al.,

2009). El CO₂ se sometido a condiciones de temperatura y presión por encima de su punto crítico (presión 72 bar y temperatura 31.1°C), a estas condiciones se logra obtener un fluido con elevado coeficiente de difusividad y una viscosidad más baja que los líquidos, consiguiendo una mejor penetración en las matrices sólidas y aumentando la disolución de componentes químicos durante los procesos de extracción (Morillo and Castillo, 2010; Mendiola, 2008).

El CO₂ como fluido supercrítico es el más estudiado por el cumplimiento de propiedades fisicoquímicas; densidad y punto crítico, excepción de su polaridad que, en principio, limita su poder como solvente para extraer sustancias polares (Mendiola, 2008).

1.8 Proceso de extracción con fluidos supercríticos.

El proceso de extracción, al igual que las extracciones con disolventes líquidos, puede producirse en forma estática o de forma continua. En la extracción estática, la celda de extracción es presurizada con el fluido en estado supercrítico conservando cerrada la válvula de salida del extractor. Una vez concluida la extracción, la misma válvula es abierta, permitiendo el paso de los fluidos con los analitos extraídos al sistema de colección. En la extracción dinámica, el fluido en estado supercrítico se deja fluir de manera continua a través de la celda de extracción, conservando las válvulas de entrada y salida abiertas del extractor durante todo el tiempo de extracción.

El sistema de extracción de Fluidos Supercrítica consiste: bomba de alta presión, celda de extracción, zona de descompresión y sistema de colección de los analitos (Valverde, 2002).

1.9 Determinación de fenoles totales y capacidad antioxidante (ABTS, DPPH).

Para la determinación de fenoles totales se emplea el método espectrofotométrico desarrollado por Folin y Ciocalteu, se fundamenta en su carácter reductor de radicales libre. Se emplea una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, el mismo se reducen al oxidarse con los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio (W₈ O₂₃) y molibdeno (Mo₈O₂₃). (Kuskoski et al., 2005).

La capacidad antioxidante se emplea el método de DPPH, desarrollado por (Brand-Williams et al 1995) con modificaciones Rojano et al, (2008a). Consiste en reducir el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) en la 2,2 difenil 1 picril hidracina, por la acción antioxidante de compuestos que contienen grupos –OH que decoloran dicho reactivo (Echavarría et al., 2009).

El método de ABTS descrito por (Arnao et al., 2001) es un catión radical estable debido a su capacidad de deslocalizar el electrón desapareado entre los átomos de nitrógeno de su estructura. El ABTS•+ reacciona con los compuesto polifenólico (trolox se usa de referencia), entre mayor es la actividad antioxidante presente en el extracto mayor es la decoloración debido a la reducción (Gaviria Montoya et al., 2009).

El método ABTS mide la actividad antioxidante de compuestos de característica hidrofílica y lipofílica, y el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico. El método ABTS y DPPH permite medir la transferencia de protones y electrones del compuesto polifenólico. (Kuskoski et al., 2005).

CAPITULO II
MATERIALES Y MÉTODOS

Las pruebas de la presente investigación fueron desarrolladas en el Lab. Alimentos de la UTPL con la finalidad de determinar; rendimiento, fenoles totales y actividad antioxidante en sub producto de guayaba (*Psidium guajava* L.).

2.1 Materiales.

2.1.1 Muestras.

Para la investigación se utilizó el subproducto de elaboración de jugos de guayaba (*Psidium guajava* L.) correspondiente a piel, pulpa y semillas adheridas, los mismos que fueron proporcionados por la empresa Agroficial de la ciudad de Guayaquil (figura.1) en el año 2013 la cual se mantuvo en congelación -20°C hasta la realización el presente trabajo.



Figura 1. Ubicación geográfica de la provincia de Guayaquil.

Fuente: (Google Maps, 2015).

2.1.2 Reactivos.

Extracción con fluidos supercríticos: CO_2 grado alimento (pureza 99,9 %) (INDURA), etilenglicol (LAQUIN S. A).

Fenoles Totales: Folín-Ciocalteu 2N (Sigma-Aldrich) código: 452323 (PubChem, 2015), carbonato de sodio (Merck) código:10340 (PubChem, 2015), ácido gálico (Sigma) código: 370(PubChem, 2015), metanol código: 887 (Methanol, 2015)(Panreac Química S. A).

ABTS: 2,2-azinobis (3 - etilbenzotiazolín - 6 – sulfónico) (Sigma), persulfato de potasio (Sigma- Aldrich), (ácido 6 – hidroxí – 2, 5, 7, 8- tetrametilcromo- 2- ácido carboxílico) código: 9570474(PubChem, 2015) Trolox (Aldrich Chemistry).

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (Sigma), (ácido 6- hidroxí-2, 5, 7, 8- tetrametilcromo- 2- ácido carboxílico) código: 2735032 (DPPH, 2015) Trolox (Aldrich Chemistry) código: 40634 (PubChem, 2015).

2.1.2 Extracción con fluidos supercríticos.

Para la extracción de los compuestos lipofílicos presentes en subproductos de guayaba (*Psidium guajava L.*) se trabajó variando las temperaturas de 35, 40, 45 y 60 °C, presiones de 100, 150 y 200 bares, con un flujo de 10000 mL CO₂/min (medido en condiciones ambientales) durante seis horas, Estas condiciones se definieron con anterioridad mediante ensayos previos. Cada cierto tiempo se tomaron muestras para determinar la cinética de extracción. En la figura. 2 se indican las diferentes partes del equipo de fluidos supercríticos mediante un diagrama de flujo.

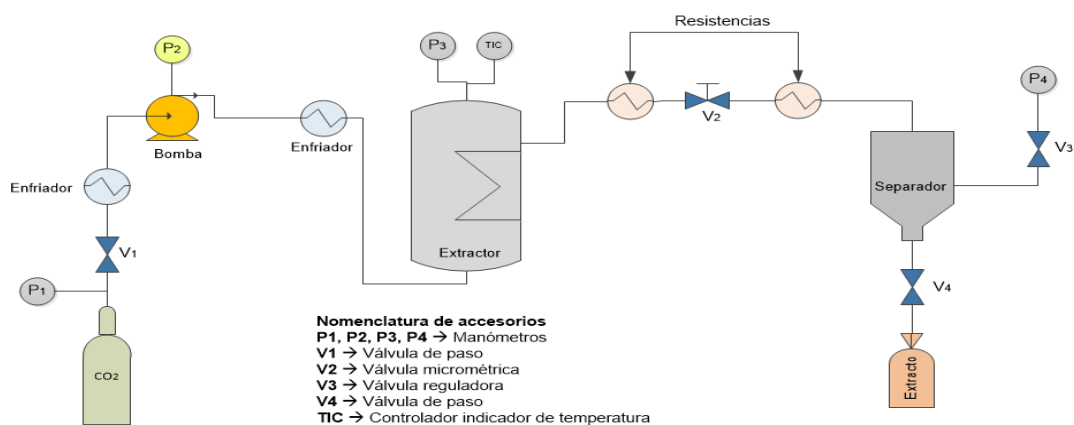


Figura 2. Diagrama de flujo del equipo de fluidos supercríticos.

Fuente: Equipo de fluidos supercríticos del laboratorio de Alimentos de la Universidad Técnica Particular de Loja.

2.1.3 Descripción del proceso de extracción supercrítica.

Para la utilización del equipo de fluidos supercríticos (FSC) primero se conecta correctamente las tuberías y controladores eléctricos. Se establece la temperatura a trabajar en la estufa y se verifica que la temperatura establecida coincida con controlador (TIC), se abre la válvula de la parte superior del cilindro de CO₂ para la circulación del gas por la tubería hasta el extractor, la presión empieza a incrementarse, y se verifica con el manómetro (P1) registre mínimo 56 bares para abastecer al sistema la presión deseada. Se enciende la bomba y dependiendo del requerimiento de presión a alcanzar se manipula manualmente la bomba (P2) regulando con la válvula micrométrica a la salida del extractor, midiendo el valor de presión con el manómetro (P3) hasta que llegue al valor deseado, luego se abre dicha válvula micrométrica (V2) el flujo de CO₂ se regula con la válvula back pressure ubicada luego del separador hasta que sea de 10 000 ml CO₂/min.

Se debe revisar la temperatura de las resistencias ya que al abrir la válvula micrométrica el gas se expande adiabáticamente, y se produce una variación en el separador por el efecto Joule-Thomson (Gañaán, 2014).

Establecidas las condiciones de presión y temperatura, se procede a abrir la válvula de control manual (V3) para permitir el paso del gas comprimido del separador, esto nos ayuda a fijar la presión del separador (P4) en 30 - 35 bares, a esta presión se logra separar los extractos lipofílicos del CO₂ en el que están disueltos. Estabilizado el equipo en las condiciones fijadas de temperatura y presión, se inicia con la extracción en un proceso continuo de un periodo de tiempo de 6 horas. Al mismo periodo se lo divide en los siguientes tiempos: en la primera hora se subdivide en 15 y 30 minutos en los cuales se recoge muestras, posterior a esto se recogen muestras cada hora obteniendo al final de la extracción un total de 8 muestras.

A continuación en la figura 3 se presenta una fotografía del equipo de fluidos supercríticos, que se encuentra en el laboratorio de Alimentos de la Universidad Técnica Particular de Loja.



Figura 3. Fotografía del Equipo de FSC ubicado en el laboratorio de alimentos de la Universidad técnica Particular de Loja.

Culminado el proceso de extracción, se apaga la bomba, y se procede a cerrar la válvula del cilindro de CO₂ para despresurizar el equipo a las mismas condiciones que se trabajó de la extracción, realizado esto se procede a desmontar el extractor y separador del equipo.

2.2 Métodos.

2.2.1. Tratamiento de la muestra.

Los subproductos fueron sometidos a un proceso de deshidratación para lograr un porcentaje de humedad 4%, utilizando aire caliente a temperatura de 45 – 50 °C por un tiempo de 36 horas, para este fin se usó un secador de bandejas Ecuapack. Se trituró utilizando un molino vibratorio de discos Retsch. Posteriormente se tamizó en tamices Analysensieb (modelo DIN 4188) hasta obtener un tamaño de partícula entre 200 – 250 micrómetros (Pérez- Jiménez, J y Saura-Calixto 2007 ; Figueroa et al., 2012). Por último se almacenó la muestra a – 20 °C por presentar compuestos termolábiles (Kong et al., 2010). En anexo A se detalla el proceso de tratamiento de la muestra de guayaba

2.2.2 Obtención de extractos.

Para la obtención de los extractos, se pesaron 20 g de muestra que se alimentaron en el extractor, ocupando un volumen correspondiente a la mitad del recipiente; la muestra se mezcló con perlas de cristal para evitar la formación de grumos y distribuir uniformemente la presión y el flujo de CO₂, con esto se logra buen contacto entre el CO₂ y las partículas de la muestra de guayaba durante el proceso de extracción.

Se trabajó variando dos parámetros de extracción; temperatura (35, 40, 45 y 60 °C), y presión (100, 150 y 200 bares), manteniendo constante el flujo volumétrico en 10000 mL CO₂/min durante 6 horas.

El rendimiento de extracción se determinó con el peso acumulado de cada extracción dividido para el peso de la muestra alimentada en el extractor por cien (Ec. 1).

$$R (\%) = \frac{\text{Peso del extracto obtenido}}{\text{Peso de muestra inicial alimentada}} \times 100 \text{ Ec. (1)}$$

2.2.3 Cinética de extracción supercrítica.

Los datos obtenidos del rendimiento, contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante se los represento en graficas vs tiempo con la finalidad de observar el comportamiento de la curva cinética y determinar el tiempo en que se obtuvo el mayor rendimiento.

2.3. Determinación de capacidad antioxidante.

Los extractos se diluyeron en metanol en concentración de 1000 ppm (peso/volumen) se sonicaron en un ultrasonido (Fisher Scientific Mod. FS 20D) hasta disolver por completo la muestra en metanol.

2.3.1 Fenoles totales.

El contenido de fenoles totales de los extractos de cada extracción fue determinado usando el método de Folin-Ciocalteu descrito por Thaipong et al., (2006). Se tomó 150 µL

de muestra diluida, colocando en viales, adicionando 2400 μL de agua destilada y 150 μL de reactivo Folín Ciocalteu (0,25N). Agitó durante 5 minutos, luego se agregaron 300 μL de carbonato de sodio y se dejó reposar durante 2 horas en oscuridad.

Para determinar el contenido de fenoles totales se utilizó ácido gálico como estándar, para ello se prepararon diferentes concentraciones realizado una curva de calibración. Los estándares y las muestras se leyeron a una longitud de onda de 725 nm en el espectrofotómetro visible (serie 1330). Los resultados se expresaron en mg equivalente de ácido gálico por 100 gramos de muestra (mg GAE/100g muestra). En anexo B se adjunta el diagrama del procedimiento.

2.3.2 Capacidad antioxidante: ABTS y DPPH.

a. ABTS.

Para determinar la capacidad antioxidante se empleó método ABTS descrito por Arnao et al (2001) con modificaciones de Thaipog et al (2006). Pesaron 40.6 mg de ABTS y 7 mg de persulfato de potasio los cuales, aforados en 10 mL con agua destilada respectivamente cada balón. Ambas soluciones se mezcló y dejaron reposar por 12 h para su reacción, esta es la solución patrón (SP) de ABTS^+ . La solución de trabajo (ST) se preparó a partir de 1 mL de SP disuelta en 60 mL de metanol a la cual se ajustó la absorbancia hasta 1.1 ± 0.02 nm a una longitud de onda de 734 nm.

La preparación de los extractos para su posterior análisis s describe a continuación . Tomaron 150 μL de muestra diluida mezclando con 2850 μL de solución ST, se dejaron reaccionar por 12 horas en la oscuridad, se leyó en espectrofotómetro visible (serie 1330). A longitud de onda de 734 nm. Para la expresión y comparación de los resultados se utilizó trolox como estándar a diferentes concentraciones para elaborar la curva de calibración. Los resultados se expresaron en μmol equivalentes de Trolox/g de muestra. En el anexo C se adjunta el diagrama de procedimiento.

b. DPPH.

Este método DPPH fue descrito por Brand-Williams et al., (1995) con las modificaciones descritas por Thaipog et al (2006). Preparación de solución patrón (SP) se pesaron 24 mg de DPPH aforándolos en 100 mL de metanol, manteniendo en refrigeración a -20 °C hasta el momento que se utilizó. La solución de trabajo (ST) se obtuvo mediante la mezcla de 10mL de la (SP) antes preparada más 45 mL de metanol, la ST se ajustó a absorbancia de 1.1 ± 0.02 leída a longitud de onda 515 nm en espectrofotómetro visible (serie 1330).

Para evaluar la capacidad antioxidante de cada extracto de guayaba; se tomaron 150 μ L de muestra diluida, más 2850 μ L de ST. Dejaron reaccionar por 24 horas en la oscuridad, cada muestra fue leída a una longitud de onda de 515 nm en un espectrofotómetro visible (serie 1330). Para la elaboración de la curva de calibración se empleó estándares de trolox a diferente concentración se muestra en anexo (2.1). Los resultado se expresa en μ mol equivalentes de Trolox/g muestra. En anexo D se adjunta el diagraame de procedimiento

CAPITULO III
RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Rendimiento de extractos.

En la figura (a) están representados los valores de rendimiento obtenidos de los procesos de extracción y en la figura (b) se representa la curva cinética de extracción para las condiciones con mayor rendimiento de extracción de P 150 bar T 45 °C. Los resultados fueron obtenidos durante el proceso de extracción continua de seis horas variando presión y temperatura. El tiempo representa un efecto positivo en la extracción, por producir mayor tiempo de exposición con la matriz, es de suponer que a mayor tiempo se incrementa los rendimientos (Arias , 2012).

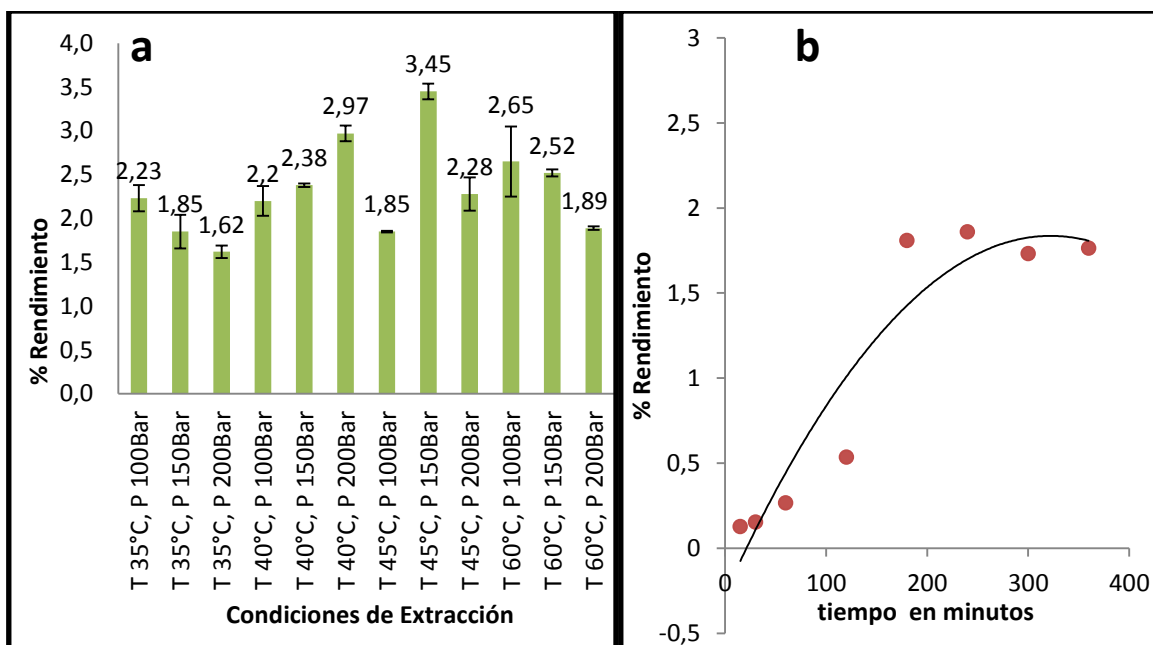


Figura 4. (a) Rendimiento (peso/peso) durante seis horas. (b) Curva de rendimiento (P 100 bar T 45 °C)

El rendimiento más alto fue de 3.45% (P: 150 bar T: 45°C) y el menor de 1.62% (P: 200 bar T: 35°C). El mayor rendimiento se obtuvo en 180 minutos y las mejores condiciones de extracción fueron a 150 bar y 45 °C. En literatura se reporta un rendimiento de 19 %, peso/peso en semillas de guayaba a condiciones de extracción de (30 MPa T 40 °C) (Castro-Vargas et al., 2010), al incrementar la temperatura se aumenta la solubilidad de

los compuestos de la matriz vegetal y se extraen fácilmente (Li, S., & Hartland, 1996 ; Mendiola, 2008 ; Nivia et al., 2007)

3.2 Cuantificación de fenoles totales

Los resultados de fenoles totales se expresaron en mg GAE/100 g muestra seca de subproductos de guayaba (Anexo E), las siguientes figuras de 5 a 11, se representan a diferente presión y temperatura las curvas cinéticas y gráficos de barras que muestra el rendimiento de fenoles totales. El proceso de extracción FSC fue continuo manteniendo la presión o temperatura constante. Se aprecia la cinética de extracción del rendimiento de fenoles totales que decrece conforme se acerca al tiempo máximo de 6 horas. Se puede apreciar que la curva toma tendencia lineal a temperatura de 60 °C o cercana a la misma.

Los gráficos de barras muestran los porcentajes de cada condición de extracción supercrítica, en similitud a las curvas cinéticas las gráficas muestran valores mayores a temperatura cercanas a 60 °C.

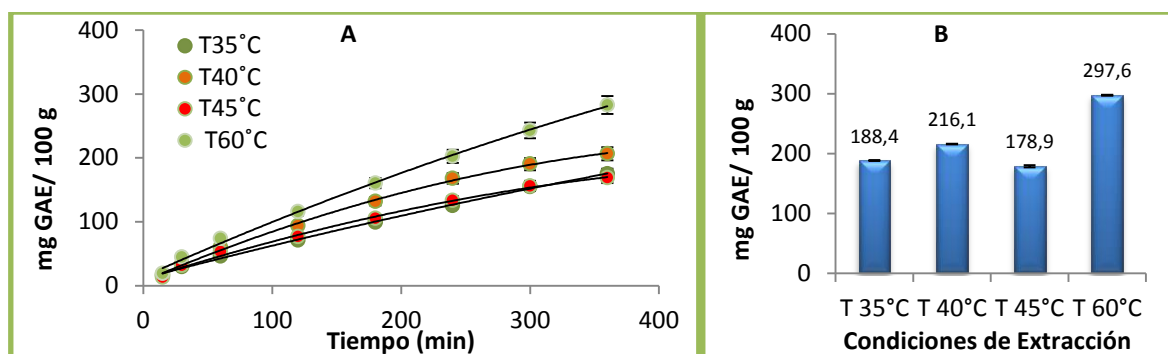


Figura 5. (a) Cinética a presión constante 100 bar (b) Rendimiento final de fenoles totales a presión constante 100 bar (6 horas).

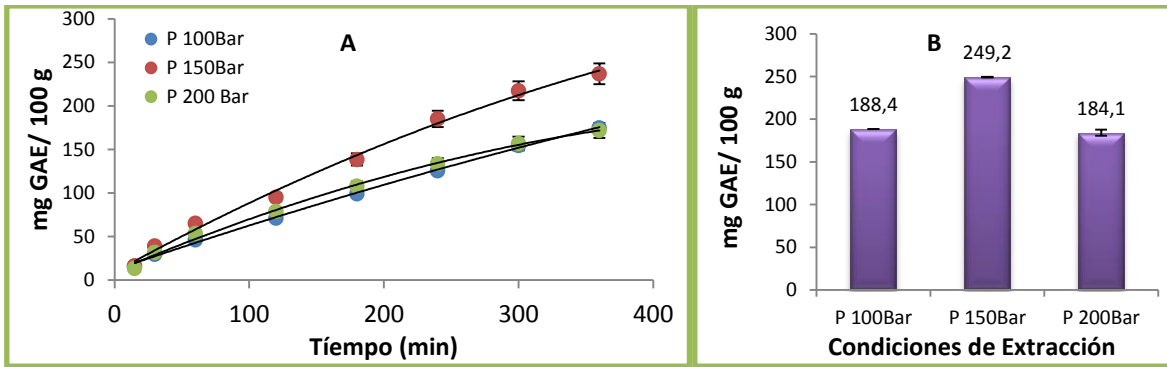


Figura 6. (a) Cinética a temperatura constante 35 °C (b) Rendimiento final fenoles totales, temperatura constante 35 °C (6 horas).

