

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE INGENIERÍA
CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA



PROYECTO DE GRADO
ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS PARA LA EXTRACCIÓN DE
FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DEL LLANTÉN
PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
INGENIERO QUÍMICO

POSTULANTE: UNIV. ABIMAEI GUTIÉRREZ HUANCA

TUTOR: ING. ARMENIO SILVA MANZANEDA

CO-TUTOR: LIC. PATRICIA ANDREA MOLLINEDO PORTUGAL Ph.D.

LA PAZ – BOLIVIA

2024



**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE INGENIERIA**



LA FACULTAD DE INGENIERIA DE LA UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS AUTORIZA EL USO DE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE DOCUMENTO SI LOS PROPÓSITOS SON ESTRICTAMENTE ACADÉMICOS.

LICENCIA DE USO

El usuario está autorizado a:

- a) Visualizar el documento mediante el uso de un ordenador o dispositivo móvil.
- b) Copiar, almacenar o imprimir si ha de ser de uso exclusivamente personal y privado.
- c) Copiar textualmente parte(s) de su contenido mencionando la fuente y/o haciendo la cita o referencia correspondiente en apego a las normas de redacción e investigación.

El usuario no puede publicar, distribuir o realizar emisión o exhibición alguna de este material, sin la autorización correspondiente.

TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS. EL USO NO AUTORIZADO DE LOS CONTENIDOS PUBLICADOS EN ESTE SITIO DERIVARA EN EL INICIO DE ACCIONES LEGALES CONTEMPLADAS EN LA LEY DE DERECHOS DE AUTOR.

DEDICATORIA

A mi mamá Martha, quien siempre ha estado apoyándome en todo momento durante toda mi vida.

A mi hermana Marlen y a mi sobrino Santiago, quienes siempre han confiado en mí.

A mis abuelos María Elena y Agustín, quienes siempre pensaron en el futuro de nuestra familia y de no ser por ellos quizá no estaríamos donde hemos llegado ahora.

AGRADECIMIENTOS

A mi mamá Martha, por estar siempre ahí para mí en cada paso que doy. Su apoyo ha sido clave en mi desarrollo tanto personal como profesional. Por sus sabios consejos, su constante ánimo y su fe inquebrantable en mí, nunca ha dudado de mi capacidad para ser una persona íntegra y de valor.

A mi hermana Marlen y a mi sobrino Santiago, que siempre han tenido confianza en mí. A mi abuela María Elena que siempre estuvo conmigo cuidándome en todo momento, a mi abuelo Agustín quien veló por el futuro de toda nuestra familia.

A mi tutor, el Ing. Silva que siempre me guio en cada parte del proyecto, alentándome, motivándome y dándome consejos para los múltiples escenarios que podían presentarse durante la realización del presente proyecto, de principio a fin.

A mi cotutora, la Dra. Mollinedo, por su gran paciencia, dedicación y compromiso al momento de enseñarme muchas técnicas de análisis, por motivarme a seguir con él proyecto hasta el final y siempre tener esa buena predisposición para colaborar.

A mis tribunales, el Ing. Álvarez y la Ing. Sánchez, quienes con sus observaciones procuraban que el proyecto cumpla con las expectativas necesarias para ser de utilidad en el futuro para los estudiantes de la facultad.

A mis mejores amigos: Samuel y Karen quienes me han brindado un apoyo inquebrantable durante todo este tiempo, animándome a culminar este proyecto. A Susana y Grover por su invaluable ayuda en la parte experimental, por su amabilidad, paciencia y dedicación.

Agradezco infinitamente a todas las personas que me acompañaron, apoyaron, colaboraron, motivaron y aconsejaron durante todo este tiempo. ¡Muchas gracias!

RESUMEN

El Llantén, también conocido como Plantago Major, es una planta medicinal que se encuentra comúnmente en áreas de clima semihúmedo. A menudo se considera una planta silvestre de poco valor e incluso una maleza en los campos de cultivo, lo que lleva a subestimar sus diversas propiedades medicinales que se han utilizado tradicionalmente. Esta especie produce metabolitos secundarios que contienen compuestos de interés, como flavonoides, taninos, mucílagos, ácido silícico y ácidos fenólicos.

En este proyecto, nos enfocamos en el estudio de los flavonoides, compuestos que presentan propiedades antioxidantes. Estas propiedades tienen un impacto positivo en la salud al fortalecer el sistema inmunológico y proteger el organismo contra enfermedades cardíacas y los efectos degenerativos asociados al envejecimiento.

Las hojas de llantén fueron recolectadas del municipio de Yanacachi en el departamento de La Paz, para posteriormente realizar su caracterización, pretratamiento, y pruebas experimentales. Utilizamos el rendimiento como variable dependiente y cinco factores del proceso de extracción (tamaño de partícula, tiempo de maceración, temperatura, agitación y relación soluto/solvente) como variables independientes. Experimentalmente identificamos los factores más influyentes y con el diseño experimental establecimos las mejores condiciones de la misma; siendo t_p =ASTM Malla N°40, t_m =24h, T =20°C, v_a =50rpm y sto/ste =1:20.

Cuantificamos los fenoles totales y flavonoides totales a las mejores condiciones de extracción mediante espectrofotometría UV. También evaluamos la actividad antioxidante del extracto utilizando el radical libre DPPH.

Diseñamos un extractor a nivel BenchScale partiendo de uno a nivel laboratorio, considerando las dimensiones del mismo. Posteriormente, mediante escalamiento, determinamos las dimensiones del extractor a nivel BenchScale, así como las del agitador, para una producción de 25 frascos, cada uno conteniendo 150 cápsulas con una concentración de 1000 µg de flavonoides totales.

Llevamos a cabo un estudio fenomenológico del proceso, identificando el modelo matemático más adecuado para nuestros datos experimentales. Consideramos el mecanismo de transferencia de masa por difusión utilizando la segunda ley de Fick. Como resultado, determinamos una difusividad efectiva de $0,75 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$ y un coeficiente de transferencia de masa de $1,03 \cdot 10^{-13} \text{ m/s}$.

ABSTRACT

Medicinal plant like traditionally call Llantén, which scientific name is *Plantago Major*, grows in a semi-humid area. It is often considered a wild plant valueless or even a weed in cultivated fields. However, it has various medicinal properties and it is employed in a traditional medicine well recognized in Bolivia. This species produces secondary metabolites that contain compounds of interest, such as flavonoids, tannins, mucilages, silicic acid, and phenolic acids.

In this project, our focus was on the study of flavonoids, compounds that possess antioxidant properties. These properties have a positive impact on health by strengthening the immune system and protecting the body against heart diseases and degenerative effects associated with aging.

The leaves of llantén were collected from the municipality of Yanacachi in the department of La Paz, subsequently carry out their characterization, pretreatment, and experimental tests. We used the efficiency as the dependent variable and five extraction process factors (particle size, maceration time, temperature, agitation, and solute/solvent ratio) as independent variables. Experimentally, we identified the most influential factors and established the best conditions for them using experimental design, these being t_p =ASTM Mesh No. 40, t_m =24h, T =20°C, v_a =50rpm and sto/ste =1:20.

We quantified total phenols and total flavonoids under the better extraction conditions using UV spectrophotometry. We also evaluated the antioxidant activity of the extract using the DPPH free radical.

We designed an extractor at BenchScale level starting from one at laboratory level, considering its dimensions. Subsequently, by scaling, we determined the dimensions of the extractor at the BenchScale level, as well as those of the shaker, for a production of 25 bottles, each containing 150 capsules with a concentration of 1000 µg of total flavonoids.

We carried out a phenomenological study of the process, identifying the most appropriate mathematical model for our experimental data. We consider the mechanism of mass transfer by diffusion using Fick's second law. As a result, we determined an effective diffusivity of $0,75 \cdot 10^{-12}$ m²/s and a mass transfer coefficient of $1,03 \cdot 10^{-13}$ m/s.

INDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO 1. INTRODUCCION.....	1
1.1. Antecedentes diagnóstico y planteamiento del problema	1
1.1.1. Antecedentes.....	1
1.1.2. Diagnóstico y planteamiento del problema	2
1.2. Objetivos	3
1.2.1. Objetivo General.....	3
1.2.2. Objetivos Específicos	3
1.3. Justificación.....	3
1.3.1. Técnica	3
1.3.2. Económica	3
1.3.3. Social	4
1.3.4. Académica	4
1.3.5. Ambiental.....	4
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. El Llantén o Plantago Major	6
2.1.1. Principios activos.....	7
2.1.2. Usos y aplicaciones del llantén	7
2.2. Mortalidad por enfermedades cardiovasculares	8
2.2.1. Según el género.	9
2.2.2. Según el grupo de edad.....	9
2.2.3. Principal grupo de riesgo	10
2.3. Metabolitos secundarios de las plantas	11
2.3.1. Terpenos.....	11
2.3.2. Compuestos fenólicos	11
2.3.3. Glucósidos	12
2.3.4. Alcaloides	12

2.4.	Flavonoides.....	12
2.4.1.	Estructura química.....	13
2.4.2.	Fuentes de flavonoides	14
2.5.	Extracción solido-liquido	16
2.5.1.	Selección del solvente.....	17
2.5.2.	Factores que influyen en el proceso de extracción	19
a)	Tamaño de partícula	19
b)	Relación soluto-disolvente.....	19
c)	Tiempo de maceración.....	19
d)	Agitación.....	20
e)	Temperatura.....	20
2.6.	Espectrofotometría UV	20
2.6.1.	Transmitancia y absorbancia	21
2.6.2.	Ley de Lambert-Beer.....	22
2.6.3.	Instrumentación	23
2.7.	Cromatografía	24
2.7.1.	Cromatografía en capa fina.....	24
2.7.2.	Determinación del Rf.....	25
2.7.3.	Revelado de las placas	27
2.8.	Diseño experimental	27
2.8.1.	Aplicación	28
2.8.2.	Procedimiento.....	29
2.8.3.	Diseño factorial 2^3	30
2.8.4.	Número de replicas en los diseños factoriales 2^k	30
2.8.5.	Gráfico de Daniel y diagrama de Pareto.....	31
a)	Gráfico de Daniel.....	31
b)	Diagrama de Pareto.....	32

2.8.6.	Verificación de supuestos	33
2.9.	Función antioxidante.....	34
2.9.1.	Radicales libres	35
2.9.2.	Radical DPPH.....	36
2.9.3.	Prueba de la actividad antioxidante	36
2.10.	Diseño del extractor	38
2.10.1.	Tanque agitado.....	38
2.10.2.	Modelos de flujo en tanques agitados.....	39
2.10.3.	Rodetes.....	39
2.10.4.	Consumo de potencia.....	40
2.10.5.	Numero de potencia.....	41
2.10.6.	Numero de Reynolds	41
2.10.7.	Diseño estándar de una turbina	42
2.10.8.	Escalamiento.....	43
2.10.9.	Tipos de escalamiento.....	43
2.11.	Estudio fenomenológico de la extracción Solido-Líquido.....	44
2.11.1.	Mecanismo de la extracción solido líquido.....	44
a)	Cambio de fase	44
b)	Difusión del soluto en el disolvente (transferencia de masa por difusión).....	45
c)	Transferencia del soluto desde la superficie de las partículas hasta el seno de la disolución (transferencia de masa por convección)	46
2.11.2.	Coeficiente de difusión.	47
2.11.3.	Teoría de la difusión ordinaria en líquidos.	47
a)	Teoría Hidrodinámica.....	47
b)	Teoría de la velocidad de Eyring.	48
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....		49
3.1.	Caracterización de la Materia Prima	49

3.1.1. Localización del llantén.....	49
3.1.2. Recepción y recolección de la materia prima.....	49
3.1.3. Identificación botánica en el herbario nacional de Bolivia	50
3.1.4. Determinación de propiedades físicas	51
3.1.5. Determinación de humedad.....	52
3.2. Pretratamiento de la Materia Prima.....	53
3.3. Selección del solvente	54
3.4. Determinación de las variables más importantes	54
3.4. Diseño Experimental.....	56
3.5. Caracterización del producto.....	57
3.5.1. Identificación por placas cromatográficas	57
3.5.2. Determinación de fenoles totales	58
3.5.3. Determinación de flavonoides totales.....	59
3.5.4. Evaluación de la actividad antioxidante	60
CAPÍTULO 4. RESULTADOS	61
4.1. Caracterización de la Materia Prima	61
4.1.1. Identificación botánica en el herbario nacional de Bolivia.....	61
4.1.2. Determinación de propiedades físicas.....	61
4.1.3. Determinación de humedad	62
4.2. Pretratamiento de la materia prima	62
4.2.1. Secado.....	62
4.2.2. Extracción de clorofilas	63
4.3. Determinación de las variables más importantes	63
4.3.1. Extracción solido-liquido.....	63
a) Tamaño de partícula	63
b) Relación soluto-disolvente	64
c) Tiempo de maceración.....	64

d) Velocidad de agitación.....	65
e) Temperatura.....	65
4.4. Diseño Experimental.....	66
4.4.1. Variables más significativas.....	66
4.4.2. Selección del diseño.....	66
4.4.3. Matriz de diseño.	67
4.4.4. Diagrama de Pareto.	68
4.4.5. Gráfica de Daniel.....	68
4.4.6. Matriz ANOVA.	69
4.4.7. Estadísticas de ajuste.....	69
4.4.8. Verificación de supuestos.	70
4.4.9. Superficies de respuesta.....	71
4.4.10. Mejores condiciones de extracción.	72
4.4.11. Modelo matemático.....	72
4.5. Caracterización del producto.....	73
4.5.1. Extracción a las mejores condiciones de extracción.	73
4.5.2. Identificación por placas cromatográficas.....	73
4.5.3. Determinación del factor de retención Rf.....	74
4.5.4. Determinación de Fenoles totales.....	76
4.5.5. Determinación de Flavonoides totales.....	77
4.5.6. Evaluación de la actividad antioxidante.....	78
4.5.6.1. Trolox.....	78
4.5.6.2. Quercetina.....	79
4.6. Análisis de costos	80
4.6.1. Producto referencial.....	80
4.6.2. Características del producto propuesto.....	81