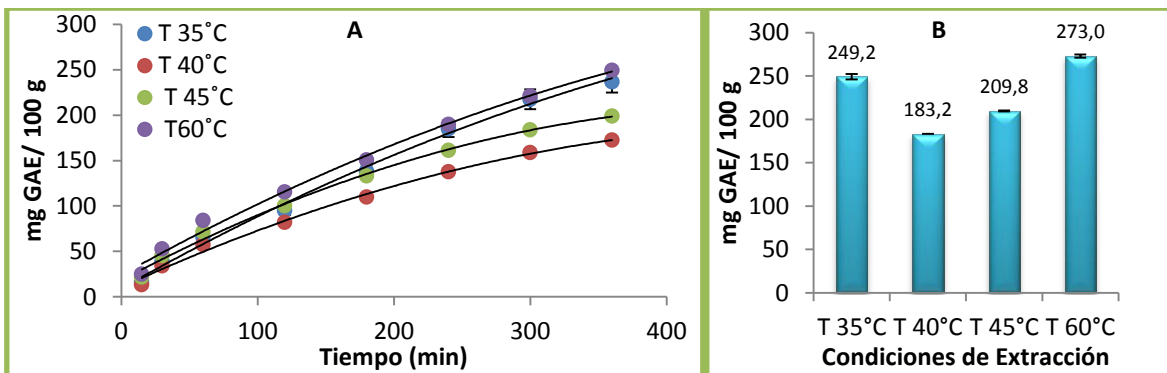


Figura 7. (a) Cinética a presión constante de 150 bar (b) Rendimiento final de fenoles totales a presión constante 150 bar (6 horas).

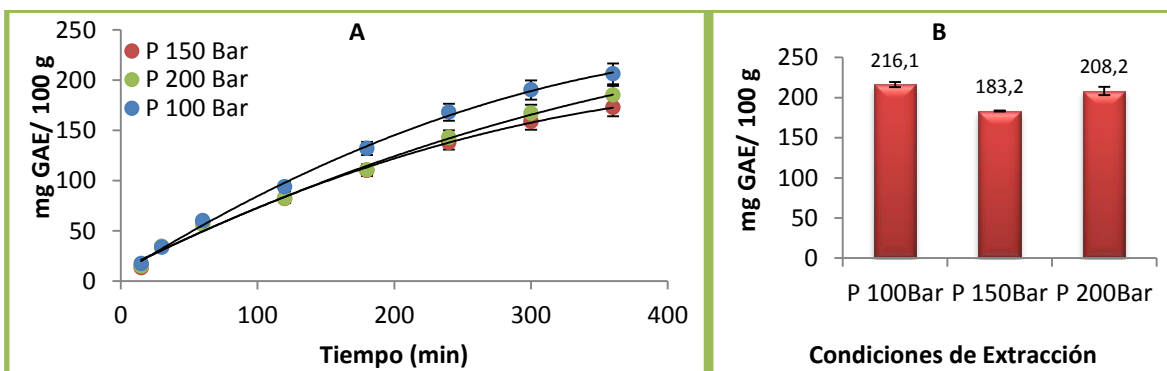


Figura 8. (a) Cinética a temperatura constante 40 °C (b) Rendimiento final de fenoles totales a temperatura constante 40 °C (6 horas).

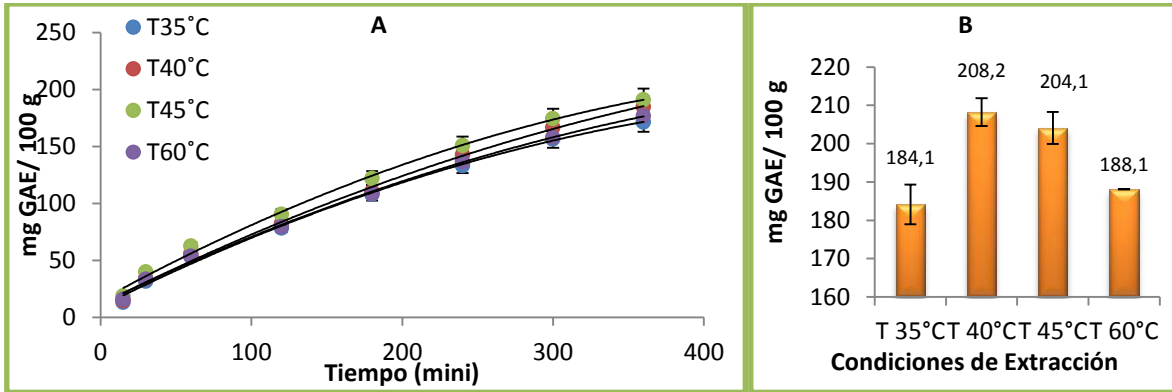


Figura 9. (a) Cinética a presión constante 200 bar (b) Rendimiento final de fenoles totales presión constante 200 bar (6 horas).

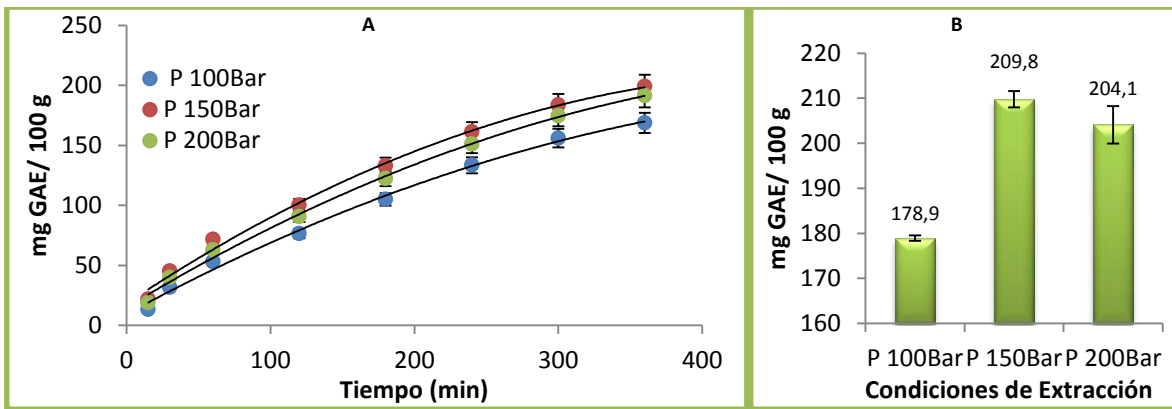


Figura 10. (a) Cinética a temperatura constante de 45 °C (b) Rendimiento final de fenoles totales presión constante 45 °C (6 horas).

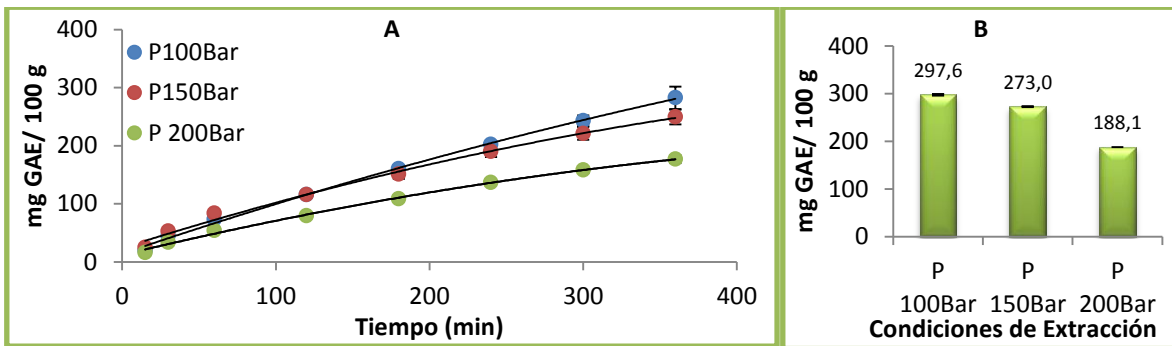


Figura 11. (a) Cinética a temperatura constante de 60 °C (b) Rendimiento final de fenoles totales temperatura constante 60 °C (6 horas).

Como se puede apreciar en las gráficas si aumentamos la temperatura y la presión el rendimiento de fenoles totales fue mayor en comparación de presiones y temperaturas más bajas que presentaron rendimientos menores. Si extraemos a mayor presión y temperatura se aumenta la densidad del CO₂ supercrítico con ello mayor rendimientos fenólico, las presiones altas favorecen el desprendimiento de los compuestos presentes en la matriz vegetal de los subproductos de guayaba (Castro-Vargas et al., 2010 ; Rosa et al., 2005). En las extracciones realizadas de 45 y 60 °C las mismas que se mantuvieron constantes mientras se varia la presión se obtuvieron los mejores rendimientos fenólicos ($p < 0.05$), y en las presiones constantes de 150 y 200 bar registraron un significativo incremento de fenoles. Castro-Vargas et al., (2010) ; Michielin, et al (2005).

A temperatura constante y variando la presión, las condiciones de extracción de 60 °C y 100 bar se obtuvo el más alto rendimiento de 56,6 mg GAE/100 g subproductos de guayaba. Este resultado es comparado con Castro-Vargas et al., (2010). Que obtuvo un valor de 79 ± 4 mg GAE/100 g muestra de semilla (60 °C, 30 MPa) y 153 ± 1 mg GAE/100 g muestra de semilla (60 °C, 10 MPa) también se compara con resultados obtenidos empleando como medio de extracción solventes polares próticos condiciones normales, Rojas Jiménez, (2014) reporta 4434 mg EAG/100 g BS y Rufino et al., (2011) 4330 mg EAG/100 g BS. La diferencia de los resultados radica que el CO₂ es apolar disminuyendo la extracción de compuestos lipofilicos.

El rendimiento obtenido difiere en comparación con resultados mayores reportados por autores que en su investigación emplearon presiones más elevadas. En relación de la temperatura de 45 y 60 °C diversos autores coinciden que son idóneas (Castro-Vargas et al., 2010; Nivia et al., 2007a).

3.3 Determinación de capacidad antioxidante.

3.3.1 Método ABTS.

A continuación se presenta en las figuras 11 a 18. En donde se puede apreciar la tendencia que muestran las curvas a 300 minutos del proceso de extracción se registran valores elevados de capacidad antioxidante, sin embargo a medida que nos acercamos a las seis horas la curva empieza a tener un curso lineal se puede ver en las gráficas de

valores altos del rendimiento de capacidad antioxidante en presiones de 200 bar o cercanas a la misma.

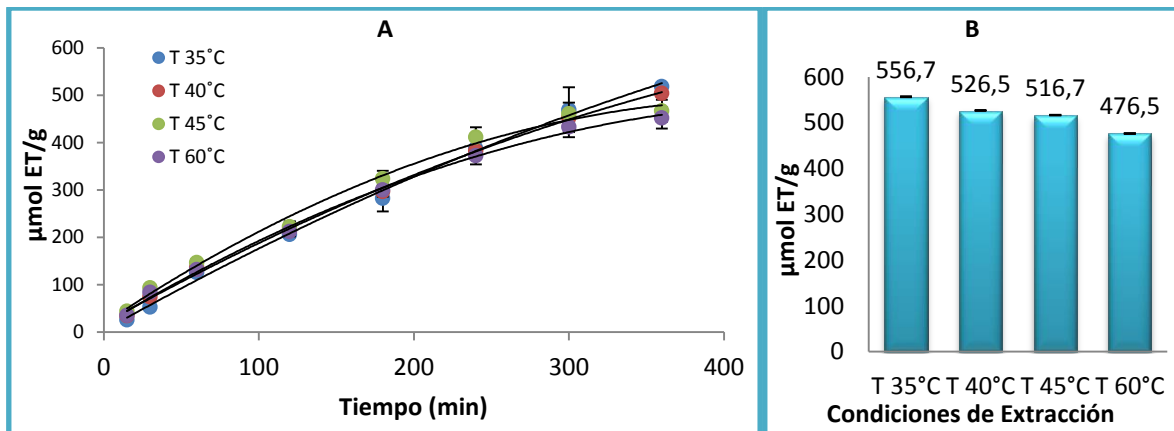


Figura 12. (a) Cinética presión constante 100 bar (b) Capacidad antioxidante por ABTS presión constante 100 bar (6 horas).

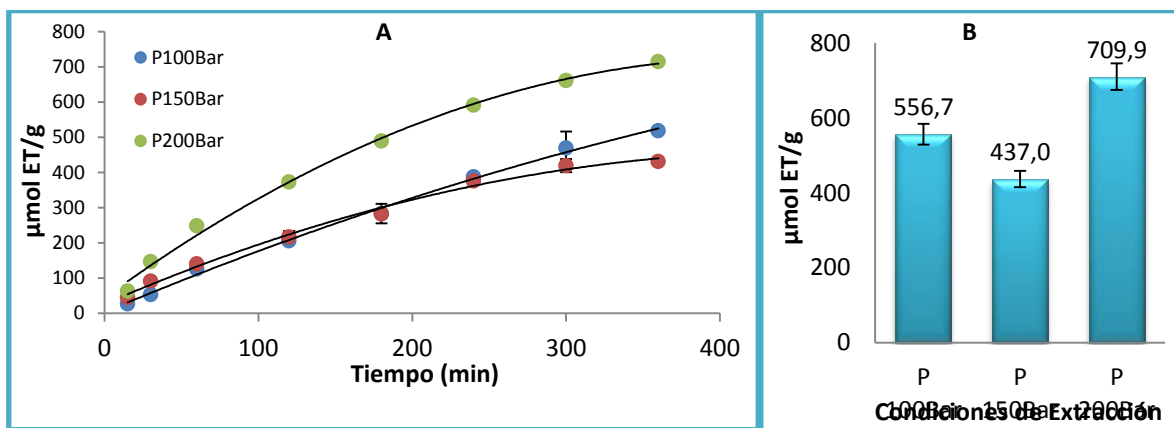


Figura 13. (a) Cinética temperatura constante 35 °C (b) Capacidad antioxidante por ABTS temperatura constante 35 °C (6 horas).

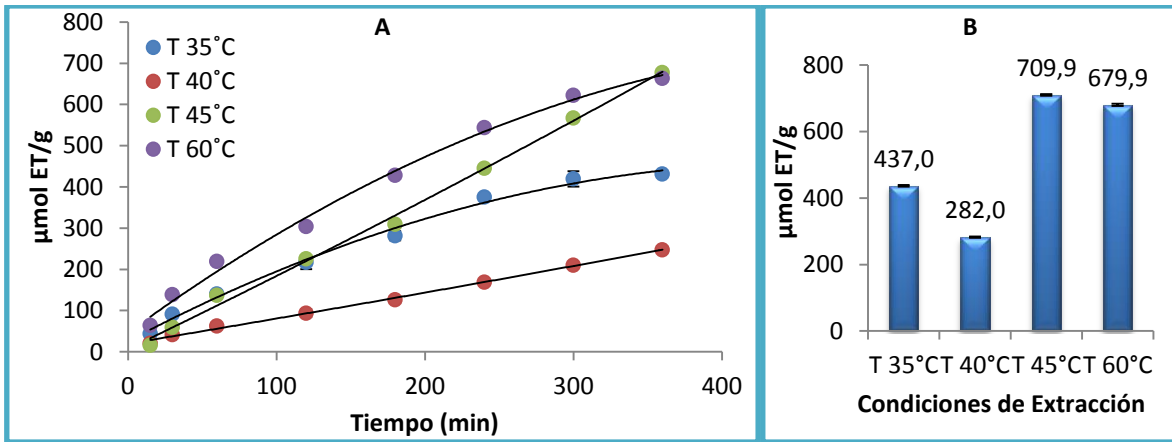


Figura 14. (a) Cinética presión constante 150 bar (b) Capacidad antioxidante por ABTS presión constante 150 bar (6 horas).

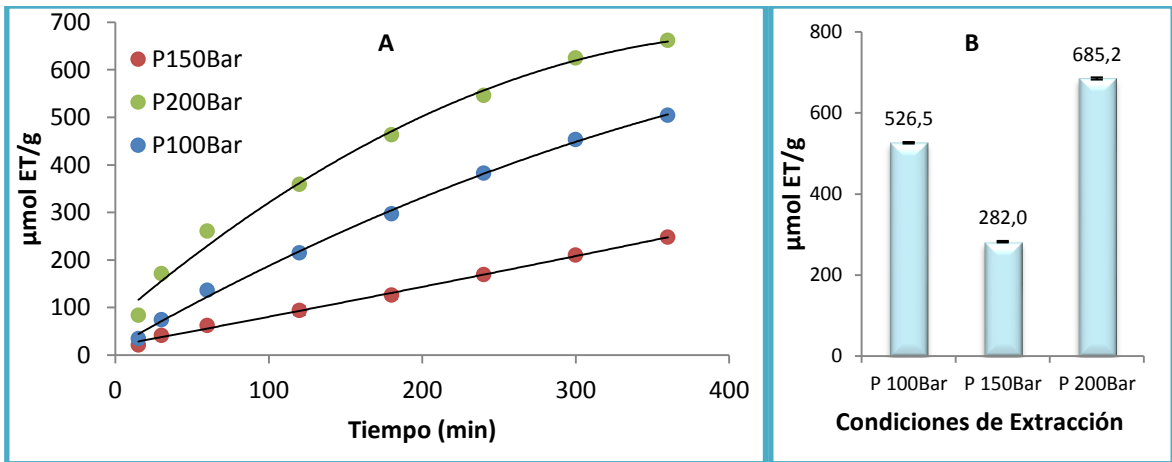


Figura 15. (a) Cinética temperatura constante 40 °C (b) Capacidad antioxidante por ABTS temperatura constante 40 °C (6 horas).

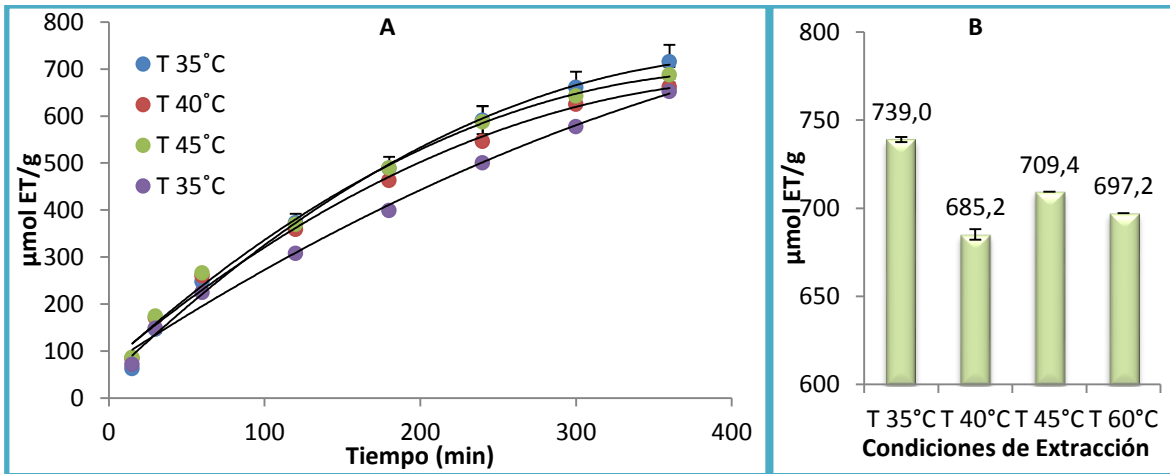


Figura 16. (a) Cinética presión constante 200 bar (b) Capacidad antioxidante por ABTS a presión constante 200 bar (6 horas).

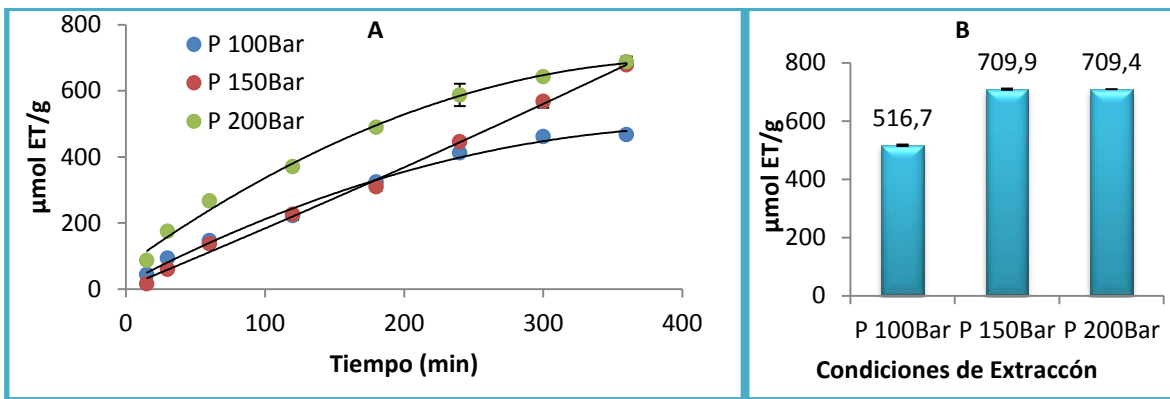


Figura 17. (a) Cinética temperatura constante 45 °C (b) Capacidad antioxidante por ABTS temperatura constante 45 °C (6 horas).

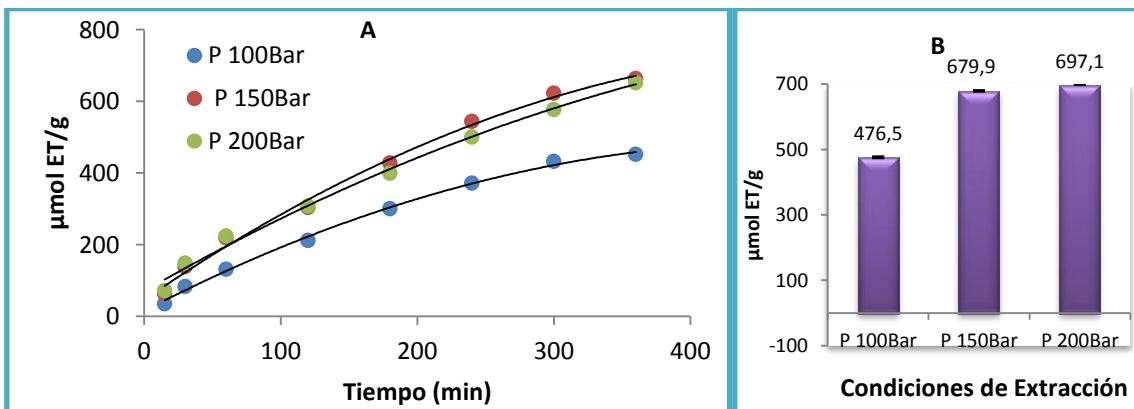


Figura 18. (a) Cinética temperatura constante 60 °C (b) Capacidad antioxidante por ABTS a temperatura constante 60 °C (6 horas).

La tendencia cinética de las diferentes extracciones indica que a mayor presión las curvas se comportan más lineales, significa que el CO₂ en estado supercrítico extrajo más compuestos con capacidad antioxidante de la matriz vegetal a diferencia de las extracciones con temperaturas bajas. Los gráficos de barras muestran las mejores condiciones de extracción de 82.11 µmol ET/g subproductos de guayaba, a 200 bar y 35 °C. En este caso se produce mayores resultados de capacidad antioxidante a presiones altas; la misma singularidad presentan datos de 200 bares, 45 °C 78.88 y 150 bares, 45 °C 78.82 µmol ET/g subproductos de guayaba. Los valores son menores al comparar con el resultado obtenido 211 µmol Trolox/g subproductos base seca Rojas Jiménez, (2014) 184 µmol Trolox/g muestra cáscara, Restrepo ánchez, (2009); Espinal, (2010) (249 µmol ETrolox/g BS) en comparación con resultados de fruta de guayaba 6679,92 ± 125,37 umol Trolox Equivalente / 100 g de fruta fresca Zapata et al.,(2013). Mencionar que estos autores usaron solventes próticos para extracción de compuesto, favoreciendo extraer compuestos lipofílicos de la matriz vegetal, mientras tanto el CO₂ que es empleado como solvente para FSC presenta baja polaridad.

3.3.2 Método DPPH.

De la figura 19 a 25 se muestra la cinética y rendimientos de capacidad antioxidantes a diferentes condiciones de extracción FSC, manteniendo presión constante y variando la temperatura o viceversa. En este método DPPH la cinética tiene tendencia a la misma dirección, debido a los valores obtenidos en cada tiempo estos son muy cercanos, se observa que hubo una trayectoria cinética distinta de extracción a temperatura constante de 60 °C.

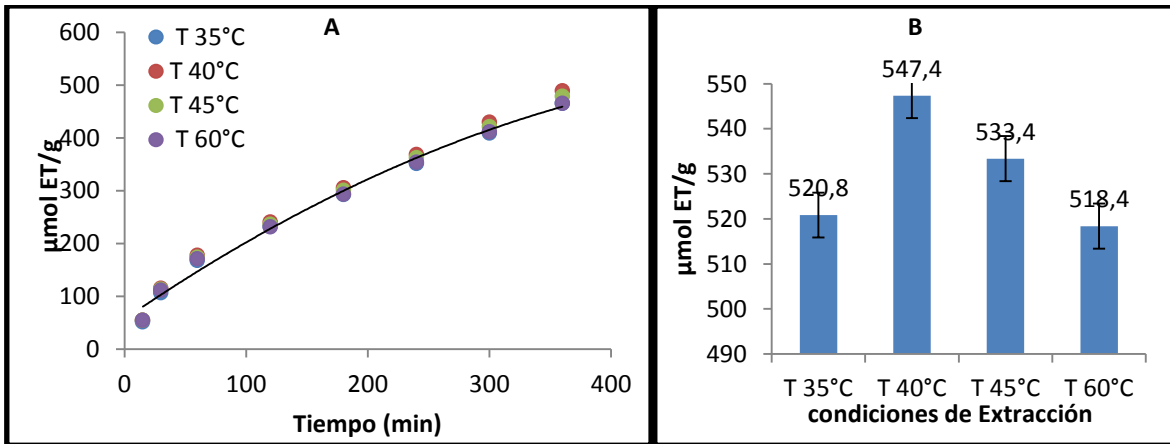


Figura 19. (a) Cinética presión constante 100 bar (b) Capacidad antioxidante por DPPH presión constante 100 bar (6 horas).

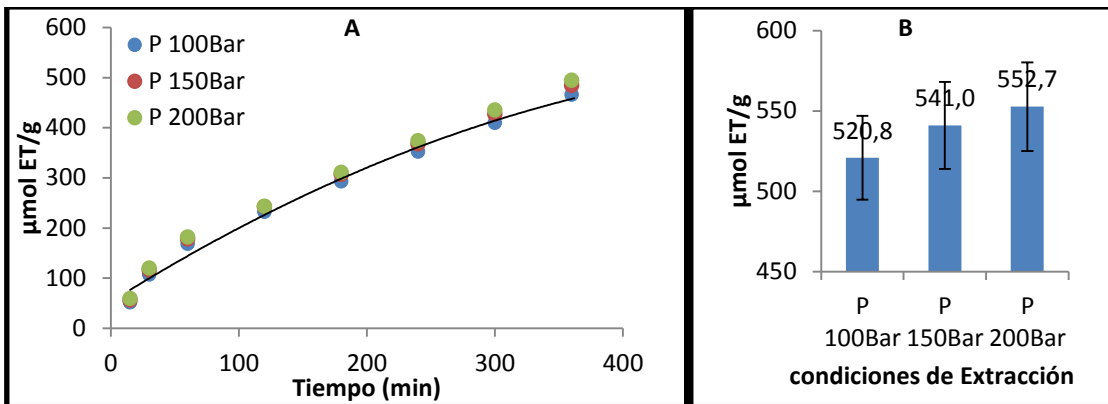


Figura 20. (a) Cinética temperatura constante 35 °C (b) Capacidad antioxidante por DPPH a temperatura constante 35 °C (6 horas).

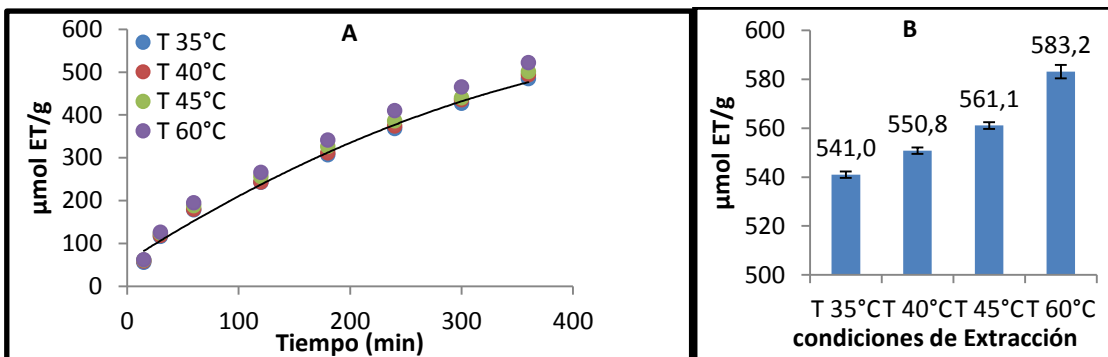


Figura 21. (a) Cinética presión constante 150 bar (b) Capacidad antioxidante por DPPH a presión constante 150 bar (6 horas).

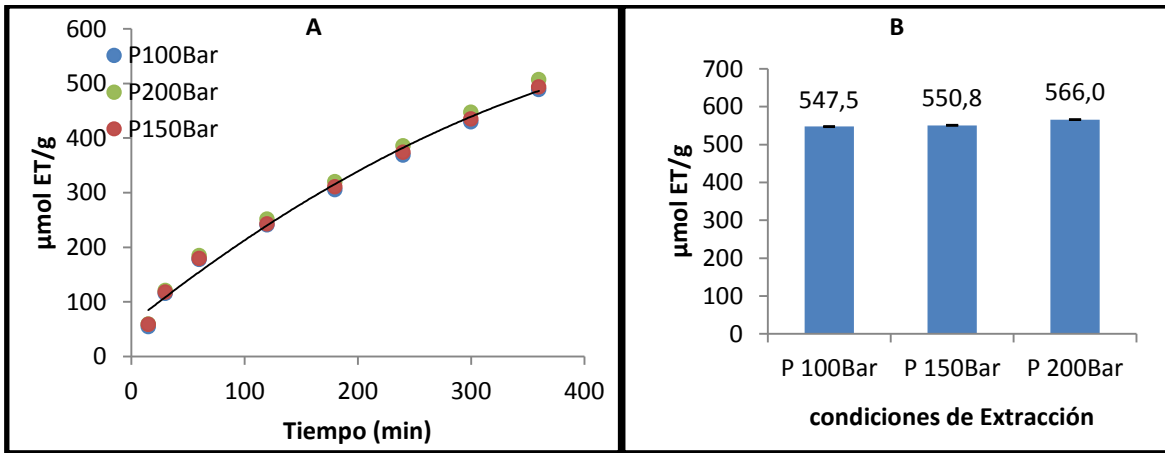


Figura 22. (a) Cinética temperatura constante de 40 °C (b) Capacidad antioxidante por DPPH temperatura constante 40 °C (6 horas).

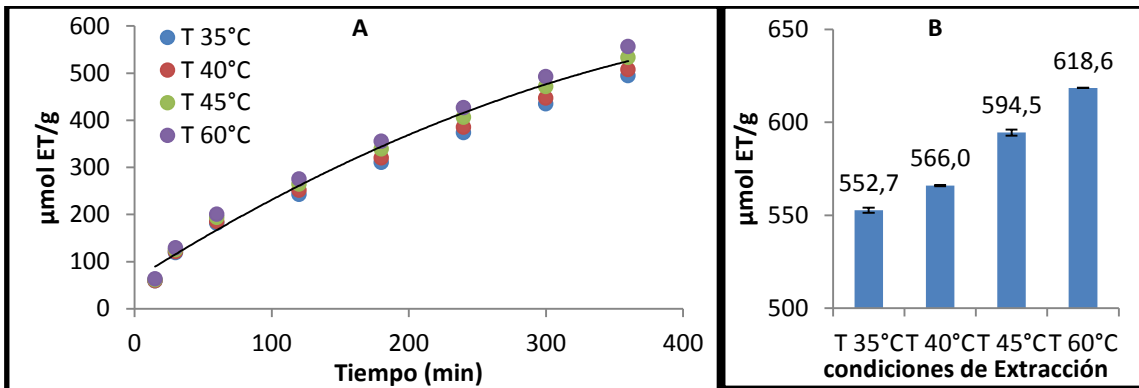


Figura 23. (a) Cinética presión constante de 200 Bar (b) Capacidad antioxidante por DPPH a presión constante 200 Bar (6 horas).

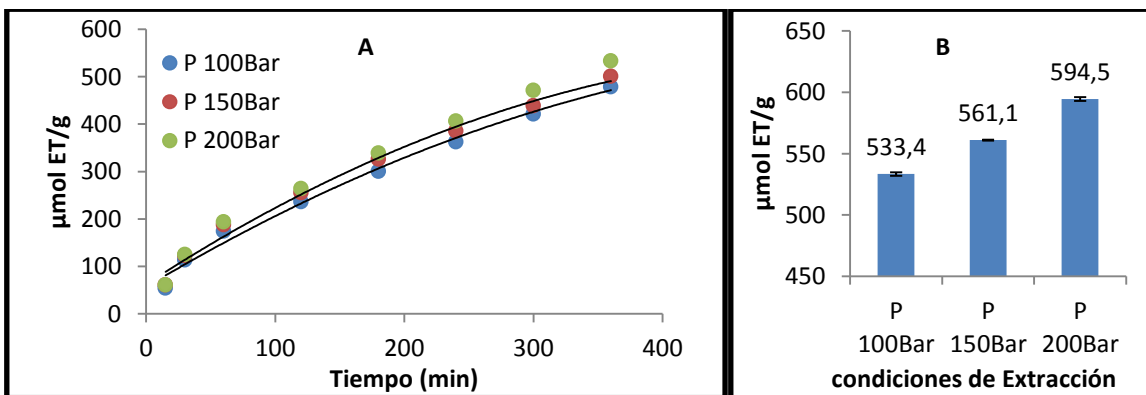


Figura 24. Cinética temperatura constante 45 °C (b) Capacidad antioxidante por DPPH temperatura constante 45 °C (6 horas).

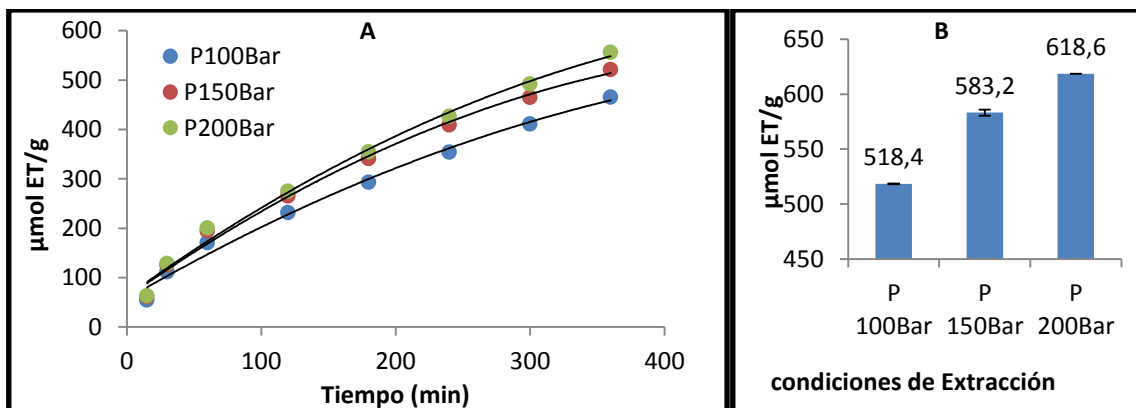


Figura 25. (a) Cinética temperatura constante 60 °C (b) Capacidad antioxidante por DPPH a temperatura constante 60 °C (6 horas).

Al analizar los resultados obtenidos en la técnica DPPH en comparación con los valores de ABTS se observa que fueron menores a pesar de usar las mismas condiciones de extracción. En las gráficas de rendimiento se observó el aumento de capacidad antioxidante entre más altos son los valores de la presión, se pudo apreciar una pequeña incidencia de la presión para el rendimiento final de capacidad antioxidante (Castro-Vargas et al., 2010). El mejor rendimiento fue de 68.7 $\mu\text{mol ET/g}$ subproductos (200 bares, 60°C), el resultado difiere en menor grado a $81 \pm 12 \mu\text{mol Trolox/100g}$ semilla (40°C/10MPa) , $136 \pm 3 \text{mmol Trolox/100g}$ semilla (60°C/10 MPa) Castro-Vargas et al.,(2010). En comparación con el tamaño de partícula de muestra, es menor a $86,5 \mu\text{mol Trolox equivalentes/g}$ subproductos base húmeda ($\mu\text{mol TE/g BH}$) Figueroa et al., (2012) en este resultado se ha empleado solventes para la extracción de extractos.

CONCLUSIONES

El mejor rendimiento de compuestos lipofílicos en subproductos de la guayaba (*Psidium guajava* L.) fue de 3.45 % a condiciones de extracción de 150 bar 45 °C. El tiempo y temperatura tuvieron un efecto positivo en el rendimiento final.

Los resultados de fenoles totales demostraron el mayor contenido de 56,6 mg GAE/100 g subproductos, de guayaba a condiciones de operación supercrítica de 60 °C y 100 bar.

Los mejores resultados de capacidad antioxidante según el método ABTS se obtuvieron a condición de extracción de 200 bar 35 °C, 200 bar, 45°C y 150 bar 45°C 82.11 μmol ET/g subproductos de guayaba.

El mejor resultado de capacidad antioxidante empleando el método DPPH es 68.7 μmol ET/g subproductos de guayaba en condiciones de extracción supercrítica de 200 bar 60 °C.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar en periodos de tiempo más prolongados la extracción con fluidos supercríticos para mejorar el rendimiento de compuestos lipofílicos en subproductos de la guayaba.

Al culminar esta investigación se recomienda realizar un estudio analítico cuantitativo para identificar compuestos presentes en los extractos lipofílicos obtenidos a diferentes condiciones FSC.

Los subproductos de guayaba son fuentes aprovechables de antioxidantes, siendo importante utilizarlos en la agroindustria.

BIBLIOGRAFÍA

Robles Ozuna, A.; L E.; O. L. . Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos, 2013, 11.

Agila Bustos, G. K. Diseño en alimentos derivados de La guayaba, empleando procesos simples de conservación. Pontificie Univercidad del Ecuador, 2013.

Arias Velandia, A. J. Obtención de extractos con CO₂ supercritico a escala piloto de Las especies: *rosmarinus officinalis*, *salvia officinalis* y *psidium guajava*. Universidad Industrial de Santader, 2012.

Arnao, Marino B.; Cano, M. A. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Che* 2001, 73, 239–244.

Azuola, R.; Vargas, P. Extracción de sustancias asistida (EUA) por ultrasonido. *Tecnol. en Marcha* 2007, 20 (4), 11.

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol* 1995, 28, 25–30.

Cabezas , A. Elaboración y evaluación de galletas con quinua y guayaba deshidratada, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2010.

Caldas, A. Optimización escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido. 2012, 1–48.

Calero Consuegra, L. D. Estudio de la naturaleza química de los compuestos volátiles de aromas: identificados de aquellos presentes en varias especies frutales endémicas del Ecuador, Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, 2011.

Cano Europa, E.; Blas Valdivia, V.; Rodríguez Sánchez, R.; Torres Manzo, P.; Franco Colín, M.; Hernández García, A.; Ortiz Butrón, R. Uso terapéutico de algunos microorganismos, microalgas, algas y hongos. *Rev. Mex. Ciencias Farm.* 2012, 43 (4), 22–30.

Carrasco, R. De. Determinación de la capacidad antioxidante y determination de capacidad antioxidante y compuestos bioctivos en frutas nativas. 2008, 2, 108–124.

Carvalho, R. N., Moura, L. S., Rosa, P. T., & Meireles, M. A. A. Supercritical fluid extraction from rosemary (*rosmarinus officinalis*): kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. *J. Supercrit. Fluids* 2005, 35 (3), 197–204.

Castillo Ulloa, D. A. Estudio de factibilidad para la creación de una empresa dedicada a producción y exportación de pulpa de fruta congelada de mango y guayaba, hacia el mercado canadiense, Universidad Internacional del Ecuador, 2011.

Castro-Vargas, H. I.; Rodríguez-Varela, L. I.; Ferreira, S. R. S.; Parada-Alfonso, F. Extraction of phenolic fraction from guava seeds (*Psidium guajava* L.) using supercritical carbon dioxide and co-solvents. *J. Supercrit. Fluids* 2010, 51 (3), 319–324.

Chyau, C., Chen, S., Wu, M. Differences of volatile and non-volatile constituents between mature and ripe guava (*Psidium guajava* L.). *Agric. Food Chem* 1992, 40, 846–849.

Concepción, O.; Nápoles, L.; Pérez, A. T.; Hernández, M.; Peralta, N.; Trujillo, R. Efecto de tres antioxidantes en el cultivo in vitro de apices de guayaba (*Psidium Guajava* L.). relacionados en el oriente del desplante y el contenido de compuestos fenolicos. 2005, 26 (1), 33–39.

Concha Gualla, M. J. Estudio del proceso de rehidratación de la guayaba (*Psidium Guajava* L.) deshidratada, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2012.

Echavarría, B. Z.; Franco, A. S.; Martínez, A. M. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del caribe colombiano. *Vitae* 2009, 16 (1), 126–131.

Ekundayo, O., Ajani, F., Seppanen-Laakso, T., Laakso, I. Volatile constituents of psidium guajava L. (guava) fruits flavour fragr. 1991, 6, 233–236.

Espinal, M. Capacida antioxidante y ablandamiento de la guayaba palmira ica (*Psidium guajava* L), Universidad Nacional de Colombia, 2010.

Esquível, M.; Bernardo-Gil, M. G. El Uso de fluidos supercríticos en la industria de aceites y alimentarios. *Grasas y Aceites* 1993, 44 (1), 1–5.

Fernandez, X.F., Fellous, R., Lizzani-Cuvelier, L., Michel, L., Dompe, V., Cozzolino, F., George, G., Rochard, S., Schippa, C. Identification of thiazolidines in guava: stereochemical studies. *Flavour Fragr* 2001, 16, 274–280.

Figuroa, G.; Alejandra, M.; Piedra, A. Comunicación efecto del tamaño de partícula sobre La capacidad antioxidante de un subproducto de guayaba (*Psidium guajava* L.). 2012, 3 (2), 202–209.

Flores Iturralde, C. J. Elaboracion y evaluacion nutricional comparativa de mermelada de guayaba (*Pisidium guajava* L.) deshidratada frente a mermeladas casera e industria, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2012.

Gañaán, N. A. Extracción y fraccionamiento de biocidas de origen natural mediante el uso de fluidos supercríticos, Universidad Nacional del Sur, 2014.

Gao, M.; Liu, C. Z. Comparison of techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of saussurea medusa maxim. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2005, 21 (8-9), 1461–1463.

Gaviria Montoya, C.; Ochoa Ospina, C.; Sánchez Mesa, N.; Medina Cano, C.; Lobo Arias, M.; Galeano García, P.; Mosquera Martínez, A.; Tamayo Tenorio, A.; Lopera Pérez, Y.; Rojano, B. Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de

frutos de mortiño (*vaccinium meridionale* SW). *Bol. Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromat.* 2009, 8 (6), 519–528.