CAPÍTULO 5. DISEÑO DEL EXTRACTOR	82
5.1. Extractor a Nivel Laboratorio.....	82
5.1.1. Cálculo del número de Reynolds.....	82
5.1.2. Determinación de la potencia del impulsor.	83
5.1.3. Dimensiones del tanque a nivel laboratorio.	83
5.2. Diseño del extractor a Nivel Bench Scale.....	84
5.2.1. Análisis previo para el diseño del equipo.....	84
5.2.2. Dimensiones del extractor.	85
5.2.3. Determinación del diámetro.....	85
5.2.4. Sobredimensionamiento para el tanque.....	86
5.2.5. Determinación de la altura del extractor.....	86
5.2.6. Determinación del diámetro del agitador.....	86
5.2.7. Determinación de la altura del fluido.	86
5.2.8. Determinación de la altura del agitador.....	87
5.2.9. Determinación del ancho del agitador.	87
5.2.10. Determinación de la razón del aumento de escala.....	87
5.2.11. Determinación de la velocidad rotacional.....	87
5.2.12. Cálculo del número de Reynolds.....	88
5.2.13. Determinación de la potencia del impulsor.	88
5.2.14. Pérdida de eficiencia de potencia.....	88
5.3. Valores y parámetros del extractor a nivel Bench Scale.....	89
CAPÍTULO 6. ESTUDIO FENOMENOLÓGICO	90
6.1. Datos experimentales.	90
6.2. Consideraciones previas.....	90
6.3. Modelo "Y"	91
6.3.1. Segunda Ley de Fick.....	91
6.3.2. Consideraciones para la resolución de la segunda Ley de Fick.....	91

6.3.3. Determinación del coeficiente de difusión efectivo.	92
6.3.4. Determinación del coeficiente de transferencia de masa (k).	93
6.4. Modelo "Q"	93
6.4.1. Segunda Ley de Fick.....	93
6.4.2. Consideraciones para la resolución de la segunda Ley de Fick.....	94
6.4.3. Determinación del coeficiente de difusión efectivo.	94
6.4.4. Determinación del coeficiente de transferencia de masa (k).	95
6.5. Comparación de los modelos "Y" y "Q"	95
6.7. Comportamiento en función a la difusividad.	96
CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	97
7.1. Conclusiones.....	97
7.2. Recomendaciones.	101
BIBLIOGRAFIA.....	102
ANEXOS	106

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Llantén o Plantago Major	6
Figura 2. Estructura básica de los flavonoides	13
Figura 3. Estructuras básicas de los tipos de flavonoides	14
Figura 4. Diagrama simplificado de una extracción solido-líquido	16
Figura 5. Esquema de luz incidente y luz transmitida	21
Figura 6. Diagrama de bloques para los componentes de un espectrofotómetro	23
Figura 7. Esquema del sistema de cubeta de cromatografía en capa fina	25
Figura 8. Determinación del factor de retención R_f	26
Figura 9. Diseño factorial 2^3 y su representación geométrica	30
Figura 10. Gráfica de Daniel	32
Figura 11. Diagrama de Pareto	32
Figura 12. Residuos vs orden de corrida	33
Figura 13. Gráfica de probabilidad normal.	33
Figura 14. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante	36
Figura 15. Tanque típico de extracción con agitación	38
Figura 16. Rodetes de mezcla	39
Figura 17. Flujo de tanque con agitación	40
Figura 18. Medidas de un agitador de turbina (según Rushton)	42
Figura 19. Ubicación geográfica del Municipio de Yanacachi	49
Figura 20. Procedimiento para la recepción y muestreo del material vegetal	50
Figura 21. Procedimiento para obtener certificado del Herbario Nacional	50
Figura 22. Protocolo de medición de características funcionales	51
Figura 23. Determinación del contenido de humedad NB-074	52
Figura 24. Metodología del pretratamiento	53
Figura 25. Diagrama de causa-efecto Ishikawa	54
Figura 26. Procedimiento para determinar las variables más importantes	55

Figura 27. Procedimiento para el diseño experimental	56
Figura 28. Esquema para la siembra en placa cromatográfica.....	57
Figura 29. Determinación de Fenoles Totales.....	58
Figura 30. Determinación de flavonoides totales	59
Figura 31. Procedimiento para la evaluación de la actividad antioxidante	60
Figura 32. Plantago Major L.....	61
Figura 33. Revelado con cloruro férrico, DPPH y Luz UV.....	74
Figura 34. Placa cromatográfica sin revelador	75
Figura 35. Flavoxan como suplemento alimenticio	80
Figura 36. Dimensiones del tanque nivel laboratorio	83
Figura 37. Dimensiones del tanque nivel Bench Scale	85
Figura 38. Partícula considerada para el análisis.....	90

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad por enfermedades cardiovasculares según el género	9
Tabla 2. Porcentaje de mortalidad por enfermedades cardiovasculares según la edad	9
Tabla 3. Grupo de riesgo.....	10
Tabla 4. Características de las subclases de flavonoides.....	15
Tabla 5. Longitudes de onda aproximados y colores que absorbe.....	21
Tabla 6. Clasificación de los tipos de cromatografía	24
Tabla 7. Pautas generales para diseñar un experimento.....	29
Tabla 8. Réplicas o corridas en la familia de diseños 2^k	31
Tabla 9. Propiedades Físicas de la hoja del llantén	61
Tabla 10. Humedad de las hojas del llantén.....	62
Tabla 11. Parámetros variables	66
Tabla 12. Parámetros constantes	66
Tabla 13. Matriz de diseño.....	67
Tabla 14. Matriz ANOVA.....	69
Tabla 15. Estadísticas de ajuste	69
Tabla 16. Mejores condiciones de extracción.....	72
Tabla 17. Mejores condiciones de extracción.....	73
Tabla 18. Factores de Retención para la quercetina y ácido gálico	75
Tabla 19. Factor de retención para el extracto a las mejores condiciones.....	75
Tabla 20. Características del Flavoxan.....	80
Tabla 21. Características del producto	81
Tabla 22. Análisis de costos para el precio estimado	81
Tabla 23. Parámetros y valores del extractor nivel laboratorio	82
Tabla 24. Mejores condiciones de extracción.....	82
Tabla 25. Dimensiones del tanque extractor nivel laboratorio	84
Tabla 26. Valores para el diseño del extractor a nivel Bench Scale.....	89

INDICE DE GRAFICAS

Gráfica 1. Curva de secado: humedad en base seca vs tiempo.....	62
Gráfica 2. Rendimiento vs N° Malla del tamiz	63
Gráfica 3. Rendimiento vs disolvente por unidad de soluto	64
Gráfica 4. Rendimiento vs tiempo de maceración.....	64
Gráfica 5. Rendimiento vs Velocidad de agitación	65
Gráfica 6. Rendimiento vs Temperatura	65
Gráfica 7. Selección del modelo de diseño	66
Gráfica 8. Diagrama de Pareto	68
Gráfica 9. Gráfica de Daniel.....	68
Gráfica 10. Residuos vs Orden de corrida.....	70
Gráfica 11. Probabilidad normal vs Residuos.....	70
Gráfica 12. Superficie de respuesta - Interacción AB.....	71
Gráfica 13. Superficie de respuesta - Interacción AC	71
Gráfica 14. Superficie de respuesta - Interacción BC	72
Gráfica 15. Recta de calibrado de ácido gálico	76
Gráfica 16. Recta de calibrado de catequina.....	77
Gráfica 17. Recta de calibrado del Trolox	78
Gráfica 18. Recta de calibrado de la Quercetina.....	79
Gráfica 19. Número de potencia vs Número de Reynolds	83
Gráfica 20. Rendimiento vs tiempo de extracción (Experimental)	90
Gráfica 21. Comparación del Modelo “Y” y “Q”	95
Gráfica 22. Rendimiento vs Tiempo.....	96

INDICE DE ANEXOS

ANEXO A. Certificación del Herbario Nacional de Bolivia	106
ANEXO B. Balance de masa general	107
ANEXO C. Balance de masa a las mejores condiciones de extracción	107
ANEXO D. Punteo de pasos para la medición de características funcionales.....	108
ANEXO E. Determinación de la cantidad de humedad NB-074	109
ANEXO F. Curva de secado de las hojas del llantén	110
ANEXO G. Determinación de las variables más importantes	111
ANEXO H. Diseño experimental	112
ANEXO I. Caracterización del producto.....	113
ANEXO J. Determinación de fenoles totales.....	114
ANEXO K. Determinación de flavonoides totales.....	115
ANEXO L. Evaluación de la capacidad antioxidante.....	116
ANEXO M. Estudio fenomenológico	118
ANEXO N. Pretratamiento de la materia prima	120
ANEXO O. Determinación de las variables más importantes	121
ANEXO P. Caracterización del producto	122
ANEXO Q. Análisis de costos estimados	124

CAPÍTULO 1. INTRODUCCION

1.1. Antecedentes diagnóstico y planteamiento del problema

1.1.1. Antecedentes

El Plantago Major, comúnmente conocido como Llantén, se distribuye ampliamente por Europa, Asia Occidental, el norte de África y todo el continente americano, incluyendo las Antillas Mayores y Menores, así como las Bermudas. Durante el período colonial, los europeos introdujeron esta planta en las Américas, lo que llevó a los nativos americanos a denominarla "huella del hombre blanco", ya que la encontraban en todas las áreas donde los europeos habían estado presentes.¹

El Llantén se caracteriza por contener diversos principios activos beneficiosos para el ser humano, entre los que se encuentran flavonoides como la apigenina, luteolina, escutelarina, nepetina y hispidulina, así como taninos, mucílagos, ácido silícico y ácidos fenólicos. Estos componentes le confieren propiedades medicinales.²

Las propiedades medicinales del Llantén son aprovechadas en diferentes países alrededor del mundo. Por ejemplo, en Escandinavia se utiliza para el tratamiento y curación de heridas, en Turquía se emplea como tratamiento para úlceras y como antioxidante, y en EE.UU. se ha determinado que el extracto de Plantago Major (Llantén) tiene efectos inhibitorios y citotóxicos sobre el carcinoma de mama (cáncer de mama), lo que lo convierte en una opción terapéutica prometedora.³

Esta planta también se ha sido utilizado con diversos fines en Latinoamérica. En México, se emplea para tratar problemas cutáneos y trastornos gastrointestinales. En Guatemala, se utiliza como agente diurético. En Colombia, se utiliza para tratar inflamaciones cutáneas, dolores en los riñones y lesiones oculares, además de ser utilizado como mucílago y laxante. En Brasil, se utiliza para el tratamiento de úlceras cutáneas leishmaniales.⁴

¹ Rodríguez Y. (2014). *Conocimiento sobre el uso del plantago-major como terapia alternativa en lesiones inflamatorias bucales*. (Venezuela). Pág. 109.

² Linares N. (2013). *Plantas Medicinales*. (Madrid). Pág. 17.

³ Mehmet O. (2009). *Effect of Plantago major sap on Ehrlich ascites tumours*. (Turquía). Pág. 955.

⁴ Leslie S. (2015). *Plantago major*. (EE.UU). Pág. 5.

Además, los extractos de esta planta se han relacionado con una amplia gama de actividades biológicas beneficiosas. Se ha demostrado que poseen propiedades curativas de heridas, así como acciones antiinflamatorias, antimicrobianas, analgésicas y antioxidantes. También se ha observado que exhiben actividad astringente, anestésica, antirreumática y antiviral. Estas diversas actividades biológicas hacen que los extractos de esta planta sean valiosos en la medicina tradicional y la investigación científica.⁵

1.1.2. Diagnóstico y planteamiento del problema

En Bolivia, el llantén es una planta medicinal que se encuentra fácilmente, es económicamente accesible para la población y está disponible durante todo el año. Sin embargo, a menudo se la considera una planta silvestre de poco valor o incluso una maleza en los campos de cultivo, lo que lleva a ignorar sus diversas propiedades y los compuestos potencialmente beneficiosos para nuestro organismo.

Es importante destacar que el llantén no se cultiva activamente en Bolivia, sino que crece de forma natural en las orillas de los ríos o alrededor de los campos donde se siembran otros cultivos. Debido a esto, esta valiosa planta suele ser extraída y descartada como maleza para dar lugar a otros productos agrícolas.

En nuestra cultura, el llantén ha sido utilizado tradicionalmente para tratar heridas y picaduras de insectos, gracias a sus propiedades cicatrizantes. Además, se consume en infusiones para aliviar problemas de indigestión, úlceras estomacales, afecciones bucales y respiratorias, como la tos, bronquitis y el asma. También se ha utilizado para aliviar problemas de garganta.⁶

Debido a todas estas propiedades beneficiosas, se propone el uso del llantén como una fuente de flavonoides para su aplicación como antioxidante. En este contexto, se presenta el presente proyecto de grado titulado "Estudio de los parámetros para la extracción de flavonoides de las hojas del Llantén".

⁵ Linares N. (2013). *Plantas Medicinales*. (Madrid). Pág. 17.