Gómez, E. O.; Arévalo, A. L.; Reátegui, D.; Sandoval, M. Cuantificación de polifenoles totales y actividad antioxidante en hojas, corteza, flores y fruto de dos variedades de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Investig. y Amaz.* 2011, 1 (2), 48–52.

Google Maps. ubicación de la provincia de guyaquil https://www.google.com/maps/d/viewer?mid=zMa3UEemTCP4.k_-7CeD2Pm7k&hl=en_US. htm (accessed sep 18, 2013)

Idstein, H.; Schreier, P. Volatile Constituents from guava (*Psidium guajava* L.) fruit. *agric. Food Chem.* 1985, 33, 138–143.

Illera, G. Fraccionamiento y aplicaciones de extractos supercríticos de romero (*rosmarinus officinalis*), Universidad Autónoma de Madrid, 2012.

INEC. Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua <http://anda.inec.gob.ec/anda/index.php/catalog/266/variable/V3079>. (accessed sep 18, 2013)

J. A. Mendiola, P. J. Martín-Álvarez, F. J. Señoráns, G. Reglero, A. Capodicasa, F. Nazzaro, A. Sada, A. C. y E. I. Diseño de nuevos antioxidantes de origen vegetal para la industria cárnica empleando métodos quimiométricos. 2009, 1–6.

Kong, K-W; Ismail, AR; Tan, S-T; Nagendra Prasad, KM; Ismail, A. Response surface optimisation for the extraction of phenolics and flavonoids from a pink guava puree industrial by product. *Int. journal food Technol.* 45 (8), 1739–1745.

Kuskoski, E. M.; Asuero, A. G.; Troncoso, A. M.; Mancini-Filho, J.; Fett, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *ciência e Technol. Aliment.* 2005, 25 (4), 726–732.

León Sinuco, D. L. Estudio químico del aroma de la guayaba (*Psidium guajava* L.) genotipos regional roja blanca proveniente de la Hoya del río suarez, Universidad Nacional de Colombia, 2009.

Li, S., & Hartland, S. A. New industrial process for extracting cocoa butter and xanthines with supercritical carbon dioxide. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1996, 73 (4), 423–429.

Lopez M.; Crespi, M. Revisión de los métodos de extracción de pesticidas de muestras con alto contenido de materia grasa. *Grasas y Aceites.* 2000, 51(3), 183- 189.

Marquina, V.; Araujo, L.; Ruíz, J.; Rodríguez-Malaver, a.; Vit, P. Composición química y capacidad antioxidante en fruta, pulpa y mermelada de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Arch. Latinoam. Nutr.* 2008, 58 (1), 98–102.

Mendiola, J. Extracción de compuestos bioactivos de microalgas mediante fluidos supercríticos. 2008.

Michielin, E. M., Bresciani, L. F., Danielski, L., Yunes, R. A., & Ferreira, S. R. Composition profile of horsetail (*equisetum giganteum* L.) oleoresin: comparing SFE and organic solvents extraction. *J. Supercrit. Fluids* 2005, 33 (2), 131–138.

Morillo, O.; Castillo, G. Extracción de Aceite de palma africana utilizando fluidos supercríticos. 2010, 22 (2), 89–94.

Mosquera, D.; Díaz, R.; Cardona, J.; Gutierrez, R.; Hernandez, M. Obtención de aceites vegetales provenientes de especies amazónicas mediante la técnica de extracción asistida por microondas (Eam). *Vitae* 2012, 19 (1), S57–S59.

Muñoz, M. A. B.; Gómez, A. M.; Martínez, E.; Ossa, D. Optimización del proceso de extracción de tocoferol de germen de trigo con dióxido de carbono líquido y supercrítico. 1999, 50, 275–279.

Narváez-Cuenca, C.-E. Determinacion de vitamina C, compuestos fenólicos totales actividad antioxidante de frutas de guayaba (*Psidium guajava* L.) cultivada en Colombia. *Quim. Nov.* 2009, 32 (9), 2336–2340.

Nishimura, O., Yamaguchi, K.; Mihara, S., Shibamoto, T. Volatile constituents of guava fruits (*Psidium guajava* L.) and canned puree. *Agric. Food Chem* 1989, 37, 139–142.

Nivia, A.; Castro, H.; Parada, F.; Rodríguez, I.; Restrepo, P. Aprovechamiento integral de guayaba(*Psidium guajava* L .): y obtención de extractos utilizando como solvente CO₂ supercrítico. *Sci. Tech.* 2007, No. 33, 79–82.

Ovejero, G. Propiedades de los fluidos supercríticos. 2008, 15–23.

Paniandy, J.C., Chane-Ming, J., Pieribattesti, J. Chemical composition of the essential oil and headspace solid-phase microextraction of the guava fruit (*Psidium guajava* L.). *Essent. Oil Res* 2000, 12, 153–158.

Peredo, H.; García, E.; López, A. Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas Sel. Ing. Aliment.* 2009, 3 (1), 24–32.

Pérez- Jiménez, J; Saura-Calixto, F. Effect of solvent and certain food constituents on diffent antioxidant capacity assays. *Food Res. Int.* 2006, 39 (7), 791–800.

Pino Estévez, V. Extracción y preconcentración micelar. Aplicación a la determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en muestras de interés medioambiental, Universidad de la Laguna, 2004.

PubChem. National Center for Biotechnology Information
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound/?term=%22sodium+carbonate%22> (accessed Sep 16, 2015).

Quijano, C., Suarez, M., Duque, C. Volatile constituents of two guava (*Psidium guajava* L) varieties: palmira ICA and glum sali. *Rev. Col. Quim* 1999, 28, 55–63.

Ramirez, A.; Pacheco, E. Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia* 2011, 36, 71–75.

Restrepo áñez, D. Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Sabtander, Colombia. *Quim. Nov.* 2009, 32 (6), 1517–1522.

Rodríguez, E. A.; Árias, A. J.; Vásquez, E. G.; Martínez, J. R.; Stashenko, E. E. Rendimiento y capacidad antioxidante de extractos de *rosmarinus officinalis*, *salvia officinalis* y *psidium guajava* obtenidos con CO₂ supercrítico. 2004, 7.

Rodríguez-riera, Z.; Robaina-mesa, M.; Jáuregui-haza, U.; Rodríguez-chanfrau, G. J. E.; Blanco-, A. Empleo de la radiación ultrasónica para la extracción de compuestos bioactivos provenientes de fuentes naturales. Estado actual y perspectivas. 2014, 45, 139–147.

Rojas Jiménez, X. A. Valoración de los subproductos de mango (*mangifera indica* L.) y guayaba (*Psidium guajava* L.) como fuente de fibra dietaria y antioxidante, Universidad Técnica Particular de Loja, 2014.

Rufino, Maria do Socorro M; Pérez-Jiménez, Jara; Arranz, Sara; Alves, Ricardo Elesbão; de Brito, Edy S; Oliveira, Maria S. P; Saura-Calixto, F. Acaí. A tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil. *Food Res. Int.* 2011, 44 (7), 2100–2106.

Soares, F.D., Pereira, T., Maio M.O., Monteiro, A.R. Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium Guajava*) at different stages of maturity. *Food Chem* 2007, 15–21.

Thaipong, K.; Boonprakob, U.; Crosby, K.; Cisneros-Zevallos, L.; Hawkins Byrne, D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Food Compos.* 2006, 19, 669–675.

Toth-Markus, M., Siddiqui, S., Kovacs, E., Roth, E., Nemeth-Szerdahelyi, E. Changes in flavour, cell wall degrading enzymes and ultrastructure of guava (*Psidium guajava* L.) during ripening. *Acta Aliment.* 2005, 34, 259–266.

Valverde, A. Extracción con fluidos supercríticos: principios y aplicaciones al análisis de residuos de plaguicidas. 2002, 78, 141–154.

Vernin, G., Vernin, E., Vernin, C., Metzger, J., Soliman, A. Extraction and GC-MS-specma data bank analysis of the aroma of (*Psidium guajava* L). fruit from egypt. *Flavour Fragr.* 1991, 6, 143–148.

Vinatoru, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrason. Sonochem.* 2001, 8 (3), 303–313.

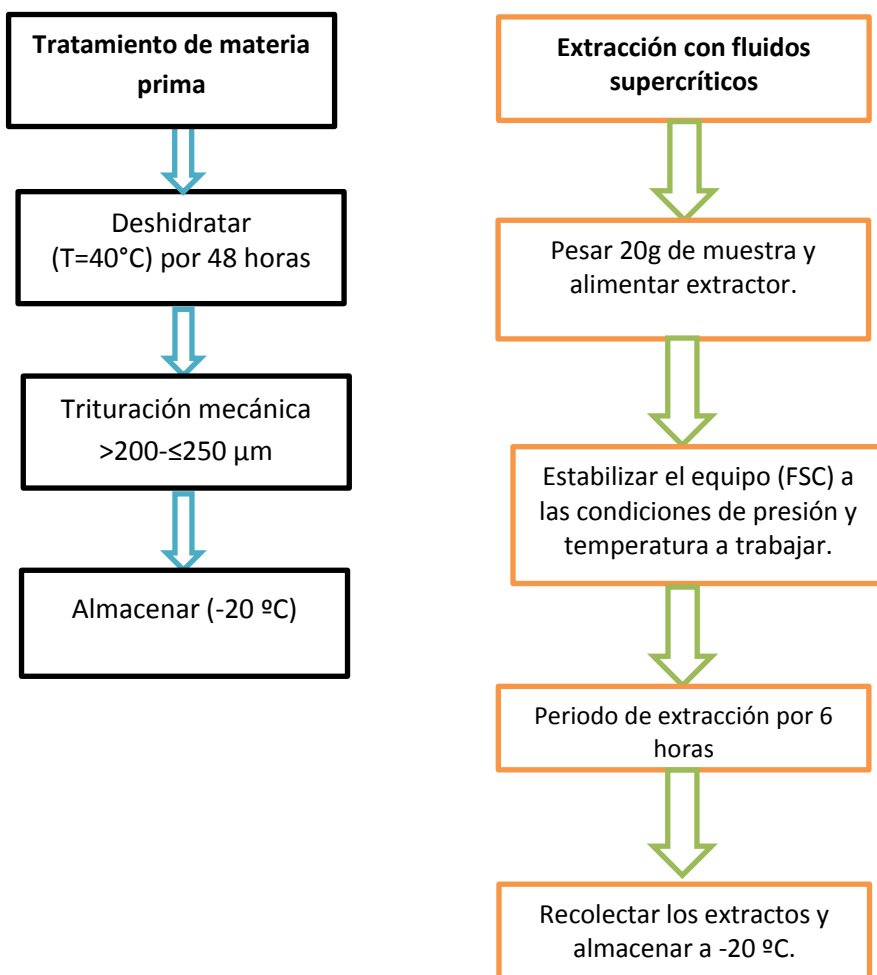
Yam Tzec, J. A.; Villaseñor Perea, C. A.; Kriuchkova, E. R.; Soto Escobar, M.; Peña Peralta, M. Á. Una revisión sobre la importancia del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) y sus principales características en la postcosecha. *Rev. Ciencias Técnicas Agropecu.* 2010, 19 (4).

Zapata, K.; Cortes, F. B.; Rojano, B. a. Polifenoles y actividad antioxidante del fruto de guayaba agria (*psidium araca*). *Inf. Tecnol.* 2013, 24 (5), 103–112.

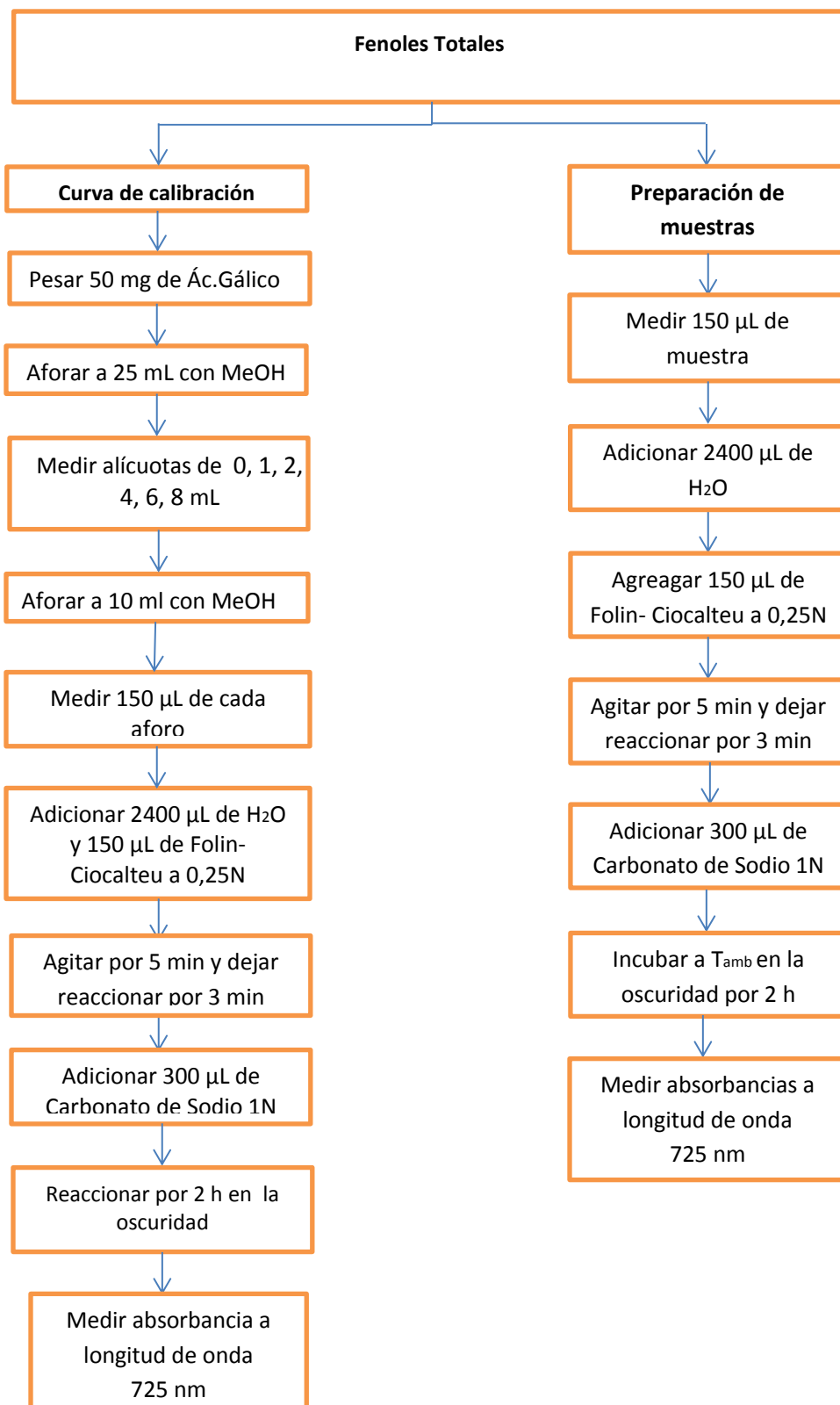
Folin-Marenci reagent | H130O62P2W18 PubChem
<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/452323#section=Top> (accessed Sep 16, 2015).

ANEXOS

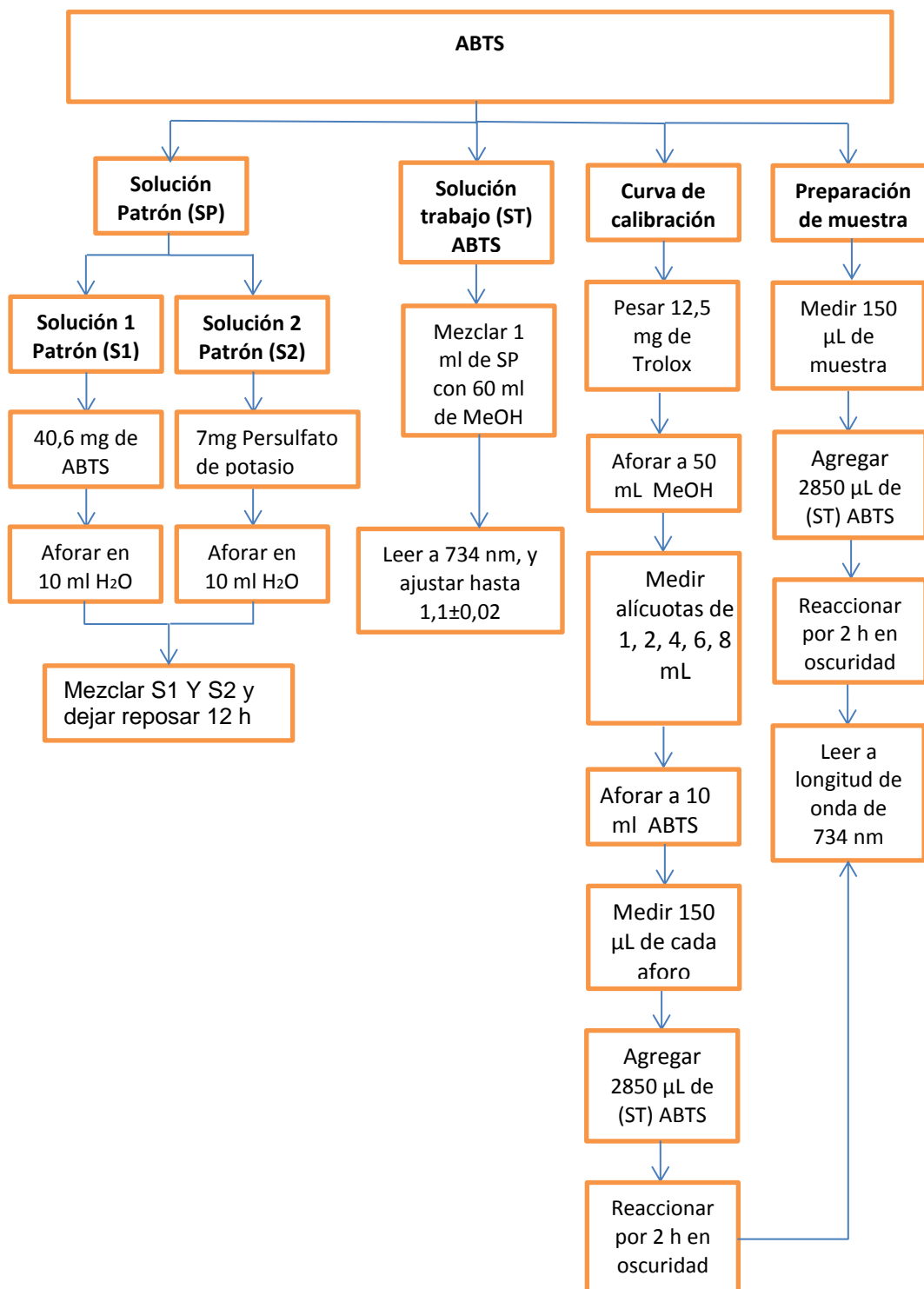
Anexo A. Esquema metodológico del tratamiento de materia prima muestra y FSC.



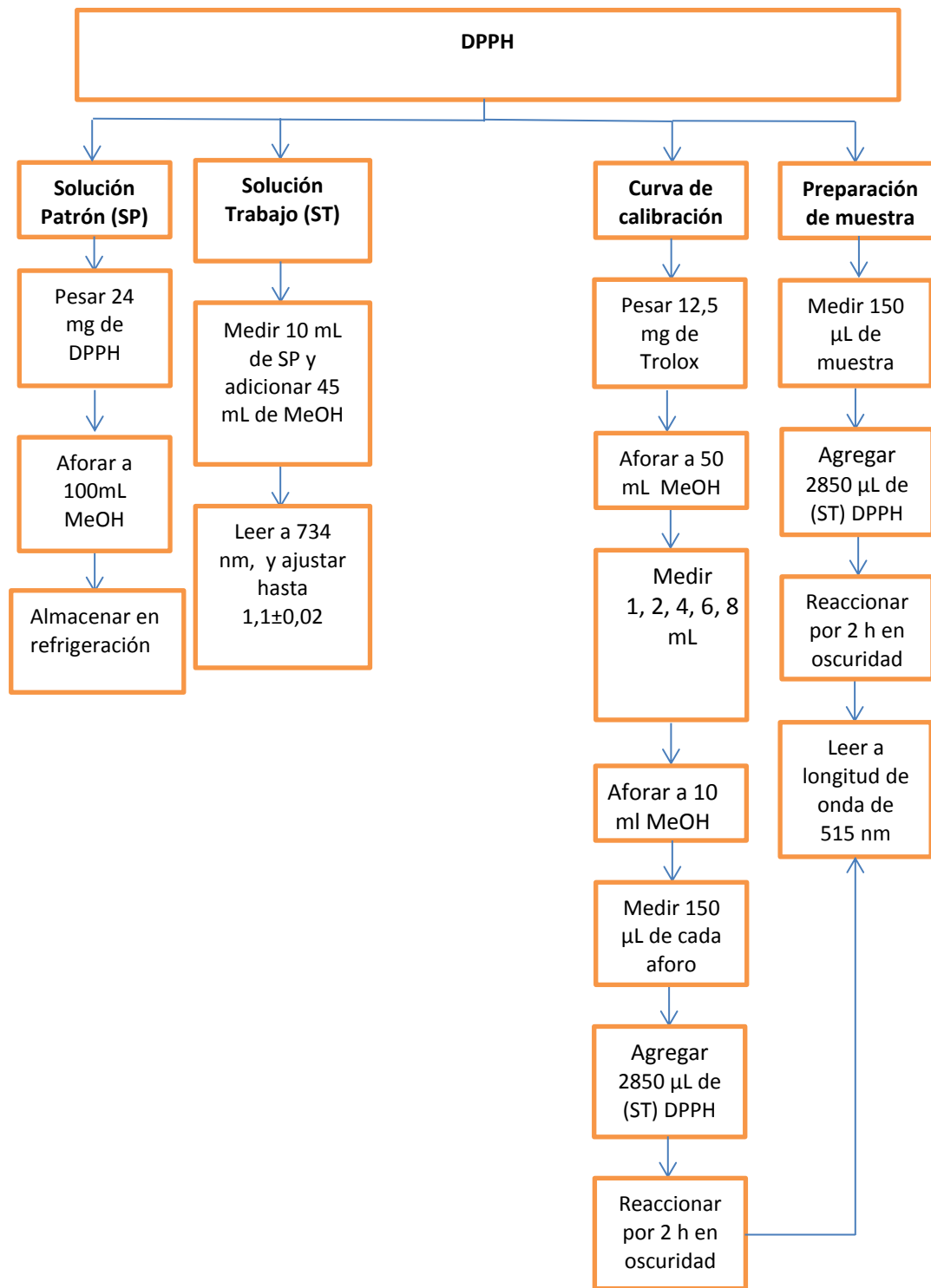
Anexo B. Esquema de procedimiento de fenoles totales.



Anexo C. Esquema de procedimiento del método ABTS.



Anexo D. Esquema de procedimiento del método DPPH.



Resultados de extracción con fluidos supercríticos.

Tabla 3. Rendimientos de extracción de fluidos supercríticos en un tiempo de seis horas.

Condiciones		Muestra inicial (g)	Extracto obtenido (g)	Rendi Miento %	media	Desviación	Coef. Variacion
T (°C)	P (bar)						
35	100	20.04989	0.46995	2,34	2.23	0.15	6.97
35	100	20.07840	0.42606	2.12			
35	150	20.04664	0.34188	1.70	1.85	0.19	10.40
35	150	20.02250	0.39397	1.97			
35	200	20.01295	0.31473	1.57	1.62	0.07	4.78
35	200	20.01410	0.33693	1.68			
40	100	20.01357	0.46498	2.32	2.20	0.17	7.71
40	100	20.03572	0.41838	2.08			
40	150	20.01357	0.47134	2.36	2.38	0.02	1.18
40	150	20.00750	0.47968	2.40			
40	200	20.01499	0.60794	3.04	2.97	0.09	3.09
40	200	20.05730	0.58381	2.91			
45	100	20.06853	0.37366	1.86	1.85	0.01	0.76
45	100	20.07860	0.37082	1.84			
45	150	20.04118	0.67823	3.38	3.45	0.09	2.86
45	150	20.04435	0.70530	3.52			
45	200	20.05680	0.42970	2.14	2.28	0.19	8.68
45	200	20.04743	0.48524	2.42			
60	100	20.05963	0.52586	2.62	2.65	0.4	1.86
60	100	20.04248	0.54034	2.69			
60	150	20.02740	0.49786	2.49	2.52	0.04	1.68
60	150	20.03273	0.51014	2.55			
60	200	20.08624	0.37794	1.88	1.89	0.02	1.11
60	200	20.08980	0.38275	1.91			

Calculo de rendimiento de extractos.

$$R(\%) = \frac{\text{peso extracto obtenido}}{\text{peso de muestra inicial alimentada}} \times 100 \rightarrow R(\%) = \frac{0.46995}{20.04989} \times 100 = 2.34$$

Anexo E. Cuantificación de fenoles totales.

Tabla 4. Datos de curva de calibración de fenoles totales.

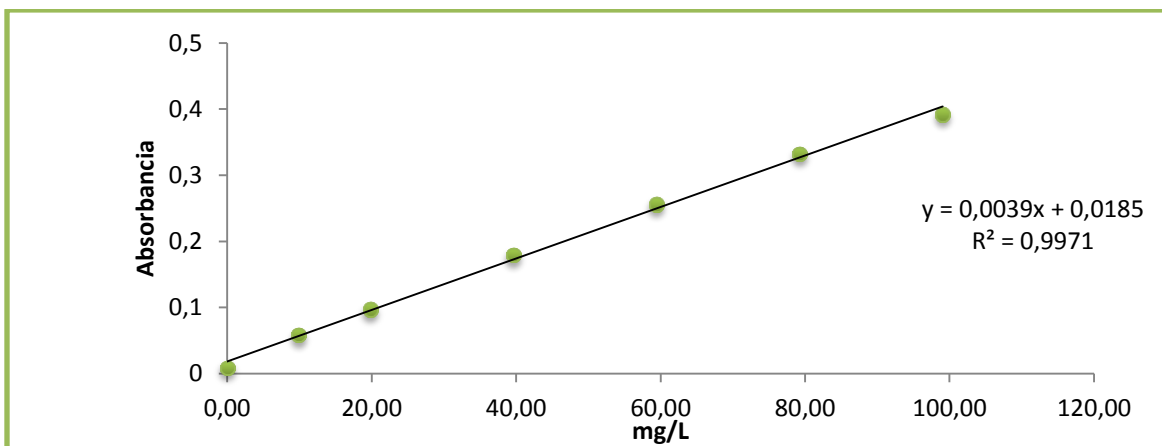
P. ácido gálico (g)		PM (g/mol)	Riqueza (%)	Aforo (ml)	C. Solución patrón (mg/L)	
0.5002		170	99	25	1980.792	
Alícuota (ml)	Aforo (ml)	AG (mg/L)	Señal 1	Señal2	Señal3	Promedio
0	10	0.00	0.008	0.008	0.009	0.0083
0.05	10	9.90	0.058	0.059	0.058	0.0583
0.1	10	19.81	0.097	0.097	0.097	0.0970
0.2	10	39.62	0.179	0.179	0.180	0.1793
0.3	10	59.42	0.264	0.265	0.264	0.2643
0.4	10	79.23	0.352	0.353	0.352	0.3523
0.5	10	99.04	0.393	0.392	0.392	0.3923

Concentración de solución patrón

$$C = \left(\frac{0.05002 \times 0.99}{25} \right) \times \left(\frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ L}} \right) \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 1980.792 \text{ mg/L}$$

Determinación de concentración de estándares de curva de calibración

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \rightarrow C_2 = \frac{C_1 V_1}{V_2} \rightarrow \text{determinación de estándar } 0.05 \text{ } C_2 = \frac{1980.792 \text{ mg/L} \times 0.05 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 9.90 \text{ mg/L}$$



Curva de calibración

Determinación de concentración de fenoles totales en los extractos obtenidos de guayaba.

$$17.596 \mu\text{mol/Lsol} \rightarrow \frac{1 \text{ L sol}}{1000 \text{ mL sol}} \times \frac{4.7 \text{ mL sol} + 0.00039}{0.0047 \text{ g ext}} = 17.596 \frac{\mu\text{mol}}{\text{g}} \text{ ext}$$

$$17.596 \frac{\mu\text{mol}}{\text{g}} \times \frac{0.8373 \text{ g ext}}{20.04985 \text{ g MS}} = 17.596 \text{ mg GAE/ 100 g Contenido fenólico en extracto.}$$

Tabla 4. Ensayo 1 cuantificación de Fenoles Totales.

Condiciones			Absorbancia			Promedio	Concentración mg/L	Extracto obtenido g	V.de MeOH 1000 ppm(ml)	P. extracto 1000 ppm g	Concentración mgGAE/100 g muestra seca
Tiempo (min)	T °C	P Bar	Señal 1	Señal 2	Señal 3						
15	35	100	0.045	0.058	0.047	0.050	17.596	0.08371	0.00470	4.7	17.596
30	35	100	0.033	0.038	0.034	0.035	13.742	0.04089	0.00430	4.3	13.742
60	35	100	0.045	0.043	0.047	0.045	16.311	0.06355	0.00280	2.8	16.311
120	35	100	0.073	0.075	0.081	0.076	24.364	0.02512	0.00272	2.72	24.364
180	35	100	0.078	0.087	0.097	0.087	27.191	0.03417	0.00191	1.91	27.191
240	35	100	0.087	0.081	0.084	0.084	26.334	0.04468	0.00280	2.8	26.334
300	35	100	0.098	0.094	0.095	0.096	29.332	0.0376	0.00238	2.38	29.332
360	35	100	0.055	0.048	0.061	0.055	18.796	0.03984	0.00322	3.22	18.796
R	35	100	0.033	0.036	0.041	0.037	14.170	0.0049	0.00490	4.9	14.17
15	40	100	0.053	0.05	0.049	0.051	17.768	0.0494	0.00430	4.3	17.768
30	40	100	0.047	0.049	0.044	0.047	16.740	0.01783	0.00153	1.53	16.74
60	40	100	0.087	0.084	0.084	0.085	26.591	0.0462	0.0043	4.3	26.591
120	40	100	0.123	0.117	0.118	0.119	35.414	0.01587	0.002	2	35.414
180	40	100	0.155	0.151	0.153	0.153	44.066	0.01192	0.0013	1.3	44.066
240	40	100	0.107	0.114	0.107	0.109	32.844	0.00934	0.00434	4.34	32.844
300	40	100	0.085	0.066	0.067	0.073	23.421	0.00532	0.00135	1.35	23.421
360	40	100	0.039	0.043	0.047	0.043	15.797	0.01488	0.00135	1.35	15.797

R	40	100	0.021	0.018	0.021	0.02	9.887	0.00422	0.00422	4.22	9.887
15	45	100	0.039	0.037	0.03	0.035	13.827	0.01474	0.00185	1.85	13.827
30	45	100	0.057	0.054	0.053	0.055	18.796	0.01151	0.00182	1.82	18.796
60	45	100	0.068	0.067	0.064	0.066	21.794	0.05426	0.00425	4.25	21.794
120	45	100	0.075	0.071	0.073	0.073	23.507	0.04346	0.00381	3.81	23.507
180	45	100	0.094	0.097	0.093	0.095	29.075	0.03092	0.00275	2.75	29.075
240	45	100	0.088	0.095	0.092	0.092	28.304	0.01884	0.00138	1.38	28.304
300	45	100	0.063	0.067	0.069	0.066	21.794	0.04024	0.0033	3.3	21.794
360	45	100	0.025	0.027	0.029	0.027	11.686	0.02181	0.0016	1.6	11.686
R	45	100	0.022	0.021	0.015	0.019	9.715	0.01188	0.00194	1.94	9.715
15	60	100	0.053	0.059	0.056	0.056	19.138	0.00996	0.00496	4.96	19.138
30	60	100	0.083	0.087	0.081	0.084	26.248	0.00477	0.00477	4.77	26.248
60	60	100	0.091	0.094	0.094	0.093	28.647	0.00485	0.00485	4.85	28.647
120	60	100	0.15	0.145	0.146	0.147	42.524	0.02919	0.00355	3.55	42.524
180	60	100	0.167	0.157	0.153	0.159	45.608	0.05541	0.00315	3.15	45.608
240	60	100	0.135	0.138	0.133	0.135	39.552	0.06177	0.00298	2.98	39.552
300	60	100	0.114	0.114	0.117	0.115	34.301	0.02254	0.00346	3.46	34.301
360	60	100	0.085	0.079	0.085	0.083	26.077	0.01195	0.00295	2.95	26.077
R	60	100	0.034	0.036	0.034	0.035	13.656	0.02542	0.00255	2.55	13.656
15	35	150	0.037	0.033	0.037	0.036	13.913	0.01674	0.005	5	13.913
30	35	150	0.067	0.063	0.066	0.065	21.537	0.0577	0.00419	4.19	21.537
60	35	150	0.073	0.086	0.087	0.082	25.82	0.03849	0.00321	3.21	25.82
120	35	150	0.087	0.1	0.098	0.095	29.161	0.019	0.00174	1.74	29.161
180	35	150	0.137	0.156	0.15	0.148	42.695	0.02781	0.00276	2.76	42.695
240	35	150	0.157	0.152	0.157	0.155	44.666	0.0458	0.00387	3.87	44.666
300	35	150	0.115	0.117	0.118	0.117	34.729	0.03179	0.002	2	34.729
360	35	150	0.048	0.046	0.047	0.047	16.825	0.05162	0.00353	3.53	16.825
R	35	150	0.024	0.032	0.029	0.028	12.028	0.05293	0.00233	2.33	12.028
15	40	150	0.028	0.026	0.029	0.028	11.857	0.05549	0.00481	4.81	11.857
30	40	150	0.054	0.059	0.067	0.06	20.166	0.05677	0.00315	3.15	20.166
60	40	150	0.069	0.065	0.067	0.067	21.965	0.07344	0.00432	4.32	21.965
120	40	150	0.071	0.073	0.071	0.072	23.164	0.0684	0.00316	3.16	23.164
180	40	150	0.088	0.084	0.086	0.086	26.848	0.03823	0.00236	2.36	26.848
240	40	150	0.083	0.081	0.085	0.083	26.077	0.03049	0.00201	2.01	26.077
300	40	150	0.051	0.055	0.053	0.053	18.367	0.07849	0.0042	4.2	18.367
360	40	150	0.034	0.035	0.038	0.036	13.913	0.06066	0.00361	3.61	13.913
R	40	150	0.027	0.022	0.024	0.024	11	0.00937	0.00121	1.21	11
15	45	150	0.071	0.072	0.071	0.071	23.079	0.02591	0.00277	2.77	23.079
30	45	150	0.082	0.082	0.084	0.083	25.991	0.02	0.00219	2.19	25.991
60	45	150	0.093	0.093	0.097	0.094	28.989	0.03483	0.0032	3.2	28.989
120	45	150	0.103	0.105	0.107	0.105	31.731	0.09426	0.0048	4.8	31.731
180	45	150	0.117	0.118	0.119	0.118	35.071	0.06284	0.00426	4.26	35.071
240	45	150	0.097	0.098	0.095	0.097	29.589	0.05019	0.00325	3.25	29.589
300	45	150	0.073	0.074	0.073	0.073	23.593	0.0326	0.0041	4.1	23.593
360	45	150	0.037	0.037	0.035	0.036	14.084	0.04322	0.00254	2.54	14.084
R	45	150	0.029	0.027	0.029	0.028	12.028	0.01438	0.002	2	12.028
15	60	150	0.083	0.087	0.085	0.085	26.591	0.00802	0.005	5	26.591
30	60	150	0.093	0.095	0.096	0.095	29.075	0.00791	0.00491	4.91	29.075
60	60	150	0.105	0.107	0.105	0.106	31.902	0.04561	0.004	4	31.902
120	60	150	0.113	0.117	0.115	0.115	34.301	0.06936	0.00333	3.33	34.301
180	60	150	0.132	0.129	0.127	0.129	37.984	0.08097	0.00222	2.22	37.984
240	60	150	0.135	0.135	0.136	0.135	39.526	0.04823	0.00392	3.92	39.526
300	60	150	0.105	0.107	0.103	0.105	31.731	0.01999	0.00307	3.07	31.731
360	60	150	0.083	0.085	0.087	0.085	26.591	0.0217	0.0021	2.1	26.591
R	60	150	0.078	0.077	0.071	0.075	24.107	0.03607	0.00403	4.03	24.107
15	35	200	0.038	0.037	0.038	0.038	14.427	0.00412	0.00402	4.02	14.427
30	35	200	0.053	0.055	0.047	0.052	18.025	0.03393	0.005	5	18.025
60	35	200	0.065	0.062	0.068	0.065	21.451	0.03319	0.0048	4.8	21.451
120	35	200	0.087	0.083	0.085	0.085	26.591	0.04964	0.00173	1.73	26.591

180	35	200	0.093	0.095	0.092	0.093	28.732	0.05067	0.0011	1.1	28.732
240	35	200	0.073	0.075	0.077	0.075	24.021	0.03755	0.0043	4.3	24.021
300	35	200	0.067	0.066	0.063	0.065	21.537	0.02826	0.00248	2.48	21.537
360	35	200	0.037	0.033	0.033	0.034	13.57	0.06385	0.00385	3.85	13.57
R	35	200	0.018	0.015	0.014	0.016	8.773	0.01352	0.00438	4.38	8.773
15	40	200	0.047	0.047	0.043	0.046	16.483	0.00278	0.0024	2.4	16.483
30	40	200	0.052	0.053	0.057	0.054	18.624	0.00739	0.004	4	18.624
60	40	200	0.068	0.07	0.073	0.07	22.822	0.07048	0.0032	3.2	22.822
120	40	200	0.089	0.085	0.087	0.087	27.105	0.09123	0.00217	2.17	27.105
180	40	200	0.098	0.097	0.095	0.097	29.589	0.10224	0.0031	3.1	29.589
240	40	200	0.112	0.101	0.103	0.105	31.816	0.19	0.00479	4.79	31.816
300	40	200	0.087	0.085	0.087	0.086	26.934	0.06131	0.0031	3.1	26.934
360	40	200	0.037	0.031	0.038	0.035	13.827	0.0757	0.0037	3.7	13.827
R	40	200	0.027	0.027	0.026	0.027	11.6	0.00681	0.00387	3.87	11.6
15	45	200	0.047	0.042	0.041	0.043	15.883	0.00279	0.002	2	15.883
30	45	200	0.055	0.056	0.058	0.056	19.224	0.01698	0.00267	2.67	19.224
60	45	200	0.067	0.063	0.064	0.065	21.365	0.03754	0.0029	2.9	21.365
120	45	200	0.085	0.087	0.088	0.087	27.019	0.08155	0.00403	4.03	27.019
180	45	200	0.098	0.097	0.095	0.097	29.589	0.11329	0.00281	2.81	29.589
240	45	200	0.08	0.082	0.087	0.083	26.077	0.07366	0.0045	4.5	26.077
300	45	200	0.062	0.059	0.058	0.06	20.081	0.04678	0.0037	3.7	20.081
360	45	200	0.038	0.037	0.035	0.037	14.17	0.05094	0.00492	4.92	14.17
R	45	200	0.018	0.022	0.019	0.02	9.801	0.00617	0.00412	4.12	9.801
15	60	200	0.037	0.033	0.032	0.034	13.485	0.00128	0.00275	2.75	13.485
30	60	200	0.041	0.044	0.045	0.043	15.883	0.00434	0.0033	3.3	15.883
60	60	200	0.058	0.058	0.059	0.058	19.738	0.01788	0.00255	2.55	19.738
120	60	200	0.074	0.077	0.078	0.076	24.364	0.07842	0.00484	4.84	24.364
180	60	200	0.098	0.091	0.088	0.092	28.475	0.1007	0.00452	4.52	28.475
240	60	200	0.08	0.081	0.084	0.082	25.734	0.06299	0.00451	4.51	25.734
300	60	200	0.052	0.049	0.052	0.051	17.853	0.04073	0.00256	2.56	17.853
360	60	200	0.033	0.037	0.038	0.036	13.999	0.03677	0.0031	3.1	13.999
R	60	200	0.028	0.026	0.022	0.025	11.257	0.03483	0.00275	2.75	11.257

Tabla 5 Ensayo 2 Cuantificación de fenoles totales.

Condiciones			Absorbancia			Promedio	Concentración mg/L	Extracto obtenido g	V.de MeOH 1000 ppm ml	P.extracto 1000 ppm g	Concentración mgGAE/100 g muestra seca
Tiempo (min)	T °C	P Bar	Señal 1	Señal 2	Señal 3						
15	35	100	0.037	0.033	0.037	0.036	4.42	0.08371	0.0037	3.7	13.9
30	35	100	0.038	0.036	0.036	0.037	4.68	0.04089	0.00468	4.68	14.2
60	35	100	0.047	0.045	0.047	0.046	7.16	0.06355	0.005	5	16.7
120	35	100	0.08	0.078	0.081	0.08	15.73	0.02512	0.00422	4.22	25.2
180	35	100	0.095	0.093	0.097	0.095	19.67	0.03417	0.0024	2.4	29.2
240	35	100	0.083	0.083	0.084	0.083	16.67	0.04468	0.00474	4.74	26.2
300	35	100	0.094	0.094	0.095	0.094	19.5	0.0376	0.00344	3.44	29.4
360	35	100	0.066	0.066	0.061	0.064	11.79	0.03984	0.00322	3.22	21.3
R	35	100	0.046	0.046	0.041	0.044	6.65	0.0049	0.003	3	16.1
15	40	100	0.043	0.05	0.049	0.047	7.42	0.0494	0.0025	2.5	16.9
30	40	100	0.044	0.04	0.044	0.043	6.22	0.01783	0.00105	1.05	15.7
60	40	100	0.085	0.084	0.084	0.084	16.93	0.0462	0.0045	4.5	26.4
120	40	100	0.107	0.103	0.108	0.106	22.49	0.01587	0.0049	4.9	32.1