⁶ Sabag V. (2010). *Formulación de un fitomedicamento con actividad gastroprotectora a partir de extractos de llantén (Plantago Major)*. (Cochabamba). Pág. 45

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

- Realizar el estudio de los parámetros para la extracción de flavonoides de las hojas del Llantén (Plantago Major L.) de la provincia Sud Yungas en el municipio de Yanacachi del Departamento de La Paz.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar la materia prima.
- Determinar las variables más importantes y las mejores condiciones de operación del proceso con ayuda del diseño experimental.
- Caracterizar el producto final.
- Diseñar un extractor a nivel BenchScale.
- Realizar un estudio fenomenológico del proceso.

1.3. Justificación

1.3.1. Técnica

El objetivo de este proyecto es realizar la extracción de los flavonoides presentes en las hojas del llantén, ya que estos compuestos fenólicos poseen una notable capacidad antioxidante que resulta beneficiosa para el organismo humano. Los flavonoides extraídos se consideran de gran utilidad en diversas industrias, como la alimentaria, donde pueden emplearse como aditivos o ingredientes funcionales, así como en la industria de colorantes y farmacéutica. El resultado final de este proyecto será la obtención de un extracto rico en flavonoides.

1.3.2. Económica

La disponibilidad y precio asequible del llantén en los comercios populares de la ciudad hacen que sea una materia prima rentable y accesible para la obtención de flavonoides. Esta característica proporciona un valor agregado significativo a esta hierba medicinal.

Además, existe la posibilidad de cultivar el llantén de manera controlada, lo que permitiría tener una producción sostenible y generar ingresos adicionales al utilizarlo como materia prima u otros fines. Esto abriría la oportunidad de aprovechar de manera más eficiente los recursos locales, fomentando así un posible enfoque económico sustentable y promoviendo la economía de los agricultores que cultiven esta planta medicinal.

1.3.3. Social

El consumo de flavonoides, con sus propiedades antioxidantes, tiene un impacto positivo en la salud de la población al reforzar el sistema inmunológico y proteger el organismo contra enfermedades cardiovasculares y los efectos degenerativos asociados al envejecimiento. En este sentido, el producto derivado de la extracción de flavonoides del llantén se enfocará principalmente en atender las necesidades de la población adulta y de edad avanzada, quienes suelen presentar con mayor frecuencia problemas de salud relacionados.

Al proporcionar acceso a productos ricos en flavonoides, se contribuye a mejorar la calidad de vida de esta población, ofreciendo alternativas naturales y beneficiosas para su bienestar. Esto promoverá una mayor conciencia sobre la importancia de una alimentación saludable y contribuirá a prevenir y tratar diversas condiciones relacionadas con el envejecimiento y las enfermedades cardiovasculares.

1.3.4. Académica

El presente proyecto se sustenta en la sólida formación académica obtenida a lo largo de los años de estudio de la carrera. Los conocimientos adquiridos en asignaturas clave como operaciones unitarias, balance de materia, diseño experimental y análisis cualitativo y cuantitativo son fundamentales para el desarrollo de este proyecto.

La aplicación de los principios de operaciones unitarias nos permite comprender y llevar a cabo de manera eficiente los procesos de extracción de flavonoides del llantén. Los conocimientos en balance de materia son esenciales para garantizar la optimización de los recursos y la correcta manipulación de las cantidades involucradas en el proceso de extracción. Asimismo, los conocimientos en diseño experimental nos permiten desarrollar un enfoque sistemático y riguroso para la obtención de resultados confiables y reproducibles.

Además, el análisis cualitativo y cuantitativo nos brinda las herramientas necesarias para evaluar la calidad y cantidad de flavonoides presentes en el extracto obtenido, lo cual es fundamental para garantizar su eficacia y aplicabilidad.

1.3.5. Ambiental

El llantén se destaca como una planta que requiere un bajo uso de agroquímicos en su cultivo, lo que contribuye significativamente a reducir la erosión del suelo, un problema ambiental cada vez más relevante. En contraste, el cultivo de hoja de coca, una actividad agrícola ampliamente

extendida, se caracteriza por su alto consumo de agroquímicos, lo que contribuye de manera significativa a la erosión del suelo y sus consecuencias negativas para el medio ambiente.

Por lo tanto, se propone el cultivo de llantén como una alternativa sostenible al cultivo de hoja de coca. Al promover la adopción del cultivo de llantén, se busca disminuir el uso de agroquímicos perjudiciales y minimizar los efectos de la erosión del suelo. Esto no solo tiene un impacto positivo en el medio ambiente, sino que también representa una oportunidad para desarrollar prácticas agrícolas más responsables y sostenibles.



CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

2.1. El Llantén o Plantago Major

El llantén (Plantago Major) es una planta silvestre perteneciente a la familia Plantaginácea, conocida científicamente como Plantago Major L. Es una planta perenne que alcanza una altura promedio de 10 a 30 centímetros, y sus hojas pueden medir hasta 15 centímetros de longitud. Además de su denominación científica, esta planta recibe diferentes nombres en distintos idiomas, como Chirajyu en quechua, Sakkarara y Chirajyuyo en aimara, y llantén común, llantén mayor, llantén de hoja ancha y lengua de carnero en español.

En el departamento de La Paz, el llantén (Plantago Major) se encuentra de forma espontánea en los valles altos, a una altitud aproximada de 3600 metros sobre el nivel del mar.⁷

Figura 1. Llantén o Plantago Major



Fuente: Álvarez R., Cáceres M., Guamán P. (1996). *Plantas y Tratamientos Kallawayas*

El llantén se caracteriza por poseer hojas solitarias y opuestas, con forma lanceolada, que se agrupan en una roseta en la base del tallo. Sus flores se presentan en espigas cilíndricas y exhiben un color amarillento. El fruto de esta planta es capsular, conteniendo entre 4 y 16 semillas de tonalidad oscura, las cuales se encuentran dentro de una cápsula alargada y elipsoide. La raíz del llantén es delgada y presenta una estructura típica, cubierta de raicillas secundarias. Sus tallos son rectangulares, con aristas y quillas, y se ramifican de forma opuesta en cada nudo.⁸

⁷ Álvarez R., Cáceres M., Guamán P. (1996). *Plantas y Tratamientos Kallawayas*. (Bolivia). Pág.46.

⁸ Girault L. (1987). *Kallawayas Curanderos Itinerantes de los Andes*. (Bolivia). Pág. 410.

A pesar de ser considerada una maleza debido a su fácil localización, el llantén mayor posee un gran potencial comercial gracias a sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas, astringentes y antihemorrágicas. Además, se le atribuye la capacidad de actuar como cicatrizante tanto en heridas internas como externas.

Es importante destacar que su poder curativo no se debe a un solo compuesto, sino a la interacción de varias sustancias y su regulación mutua. Las investigaciones realizadas sobre el *Plantago Major* han revelado la presencia de mucílagos, pectinas, flavonoides, taninos y glucósidos.⁹

2.1.1. Principios activos

El llantén contiene diversos principios activos, entre los que se encuentran los flavonoides (apigenina, luteolina, escutelarina, nepetina, hispidulina, plantagósido), taninos, mucílagos, ácido silícico, ácidos fenólicos y alcaloides.¹⁰

2.1.2. Usos y aplicaciones del llantén

Podemos destacar:

- Posee propiedades desinfectantes y favorece la cicatrización de cortes y heridas. Se atribuye esta capacidad a su contenido de taninos, los cuales tienen propiedades cicatrizantes y hemostáticas. Simplemente aplicar una hoja fresca de la planta, previamente lavada, sobre una herida puede detener el sangrado, promover la cicatrización y prevenir infecciones.
- Debido a sus propiedades antiinflamatorias y bactericidas, el llantén resulta útil para aliviar el dolor de oído.
- Actúa como antioxidante, beneficiando al organismo y ayudando a combatir el envejecimiento, enfermedades cardiovasculares y la aparición de enfermedades degenerativas.
- El jugo obtenido de la planta fresca ayuda a reducir la hinchazón causada por picaduras de insectos, al tiempo que favorece la cicatrización.¹¹

⁹ Roig, J. (2012) *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas*. (Cuba). Pág. 112-113.

¹⁰ Cruz J. (2007). *Más de 100 plantas medicinales en medicina popular*. (Canaria). Pág. 2

¹¹ Sabag V. (2010). *Formulación de un fitomedicamento con actividad gastroprotectora a partir de extractos de llantén (*Plantago major*)*. (Cochabamba). Pág. 45

También podemos destacar el uso de cada parte de la planta, como ser las hojas, los tallos y las flores que se utilizan tradicionalmente para diversos fines:

- *Las hojas del llantén* pueden ser utilizadas tanto frescas como secas en diferentes preparaciones para tratar diversas dolencias. Cuando se prepara una decocción con hojas frescas o secas, se puede utilizar como gárgaras para aliviar anginas e inflamaciones de la garganta. Además, si se hierven las hojas en agua junto con pétalos de rosa, esta mezcla se convierte en un remedio eficaz contra la diarrea.

Para tratar afecciones hepáticas, se puede preparar una decocción con hojas de llantén, hojas de verdolaga y raíz de altea. Esta combinación proporciona propiedades beneficiosas para el hígado. Por otro lado, las hojas frescas de llantén, cuando se estrujan con la mano, pueden ser utilizadas como una cataplasma cicatrizante sobre heridas, ayudando en el proceso de curación.

- *Tanto las hojas como los tallos del llantén* ofrecen alivio para irritaciones causadas por las ortigas. El jugo de estas partes de la planta puede ser utilizado en fricciones para calmar la irritación cutánea. Además, si se mezcla el jugo con un poco de aceite de oliva, puede ser introducido en los oídos para aliviar dolores de oído.
- *Cuando se combinan las hojas, flores y tallos del llantén* con hojas de verbena y janaphako, ya sea frescas o secas, se puede preparar una infusión en agua. Esta infusión es útil para contrarrestar el exceso de bilis en el organismo. Asimismo, cuando se prepara una decocción con estas partes de la planta, se puede utilizar para tratar afecciones intestinales y el abuso de bebidas, ofreciendo alivio y promoviendo la salud del sistema digestivo.¹²

2.2. Mortalidad por enfermedades cardiovasculares.

Las enfermedades cardiovasculares son una problemática extendida en la población actual. El consumo de antioxidantes, como suplementos alimenticios, se ha destacado como un método eficaz para combatirlas. En este sentido, presentamos un estudio estadístico que identifica los grupos predominantes afectados por este tipo de afecciones, teniendo en cuenta factores como género y edad.

¹² Girault L. (1987). *Kallaway Curanderos Itinerantes de los Andes*. (Bolivia). Pág. 410.

2.2.1. Según el género.

Tabla 1. Porcentaje de mortalidad por enfermedades cardiovasculares según el género

Grupo de causas	Género	
	Femenino [%]	Masculino [%]
Enfermedades hipertensivas	55,86	44,14
Enfermedades cerebrovasculares	49,49	50,51
Enfermedades cardiopulmonares	53,09	46,91
Insuficiencia cardiaca	56,75	43,25

Fuente: Figueredo F. (2018) *Perfil de mortalidad cardiovascular en las ciudades de La Paz y El Alto.*

En la Tabla 1 se aprecia que en el género femenino las enfermedades hipertensivas ocupan el primer lugar con 55,86%, seguida de las enfermedades cardiopulmonares con 53,09%, y la insuficiencia cardiaca con 56,75%.

En el sexo masculino, el grupo que predomina es el de las enfermedades cerebrovasculares con 50,51%, seguida de las enfermedades cardiopulmonares con 46,91%, y las enfermedades hipertensivas con 44,14%.¹³

2.2.2. Según el grupo de edad.

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad por enfermedades cardiovasculares según la edad

Grupos por edad	Enfermedades hipertensivas	Enfermedades cerebrovasculares	Enfermedades cardiopulmonares	Insuficiencia cardiaca
	[%]	[%]	[%]	[%]
5 – 14 años	0,0	1,0	0,0	0,0
15 – 44 años	5,5	11,1	7,4	5,0
45 – 64 años	20,0	26,3	13,5	6,8
65 – a más años	74,5	61,6	79,1	88,2

Fuente: Figueredo F. (2018) *Perfil de mortalidad cardiovascular en las ciudades de La Paz y El Alto.*

¹³ Figueredo F. (2018) *Perfil de mortalidad cardiovascular en las ciudades de La Paz y El Alto.* (Bolivia). Pág. 40.

En la Tabla 2 se muestra que, en la mortalidad por insuficiencia cardiaca, el grupo de edad de 65 años o más ocupa el primer lugar con 88,2%, seguido por el grupo de 45 a 64 años con 6,8%. En el grupo de las enfermedades cardio pulmonares, el grupo de 65 años o más ocupa el primer lugar con 79,1%, seguido del grupo de 45 a 64 años con 13,5%.

En las enfermedades hipertensivas, el grupo más afectado es el de 65 años o más con 74,4%, seguido del grupo de edad de 45 a 64 años con 20,5%.¹³

2.2.3. Principal grupo de riesgo

Los datos estadísticos de las Tablas 1 y 2 permiten identificar el grupo poblacional considerado como el principal grupo de riesgo.

Tabla 3. Grupo de riesgo

Factor de estudio	
Género	Femenino
Grupo de edad	45 – a más años

Fuente: Elaboración propia

No obstante, el factor de género no ejerce una influencia significativa, ya que existe una variación mínima en el porcentaje de afecciones cardiovasculares entre ambos sexos. Por consiguiente, se considera al género masculino como un grupo potencial de riesgo en menor medida que el género femenino. En contraste, el grupo de edad que se toma en consideración corresponde a personas mayores de 45 años.

¹³ Figueredo F. (2018) *Perfil de mortalidad cardiovascular en las ciudades de La Paz y El Alto*. (Bolivia). Pág. 45.

2.3. Metabolitos secundarios de las plantas

Los metabolitos secundarios son compuestos químicos producidos por las plantas que desempeñan funciones diversas y no esenciales para su crecimiento y supervivencia. A diferencia de los metabolitos primarios, cuya ausencia es letal para la planta, los metabolitos secundarios son considerados productos metabólicos secundarios.

Estos metabolitos desempeñan un papel fundamental en las interacciones ecológicas entre las plantas y su entorno. A menudo están involucrados en la defensa contra herbívoros, patógenos y competidores, así como en la atracción de polinizadores y dispersores de semillas.

La diversidad de los metabolitos secundarios es vasta y abarca una amplia gama de compuestos químicos con diferentes estructuras y propiedades. Algunos ejemplos comunes incluyen alcaloides, terpenoides, fenilpropanoides, saponinas y glucósidos cianogénicos.

Es importante destacar que la producción de metabolitos secundarios puede variar según las condiciones ambientales y las interacciones con otros organismos. Además, estos compuestos pueden tener aplicaciones en la medicina, la agricultura, la industria alimentaria y otros campos, debido a sus propiedades terapéuticas, nutricionales y bioactivas.

Los metabolitos secundarios de las plantas se pueden clasificar en varios grupos principales, entre ellos los terpenos, los compuestos fenólicos, los glucósidos y los alcaloides.¹⁴

2.3.1. Terpenos

Los terpenos son compuestos que se derivan del isopreno y se encuentran ampliamente en el reino vegetal. Se dividen en subclases como monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos, y son responsables de los aromas y sabores característicos de muchas plantas, así como de su actividad biológica.

2.3.2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son otro grupo importante de metabolitos secundarios, que incluyen flavonoides, taninos y ácidos fenólicos. Estos compuestos son conocidos por sus propiedades antioxidantes y tienen una amplia gama de beneficios para la salud. Además, los taninos desempeñan un papel en la defensa contra herbívoros y patógenos.

¹⁴ Ávalos A., Pérez E., Carril U. (2009) *Metabolitos secundario de plantas*. (Madrid). Pag 119-137

2.3.3. Glucósidos

Son compuestos químicos presentes en plantas, animales y algunos microorganismos, formado por la unión de un glúcido (azúcar) con otra sustancia no glucídica (aglicona) a través de un enlace glucosídico. La parte no glucídica puede ser un alcohol, un ácido orgánico, un fenol u otro compuesto orgánico.

Estos compuestos se encuentran comúnmente en las plantas y cumplen diversas funciones, como almacenamiento de energía, defensa contra herbívoros, atracción de polinizadores y protección contra patógenos. Además, algunos glucósidos tienen propiedades farmacológicas y se utilizan en la medicina tradicional o como base para la síntesis de fármacos.¹⁴

2.3.4. Alcaloides

Los alcaloides son compuestos nitrogenados con una amplia gama de propiedades biológicas y se encuentran en muchas plantas medicinales. Algunos ejemplos conocidos son la morfina, la quinina, la cafeína y la nicotina. Estos compuestos suelen tener efectos farmacológicos y se utilizan en medicina y farmacología.¹⁴

2.4. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos polifenólicos que se encuentran de manera natural en una variedad de plantas, frutas y verduras. Forman parte de la amplia categoría de fitoquímicos y son responsables de proporcionar color a muchas frutas, flores y hojas. Los flavonoides tienen diversos beneficios para la salud debido a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias.

Estos compuestos se han asociado con la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares, la mejora de la salud cerebral, la protección contra ciertos tipos de cáncer y el fortalecimiento del sistema inmunológico. Además, pueden contribuir a la salud general del cuerpo al ayudar a combatir el estrés oxidativo y la inflamación.

Los alimentos ricos en flavonoides incluyen frutas como las bayas (arándanos, fresas, frambuesas), cítricos, manzanas, vegetales como cebollas, brócoli, espinacas, así como también en el té, el vino tinto y el chocolate negro.¹⁵

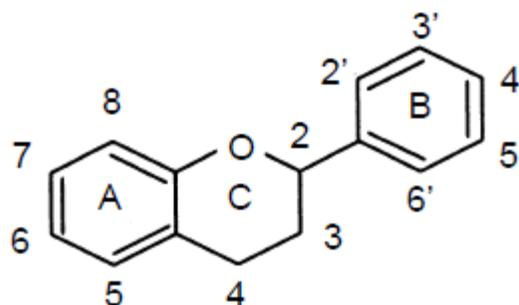
¹⁴ Ávalos A., Pérez E., Carril U. (2009) *Metabolitos secundario de plantas*. (Madrid). Pag 119-137

¹⁵ Martínez S., González G., Culebras J. (2012) *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes*. (España). Pág. 271.

2.4.1. Estructura química

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común denominado difenil-piranos ($C_6-C_3-C_6$). Este esqueleto consiste en dos anillos fenilo (A y B) unidos por un anillo de pirano (anillo C) heterocíclico. Los átomos de carbono en los anillos C y A están numerados del 2 al 8, mientras que los del anillo B están numerados del 2' al 6'.

Figura 2. Estructura básica de los flavonoides



Fuente: Martínez S., Gonzáles G., Culebras J. (2012) *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes*

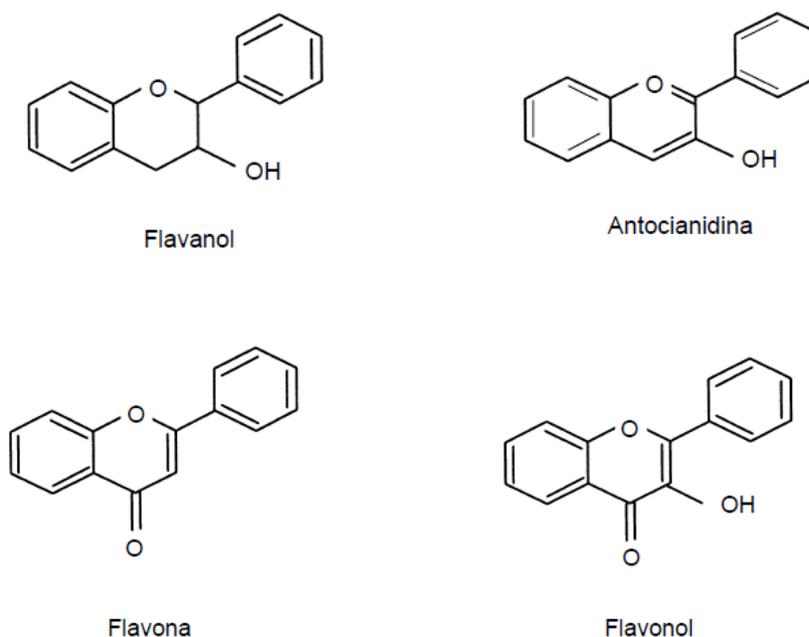
La actividad antioxidante de los flavonoides depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de su estructura química.

La estructura básica de los flavonoides permite una amplia variedad de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C. En función de sus características estructurales, se pueden clasificar en diferentes grupos:

- 1) Flavanoles: como la catequina, que presenta un grupo hidroxilo (-OH) en la posición 3 del anillo C.
- 2) Flavonoles: representados por la quercetina, que posee un grupo carbonilo (-C=O) en la posición 4 y un grupo hidroxilo (-OH) en la posición 3 del anillo C.
- 3) Flavonas: como la diosmetina, que tienen un grupo carbonilo (-C=O) en la posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo (-OH) en la posición 3.
- 4) Antocianidinas: estas sustancias tienen el grupo hidroxilo (-OH) unido a la posición 3 y también presentan un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.¹⁵

¹⁵ Martínez S., Gonzáles G., Culebras J. (2012) *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes*. (España). Pág. 273.

Figura 3. Estructuras básicas de los tipos de flavonoides



Fuente: Martínez S., González G., Culebras J. (2012) *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes*

Cada grupo de flavonoides tiene propiedades y efectos específicos en el organismo, y su presencia en alimentos y plantas confiere beneficios para la salud humana. Estas moléculas tienen una amplia distribución en la naturaleza y se encuentran en numerosos alimentos, como frutas, verduras, hierbas y bebidas como el té y el vino. Su estructura química única y su capacidad antioxidante los convierten en compuestos bioactivos importantes que contribuyen a la protección contra el estrés oxidativo y a la promoción de la salud.

2.4.2. Fuentes de flavonoides

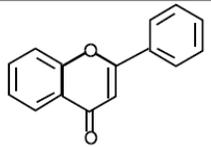
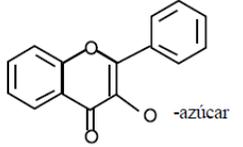
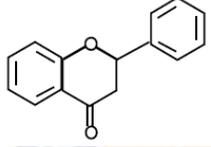
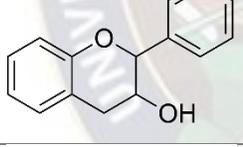
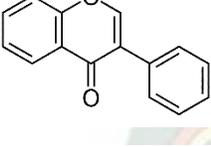
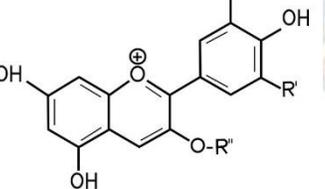
Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, presentes en frutas, verduras, semillas y flores, así como en bebidas como cerveza, vino, té verde, té negro y alimentos derivados de la soja. Estos compuestos forman parte de la dieta humana de manera habitual y también pueden obtenerse en forma de suplementos nutricionales, en combinación con vitaminas y minerales.

En las plantas, los flavonoides se encuentran principalmente en las hojas y en la superficie exterior de la planta, mientras que se encuentran en menor cantidad en otras partes de la planta por encima de la superficie del suelo. Estos compuestos desempeñan diversas

funciones tanto en las plantas como en los organismos que los consumen, brindando beneficios para la salud y protección contra el estrés oxidativo.¹⁵

A continuación, se muestran diferentes clases de flavonoides y sus fuentes de origen.

Tabla 4. Características de las subclases de flavonoides

Subclase	Estructura	Compuestos	Fuente
Flavona		Sinesnsetina, apigenina, diosmina y luteolina	Hierbas, apio, pimentón, uva, naranja, limón
Flavonol		Quercetina, myrecetina y kempferol	Cebolla, vino, tomate, naranja, manzana, te, frutos rojos
Flavanona		Naringenina, hesperidina y isoxanthohumol	Miel, cítricos, tomate, lúpulo y cerveza
Flavanol		Catequina, epicatequina y galocatequina	Vino, chocolate, cocoa, té, uva, manzana y pera
Isoflavona		Genisteina, diadzeina y gliceteina	Soya y leguminosas
Antocianina		Cianidina, pelargonidina, delphinidina y peonidina	Frutos rojos, manzana, pera, uva y naranja

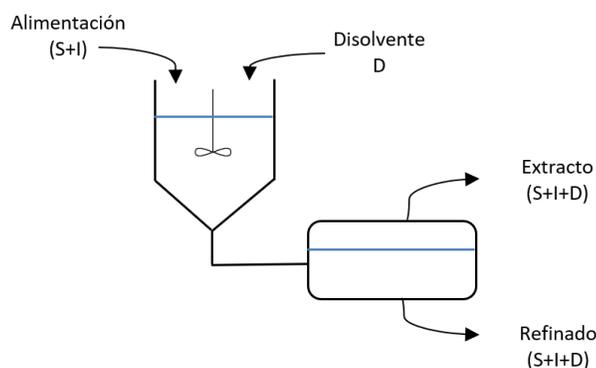
Fuente: Ochoa C., Ayala A. (2014) *Los flavonoides: Apuntes generales y aplicación en la industria de alimentos*

¹⁵ Martínez S., González G., Culebras J. (2012) *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes*. (España). Pág. 273.

2.5. Extracción sólido-líquido

La extracción es una operación de separación por transferencia de materia en la que se ponen en contacto dos fases inmiscibles con objeto de transferir uno o varios componentes de una fase a otra. Si la mezcla original está en fase sólida y se pretende separar de ella un componente (solute) de otro (inerte) mediante su contacto con una fase líquida (disolvente) que lo disuelve selectivamente, se habla de una extracción sólido-líquido o lixiviación.

Figura 4. Diagrama simplificado de una extracción sólido-líquido



Fuente: Elaboración propia

Para llevar a cabo la extracción será necesario, en primer lugar, poner en contacto íntimo las dos fases hasta conseguir la transferencia del soluto de la mezcla original al disolvente; una vez finalizada esta etapa de transporte de materia, se procede a la separación de las fases, obteniéndose una mezcla de disolvente y soluto llamada “extracto” y una mezcla de la que se ha extraído el soluto, denominada “refinado”, que estará formada por la fase sólida inerte con una parte de la disolución retenida.

Entre los factores que influyen en el proceso de extracción sólido-líquido están:

- Tamaño de partícula.
- Relación soluto-disolvente.
- Tiempo de extracción.
- Agitación.
- Temperatura.