180	40	100	0.156	0.151	0.153	0.153	34.66	0.01192	0.0027	2.7	44.2
240	40	100	0.118	0.114	0.107	0.113	24.29	0.00934	0.003	3	33.8
300	40	100	0.057	0.066	0.067	0.063	11.53	0.00532	0.005	5	21.4
360	40	100	0.046	0.043	0.047	0.045	6.9	0.01488	0.005	5	16.4
R	40	100	0.022	0.018	0.021	0.02	0.48	0.00422	0.0021	2.1	9.97
15	45	100	0.033	0.029	0.03	0.031	12.63	0.01474	0.00215	2.15	12.6
30	45	100	0.049	0.054	0.053	0.052	18.11	0.01151	0.00155	1.55	18.1
60	45	100	0.062	0.062	0.064	0.063	20.85	0.054	0.0033	3.3	20.9
120	45	100	0.072	0.073	0.073	0.073	23.42	0.04346	0.0036	3.6	23.4
180	45	100	0.089	0.091	0.093	0.091	28.13	0.03092	0.0041	4.1	28.1
240	45	100	0.091	0.093	0.092	0.092	28.39	0.01884	0.0039	3.9	28.4
300	45	100	0.074	0.075	0.069	0.073	23.42	0.04024	0.00465	4.65	23.4
360	45	100	0.035	0.037	0.035	0.036	13.91	0.02181	0.0037	3.7	13.9
R	45	100	0.026	0.027	0.015	0.023	10.57	0.01188	0.004	4	10.6
15	60	100	0.057	0.059	0.056	0.057	19.48	0.00996	0.0027	2.7	19.5
30	60	100	0.078	0.077	0.071	0.075	24.11	0.00477	0.0022	2.2	24.1
60	60	100	0.099	0.094	0.094	0.096	29.33	0.00485	0.0018	1.8	29.3
120	60	100	0.144	0.145	0.146	0.145	42.01	0.02919	0.00215	2.15	42.1
180	60	100	0.151	0.151	0.153	0.152	43.72	0.05541	0.00385	3.85	43.7
240	60	100	0.155	0.155	0.154	0.155	44.49	0.06177	0.0048	4.8	44.5
300	60	100	0.165	0.164	0.164	0.164	46.98	0.02254	0.0048	4.8	47.1
360	60	100	0.185	0.185	0.195	0.188	53.15	0.01195	0.0023	2.3	53.1
R	60	100	0.044	0.046	0.044	0.045	16.23	0.02542	0.0042	4.2	16.2
15	35	150	0.05	0.053	0.057	0.053	18.45	0.01674	0.001	1	18.5
30	35	150	0.078	0.073	0.076	0.076	24.19	0.0577	0.005	5	24.2
60	35	150	0.085	0.086	0.087	0.086	26.85	0.03849	0.0045	4.5	26.8
120	35	150	0.098	0.1	0.098	0.099	30.1	0.019	0.004	4	30.1
180	35	150	0.155	0.156	0.15	0.154	44.24	0.02781	0.003	3	44.2
240	35	150	0.169	0.172	0.17	0.17	48.52	0.0458	0.0023	2.3	48.5
300	35	150	0.099	0.097	0.098	0.098	29.93	0.03179	0.00345	3.45	29.9
360	35	150	0.068	0.066	0.067	0.067	21.97	0.05162	0.00471	4.71	22.1
R	35	150	0.034	0.032	0.029	0.032	12.88	0.05293	0.00285	2.85	12.9
15	40	150	0.038	0.036	0.039	0.038	14.43	0.05549	0.0023	2.3	14.4
30	40	150	0.064	0.069	0.067	0.067	21.88	0.05677	0.00189	1.89	21.9
60	40	150	0.079	0.075	0.077	0.077	24.53	0.07344	0.004	4	24.5
120	40	150	0.081	0.083	0.081	0.082	25.73	0.0684	0.004	4	25.7
180	40	150	0.098	0.094	0.096	0.096	29.42	0.03823	0.0042	4.2	29.4
240	40	150	0.098	0.093	0.097	0.096	29.42	0.03049	0.0036	3.6	29.4
300	40	150	0.071	0.075	0.073	0.073	23.51	0.07849	0.0038	3.8	23.5
360	40	150	0.034	0.035	0.038	0.036	13.91	0.06066	0.0035	3.5	13.9
R	40	150	0.019	0.022	0.024	0.022	10.32	0.00937	0.005	5	10.3
15	45	150	0.061	0.062	0.061	0.061	20.51	0.02591	0.005	5	20.5
30	45	150	0.062	0.062	0.064	0.063	20.85	0.02	0.0015	1.5	20.9
60	45	150	0.073	0.075	0.073	0.074	23.68	0.03483	0.0024	2.4	23.7
120	45	150	0.083	0.081	0.082	0.082	25.82	0.09426	0.0045	4.5	25.8
180	45	150	0.102	0.098	0.101	0.1	30.53	0.06284	0.0045	4.5	30.5
240	45	150	0.087	0.086	0.086	0.086	26.93	0.05019	0.005	5	26.9
300	45	150	0.063	0.064	0.063	0.063	21.02	0.0326	0.004	4	21.1
360	45	150	0.047	0.047	0.045	0.046	16.65	0.04322	0.005	5	16.7
R	45	150	0.019	0.017	0.019	0.018	9.46	0.01438	0.003	3	9.46
15	60	150	0.073	0.069	0.072	0.071	23.08	0.00802	0.0016	1.6	23.1
30	60	150	0.089	0.085	0.087	0.087	27.1	0.00791	0.004	4	27.1
60	60	150	0.1	0.099	0.098	0.099	30.19	0.04561	0.0045	4.5	30.2
120	60	150	0.095	0.094	0.094	0.094	28.99	0.06936	0.0045	4.5	29.1
180	60	150	0.112	0.105	0.107	0.108	32.5	0.08097	0.0049	4.9	32.5
240	60	150	0.135	0.125	0.136	0.132	38.67	0.04823	0.0035	3.5	38.7
300	60	150	0.102	0.101	0.102	0.102	30.87	0.01999	0.0028	2.8	30.9
360	60	150	0.097	0.098	0.099	0.098	29.93	0.0217	0.003	3	29.9
R	60	150	0.07	0.071	0.071	0.071	22.91	0.03607	0.004	4	22.9

15	35	200	0.028	0.028	0.029	0.028	12.03	0.00412	0.005	5	12.1
30	35	200	0.055	0.055	0.058	0.056	19.14	0.03393	0.0014	1.4	19.1
60	35	200	0.067	0.066	0.067	0.067	21.88	0.03319	0.005	5	21.9
120	35	200	0.074	0.074	0.075	0.074	23.85	0.04964	0.005	5	23.8
180	35	200	0.098	0.097	0.097	0.097	29.76	0.05067	0.004	4	29.8
240	35	200	0.088	0.086	0.087	0.087	27.1	0.03755	0.005	5	27.1
300	35	200	0.078	0.079	0.078	0.078	24.88	0.02826	0.0015	1.5	24.9
360	35	200	0.046	0.046	0.044	0.045	16.4	0.06385	0.0035	3.5	16.4
R	35	200	0.012	0.011	0.11	0.044	16.14	0.01352	0.0035	3.5	16.1
15	40	200	0.034	0.034	0.031	0.033	13.23	0.00278	0.005	5	13.2
30	40	200	0.058	0.058	0.061	0.059	19.91	0.00739	0.005	5	19.9
60	40	200	0.065	0.065	0.064	0.065	21.37	0.07048	0.0033	3.3	21.4
120	40	200	0.078	0.078	0.081	0.079	25.05	0.09123	0.0032	3.2	25.01
180	40	200	0.088	0.088	0.087	0.088	27.28	0.10224	0.004	4	27.3
240	40	200	0.11	0.108	0.107	0.108	32.59	0.19	0.00215	2.15	32.6
300	40	200	0.133	0.133	0.135	0.134	39.1	0.06131	0.0005	0.5	39.1
360	40	200	0.067	0.071	0.068	0.069	22.39	0.0757	0.005	5	22.4
R	40	200	0.047	0.047	0.046	0.047	16.74	0.00681	0.0038	3.8	16.7
15	45	200	0.067	0.067	0.066	0.067	21.88	0.00279	0.005	5	21.9
30	45	200	0.071	0.071	0.07	0.071	22.91	0.01698	0.005	5	22.9
60	45	200	0.078	0.078	0.076	0.077	24.62	0.03754	0.003	3	24.6
120	45	200	0.093	0.093	0.092	0.093	28.56	0.08155	0.0044	4.4	28.6
180	45	200	0.111	0.111	0.113	0.112	33.44	0.11329	0.0044	4.4	33.4
240	45	200	0.105	0.105	0.104	0.105	31.64	0.07366	0.005	5	31.6
300	45	200	0.086	0.087	0.086	0.086	26.93	0.04678	0.0022	2.2	26.9
360	45	200	0.056	0.056	0.058	0.057	19.31	0.05094	0.00185	1.85	19.3
R	45	200	0.043	0.043	0.042	0.043	15.71	0.00617	0.0045	4.5	15.7
15	60	200	0.053	0.053	0.052	0.053	18.28	0.00128	0.005	5	18.3
30	60	200	0.057	0.057	0.058	0.057	19.48	0.00434	0.0022	2.2	19.5
60	60	200	0.062	0.064	0.064	0.063	21.02	0.01788	0.00415	4.15	21.5
120	60	200	0.087	0.087	0.086	0.087	27.02	0.07842	0.0048	4.8	27.4
180	60	200	0.096	0.095	0.096	0.096	29.33	0.1007	0.005	5	29.3
240	60	200	0.1	0.102	0.102	0.101	30.79	0.06299	0.002	2	30.8
300	60	200	0.077	0.079	0.078	0.078	24.79	0.04073	0.0004	0.4	24.8
360	60	200	0.073	0.072	0.073	0.073	23.42	0.03677	0.0025	2.5	23.4
R	60	200	0.025	0.025	0.027	0.026	11.34	0.03483	0.0036	3.6	11.3

Anexo F. Determinación de capacidad antioxidante por el método ABTS.

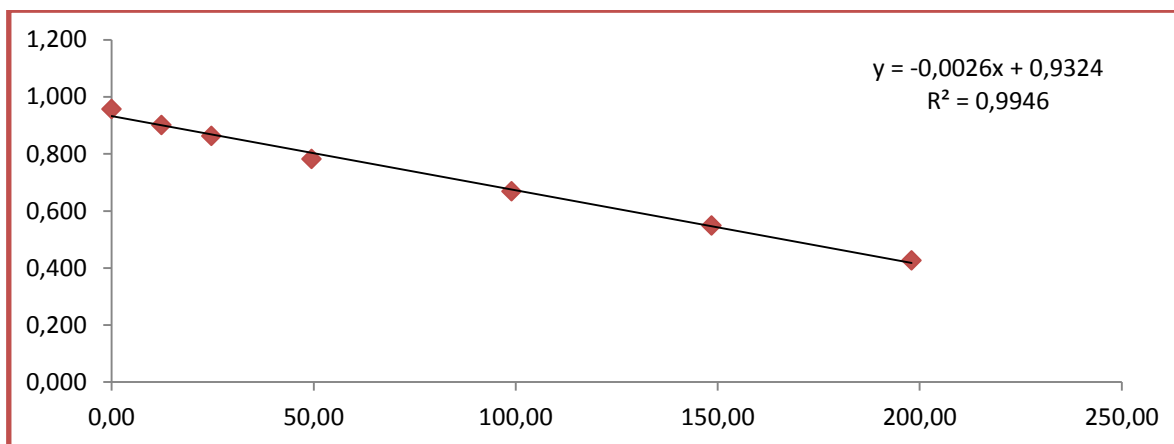
Tabla 7. Datos de curva de calibración del método ABTS.

P. Trolox g		P. M (g/mol)	Riqueza (%)	Aforo (ml)	C. Solución patrón (µM)	
0.0125		250.3	97	50	968.8761	
Alícuota (ml)	Aforo (ml)	C. Trolox (µmol)	Señal 1	Señal 2	Señal 3	Promedio
0	10	0	0.957	0.955	0.958	0.957
0.5	10	12.38	0.902	0.901	0.900	0.901
1	10	24.75	0.863	0.861	0.862	0.862
2	10	49.5	0.783	0.781	0.782	0.782

4	10	99	0.668	0.667	0.669	0.668
6	10	148.5	0.547	0.548	0.549	0.548
8	10	198	0.425	0.428	0.427	0.427

Determinación de concentración de estándares de curva de calibración

$$C_1V_1=C_2V_2 \rightarrow C_2=\frac{C_1V_1}{V_2} \rightarrow \text{determinación estándar } 0.05 \quad C_2=\frac{968.88\mu\text{mol ET} \times 0.05\text{mL}}{10\text{mL}} =12.38 \mu\text{mol ET}$$



Curva de calibración

Determinación de concentración de capacidad antioxidante en los extractos obtenidos por el método ABTS

$$\text{Ecuación de la curva. } y = -0.0026x + 0.9324 \rightarrow X = \frac{0.09324 - y}{0.0026} \rightarrow X = \frac{0.09324 - 0.863}{0.0026} = 26.84 \mu\text{mol} \frac{\text{ET}}{\text{L}}$$

$$26.84 \mu\text{mol/L. sol} \rightarrow \frac{1 \text{ L sol}}{1000 \text{ mL sol}} \times \frac{4.7 \text{ mL sol}}{0.0047 \text{ g ext}} = 26.85 \mu\text{mol} \frac{\text{ET}}{\text{gramos de muestra seca}}$$

Tabla 8. Ensayo 1. Determinación de capacidad antioxidante por método ABTS.

Condiciones			Absorbancia			Promedio	Concentración mg/L	Extracto obtenido g	V.de MeOH 1000 ppm(ml)	P .extracto 1000 ppm g	μmol Eq. trolox/g ext
Tiempo (min)	T °C	P Bar	Señal 1	Señal 2	Señal 3						
15	35	100	0.861	0.864	0.863	0.863	26.85	0.08371	0.0047	4.7	26.845

30	35	100	0.861	0.862	0.861	0.861	27.36	0.04089	0.0043	4.3	27.358
60	35	100	0.754	0.748	0.749	0.75	70.08	0.06355	0.0028	2.8	70.08
120	35	100	0.721	0.724	0.728	0.724	80.09	0.02512	0.00272	2.72	80.087
180	35	100	0.685	0.682	0.68	0.682	96.25	0.03417	0.00191	1.91	96.251
240	35	100	0.644	0.643	0.648	0.645	110.62	0.04468	0.0028	2.8	110.62
300	35	100	0.808	0.806	0.807	0.807	48.27	0.0376	0.00238	2.38	48.27
360	35	100	0.8	0.802	0.807	0.803	49.81	0.03984	0.00322	3.22	49.81
R	35	100	0.839	0.838	0.841	0.839	35.83	0.0049	0.0049	4.9	35.826
15	40	100	0.832	0.839	0.837	0.836	37.11	0.0494	0.0043	4.3	37.109
30	40	100	0.826	0.824	0.823	0.824	41.60	0.01783	0.00153	1.53	41.599
60	40	100	0.777	0.778	0.774	0.776	60.07	0.0462	0.0043	4.3	60.073
120	40	100	0.734	0.736	0.735	0.735	75.98	0.01587	0.002	2	75.981
180	40	100	0.721	0.727	0.724	0.724	80.21	0.01192	0.0013	1.3	80.215
240	40	100	0.708	0.703	0.707	0.706	87.14	0.00934	0.00434	4.34	87.143
300	40	100	0.745	0.747	0.749	0.747	71.36	0.00532	0.00135	1.35	71.363
360	40	100	0.802	0.801	0.805	0.803	49.94	0.01488	0.00135	1.35	49.938
R	40	100	0.86	0.883	0.87	0.871	23.64	0.00422	0.00422	4.22	23.638
15	45	100	0.817	0.812	0.813	0.814	45.58	0.01474	0.00185	1.85	45.576
30	45	100	0.799	0.802	0.802	0.801	50.58	0.01151	0.00182	1.82	50.579
60	45	100	0.802	0.801	0.803	0.802	50.19	0.05426	0.00425	4.25	50.194
120	45	100	0.738	0.739	0.735	0.737	75.08	0.04346	0.00381	3.81	75.083
180	45	100	0.661	0.668	0.662	0.664	103.44	0.03092	0.00275	2.75	103.436
240	45	100	0.707	0.704	0.705	0.705	87.40	0.01884	0.00138	1.38	87.399
300	45	100	0.83	0.802	0.809	0.814	45.70	0.04024	0.0033	3.3	45.704
360	45	100	0.834	0.836	0.835	0.835	37.49	0.02181	0.0016	1.6	37.493
R	45	100	0.888	0.886	0.886	0.887	17.61	0.01188	0.00194	1.94	17.608
15	60	100	0.831	0.835	0.838	0.835	37.62	0.00996	0.00496	4.96	37.622
30	60	100	0.807	0.809	0.812	0.809	47.37	0.00477	0.00477	4.77	47.372
60	60	100	0.811	0.813	0.814	0.813	46.09	0.00485	0.00485	4.85	46.089
120	60	100	0.702	0.7	0.705	0.702	88.55	0.02919	0.00355	3.55	88.554
180	60	100	0.707	0.706	0.707	0.707	86.89	0.05541	0.00315	3.15	86.886
240	60	100	0.758	0.755	0.752	0.755	68.28	0.06177	0.00298	2.98	68.284
300	60	100	0.788	0.788	0.782	0.786	56.35	0.02254	0.00346	3.46	56.352
360	60	100	0.889	0.879	0.888	0.885	18.12	0.01195	0.00295	2.95	18.121
R	60	100	0.866	0.864	0.861	0.864	26.46	0.02542	0.00255	2.55	26.46
15	35	150	0.825	0.819	0.82	0.821	42.75	0.01674	0.005	5	42.753
30	35	150	0.817	0.816	0.815	0.816	44.81	0.0577	0.00419	4.19	44.806
60	35	150	0.809	0.807	0.805	0.807	48.27	0.03849	0.00321	3.21	48.27
120	35	150	0.702	0.707	0.702	0.704	88.04	0.019	0.00174	1.74	88.041
180	35	150	0.786	0.784	0.785	0.785	56.74	0.02781	0.00276	2.76	56.737
240	35	150	0.69	0.692	0.697	0.693	92.15	0.0458	0.00387	3.87	92.146
300	35	150	0.85	0.85	0.855	0.852	31.08	0.03179	0.002	2	31.079
360	35	150	0.903	0.899	0.902	0.901	11.96	0.05162	0.00353	3.53	11.963
R	35	150	0.913	0.915	0.912	0.913	7.34	0.05293	0.00233	2.33	7.345
15	40	150	0.886	0.888	0.888	0.887	17.35	0.05549	0.00481	4.81	17.352
30	40	150	0.884	0.883	0.886	0.884	18.51	0.05677	0.00315	3.15	18.506
60	40	150	0.88	0.89	0.891	0.887	17.48	0.07344	0.00432	4.32	17.48
120	40	150	0.872	0.862	0.875	0.87	24.15	0.0684	0.00316	3.16	24.151
180	40	150	0.862	0.861	0.866	0.863	26.72	0.03823	0.00236	2.36	26.717
240	40	150	0.829	0.829	0.829	0.829	39.80	0.03049	0.00201	2.01	39.803
300	40	150	0.812	0.819	0.816	0.816	44.93	0.07849	0.0042	4.2	44.934
360	40	150	0.828	0.823	0.822	0.824	41.60	0.06066	0.00361	3.61	41.599
R	40	150	0.838	0.839	0.843	0.84	35.57	0.00937	0.00121	1.21	35.569
15	45	150	0.891	0.902	0.889	0.894	14.79	0.02591	0.00277	2.77	14.786
30	45	150	0.806	0.806	0.807	0.806	48.53	0.02	0.00219	2.19	48.527
60	45	150	0.737	0.738	0.736	0.737	75.21	0.03483	0.0032	3.2	75.211
120	45	150	0.703	0.702	0.707	0.704	87.91	0.09426	0.0048	4.8	87.912
180	45	150	0.718	0.715	0.713	0.715	83.55	0.06284	0.00426	4.26	83.55
240	45	150	0.572	0.578	0.572	0.574	137.95	0.05019	0.00325	3.25	137.946

300	45	150	0.614	0.621	0.615	0.617	121.53	0.0326	0.0041	4.1	121.525
360	45	150	0.643	0.637	0.639	0.64	112.67	0.04322	0.00254	2.54	112.673
R	45	150	0.845	0.847	0.843	0.845	33.64	0.01438	0.002	2	33.645
15	60	150	0.776	0.779	0.775	0.777	59.94	0.00802	0.005	5	59.945
30	60	150	0.743	0.739	0.74	0.741	73.80	0.00791	0.00491	4.91	73.8
60	60	150	0.729	0.727	0.725	0.727	79.06	0.04561	0.004	4	79.06
120	60	150	0.713	0.713	0.709	0.712	84.96	0.06936	0.00333	3.33	84.962
180	60	150	0.606	0.606	0.607	0.606	125.50	0.08097	0.00222	2.22	125.502
240	60	150	0.627	0.643	0.656	0.642	111.77	0.04823	0.00392	3.92	111.775
300	60	150	0.76	0.648	0.765	0.724	80.09	0.01999	0.00307	3.07	80.087
360	60	150	0.818	0.815	0.817	0.817	44.55	0.0217	0.0021	2.1	44.55
R	60	150	0.884	0.883	0.885	0.884	18.63	0.03607	0.00403	4.03	18.634
15	35	200	0.775	0.765	0.776	0.772	61.74	0.00412	0.00402	4.02	61.741
30	35	200	0.705	0.707	0.705	0.706	87.27	0.03393	0.005	5	87.271
60	35	200	0.666	0.665	0.665	0.665	102.79	0.03319	0.0048	4.8	102.794
120	35	200	0.605	0.602	0.603	0.603	126.66	0.04964	0.00173	1.73	126.657
180	35	200	0.639	0.637	0.641	0.639	112.93	0.05067	0.0011	1.1	112.929
240	35	200	0.671	0.668	0.667	0.669	101.51	0.03755	0.0043	4.3	101.511
300	35	200	0.767	0.769	0.768	0.768	63.28	0.02826	0.00248	2.48	63.28
360	35	200	0.783	0.788	0.787	0.786	56.35	0.06385	0.00385	3.85	56.352
R	35	200	0.811	0.813	0.814	0.813	46.09	0.01352	0.00438	4.38	46.089
15	40	200	0.715	0.722	0.714	0.717	82.91	0.00278	0.0024	2.4	82.909
30	40	200	0.706	0.708	0.703	0.706	87.27	0.00739	0.004	4	87.271
60	40	200	0.701	0.702	0.702	0.702	88.81	0.07048	0.0032	3.2	88.81
120	40	200	0.671	0.682	0.679	0.677	98.18	0.09123	0.00217	2.17	98.176
180	40	200	0.665	0.668	0.667	0.667	102.28	0.10224	0.0031	3.1	102.281
240	40	200	0.723	0.716	0.716	0.718	82.40	0.19	0.00479	4.79	82.396
300	40	200	0.729	0.729	0.733	0.73	77.78	0.06131	0.0031	3.1	77.777
360	40	200	0.831	0.833	0.827	0.83	39.29	0.0757	0.0037	3.7	39.29
R	40	200	0.869	0.866	0.863	0.866	25.56	0.00681	0.00387	3.87	25.562
15	45	200	0.711	0.716	0.715	0.714	84.06	0.00279	0.002	2	84.064
30	45	200	0.708	0.705	0.704	0.706	87.27	0.01698	0.00267	2.67	87.271
60	45	200	0.699	0.691	0.688	0.693	92.27	0.03754	0.0029	2.9	92.274
120	45	200	0.667	0.665	0.663	0.665	102.92	0.08155	0.00403	4.03	102.923
180	45	200	0.607	0.606	0.606	0.606	125.50	0.11329	0.00281	2.81	125.502
240	45	200	0.738	0.741	0.743	0.741	73.80	0.07366	0.0045	4.5	73.8
300	45	200	0.785	0.783	0.782	0.783	57.38	0.04678	0.0037	3.7	57.379
360	45	200	0.786	0.781	0.787	0.785	56.87	0.05094	0.00492	4.92	56.866
R	45	200	0.879	0.867	0.883	0.876	21.59	0.00617	0.00412	4.12	21.585
15	60	200	0.768	0.769	0.7	0.746	71.88	0.00128	0.00275	2.75	71.876
30	60	200	0.73	0.735	0.733	0.733	76.88	0.00434	0.0033	3.3	76.879
60	60	200	0.731	0.737	0.734	0.734	76.37	0.01788	0.00255	2.55	76.366
120	60	200	0.713	0.722	0.719	0.718	82.52	0.07842	0.00484	4.84	82.524
180	60	200	0.693	0.689	0.699	0.694	91.89	0.1007	0.00452	4.52	91.889
240	60	200	0.671	0.671	0.668	0.67	101.00	0.06299	0.00451	4.51	100.998
300	60	200	0.737	0.727	0.734	0.733	76.88	0.04073	0.00256	2.56	76.879
360	60	200	0.732	0.739	0.739	0.737	75.34	0.03677	0.0031	3.1	75.34
R	60	200	0.818	0.817	0.816	0.817	44.42	0.03483	0.00275	2.75	44.421

Tabla 9. Ensayo 2. Determinación de capacidad antioxidante por método ABTS.