Por ejemplo, un aumento en la temperatura genera un aumento en la solubilidad incrementando el rendimiento, pero un aumento desmesurado puede solubilizar productos indeseados o degradar el producto deseado.¹⁶

¹⁶ Treybal R. (1991). *Operaciones de transferencia de masa*. (Sidney). McGrawHill. Pág. 792-794

2.5.1. Selección del solvente

Los compuestos orgánicos solubles en solventes orgánicos pueden extraerse de acuerdo a su solubilidad con mezclas acuosas con una polaridad resultante similar. La elección del solvente de extracción depende de la solubilidad del compuesto a extraer, de la volatilidad, inflamabilidad y toxicidad de los posibles solventes a emplear.¹⁷

El disolvente es la clave para una separación exitosa mediante extracción líquido-líquido. Los diversos criterios para su selección son:

- a. **Coefficiente de distribución:** Esta es la relación (en equilibrio) de la concentración de soluto en las fases de extracto y refinado. Da una medida de la afinidad del soluto por las dos fases. Un coeficiente de distribución distinto de la unidad implica que el soluto debe tener diferente afinidad en las dos fases. Si sólo interviene un soluto, sólo es necesario considerar el coeficiente de distribución, y es deseable que sea lo más grande posible.
- b. **Selectividad:** Si hay más de un soluto (digamos dos solutos A y B), entonces se debe considerar la selectividad del solvente para el soluto A en comparación con B. La selectividad entre los 2 solutos A y B se define como la relación del coeficiente de distribución de A al coeficiente de distribución de B. Para toda operación de extracción útil, la selectividad debe exceder la unidad. Si la selectividad es la unidad, no es posible ninguna separación.
- c. **Insolubilidad del disolvente:** El disolvente debe tener una baja solubilidad en la solución de alimentación; de lo contrario, la separación no será "limpia". Por ejemplo, si hay una solubilidad significativa del disolvente en la corriente de refinado, se requiere un paso de separación adicional para recuperar el disolvente.
- d. **Recuperabilidad:** Siempre es necesario recuperar el disolvente para su reutilización, y esto normalmente debe hacerse por otros medios, por ejemplo. destilación. Si se va a utilizar la destilación, el disolvente no debe formar azeótropo con el soluto extraído y las mezclas deben mostrar una alta volatilidad relativa. El disolvente también debe ser térmicamente estable a la temperatura de destilación.
- e. **Densidad:** Una gran diferencia de densidad entre las fases de extracto y refinado permite altas capacidades en los equipos. Esto es especialmente importante para los dispositivos de extracción que utilizan la gravedad para la separación de fases.¹⁸

¹⁷ Galagovsky L. (2002). *Química orgánica. Fundamentos teórico practicos para el laboratorio.* (Argentina). Pág. 108.

¹⁸ Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis.* Springer Science & Business Media. (Reino Unido). 60

- f. **Reactividad química:** El disolvente debe ser químicamente estable e inerte hacia los demás componentes del sistema y hacia los materiales comunes de construcción.
- g. **Viscosidad, presión de vapor, punto de congelación:** Estos deben ser bajos para facilitar el manejo y el almacenamiento; por ejemplo, una viscosidad alta genera dificultades con el bombeo, la dispersión y la tasa de transferencia de masa.
- h. **Disponibilidad y costo:** Es posible que no haya un disolvente excelente disponible comercialmente. O puede representar un gran costo inicial para cargar el sistema y un gran gasto continuo para reemplazar las inevitables pérdidas operativas.
- i. **Otros criterios:** La toxicidad y la inflamabilidad del solvente son consideraciones importantes de salud y seguridad ocupacional. La estabilidad del disolvente (es decir, resistencia a la descomposición), particularmente en las etapas de recuperación, es importante, especialmente si los productos de la descomposición pueden contaminar los productos de la separación principal.¹⁸

Los flavonoides son compuestos polares que tienden a ser solubles en solventes polares, como el metanol, el etanol o mezclas de solventes polares y no polares. Se pueden extraer con etanol al 70% y un restante de agua.¹⁸ Para extraer fenoles y flavonoides de plantas u otros materiales vegetales, se suelen utilizar solventes orgánicos:

- a) **Etanol:** Es uno de los solventes más utilizados para la extracción de compuestos fenólicos y flavonoides debido a su capacidad para disolver una amplia gama de compuestos orgánicos presentes en las plantas.
- b) **Metanol:** Al igual que el etanol, el metanol es efectivo para extraer fenoles y flavonoides de diversas fuentes vegetales. Sin embargo, debe manejarse con precaución debido a su toxicidad.
- c) **Acetona:** La acetona es otro solvente comúnmente utilizado en la extracción de compuestos fenólicos y flavonoides. Es útil debido a su capacidad para disolver una amplia variedad de compuestos orgánicos.
- d) **Cloroformo:** Aunque menos común debido a preocupaciones sobre su toxicidad y efectos ambientales, el cloroformo puede ser efectivo en la extracción de fenoles y flavonoides.¹⁹

¹⁸ Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Springer Science & Business Media. (Reino Unido). 60

¹⁹ Villamil J. (2021). *Extracción de compuestos fenólicos a partir del residuo agroindustrial de frutilla*. (Argentina). Pág. 27.

Es importante tener en cuenta que la elección del solvente dependerá de varios factores, como la naturaleza de los compuestos objetivo, la disponibilidad de los solventes, las consideraciones de seguridad y ambientales. Además, es crucial utilizar técnicas de extracción adecuadas y seguir las normativas de seguridad correspondientes al manipular estos solventes.

El solvente a utilizar para la extracción de flavonoides es etanol al 70% esto debido a que simula la misma polaridad del metanol, el cual no es viable para su uso industrialmente por su alto grado de toxicidad y disponibilidad.

2.5.2. Factores que influyen en el proceso de extracción

a) Tamaño de partícula

Los sólidos de tamaño pequeño tienen un área interfacial sólido-líquido más grande, la distancia de difusión del soluto en el interior del sólido es más pequeña por lo que es más alta la cantidad de masa transferida, dependiendo de la cantidad de masa utilizada en relación al volumen del solvente. Por lo tanto, mayor es la velocidad de transferencia. Sin embargo, tamaños excesivamente pequeños pueden hacer que las partículas se apelmacen dificultando la extracción.²⁰

b) Relación soluto-disolvente

Este factor evita la saturación del disolvente y la disminución de concentraciones, una saturación no permite mayor solubilidad y una baja concentración disminuye la difusión del soluto hasta el disolvente. La cantidad del soluto que puede disolverse estará limitada por la saturación de la disolución, que será función de la temperatura y presión.²¹

c) Tiempo de maceración

El tiempo de maceración se determina experimentalmente en función del solvente y del equipo de extracción a utilizar. Esta variable es dependiente de todos los parámetros antes mencionados. El tiempo de extracción debe ser suficiente para agotar completamente el material vegetal, aunque se debe prestar atención en que no sea excesivo. Prolongar el tiempo de extracción, no influye en el proceso negativamente, pero si influye en los costos del consumo de energía y de mano de obra no necesaria, lo que podría propiciar un encarecimiento del proceso extractivo.²¹

²⁰ Ocon, J. - Tojo, G. (1980) *Problemas de ingeniería química*. (Madrid). Pág. 208.

²¹ Zegarrundo V. (2022) *Estudio para la extracción de acetogeninas a partir de la guanábana*. (Bolivia). Pág. 48.

d) Agitación

Parte fundamental en el proceso extractivo, ya que es función del equilibrio de saturación del solvente. El movimiento del líquido, con ayuda de agitadores magnéticos, hace que se produzca una recirculación del solvente, con lo cual el equilibrio se desplaza en el sentido de la saturación del solvente, esto conlleva al aumento de la eficiencia del proceso extractivo.²¹

e) Temperatura

El aumento de temperatura facilita la disolución de sustancias extraíbles, de la misma manera que la agitación, la temperatura contribuye al desplazamiento de la constante de equilibrio de saturación, y por consiguiente aumenta la eficiencia del proceso. A pesar de esta contribución muchos compuestos o principios activos tienden a ser destruidos total o parcialmente por temperaturas elevadas. El aumento de temperatura también puede incidir en la disminución o pérdida de las sustancias volátiles, como los aceites esenciales.²¹

2.6. Espectrofotometría UV

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma.

La región UV se define como el rango de longitudes de onda de 195 a 400 nm. Es una región de energía muy alta. Los compuestos con dobles enlaces aislados, triples enlaces, enlaces peptídicos, sistemas aromáticos, grupos carbonilos y otros heteroátomos tienen su máxima absorbancia en la región UV, por lo que ésta es muy importante para la determinación cualitativa y cuantitativa de compuestos orgánicos. La fuente de radiación ultravioleta es una lámpara de deuterio.

En la región visible apreciamos el color visible de una solución y que corresponde a las longitudes de onda de luz que transmite, no que absorbe. El color que absorbe es el complementario del color que transmite, como se ve en la Tabla 5.²²

²² Diaz N., Barcena A. (2017) *Espectrometría: espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. (Córdoba). Pág. 3.

Por tanto, para realizar mediciones de absorción es necesario utilizar la longitud de onda en la que absorbe luz la solución coloreada.

La fuente de radiación visible suele ser una lámpara de tungsteno y no proporciona suficiente energía por debajo de 320 nm.

Tabla 5. Longitudes de onda aproximados y colores que absorbe

Longitud de onda aproximada [nm]	Color absorbido	Color observado (complementario)
390-435	Violeta	Amarillo verdoso
435-490	Azul	Amarillo
490-580	Verde	Rojo
580-595	Amarillo	Azul
595-650	Naranja	Azul verdoso
650-780	Rojo	Verde azulado

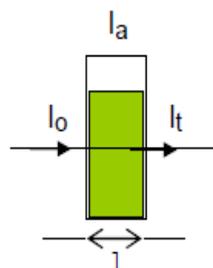
Fuente: Diaz N., Barcena A. (2017) *Espectrometría: espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*

2.6.1. Transmitancia y absorbancia

Cuando un rayo de luz de una determinada longitud de onda de intensidad I_0 incide perpendicularmente sobre una disolución de un compuesto químico que absorbe luz o cromóforo, el compuesto absorberá una parte de la radiación incidente (I_a) y dejará pasar el resto (I_t), de forma que se cumple:

$$I_0 = I_a + I_t \dots \dots (2.1)$$

Figura 5. Esquema de luz incidente y luz transmitida



Fuente: Diaz N., Barcena A. (2017) *Espectrometría: espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*

La transmitancia (T) de una sustancia en solución es la relación entre la cantidad de luz transmitida que llega al detector una vez que ha atravesado la muestra, I_t , y la cantidad de luz que incidió sobre ella, I_o , y se representa normalmente en tanto por ciento:

$$\%T = \frac{I_t}{I_o} * 100 \dots \dots (2.2)$$

La transmitancia nos da una medida física de la relación de intensidad incidente y transmitida al pasar por la muestra. La relación entre %T y la concentración no es lineal, pero asume una relación logarítmica inversa.

La absorbancia (A) es un concepto más relacionado con la muestra puesto que nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo de $1/T$, en consecuencia:

$$A = \log \frac{1}{T} = -\log T = \log \frac{I_o}{I_t} \dots \dots (2.3)$$

Cuando la intensidad incidente y transmitida son iguales ($I_o = I_t$), la transmitancia es del 100% e indica que la muestra no absorbe a una determinada longitud de onda, y entonces la absorbancia es cero.

La cantidad de luz absorbida dependerá de la distancia que atraviesa la luz a través de la solución del cromóforo y de la concentración de éste.²³

2.6.2. Ley de Lambert-Beer

Esta ley expresa la relación entre absorbancia de luz monocromática (de longitud de onda fija) y concentración de un cromóforo en solución:

$$A = \log \frac{I_t}{I_o} = \epsilon c b \dots \dots (2.4)$$

La absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración, es decir a mayor número de moléculas mayor interacción de la luz con ellas; también depende de la distancia que recorre la luz (b) por la solución es decir a igual concentración, cuanto mayor distancia recorre la luz por la muestra más moléculas se encontrará y, por último, depende de ϵ , una constante de proporcionalidad, denominada coeficiente de extinción o absortividad molar que es específica de cada cromóforo.²³

²³ Skoog D., West D., Holler J. (2005) *Fundamentos de química analítica*. (Australia) Pág. 727.

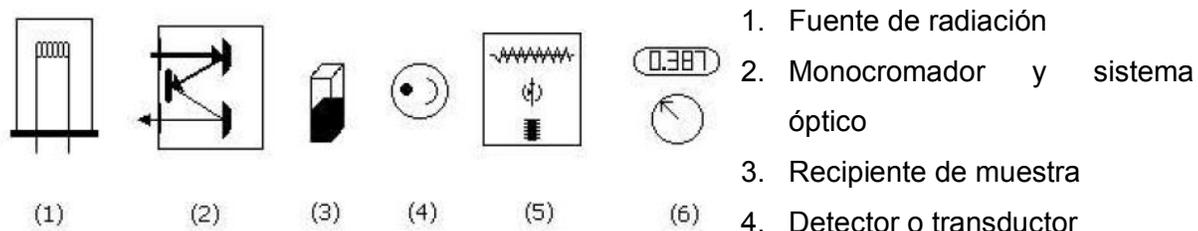
2.6.3. Instrumentación

Los instrumentos utilizados para el estudio de la absorción o emisión de la radiación electromagnética como función de la longitud de onda, son llamados Espectrómetros o más frecuentemente Espectrofotómetros. Los principios ópticos y electrónica empleados en los instrumentos son los mismos para espectroscopía UV, Visible o IR, sin embargo, hay ligeras diferencias en componentes específicos del instrumento para cada región del espectro electromagnético. Los componentes esenciales de un espectrofotómetro son:

1. Una fuente estable de energía radiante
2. Un sistema de lentes, espejos y aberturas, que definan, colimen (hagan paralelo) y enfoquen el haz de radiación y un monocromador que separe la radiación de bandas estrechas de longitud de onda.
3. Un componente transparente a la radiación que contenga la muestra
4. Un detector de radiación o transductor que recibe la señal de radiación electromagnética y la convierte en una señal eléctrica de magnitud proporcional a la intensidad de la radiación recibida.
5. Un sistema amplificador que produzca o genere una señal eléctrica mucho mayor a la señal recibida
6. Un sistema de lectura tal como: Una escala de aguja, un registrador, un sistema de dígitos o una computadora, que transforme la señal eléctrica en una señal que el operador pueda interpretar.²²

El diagrama de estos componentes es el siguiente:

Figura 6. Diagrama de bloques para los componentes de un espectrofotómetro



Fuente: Diaz N., Barcena A. (2017) *Espectrometría: espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*

²² Diaz N., Barcena A. (2017) *Espectrometría: espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas*. (Córdoba). Pág. 5.

2.7. Cromatografía

La cromatografía puede definirse como una técnica que separa una mezcla de solutos basada en la velocidad de desplazamientos diferencial de los mismos que se establece al ser arrastrados por una fase móvil (líquida o gaseosa) a través de un lecho cromatográfico que contiene la fase estacionaria, la cual puede ser líquida o sólida.

Hay que indicar que el nombre de la técnica es incorrecto, ya que no consiste en escribir en colores. Este nombre se debe a la primera experiencia cromatográfica realizada que consistió en separar pigmentos coloreados de plantas.²⁴

Por medio de la combinación entre las dos fases se puede llevar a cabo una primera clasificación de las cromatografías de separación tal y como se muestra en la tabla:

Tabla 6. Clasificación de los tipos de cromatografía

Tipo de Cromatografía	Fase estacionaria	Fase móvil
Cromatografía Gas-Sólido	Sólido	Gas
Cromatografía Gas-Líquido	Líquido	
Cromatografía Líquido-Sólido	Sólido	Líquido
Cromatografía Líquido- Líquido	Líquido	
Cromatografía de Fluido Supercrítico	Sólido	Fluido supercrítico

Fuente: Valcarcel C., Gomez A. (2003) *Técnicas analíticas de separación*.

2.7.1. Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina es un procedimiento rápido y sencillo para separar mezclas de sustancias, identificar, caracterizar o determinar componentes individuales. La fase estacionaria consiste en una capa delgada de un adsorbente (como por ejemplo gel de sílice, alúmina o celulosa) depositada sobre un soporte plano como una placa de vidrio o una lámina de aluminio o de plástico.

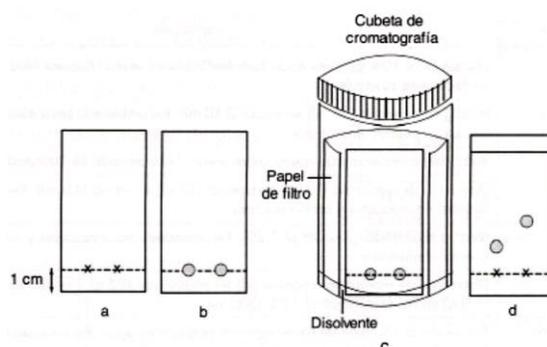
La cromatografía por capa fina es una técnica analítica que tiene como objetivo el análisis de una mezcla de componentes. El proceso es similar a la cromatografía de papel con la ventaja de que se desarrolla más rápidamente, proporciona mejores separaciones y se puede elegir entre diferentes adsorbentes.²⁴

²⁴ Valcarcel C., Gomez A. (2003) *Técnicas analíticas de separación*. (España). Pág. 333.

Una placa de CCF es una lámina de vidrio, metal o plástico recubierta con una capa delgada de un sólido adsorbente (gel de sílice o alúmina). Se deposita una pequeña cantidad de la muestra problema en disolución en un punto en la parte inferior de la placa. Entonces la placa se introduce en una cubeta cromatografía, de forma que solo la parte inferior de la placa queda sumergida en el líquido. Este líquido o eluyente es la fase móvil y asciende por la placa de CCF por capilaridad.

A medida que el eluyente pasa por el lugar donde está la mancha de la mezcla problema se establece un equilibrio entre las moléculas de cada uno de los componentes en la mezcla que son adsorbidas y las que se encuentran en disolución. En principio, los componentes se diferenciarán en solubilidad y en la fuerza de su adsorción, de forma que unos componentes se desplazarán más que otros. Normalmente se adiciona un colorante fluorescente al adsorbente, de forma que la placa sea fluorescente en todas las partes excepto donde haya una mancha correspondiente a un compuesto orgánico.²⁴

Figura 7. Esquema del sistema de cubeta de cromatografía en capa fina



Fuente: Lakna. (2018) *How to calculate Rf values for TLC*

2.7.2. Determinación del Rf

La retención se puede explicar en base a la competencia que se establece entre el soluto a separar y la fase móvil por adsorberse a los centros activos polares de la fase estacionaria. Así, las moléculas de soluto se encuentran adsorbidas en la fase estacionaria y a medida que se produce la elución van siendo desplazadas por la fase móvil. La retención y la selectividad en la separación dependen de los valores respectivos de las constantes de los diferentes equilibrios químicos que tienen lugar, que están en función de:

²⁴ Valcarcel C., Gomez A. (2003) *Técnicas analíticas de separación*. (España). Pág. 333.

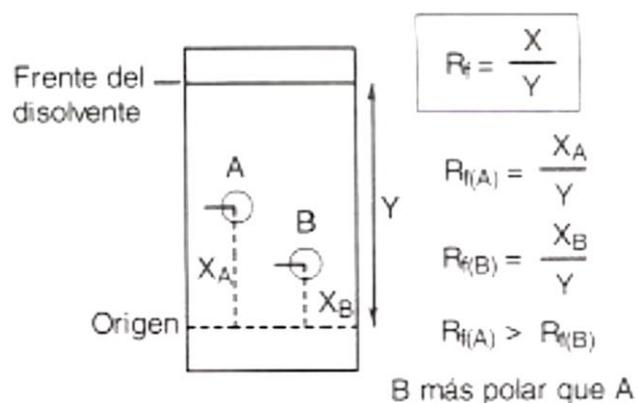
- La polaridad del compuesto, determinada por el número y naturaleza de los grupos funcionales presentes. Los solutos más polares quedarán más retenidos puesto que se adsorben más firmemente a los centros activos de la fase estacionaria, mientras que los no polares se eluirán con mayor facilidad.
- La naturaleza del disolvente. Así, para un mismo compuesto, un aumento en la polaridad del disolvente facilita su desplazamiento en la placa.

La relación entre las distancias recorridas por el soluto y por el eluyente desde el origen de la placa se conoce como R_f , y tiene un valor constante para cada compuesto en unas condiciones cromatográficas determinadas (adsorbente, disolvente, tamaño de la cubeta, temperatura, etc.). Debido a que es prácticamente imposible reproducir exactamente las condiciones experimentales, la comparación de una muestra con otra debe realizarse eluyendo ambas en la misma placa.²⁵

Para calcular el R_f se aplica la siguiente expresión:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el compuesto } X}{\text{distancia recorrida por el eluyente } Y} = \frac{X}{Y} \dots \dots (2.5)$$

Figura 8. Determinación del factor de retención R_f



Fuente: Lakna. (2018) *How to calculate Rf values for TLC*

La distancia recorrida por el compuesto se mide desde el centro de la mancha. Si ésta es excesivamente grande se obtendrá un valor erróneo del R_f .

²⁵ Zegarra F., (2002) *Manual: Fundamentos de la cromatografía en capa fina* (México) Pág. 6.

Se recomienda elegir un eluyente en el que los componentes de la mezcla presenten un R_f medio a 0,3 – 0,5. Para compuestos poco polares, se debe utilizar un disolvente apolar como el hexano. En el caso de compuestos con polaridad media, se aconseja utilizar mezclas hexano/acetato de etilo en distintas proporciones. Los productos más polares, requieren disolventes más polares como mezclas de diclorometano/metanol en distintas proporciones.²⁵

2.7.3. Revelado de las placas

La mayor parte de las placas de cromatografía llevan un indicador fluorescente que permite la visualización de los compuestos activos a la luz ultravioleta (254 nm). El indicador absorbe la luz UV y emite luz visible. La presencia de un compuesto activo en el UV evita que el indicador absorba la luz en la zona en la que se encuentra el producto, y el resultado es la visualización de una mancha en la placa que indica la presencia de un compuesto.

En el caso de compuestos que no absorben luz UV, la visualización (o revelado) del cromatograma requiere utilizar un agente revelador. Este tiene que reaccionar con los productos adsorbidos proporcionando compuestos coloreados.²⁵

2.8. Diseño experimental

El diseño estadístico de experimentos se refiere a la planificación de un experimento de manera que se obtengan datos adecuados para su análisis con métodos estadísticos, lo que permitirá llegar a conclusiones válidas y objetivas. La utilización de enfoques estadísticos en el diseño experimental es fundamental para obtener conclusiones significativas a partir de los datos. Cuando se presentan datos que están sujetos a errores experimentales, el análisis estadístico se convierte en el único enfoque objetivo.

Por lo tanto, cualquier problema experimental implica dos aspectos esenciales: el diseño del experimento y el análisis estadístico de los datos. Estos dos aspectos están estrechamente relacionados, ya que el método de análisis depende directamente del diseño utilizado.

Los tres principios básicos del diseño experimental son la realización de réplicas, la aleatorización y la formación de bloques.

La aleatorización es el fundamento principal para el uso de métodos estadísticos en el diseño experimental. Por aleatorización se entiende que tanto la asignación del material experimental como el orden en que se realizarán las corridas o ensayos individuales del experimento se determinan al azar.

²⁵ Zegarra F. (2002) *Manual: Fundamentos de la cromatografía en capa fina* (México) Pág. 6.

Uno de los requisitos de los métodos estadísticos es que las observaciones (o errores) sean variables aleatorias con distribuciones independientes. La aleatorización suele cumplir este supuesto. Además, la aleatorización adecuada del experimento ayuda a mitigar los efectos de factores externos que puedan estar presentes.

En ocasiones, los investigadores se encuentran con situaciones en las que la aleatorización de algún aspecto del experimento resulta complicada. Por ejemplo, en un proceso químico, la temperatura puede ser una variable difícil de modificar, lo que dificulta la aleatorización completa de este factor.

La formación de bloques es una técnica de diseño que se utiliza para mejorar la precisión de las comparaciones entre los factores de interés. A menudo, la formación de bloques se emplea para reducir o eliminar la variabilidad introducida por factores perturbadores, es decir, aquellos factores que pueden influir en la respuesta experimental pero que no son de interés específico.²⁶

2.8.1. Aplicación

Los métodos del diseño experimental han encontrado amplia aplicación en diversas disciplinas. De hecho, la experimentación puede considerarse parte del proceso científico y uno de los medios para conocer el funcionamiento de sistemas y procesos. En general, el aprendizaje ocurre a través de una serie de actividades en las que se hacen conjeturas acerca de un proceso, se llevan a cabo experimentos para generar datos del proceso y después se usa la información del experimento para establecer nuevas conjeturas, lo que lleva a nuevos experimentos, y así sucesivamente.

El diseño experimental es una herramienta de importancia fundamental en el ámbito de la ingeniería para mejorar el desempeño de un proceso de manufactura. También tiene múltiples aplicaciones en el desarrollo de procesos nuevos. La aplicación de las técnicas del diseño experimental en las fases iniciales del desarrollo de un proceso puede redundar en:

- a. Mejoras en el rendimiento del proceso.
- b. Variabilidad reducida y conformidad más cercana con los requerimientos nominales o proyectados.
- c. Reducción del tiempo de desarrollo.
- d. Reducción de los costos globales.²⁶

²⁶ Montgomery D. (2004). *Análisis y diseño de experimentos*. (México). Limusa Wiley. Pág. 170.

Los métodos del diseño experimental desempeñan también un papel importante en las actividades del diseño de ingeniería, donde se desarrollan productos nuevos y se hacen mejoramientos en los productos existentes. Entre las aplicaciones del diseño experimental en el diseño de ingeniería se encuentran:

- a. La evaluación y comparación de configuraciones de diseño básicos.
- b. La evaluación de materiales alternativos.
- c. La selección de los parámetros del diseño para que el producto tenga un buen funcionamiento en una amplia variedad de condiciones de campo, es decir, para que el producto sea robusto.
- d. La determinación de los parámetros clave del diseño del producto que afectan el desempeño del mismo.

El uso del diseño experimental en estas áreas puede redundar en productos cuya fabricación sea más sencilla, en productos que tengan un desempeño y confiabilidad de campo mejorado, en costos de producción más bajos y en tiempos más cortos para el diseño y desarrollo del producto.²⁶

2.8.2. Procedimiento

Para aplicar el enfoque estadístico en el diseño y análisis de un experimento, es fundamental que todos los participantes tengan una comprensión clara desde el inicio sobre el objetivo del estudio, el método de recolección de datos y una comprensión cualitativa de cómo se analizarán dichos datos. A continuación, se presenta una tabla esquemática que detalla algunos puntos clave.

Tabla 7. Pautas generales para diseñar un experimento

1. Identificación y exposición del problema	
2. Elección de los factores los niveles y los rangos	
3. Selección de la variable de respuesta	
4. Elección del diseño experimental	Planeación previa al experimento
5. Realización del experimento	
6. Análisis estadístico de los datos	
7. Conclusiones y recomendaciones	

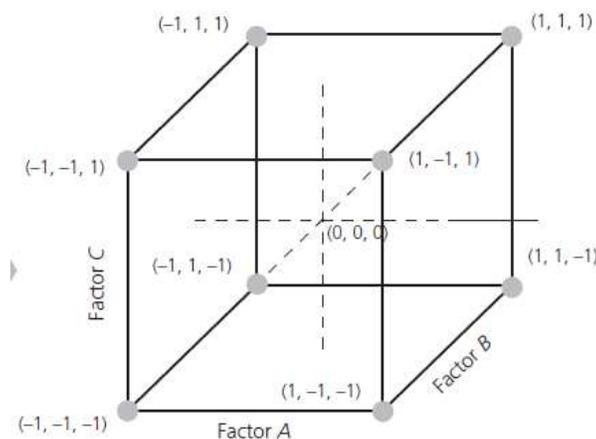
Fuente: Montgomery D. (2004). *Análisis y diseño de experimentos*

²⁶ Montgomery D. (2004). *Análisis y diseño de experimentos*. (México). Limusa Wiley. Pág. 170.