Condiciones			Absorbancia			Promedio	Concentración mg/L	Extracto obtenido g	V.de MeOH 1000 ppm(ml)	P .extracto 1000 ppm g	µmol Eq. trolox/g ext
Tiempo (min)	T °C	P Bar	Señal 1	Señal 2	Señal 3						
15	35	100	0.867	0.872	0.861	0.867	253.056.576	0.01502	0.0037	3.7	25.306
30	35	100	0.865	0.863	0.86	0.863	268.451.678	0.01619	0.00468	4.68	26.845
60	35	100	0.733	0.738	0.737	0.736	755.963.246	0.03116	0.005	5	75.596
120	35	100	0.725	0.722	0.728	0.725	798.299.777	0.05568	0.00422	4.22	79.83
180	35	100	0.789	0.781	0.783	0.784	569.939.095	0.07514	0.0024	2.4	56.994
240	35	100	0.671	0.675	0.678	0.675	992.021.478	0.10916	0.00474	4.74	99.202
300	35	100	0.632	0.633	0.636	0.634	114.982.128	0.05763	0.00344	3.44	114.982
360	35	100	0.801	0.805	0.809	0.805	490.397.734	0.03984	0.00322	3.22	49.04
R	35	100	0.829	0.828	0.825	0.827	404.441.747	0.02624	0.003	3	40.444
15	40	100	0.851	0.847	0.845	0.848	326.183.311	0.01396	0.0025	2.5	32.618
30	40	100	0.837	0.839	0.831	0.836	372.368.618	0.02386	0.00105	1.05	37.237
60	40	100	0.765	0.767	0.763	0.765	644.348.755	0.03577	0.0045	4.5	64.435
120	40	100	0.721	0.719	0.723	0.721	813.694.879	0.04437	0.0049	4.9	81.369
180	40	100	0.715	0.718	0.717	0.717	830.372.906	0.04114	0.0027	2.7	83.037
240	40	100	0.711	0.71	0.717	0.713	845.768.008	0.07405	0.003	3	84.577
300	40	100	0.755	0.753	0.75	0.753	691.816.987	0.09357	0.005	5	69.182
360	40	100	0.792	0.795	0.798	0.795	528.885.489	0.03155	0.005	5	52.889
R	40	100	0.878	0.881	0.877	0.879	20.687.127	0.06011	0.0021	2.1	20.687
15	45	100	0.825	0.823	0.821	0.823	421.119.775	0.01309	0.00215	2.15	42.112
30	45	100	0.807	0.803	0.805	0.805	490.397.734	0.0133	0.00155	1.55	49.04
60	45	100	0.789	0.785	0.787	0.787	559.675.694	0.0338	0.0033	3.3	55.968
120	45	100	0.735	0.737	0.733	0.735	759.812.021	0.03086	0.0036	3.6	75.981
180	45	100	0.672	0.673	0.671	0.672	100.228.488	0.03817	0.0041	4.1	100.228
240	45	100	0.701	0.707	0.703	0.704	880.406.988	0.06376	0.0039	3.9	88.041
300	45	100	0.794	0.797	0.793	0.795	530.168.415	0.04538	0.00465	4.65	53.017
360	45	100	0.844	0.843	0.841	0.843	345.427.189	0.07764	0.0037	3.7	34.543
R	45	100	0.879	0.877	0.875	0.877	213.285.896	0.05482	0.004	4	21.329
15	60	100	0.843	0.845	0.847	0.845	336.446.713	0.0185	0.0027	2.7	33.645
30	60	100	0.805	0.805	0.802	0.804	49.424.651	0.01928	0.0022	2.2	49.425
60	60	100	0.801	0.803	0.801	0.802	503.226.986	0.01672	0.0018	1.8	50.323
120	60	100	0.742	0.747	0.745	0.745	722.607.191	0.02103	0.00215	2.15	72.261
180	60	100	0.701	0.703	0.702	0.702	886.821.614	0.143	0.00385	3.85	88.682
240	60	100	0.737	0.736	0.738	0.737	75.211.447	0.21579	0.0048	4.8	75.211
300	60	100	0.787	0.778	0.722	0.762	654.612.157	0.05336	0.0048	4.8	65.461
360	60	100	0.879	0.883	0.881	0.881	197.890.794	0.02239	0.0023	2.3	19.789
R	60	100	0.876	0.873	0.873	0.874	224.832.222	0.03027	0.0042	4.2	22.483
15	35	150	0.815	0.812	0.811	0.813	460.890.455	0.01304	0.001	1	46.089
30	35	150	0.807	0.806	0.805	0.806	486.548.959	0.01128	0.005	5	48.655
60	35	150	0.801	0.803	0.801	0.802	503.226.986	0.05335	0.0045	4.5	50.323
120	35	150	0.762	0.763	0.765	0.763	650.763.381	0.04512	0.004	4	65.076
180	35	150	0.743	0.741	0.745	0.743	729.021.817	0.11065	0.003	3	72.902
240	35	150	0.689	0.683	0.685	0.686	949.684.948	0.12377	0.0023	2.3	94.968
300	35	150	0.787	0.777	0.785	0.783	575.070.796	0.02124	0.00345	3.45	57.507
360	35	150	0.905	0.901	0.903	0.903	113.217.732	0.01075	0.00471	4.71	11.322

R	35	150	0.922	0.921	0.923	0.922	400.909.969	0.00477	0.00285	2.85	4.009
15	40	150	0.868	0.869	0.867	0.868	247.924.876	0.0143	0.0023	2.3	24.792
30	40	150	0.871	0.874	0.875	0.873	227.398.073	0.01938	0.00189	1.89	22.74
60	40	150	0.872	0.862	0.875	0.87	24.151.025	0.09943	0.004	4	24.151
120	40	150	0.837	0.833	0.831	0.834	380.066.169	0.06816	0.004	4	38.007
180	40	150	0.835	0.832	0.833	0.833	381.349.094	0.16047	0.0042	4.2	38.135
240	40	150	0.813	0.811	0.813	0.812	46.217.338	0.04545	0.0036	3.6	46.217
300	40	150	0.837	0.835	0.837	0.836	369.802.767	0.01854	0.0038	3.8	36.98
360	40	150	0.847	0.841	0.845	0.844	339.012.563	0.01647	0.0035	3.5	33.901
R	40	150	0.849	0.847	0.845	0.847	328.749.162	0.03748	0.005	5	32.875
15	45	150	0.883	0.889	0.885	0.886	179.929.841	0.02526	0.005	5	17.993
30	45	150	0.836	0.833	0.835	0.835	376.217.393	0.01801	0.0015	1.5	37.622
60	45	150	0.721	0.725	0.723	0.723	805.997.328	0.03156	0.0024	2.4	80.6
120	45	150	0.701	0.701	0.705	0.702	885.538.689	0.06993	0.0045	4.5	88.554
180	45	150	0.711	0.713	0.712	0.712	848.333.859	0.29022	0.0045	4.5	84.833
240	45	150	0.583	0.585	0.587	0.585	133.712.835	0.15522	0.005	5	133.713
300	45	150	0.613	0.615	0.614	0.614	122.551.386	0.05188	0.004	4	122.551
360	45	150	0.653	0.651	0.653	0.652	107.797.747	0.03224	0.005	5	107.798
R	45	150	0.852	0.853	0.855	0.853	304.373.583	0.03098	0.003	3	30.437
15	60	150	0.756	0.757	0.755	0.756	678.987.735	0.00724	0.0016	1.6	67.899
30	60	150	0.733	0.738	0.732	0.734	762.377.872	0.00447	0.004	4	76.238
60	60	150	0.722	0.721	0.715	0.719	820.109.505	0.10655	0.0045	4.5	82.011
120	60	150	0.714	0.717	0.711	0.714	840.636.308	0.17186	0.0045	4.5	84.064
180	60	150	0.613	0.614	0.612	0.613	122.936.264	0.13216	0.0049	4.9	122.936
240	60	150	0.618	0.617	0.623	0.619	120.498.706	0.02832	0.0035	3.5	120.499
300	60	150	0.767	0.667	0.765	0.733	767.509.572	0.02182	0.0028	2.8	76.751
360	60	150	0.837	0.833	0.835	0.835	374.934.468	0.02472	0.003	3	37.493
R	60	150	0.897	0.898	0.896	0.897	136.310.385	0.013	0.004	4	13.631
15	35	200	0.753	0.757	0.789	0.766	639.217.055	0.00895	0.005	5	63.922
30	35	200	0.728	0.725	0.722	0.725	798.299.777	0.04543	0.0014	1.4	79.83
60	35	200	0.672	0.669	0.673	0.671	100.485.073	0.01999	0.005	5	100.485
120	35	200	0.608	0.609	0.611	0.609	124.347.481	0.05924	0.005	5	124.347
180	35	200	0.622	0.626	0.628	0.625	11.818.944	0.04816	0.004	4	118.189
240	35	200	0.668	0.665	0.665	0.666	102.537.753	0.06911	0.005	5	102.538
300	35	200	0.733	0.731	0.731	0.732	772.641.273	0.01707	0.0015	1.5	77.264
360	35	200	0.797	0.799	0.797	0.798	518.622.088	0.03002	0.0035	3.5	51.862
R	35	200	0.819	0.818	0.817	0.818	440.363.652	0.03896	0.0035	3.5	44.036
15	40	200	0.711	0.71	0.713	0.711	850.899.709	0.00553	0.005	5	85.09
30	40	200	0.709	0.709	0.704	0.707	866.294.811	0.00623	0.005	5	86.629
60	40	200	0.698	0.696	0.699	0.698	903.499.641	0.04196	0.0033	3.3	90.35
120	40	200	0.677	0.674	0.673	0.675	992.021.478	0.07369	0.0032	3.2	99.202
180	40	200	0.658	0.656	0.659	0.658	105.745.066	0.14242	0.004	4	105.745
240	40	200	0.718	0.715	0.712	0.715	836.787.532	0.10809	0.00215	2.15	83.679
300	40	200	0.722	0.725	0.728	0.725	798.299.777	0.08805	0.0005	0.5	79.83
360	40	200	0.847	0.844	0.841	0.844	340.295.488	0.06557	0.005	5	34.03
R	40	200	0.879	0.874	0.878	0.877	213.285.896	0.05227	0.0038	3.8	21.329
15	45	200	0.701	0.702	0.701	0.701	889.387.464	0.00854	0.005	5	88.939
30	45	200	0.7	0.704	0.703	0.702	885.538.689	0.00862	0.005	5	88.554
60	45	200	0.696	0.693	0.689	0.693	922.743.519	0.04885	0.003	3	92.274
120	45	200	0.662	0.661	0.662	0.662	104.205.556	0.06615	0.0044	4.4	104.206
180	45	200	0.638	0.639	0.635	0.637	11.357.091	0.13262	0.0044	4.4	113.571
240	45	200	0.617	0.616	0.613	0.615	122.038.216	0.12571	0.005	5	122.038
300	45	200	0.794	0.796	0.797	0.796	526.319.639	0.02241	0.0022	2.2	52.632
360	45	200	0.849	0.841	0.847	0.846	333.880.862	0.04118	0.00185	1.85	33.388
R	45	200	0.879	0.867	0.883	0.876	215.851.746	0.03116	0.0045	4.5	21.585
15	60	200	0.747	0.746	0.742	0.745	721.324.266	0.01019	0.005	5	71.876
30	60	200	0.722	0.721	0.724	0.722	808.563.178	0.01112	0.0022	2.2	76.879
60	60	200	0.713	0.713	0.717	0.714	839.353.382	0.03281	0.00415	4.15	76.366
120	60	200	0.709	0.712	0.711	0.711	853.465.559	0.06902	0.0048	4.8	82.524

180	60	200	0.601	0.608	0.604	0.604	126.271.869	0.13595	0.005	5	91.889
240	60	200	0.689	0.686	0.685	0.687	945.836.172	0.07454	0.002	2	100.998
300	60	200	0.742	0.745	0.746	0.744	723.890.116	0.02677	0.0004	0.4	76.879
360	60	200	0.779	0.78	0.781	0.78	586.617.122	0.01969	0.0025	2.5	75.34
R	60	200	0.825	0.823	0.829	0.826	410.856.373	0.00266	0.0036	3.6	44.421

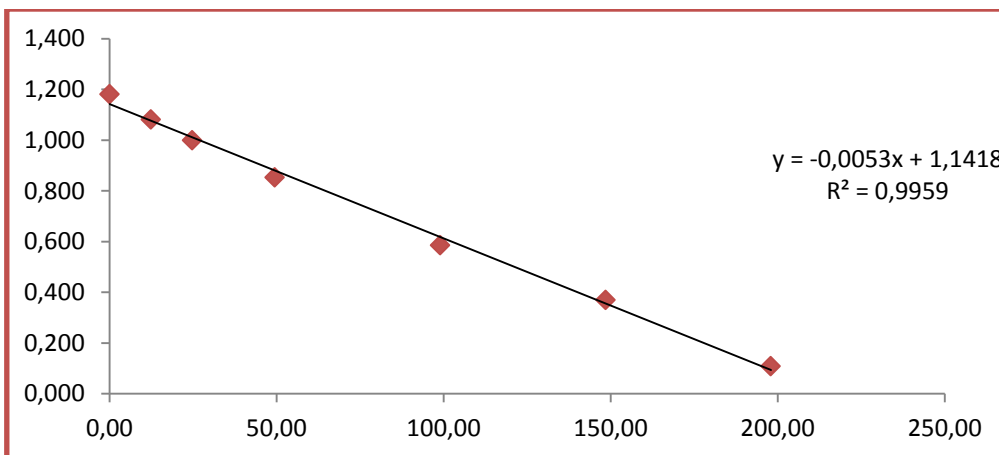
Anexo G. Determinación de capacidad antioxidante por el método DPPH.

Tabla 10. Datos de curva de calibración del método DPPH.

P. Trolox g		P. M (g/mol)	Riqueza (%)	Aforo (ml)	C. Solución patrón (µM)		
0.0250		250.3	97	100	968.87		
Alícuota (m)	Aforo (ml)	C. Trolox (µmol ET)	Señal 1	Señal 2	Señal 3	Promedio	
0	10	0.00	1.180	1.182	1.181	1.181	
0.5	10	12.38	1.082	1.081	1.080	1.081	
1	10	24.75	0.999	0.998	1.000	0.999	
2	10	49.50	0.854	0.851	0.853	0.853	
4	10	99.00	0.627	0.500	0.629	0.585	
6	10	148.50	0.393	0.345	0.371	0.370	
8	10	198.00	0.108	0.107	0.109	0.108	

Determinación de concentración de estándares de curva de calibración

$$C_1V_1 = C_2V_2 \rightarrow C_2 = \frac{C_1V_1}{V_2} \rightarrow \text{determinación estándar } 0.05 \text{ } C_2 = \frac{968.88 \mu\text{mol ET} \times 0.05 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} = 12.38 \mu\text{mol ET}$$



Curva de calibración

Determinación de concentración de capacidad antioxidante en los extractos obtenidos por el método DPPH

$$\text{Ecuación de la curva. } y = -0.0053x + 1.1418 \rightarrow x = \frac{1.1418 - y}{0.0053} \rightarrow x = \frac{1.1418 - 0.863}{0.0053} = 52.74 \mu\text{mol } \frac{\text{ET}}{\text{L}}$$

$$52.74 \mu\text{mol} \frac{\text{ET}}{\text{L}} \frac{1 \text{ L sol}}{1000 \text{ mL sol}} \times \frac{4.7 \text{ mL sol}}{0.0047 \text{ g ext}} = 52.7 \mu\text{mol} \frac{\text{ET}}{\text{gramos de muestra seca}}$$

Tabla 11. Ensayo 1. Determinación de capacidad antioxidante por método DPPH.

Condiciones			Absorbancia			Promedio	Concentración mg/L	Extracto obtenido g	V.de MeOH 1000 ppm(ml)	P. extracto 1000 ppm g	μmol Eq. trolox/g ext
Tiempo (min)	T °C	P Bar	Señal 1	Señal 2	Señal 3						
15	35	100	0.86	0.863	0.865	0.863	52.748	0.08371	0.0047	4.7	52.748
30	35	100	0.841	0.845	0.843	0.843	56.464	0.04089	0.0043	4.3	56.464
60	35	100	0.815	0.811	0.813	0.813	62.133	0.06355	0.0028	2.8	62.133
120	35	100	0.807	0.805	0.808	0.807	63.33	0.02512	0.00272	2.72	63.33
180	35	100	0.827	0.823	0.822	0.824	60.054	0.03417	0.00191	1.91	60.054
240	35	100	0.833	0.835	0.833	0.834	58.228	0.04468	0.0028	2.8	58.228
300	35	100	0.837	0.834	0.837	0.836	57.787	0.0376	0.00238	2.38	57.787
360	35	100	0.843	0.841	0.84	0.841	56.779	0.03984	0.00322	3.22	56.779
R	35	100	0.845	0.841	0.842	0.843	56.527	0.0049	0.0049	4.9	56.527
15	40	100	0.833	0.833	0.829	0.832	58.606	0.0494	0.0043	4.3	58.606
30	40	100	0.825	0.824	0.823	0.824	60.054	0.01783	0.00153	1.53	60.054
60	40	100	0.819	0.817	0.818	0.818	61.188	0.0462	0.0043	4.3	61.188
120	40	100	0.811	0.811	0.811	0.811	62.511	0.01587	0.002	2	62.511
180	40	100	0.8	0.802	0.8	0.801	64.464	0.01192	0.0013	1.3	64.464
240	40	100	0.81	0.811	0.813	0.811	62.448	0.00934	0.00434	4.34	62.448
300	40	100	0.822	0.824	0.822	0.823	60.306	0.00532	0.00135	1.35	60.306
360	40	100	0.825	0.825	0.826	0.825	59.802	0.01488	0.00135	1.35	59.802
R	40	100	0.829	0.829	0.833	0.83	58.858	0.00422	0.00422	4.22	58.858
15	45	100	0.816	0.817	0.823	0.819	61.062	0.01474	0.00185	1.85	61.062
30	45	100	0.819	0.821	0.817	0.819	60.999	0.01151	0.00182	1.82	60.999
60	45	100	0.817	0.813	0.815	0.815	61.755	0.05426	0.00425	4.25	61.755
120	45	100	0.813	0.812	0.81	0.812	62.385	0.04346	0.00381	3.81	62.385
180	45	100	0.8	0.803	0.8	0.801	64.401	0.03092	0.00275	2.75	64.401
240	45	100	0.811	0.815	0.813	0.813	62.133	0.01884	0.00138	1.38	62.133
300	45	100	0.829	0.825	0.827	0.827	59.487	0.04024	0.0033	3.3	59.487
360	45	100	0.834	0.833	0.838	0.835	57.976	0.02181	0.0016	1.6	57.976
R	45	100	0.846	0.849	0.846	0.847	55.708	0.01188	0.00194	1.94	55.708
15	60	100	0.833	0.827	0.823	0.828	59.362	0.00996	0.00496	4.96	59.362
30	60	100	0.82	0.821	0.822	0.821	60.621	0.00477	0.00477	4.77	60.621
60	60	100	0.823	0.819	0.818	0.82	60.81	0.00485	0.00485	4.85	60.81
120	60	100	0.816	0.817	0.815	0.816	61.566	0.02919	0.00355	3.55	61.566
180	60	100	0.815	0.813	0.811	0.813	62.133	0.05541	0.00315	3.15	62.133
240	60	100	0.818	0.817	0.817	0.817	61.314	0.06177	0.00298	2.98	61.314
300	60	100	0.835	0.837	0.838	0.837	57.661	0.02254	0.00346	3.46	57.661
360	60	100	0.851	0.859	0.853	0.854	54.322	0.01195	0.00295	2.95	54.322
R	60	100	0.864	0.863	0.861	0.863	52.748	0.02542	0.00255	2.55	52.748
15	35	150	0.818	0.816	0.817	0.817	61.377	0.01674	0.005	5	61.377
30	35	150	0.812	0.813	0.812	0.812	62.259	0.0577	0.00419	4.19	62.259
60	35	150	0.809	0.809	0.807	0.808	63.015	0.03849	0.00321	3.21	63.015
120	35	150	0.8	0.802	0.801	0.801	64.401	0.019	0.00174	1.74	64.401
180	35	150	0.797	0.799	0.796	0.797	65.094	0.02781	0.00276	2.76	65.094
240	35	150	0.814	0.816	0.814	0.815	61.818	0.0458	0.00387	3.87	61.818
300	35	150	0.825	0.825	0.828	0.826	59.676	0.03179	0.002	2	59.676
360	35	150	0.833	0.835	0.833	0.834	58.228	0.05162	0.00353	3.53	58.228
R	35	150	0.837	0.837	0.839	0.838	57.472	0.05293	0.00233	2.33	57.472

15	40	150	0.822	0.821	0.82	0.821	60.621	0.05549	0.00481	4.81	60.621
30	40	150	0.818	0.817	0.819	0.818	61.188	0.05677	0.00315	3.15	61.188
60	40	150	0.815	0.811	0.815	0.814	62.007	0.07344	0.00432	4.32	62.007
120	40	150	0.801	0.801	0.797	0.8	64.653	0.0684	0.00316	3.16	64.653
180	40	150	0.787	0.789	0.79	0.789	66.731	0.03823	0.00236	2.36	66.731
240	40	150	0.813	0.813	0.815	0.814	62.007	0.03049	0.00201	2.01	62.007
300	40	150	0.818	0.821	0.819	0.819	60.936	0.07849	0.0042	4.2	60.936
360	40	150	0.827	0.828	0.827	0.827	59.425	0.06066	0.00361	3.61	59.425
R	40	150	0.833	0.833	0.835	0.834	58.228	0.00937	0.00121	1.21	58.228
15	45	150	0.823	0.825	0.821	0.823	60.243	0.02591	0.00277	2.77	60.243
30	45	150	0.818	0.815	0.817	0.817	61.44	0.02	0.00219	2.19	61.44
60	45	150	0.807	0.805	0.807	0.806	63.393	0.03483	0.0032	3.2	63.393
120	45	150	0.793	0.79	0.791	0.791	66.227	0.09426	0.0048	4.8	66.227
180	45	150	0.78	0.782	0.78	0.781	68.243	0.06284	0.00426	4.26	68.243
240	45	150	0.809	0.813	0.811	0.811	62.511	0.05019	0.00325	3.25	62.511
300	45	150	0.821	0.821	0.823	0.822	60.495	0.0326	0.0041	4.1	60.495
360	45	150	0.827	0.827	0.825	0.826	59.613	0.04322	0.00254	2.54	59.613
R	45	150	0.829	0.83	0.822	0.827	59.487	0.01438	0.002	2	59.487
15	60	150	0.819	0.817	0.816	0.817	61.314	0.00802	0.005	5	61.314
30	60	150	0.805	0.801	0.8	0.802	64.212	0.00791	0.00491	4.91	64.212
60	60	150	0.785	0.781	0.785	0.784	67.676	0.04561	0.004	4	67.676
120	60	150	0.775	0.772	0.772	0.773	69.692	0.06936	0.00333	3.33	69.692
180	60	150	0.769	0.771	0.7	0.747	74.668	0.08097	0.00222	2.22	74.668
240	60	150	0.797	0.801	0.805	0.801	64.401	0.04823	0.00392	3.92	64.401
300	60	150	0.815	0.812	0.815	0.814	61.944	0.01999	0.00307	3.07	61.944
360	60	150	0.818	0.82	0.819	0.819	60.999	0.0217	0.0021	2.1	60.999
R	60	150	0.823	0.825	0.827	0.825	59.865	0.03607	0.00403	4.03	59.865
15	35	200	0.813	0.815	0.818	0.815	61.692	0.00412	0.00402	4.02	61.692
30	35	200	0.807	0.807	0.808	0.807	63.204	0.03393	0.005	5	63.204
60	35	200	0.803	0.803	0.802	0.803	64.086	0.03319	0.0048	4.8	64.086
120	35	200	0.791	0.795	0.895	0.827	59.487	0.04964	0.00173	1.73	59.487
180	35	200	0.78	0.784	0.781	0.782	68.054	0.05067	0.0011	1.1	68.054
240	35	200	0.805	0.807	0.806	0.806	63.456	0.03755	0.0043	4.3	63.456
300	35	200	0.816	0.816	0.816	0.816	61.566	0.02826	0.00248	2.48	61.566
360	35	200	0.826	0.826	0.825	0.826	59.739	0.06385	0.00385	3.85	59.739
R	35	200	0.831	0.832	0.834	0.832	58.48	0.01352	0.00438	4.38	58.48
15	40	200	0.823	0.825	0.824	0.824	60.054	0.00278	0.0024	2.4	60.054
30	40	200	0.812	0.811	0.813	0.812	62.322	0.00739	0.004	4	62.322
60	40	200	0.801	0.805	0.803	0.803	64.023	0.07048	0.0032	3.2	64.023
120	40	200	0.785	0.786	0.787	0.786	67.235	0.09123	0.00217	2.17	67.235
180	40	200	0.77	0.774	0.772	0.772	69.881	0.10224	0.0031	3.1	69.881
240	40	200	0.795	0.798	0.796	0.796	65.283	0.19	0.00479	4.79	65.283
300	40	200	0.815	0.812	0.816	0.814	61.881	0.06131	0.0031	3.1	61.881
360	40	200	0.822	0.826	0.823	0.824	60.117	0.0757	0.0037	3.7	60.117
R	40	200	0.829	0.829	0.832	0.83	58.921	0.00681	0.00387	3.87	58.921
15	45	200	0.814	0.812	0.814	0.813	62.07	0.00279	0.002	2	62.07
30	45	200	0.807	0.803	0.807	0.806	63.519	0.01698	0.00267	2.67	63.519
60	45	200	0.785	0.785	0.781	0.784	67.676	0.03754	0.0029	2.9	67.676
120	45	200	0.777	0.771	0.772	0.773	69.629	0.08155	0.00403	4.03	69.629
180	45	200	0.761	0.765	0.763	0.763	71.582	0.11329	0.00281	2.81	71.582
240	45	200	0.787	0.789	0.793	0.79	66.542	0.07366	0.0045	4.5	66.542
300	45	200	0.803	0.807	0.803	0.804	63.771	0.04678	0.0037	3.7	63.771
360	45	200	0.819	0.815	0.816	0.817	61.44	0.05094	0.00492	4.92	61.44
R	45	200	0.822	0.824	0.828	0.825	59.928	0.00617	0.00412	4.12	59.928
15	60	200	0.813	0.811	0.813	0.812	62.259	0.00128	0.00275	2.75	62.259
30	60	200	0.801	0.803	0.801	0.802	64.275	0.00434	0.0033	3.3	64.275
60	60	200	0.781	0.781	0.778	0.78	68.369	0.01788	0.00255	2.55	68.369
120	60	200	0.769	0.769	0.767	0.768	70.574	0.07842	0.00484	4.84	70.574
180	60	200	0.731	0.735	0.733	0.733	77.251	0.1007	0.00452	4.52	77.251

240	60	200	0.781	0.783	0.78	0.781	68.117	0.06299	0.00451	4.51	68.117
300	60	200	0.799	0.799	0.795	0.798	65.031	0.04073	0.00256	2.56	65.031
360	60	200	0.801	0.803	0.804	0.803	64.086	0.03677	0.0031	3.1	64.086
R	60	200	0.809	0.812	0.813	0.811	62.448	0.03483	0.00275	2.75	62.448

Tabla 2. Ensayo 2. Determinación de capacidad antioxidante por método DPPH.

Condiciones			Absorbancia			Promedio	Concentración mg/L	Extracto obtenido g	V.de MeOH 1000 ppm(ml)	P .extracto 1000 ppm g	µmol Eq. trolox/g ext
Tiempo (min)	T °C	P Bar	Señal 1	Señal 2	Señal 3						
15	35	100	0.876	0.876	0.875	0.876	50.291	0.01502	0.0037	3.7	50.291
30	35	100	0.851	0.857	0.851	0.853	54.574	0.01619	0.00468	4.68	54.574
60	35	100	0.825	0.821	0.823	0.823	60.243	0.03116	0.005	5	60.243
120	35	100	0.801	0.801	0.803	0.802	64.275	0.05568	0.00422	4.22	64.275
180	35	100	0.817	0.815	0.816	0.816	61.566	0.07514	0.0024	2.4	61.566
240	35	100	0.823	0.827	0.828	0.826	59.676	0.10916	0.00474	4.74	59.676
300	35	100	0.839	0.84	0.839	0.839	57.157	0.05763	0.00344	3.44	57.157
360	35	100	0.849	0.847	0.846	0.847	55.645	0.03984	0.00322	3.22	55.645
R	35	100	0.857	0.853	0.855	0.855	54.196	0.02624	0.003	3	54.196
15	40	100	0.873	0.871	0.872	0.872	50.984	0.01396	0.0025	2.5	50.984
30	40	100	0.815	0.817	0.816	0.816	61.566	0.02386	0.00105	1.05	61.566
60	40	100	0.811	0.81	0.807	0.809	62.826	0.03577	0.0045	4.5	62.826
120	40	100	0.803	0.801	0.803	0.802	64.149	0.04437	0.0049	4.9	64.149
180	40	100	0.798	0.796	0.799	0.798	65.031	0.04114	0.0027	2.7	65.031
240	40	100	0.801	0.804	0.806	0.804	63.897	0.07405	0.003	3	63.897
300	40	100	0.812	0.818	0.816	0.815	61.692	0.09357	0.005	5	61.692
360	40	100	0.83	0.83	0.833	0.831	58.732	0.03155	0.005	5	58.732
R	40	100	0.839	0.835	0.837	0.837	57.598	0.06011	0.0021	2.1	57.598
15	45	100	0.886	0.889	0.887	0.887	48.086	0.01309	0.00215	2.15	48.086
30	45	100	0.839	0.84	0.84	0.84	57.094	0.0133	0.00155	1.55	57.094
60	45	100	0.827	0.823	0.827	0.826	59.739	0.0338	0.0033	3.3	59.739
120	45	100	0.817	0.814	0.815	0.815	61.692	0.03086	0.0036	3.6	61.692
180	45	100	0.8	0.803	0.801	0.801	64.338	0.03817	0.0041	4.1	64.338
240	45	100	0.815	0.812	0.813	0.813	62.07	0.06376	0.0039	3.9	62.07
300	45	100	0.839	0.837	0.836	0.837	57.535	0.04538	0.00465	4.65	57.535
360	45	100	0.844	0.841	0.84	0.842	56.716	0.07764	0.0037	3.7	56.716
R	45	100	0.856	0.86	0.859	0.858	53.566	0.05482	0.004	4	53.566
15	60	100	0.873	0.877	0.873	0.874	50.543	0.0185	0.0027	2.7	50.543
30	60	100	0.862	0.862	0.86	0.861	53	0.01928	0.0022	2.2	53
60	60	100	0.833	0.837	0.834	0.835	58.039	0.01672	0.0018	1.8	58.039
120	60	100	0.826	0.826	0.824	0.825	59.802	0.02103	0.00215	2.15	59.802
180	60	100	0.816	0.819	0.816	0.817	61.377	0.143	0.00385	3.85	61.377
240	60	100	0.825	0.822	0.827	0.825	59.928	0.21579	0.0048	4.8	59.928
300	60	100	0.845	0.84	0.838	0.841	56.842	0.05336	0.0048	4.8	56.842
360	60	100	0.853	0.854	0.857	0.855	54.259	0.02239	0.0023	2.3	54.259
R	60	100	0.867	0.865	0.861	0.864	52.433	0.03027	0.0042	4.2	52.433
15	35	150	0.878	0.879	0.877	0.878	49.85	0.01304	0.001	1	49.85
30	35	150	0.832	0.836	0.832	0.833	58.291	0.01128	0.005	5	58.291
60	35	150	0.819	0.819	0.817	0.818	61.125	0.05335	0.0045	4.5	61.125

120	35	150	0.8	0.8	0.801	0.8	64.527	0.04512	0.004	4	64.527
180	35	150	0.807	0.81	0.806	0.808	63.141	0.11065	0.003	3	63.141
240	35	150	0.824	0.82	0.822	0.822	60.432	0.12377	0.0023	2.3	60.432
300	35	150	0.835	0.832	0.828	0.832	58.606	0.02124	0.00345	3.45	58.606
360	35	150	0.843	0.84	0.837	0.84	57.031	0.01075	0.00471	4.71	57.031
R	35	150	0.847	0.847	0.849	0.848	55.582	0.00477	0.00285	2.85	55.582
15	40	150	0.842	0.841	0.842	0.842	56.716	0.0143	0.0023	2.3	56.716
30	40	150	0.838	0.837	0.836	0.837	57.598	0.01938	0.00189	1.89	57.598
60	40	150	0.825	0.811	0.825	0.82	60.747	0.09943	0.004	4	60.747
120	40	150	0.811	0.81	0.813	0.811	62.448	0.06816	0.004	4	62.448
180	40	150	0.773	0.779	0.775	0.776	69.188	0.16047	0.0042	4.2	69.188
240	40	150	0.803	0.805	0.801	0.803	64.023	0.04545	0.0036	3.6	64.023
300	40	150	0.818	0.821	0.817	0.819	61.062	0.01854	0.0038	3.8	61.062
360	40	150	0.837	0.838	0.835	0.837	57.661	0.01647	0.0035	3.5	57.661
R	40	150	0.843	0.841	0.846	0.843	56.401	0.03748	0.005	5	56.401
15	45	150	0.813	0.815	0.813	0.814	62.007	0.02526	0.005	5	62.007
30	45	150	0.808	0.805	0.807	0.807	63.33	0.01801	0.0015	1.5	63.33
60	45	150	0.797	0.795	0.798	0.797	65.22	0.03156	0.0024	2.4	65.22
120	45	150	0.773	0.779	0.776	0.776	69.125	0.06993	0.0045	4.5	69.125
180	45	150	0.758	0.752	0.754	0.755	73.156	0.29022	0.0045	4.5	73.156
240	45	150	0.849	0.843	0.844	0.845	56.023	0.15522	0.005	5	56.023
300	45	150	0.891	0.891	0.895	0.892	47.141	0.05188	0.004	4	47.141
360	45	150	0.807	0.807	0.808	0.807	63.204	0.03224	0.005	5	63.204
R	45	150	0.819	0.813	0.819	0.817	61.377	0.03098	0.003	3	61.377
15	60	150	0.811	0.817	0.812	0.813	62.07	0.00724	0.0016	1.6	62.07
30	60	150	0.8	0.801	0.8	0.8	64.527	0.00447	0.004	4	64.527
60	60	150	0.775	0.771	0.775	0.774	69.566	0.10655	0.0045	4.5	69.566
120	60	150	0.765	0.762	0.763	0.763	71.519	0.17186	0.0045	4.5	71.519
180	60	150	0.739	0.731	0.736	0.735	76.81	0.13216	0.0049	4.9	76.81
240	60	150	0.727	0.821	0.727	0.758	72.463	0.02832	0.0035	3.5	72.463
300	60	150	0.885	0.882	0.883	0.883	48.842	0.02182	0.0028	2.8	48.842
360	60	150	0.898	0.802	0.898	0.866	52.118	0.02472	0.003	3	52.118
R	60	150	0.803	0.805	0.806	0.805	63.708	0.013	0.004	4	63.708
15	35	200	0.843	0.845	0.843	0.844	56.338	0.00895	0.005	5	56.338
30	35	200	0.837	0.837	0.837	0.837	57.598	0.04543	0.0014	1.4	57.598
60	35	200	0.823	0.825	0.823	0.824	60.117	0.01999	0.005	5	60.117
120	35	200	0.811	0.805	0.811	0.809	62.889	0.05924	0.005	5	62.889
180	35	200	0.788	0.784	0.788	0.787	67.109	0.04816	0.004	4	67.109
240	35	200	0.808	0.807	0.808	0.808	63.141	0.06911	0.005	5	63.141
300	35	200	0.819	0.816	0.819	0.818	61.188	0.01707	0.0015	1.5	61.188
360	35	200	0.829	0.826	0.829	0.828	59.299	0.03002	0.0035	3.5	59.299
R	35	200	0.837	0.832	0.837	0.835	57.913	0.03896	0.0035	3.5	57.913
15	40	200	0.833	0.835	0.831	0.833	58.354	0.00553	0.005	5	58.354
30	40	200	0.822	0.811	0.821	0.818	61.176	0.00623	0.005	5	61.176
60	40	200	0.808	0.805	0.803	0.805	63.582	0.04196	0.0033	3.3	63.582
120	40	200	0.795	0.796	0.785	0.792	66.101	0.07369	0.0032	3.2	66.101
180	40	200	0.78	0.784	0.78	0.781	68.117	0.14242	0.004	4	68.117
240	40	200	0.797	0.798	0.797	0.797	65.094	0.10809	0.00215	2.15	65.094
300	40	200	0.818	0.812	0.818	0.816	61.566	0.08805	0.0005	0.5	61.566
360	40	200	0.824	0.826	0.824	0.825	59.928	0.06557	0.005	5	59.928
R	40	200	0.835	0.829	0.835	0.833	58.354	0.05227	0.0038	3.8	58.354
15	45	200	0.818	0.818	0.818	0.818	61.188	0.00854	0.005	5	61.188
30	45	200	0.801	0.805	0.804	0.803	63.96	0.00862	0.005	5	63.96
60	45	200	0.775	0.775	0.771	0.774	69.566	0.04885	0.003	3	69.566
120	45	200	0.767	0.763	0.762	0.764	71.393	0.06615	0.0044	4.4	71.393
180	45	200	0.731	0.735	0.736	0.734	77.062	0.13262	0.0044	4.4	77.062
240	45	200	0.777	0.778	0.775	0.777	68.999	0.12571	0.005	5	68.999
300	45	200	0.793	0.795	0.798	0.795	65.472	0.022419	0.0022	2.2	65.472
360	45	200	0.809	0.807	0.809	0.808	63.015	0.04118	0.00185	1.85	63.015

R	45	200	0.812	0.811	0.814	0.812	62.259	0.03116	0.0045	4.5	62.259
15	60	200	0.801	0.801	0.803	0.802	64.275	0.01019	0.005	5	64.275
30	60	200	0.785	0.785	0.787	0.786	67.298	0.01112	0.0022	2.2	67.298
60	60	200	0.745	0.745	0.748	0.746	74.794	0.03281	0.00415	4.15	74.794
120	60	200	0.729	0.729	0.727	0.728	78.133	0.06902	0.0048	4.8	78.133
180	60	200	0.701	0.701	0.703	0.702	83.172	0.13595	0.005	5	83.172
240	60	200	0.741	0.741	0.748	0.743	75.298	0.07454	0.002	2	75.298
300	60	200	0.789	0.799	0.795	0.794	65.661	0.02677	0.0004	0.4	65.661
360	60	200	0.805	0.803	0.804	0.804	63.834	0.01969	0.0025	2.5	63.834
R	60	200	0.811	0.812	0.813	0.812	62.322	0.00266	0.0036	3.6	62.322

Anexo H. Análisis estadístico

ANOVA unidireccional: Rendimiento vs. Tiempo

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Factor	2	138606	69303	108,63	0,000
Error	33	21053	638		
Total	35	159659			

S = 25,26 R-cuad. = 86,81% R-cuad.(ajustado) = 86,01%

ICs de 95% individuales para la media
basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.	-----+-----+-----+-----+-----
T (°C)	12	45,00	9,77	(--*--)
P (bar)	12	150,00	42,64	(--*--)
Rendimiento	12	2,33	0,52	(--*--)
				-----+-----+-----+-----+-----
				0 50 100 150

Desv.Est. agrupada = 25,26

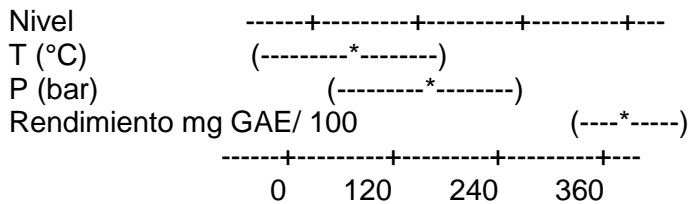
ANOVA unidireccional: Contenido de Fenoles Totales vs. Presión y Temperatura

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Factor	2	474721	237360	6,01	0,004
Error	55	2171124	39475		
Total	57	2645845			

S = 198,7 R-cuad. = 17,94% R-cuad.(ajustado) = 14,96%

Nivel	N	Media	Desv.Est.	
T (°C)	12	45,0	9,8	
P (bar)	12	150,0	42,6	
Rendimiento mg GAE/ 100	34	267,9	255,3	

ICs de 95% individuales para la media
basados en Desv.Est. agrupada



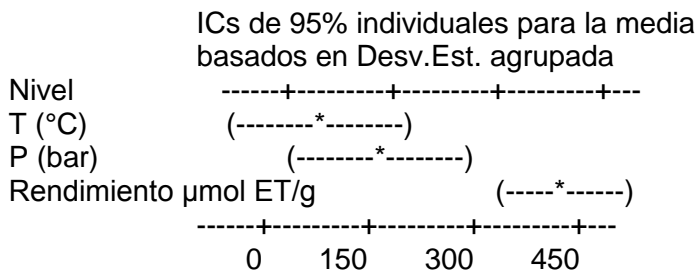
Desv.Est. agrupada = 198,7

ANOVA unidireccional: Capacidad antioxidante por método ABTS vs. Presión y Temperatura

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Factor	2	571124	285562	5,77	0,006
Error	44	2176331	49462		
Total	46	2747456			

S = 222,4 R-cuad. = 20,79% R-cuad.(ajustado) = 17,19%

Nivel	N	Media	Desv.Est.
T (°C)	12	45,0	9,8
P (bar)	12	150,0	42,6
Rendimiento $\mu\text{mol ET/g}$	23	304,9	313,0



Desv.Est. agrupada = 222,4

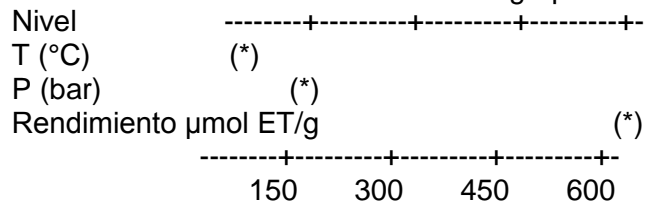
ANOVA unidireccional: Capacidad antioxidante por método DPPH vs. Presión y Temperatura

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Factor	2	1757629	878815	941,57	0,000
Error	33	30801	933		
Total	35	1788430			

S = 30,55 R-cuad. = 98,28% R-cuad.(ajustado) = 98,17%

Nivel	N	Media	Desv.Est.
T (°C)	12	45,00	9,77
P (bar)	12	150,00	42,64
Rendimiento $\mu\text{mol ET/g}$	12	557,32	29,77

ICs de 95% individuales para la media
basados en Desv.Est. agrupada



Desv.Est. agrupada = 30,55