2.8.3. Diseño factorial 2^3

Con el diseño factorial 2^3 se estudia el efecto de tres factores en dos niveles cada uno. Consta de $2^3=2*2*2=8$ tratamientos diferentes, los cuales se identifican con notaciones similares a las del diseño 2^2 . Los tratamientos del diseño 2^3 y su representación geométrica se muestra en la siguiente figura:

Figura 9. Diseño factorial 2^3 y su representación geométrica



Fuente: Gutiérrez H., De la Vara R. *Análisis y diseño de experimentos*

La región experimental ahora es un cubo regular centrado en el origen (0,0,0), cuyos vértices son los ocho tratamientos.

Con este diseño se pueden estudiar $2^3-1=7$ efectos: tres efectos principales A, B, C; tres interacciones dobles AB, AC, BC, y una interacción triple ABC. Por lo general, el interés se enfoca en estudiar los efectos principales y las interacciones dobles. Sin embargo, aunque de antemano se puede considerar la interacción triple ABC en el diseño 2^3 como un efecto ignorable, es recomendable asegurarse de que su valor se mantiene pequeño además de que, al incluirla en el análisis, puede ayudar a mejorar la perspectiva de algunas gráficas.²⁷

2.8.4. Número de replicas en los diseños factoriales 2^k

Al aumentar el número de factores en el diseño 2^k crece rápidamente el número de tratamientos y, por lo tanto, el número de corridas experimentales. Si se realizan dos repeticiones en cada punto, se tienen que hacer $2*2^k$ corridas experimentales, lo cual consume muchos recursos para cinco o más factores cuando $k \geq 5$, ya que serían 64 réplicas o más corridas.²⁷

²⁷ Gutiérrez Pulido, H., De la Vara R. (2008). *Análisis y Diseño de Experimentos* (México) Pág. 163.

El diseño 2^4 es quizá, el factorial más grande que todavía se puede correr con dos replicas, lo que implica hacer 32 corridas, pero incluso con una réplica (16 pruebas) de este diseño muchas veces es suficiente para estudiar los 10 efectos que usualmente son de mayor interés. Por lo que se recomienda una cierta cantidad de replicas según la siguiente tabla y dependiendo del diseño a realizarse:²⁷

Tabla 8. Réplicas o corridas en la familia de diseños 2^k

Diseño	Réplicas recomendadas	Número de corridas
2^2	3 o 4	12, 16
2^3	2	16
2^4	1 o 2	16, 32
2^5	Fracción 2^{5-1} o 1	16, 32
2^6	Fracción 2^{6-2} o fracción 2^{6-1}	16, 32
2^7	Fracción 2^{7-3} o fracción 2^{7-2}	16, 32

Fuente: Gutiérrez H., De la Vara R. *Análisis y diseño de experimentos*

2.8.5. Gráfico de Daniel y diagrama de Pareto.

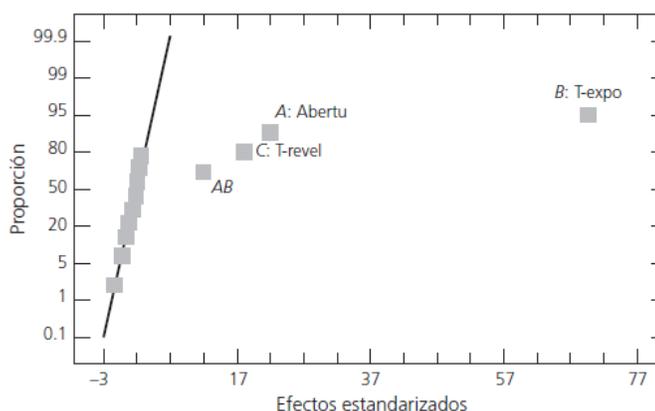
Las técnicas para decidir qué efectos mandar al error no funcionan bien cuando los efectos que tiene el diseño son pocos. Como es el caso de los diseños 2^2 y 2^3 . Pero, con frecuencia, estos diseños se corren con replicas suficientes para construir el análisis de varianza directamente. Las técnicas que se describen a continuación tienen mayor utilizad en diseño con cuatro factores en adelante, en los que existen 10 o más efectos a investigar. Estas técnicas se ejemplifican a continuación:

a) Gráfico de Daniel

Al usar los efectos como sumas de variables aleatorias, Daniel se dio cuenta que los efectos no significativos deben seguir una distribución normal con media igual a cero y varianza constante. Esto implica que, si los efectos se grafican en papel probabilístico normal, los que no son significativos tenderán a formar una línea recta, mientras que los efectos activos aparecerán alejados de la línea de normalidad.²⁴

²⁷ Gutiérrez Pulido, H., De la Vara R. (2008). *Análisis y Diseño de Experimentos* (México) Pág. 173.

Figura 10. Gráfica de Daniel



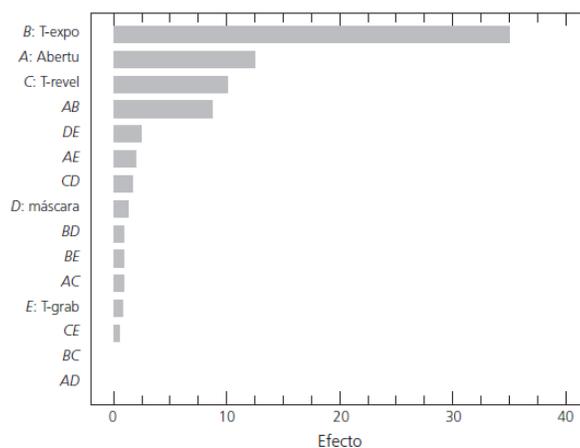
Fuente: Gutiérrez H., De la Vara R. *Análisis y diseño de experimentos*

b) Diagrama de Pareto

El diagrama de Pareto para los efectos sin estandarizar representa una manera práctica de ver cuales efectos son los más grandes en cuando a su magnitud. El Pareto representa de modo descriptivo la realidad observada de los efectos, pero sin considerar supuestos distribucionales. En la gráfica de Daniel es más difícil apreciar la importancia relativa de los efectos, pero es mejor que el Pareto para señalar cuáles efectos son activos. Por ello, lo mejor es utilizar ambas gráficas para decidir cuales efectos mandar al error.

Con el Pareto y el gráfico de Daniel muchas veces se logran detectar claramente los efectos significativos, y una vez que se construya el erro, el ANOVA sólo confirmará lo que ya se ha encontrado con estos gráficos.²⁷

Figura 11. Diagrama de Pareto



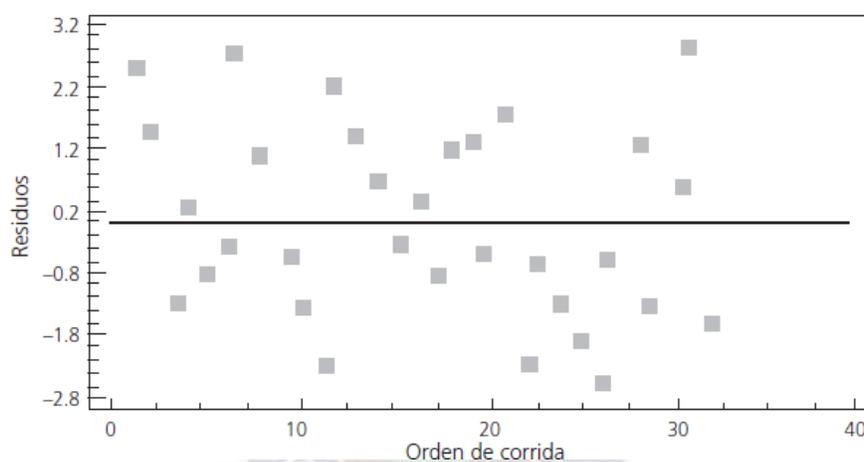
Fuente: Gutiérrez H., De la Vara R. *Análisis y diseño de experimentos*

²⁷ Gutiérrez Pulido, H., De la Vara R. (2008). *Análisis y Diseño de Experimentos* (México) Pág. 163.

2.8.6. Verificación de supuestos

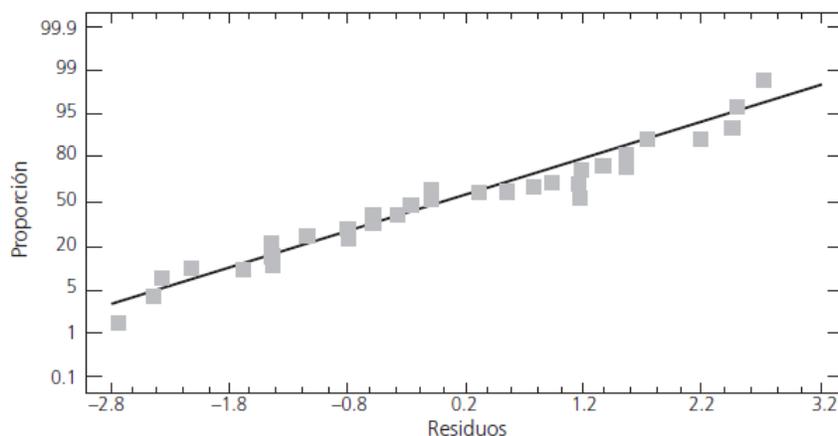
La verificación de supuestos debe hacerse para el modelo que corresponde al mejor ANOVA. De violarse alguno de los supuestos, el análisis podría dar conclusiones incorrectas. En la Figura 12 se grafica el orden de corrida contra los residuos, de ahí se observa que el supuesto de independencia se cumple, ya que los residuos caen aleatoriamente en una banda horizontal. Así mismo, también se cumple el supuesto de normalidad de los residuos, ya que estos se ajustan bien a una recta en la gráfica de probabilidad normal como se ve en la Figura 13.²⁷

Figura 12. Residuos vs orden de corrida



Fuente: Gutiérrez H., De la Vara R. *Análisis y diseño de experimentos*

Figura 13. Gráfica de probabilidad normal.



Fuente: Gutiérrez H., De la Vara R. *Análisis y diseño de experimentos*

²⁷ Gutiérrez Pulido, H., De la Vara R. (2008). *Análisis y Diseño de Experimentos* (México) Pág. 183.

2.9. Función antioxidante

La oxidación puede iniciarse por procesos físicos o químicos y continúa indefinidamente en presencia de un sustrato apropiado hasta que un mecanismo de defensa bloquee el proceso. Las sustancias objetivo son los ácidos grasos poli-insaturados, el colesterol y el DNA, pero los lípidos como constituyentes de la membrana celular son los más susceptibles debido a la velocidad de progreso de las reacciones destructivas en cadena.

Los radicales libres son moléculas, o porciones de ellas, con un electrón menos de lo normal. Estas moléculas son altamente reactivas y por lo tanto capturan fácilmente un átomo de otras moléculas iniciando una reacción en cadena. Un radical libre se genera por la remoción del hidrógeno de un carbono adyacente a uno que porta el doble enlace en una molécula de un ácido graso insaturado. Esta remoción ocurre por efecto del calor o de la luz. La molécula que contiene el radical libre reacciona fácilmente con oxígeno produciendo peróxido activado y este a su vez causa el desplazamiento de un hidrógeno de otro ácido graso insaturado produciéndose hidroperóxido y un nuevo radical libre. Las fuentes generadoras de radicales libres más importantes son el oxígeno, el peróxido de hidrogeno y el hidroxilo.²⁸

Los antioxidantes actúan como fuentes de hidrógeno y se oxidan en lugar del ácido graso protegiendo las células contra el daño de los radicales libres. Los antioxidantes naturales más conocidos son las vitaminas C y E y los carotenoides, sin embargo, se ha demostrado que los flavonoides también actúan como antioxidantes, dependiendo de su estructura molecular y de la cantidad y posición de sus grupos hidroxilos. Se han encontrado flavonoides que tienen 20 veces más poder antioxidante que la vitamina E; las antocianinas tienen una estructura química única que las hace 3 o 4 veces más potentes que la vitamina C y ofrecen tanta protección como la vitamina E contra los daños oxidativos.²⁸

Los flavonoides cítricos y las proantocianidinas extraídas de las semillas de la uva mejoran la absorción de la vitamina C de la oxidación y mejoran y prolongan su funcionamiento. Por lo tanto, están involucrados en la conservación del colágeno que mantiene las células juntas formando los tejidos, previniendo el daño por radicales libres, inhibiendo la actividad enzimática y previniendo la síntesis y liberación de agentes inflamatorios que son funciones de la vitamina C.²⁸

²⁸ Ochoa C., Ayala A. (2014) *Los Flavonoides y su Aplicación en la Industria de Alimentos*. (Colombia). Pág. 79

En el cuerpo humano, la contribución de los flavonoides al sistema de defensa antioxidante puede ser sustancial ya que el consumo diario de flavonoides puede estar entre 50 y 800mg; este consumo es alto comparado con el promedio del consumo de vitamina C (70mg), vitamina E (10mg) o carotenoides (2mg).

Los flavonoides con mayor poder antioxidante son: catequina, quercetina, isoxanthohumol, genisteína, naringenina y el glucósido de cianidina.²⁸

2.9.1. Radicales libres

Un radical libre es un compuesto químico que posee la capacidad de encontrarse naturalmente de forma independiente y que presenta uno o más electrones desapareados en su estructura. Como consecuencia, los radicales libres son altamente reactivos, por lo tanto, poseen una vida media del orden de milisegundos, aunque varía según el tipo de radical libre. Los radicales libres también son conocidos como especies reactivas de oxígeno, ROS, y especies reactivas del nitrógeno, RNS.²⁹

Cuando existe un desbalance entre la producción de ROS y los sistemas biológicos de captura, se producen patologías como cáncer, aterosclerosis, diabetes mellitus, hipertensión, entre otras.²⁹

Los métodos más aplicados para evaluar la capacidad de eliminación de radicales libres y la actividad antioxidante total de extractos de plantas mediante un espectrofotómetro son el del radical (1,1-difenil- 2-picrilhidrazilo) DPPH, desarrollado por Blois (1958), además del radical catiónico ABTS•+ (2-2'- azino bis (ácido 3 etilbenzotiazolin-6-sulfónico)), método desarrollado por Reetal. (1999), ambos métodos son evaluados mediante espectrofotometría a 517 nm y 734 nm, respectivamente.²⁹

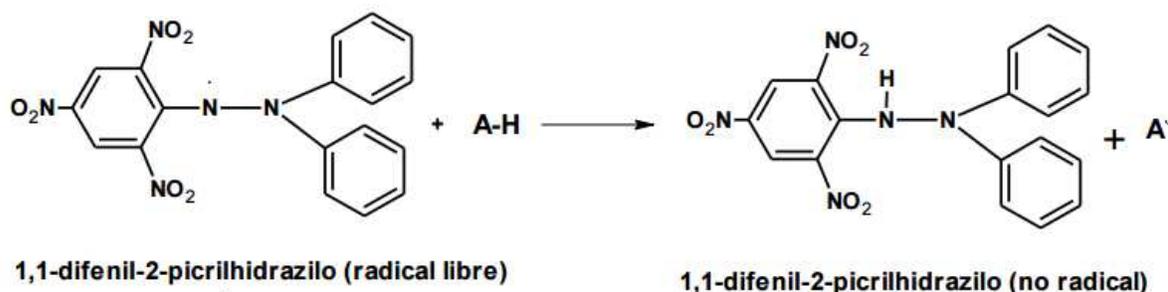
²⁸ Ochoa C., Ayala A. (2014) *Los Flavonoides y su Aplicación en la Industria de Alimentos*. (Colombia). Pág. 79.

²⁹ Vega K. (2018) *Actividad antioxidante y antibacteriana determinadas en extractos metanólicos obtenidos desde partes aéreas de Rhaphithamnus spinosus*. (Chile). Pág. 14.

2.9.2. Radical DPPH

El radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) es ampliamente utilizado en la evaluación de propiedades antioxidantes, debido a su notable estabilidad y a su color intenso.

Figura 14. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante



Fuente: Vega K. (2018) *Actividad antioxidante y antibacteriana determinadas en extractos metanólicos obtenidos desde partes aéreas de Rhaphithamnus spinosus*.

Este proviene de la molécula de cisteína. La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno como se muestra en la Figura 14, el color violeta se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes.²⁹

2.9.3. Prueba de la actividad antioxidante.

La actividad antioxidante de los extractos es determinada por el método DPPH (1,1-difenil-1,2-picrilhidrazilo), este compuesto es un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe radiación a 517nm, de forma que su concentración se puede determinar mediante métodos espectrofotométricos.³⁰

²⁹ Vega K. (2018) *Actividad antioxidante y antibacteriana determinadas en extractos metanólicos obtenidos desde partes aéreas de Rhaphithamnus spinosus*. (Chile). Pág. 16.

³⁰ Villagómez J.R., Mollinedo P., Almanza G., *(E)-3-prenil-4-hidroxycinamato de metilo de Baccharis Santelicis*. (Bolivia). Pág. 18.

En el ensayo se determina la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se adicionado el extracto analizado, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debida a la cesión de electrones de las especies antioxidantes presentes en el extracto.

Este método, también es utilizado para el screening de muestras y también determina la capacidad antioxidante en función de la capacidad atrapadora de radicales libres. En este caso, del radical libre estable DPPH (1,1-difenil-2-dipicrilhidrazilo).

Las muestras a evaluar son preparadas a concentraciones de 2.7 mg/mL. Alícuotas de 30µL de la solución metanólica de cada muestra son añadidas a 3 mL de una solución metanólica al 0.004% de radicales libres DPPH. La reacción se estabiliza a los 30 min luego de los cuales se mide la absorbancia a 517 nm y se calcula el porcentaje de inhibición tomando como blanco metanol y como control positivo quercetina.

Se utiliza la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de inhibición del radical DPPH causado por los extractos evaluados.³⁰

$$\%Inhibición_{DPPH} = \left(1 - \frac{Abs.Final}{Abs.Inicial}\right) * 100 \dots \dots (2.6)$$

Donde:

%Inhibición = porcentaje de inhibición del radical DPPH provocado por la muestra evaluada.

Abs. Inicial = Absorbancia a 517nm de la concentración inicial del DPPH.

Abs. Final = Absorbancia a 517nm de la concentración final del DPPH.

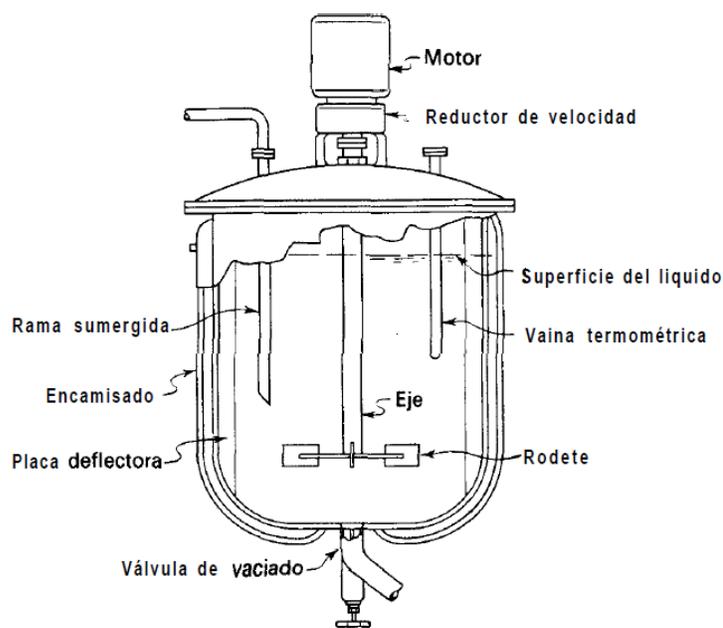
³⁰ Villagómez J.R., Mollinedo P., Almanza G., (E)-3-prenil-4-hidroxicinamato de metilo de *Baccharis Santelicis*. (Bolivia). Pág. 18.

2.10. Diseño del extractor

2.10.1. Tanque agitado

Los líquidos se agitan con más frecuencia en tanques o recipientes, generalmente de forma cilíndrica y provista de un eje vertical. La parte superior del recipiente puede estar abierta al aire o cerrada. Las proporciones del tanque varían bastante dependiendo de la naturaleza del problema de agitación. Sin embargo, en muchas situaciones se utiliza un diseño estandarizado como el que se muestra en la Figura 15.

Figura 15. Tanque típico de extracción con agitación



Fuente: McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*

El fondo del tanque es redondeado y no plano, con el fin de eliminar los rincones escarpados o región es en las que no penetrarían las corrientes de fluido. La altura del líquido es aproximadamente igual al diámetro del tanque.

El rodete va instalado sobre un eje suspendido, es decir, un eje soportado en la parte superior. El eje este accionado por un motor, a veces directamente conectado al eje, pero más frecuentemente acoplado al eje a través de una caja reductora de velocidad. Generalmente lleva incorporados también accesorios serpentines, chaquetas u otros instrumentos de medida de la temperatura.³¹

³¹ McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*. (España) Pág. 223.

2.10.2. Modelos de flujo en tanques agitados

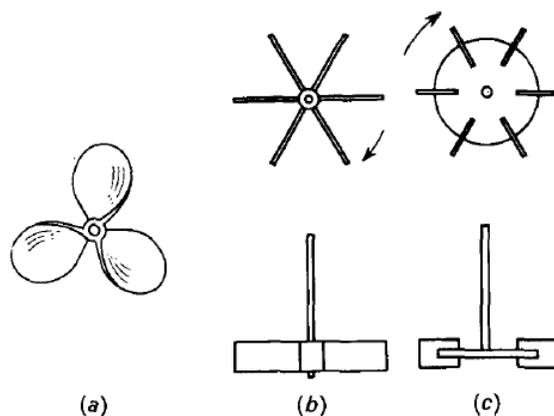
El tipo de flujo que se procede en un tanque agitado, depende del tipo de rodete, de las características del fluido, del tamaño, proporciones del tanque, placas deflectoras y agitador. La velocidad del fluido en un punto del tanque tiene tres componentes, y el tipo de flujo global en el mismo depende de las variaciones de estas tres componentes de la velocidad de un punto a otro.

La primera componente de velocidad es radial y actúa en dirección perpendicular al eje. La tercera es tangencial o rotacional y actúa en dirección tangencial a la trayectoria circular descrita por el rodete. Para el caso corriente de un eje vertical, las componentes radial y tangencial están en un plano horizontal y la componente longitudinal es vertical. Los componentes radial y longitudinal son útiles por cuanto dan lugar al flojo necesario para que se produzca la mezcla. Cuando el eje es vertical y está dispuesto en el centro del tanque, la componente tangencial de velocidad es generalmente perjudicial para la mezcla.³¹

2.10.3. Rodetes

Los agitadores de rodete se dividen en dos clases: los que generan corrientes paralelas al eje del rodete, y aquellos que generan corrientes en dirección tangencial o radial. Los primeros reciben el nombre de rodetes de flujo axial, y los segundos rodetes de flujo radial. Los tres principales tipos de rodetes son hélice (a), palas (b) y turbinas (c). Otros rodetes especiales resultan también útiles en situaciones especiales, pero los tres tipos principales mencionados resuelven tal vez el 95% de todos los problemas de agitación de líquidos.³¹

Figura 16. Rodetes de mezcla



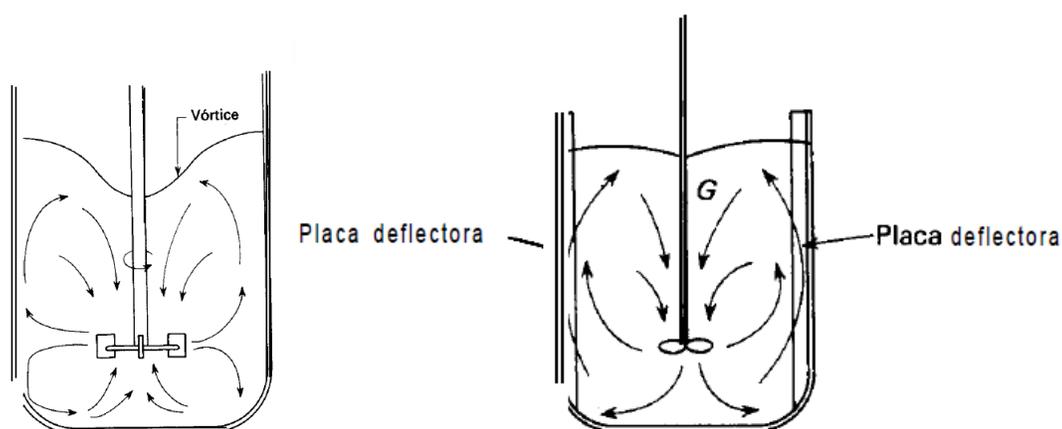
Fuente: McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*.

³¹ McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*. (España) Pág. 245.

En el flujo circulatorio el líquido fluye según la dirección del movimiento de las palas del rodete y, por consiguiente, disminuye la velocidad relativa que existe entre las palas y el líquido, con lo cual se limita la potencia que puede ser absorbida por el líquido.

En un tanque sin placas deflectoras, el flujo circulatorio es inducido por todo tipo de rodete, tanto si el flujo es axial como radial. En efecto, si los remolinos son intensos, el tipo de flujo dentro del tanque es esencialmente el mismo, independientemente del diseño del rodete. Para velocidades de giro de rodete elevadas, la profundidad del vórtice puede ser tan grande que llegue al rodete mismo, dando lugar a que en el líquido se introduzca el gas que está encima de él, lo cual normalmente debe evitarse.³¹

Figura 17. Flujo de tanque con agitación



Fuente: McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*.

2.10.4. Consumo de potencia

En las operaciones de mezcla y dispersión la velocidad de circulación no es el único factor, ni siquiera el más importante, sino que con frecuencia la turbulencia de la corriente controla la eficacia de la operación.

La turbulencia es una consecuencia de que las corrientes estén adecuadamente dirigidas y de que se generen grandes gradientes de velocidad en el líquido. Tanto la circulación como la generación de turbulencia consumen energía. Más adelante se estudia las relaciones entre el consumo de potencia y los parámetros de diseño de tanques agitados. Según se verá, algunos problemas de agitación requieren grandes flujos o disipación local de potencia.³¹

³¹ McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*. (España) Pág. 249.

Aun cuando tanto la velocidad de flujo como la disipación de potencia aumentan con la velocidad del agitador, la selección del tipo y tamaño del agitador influye sobre los valores relativos de la velocidad de flujo y la disipación de potencia.

En general, se utilizan grandes agitadores que se mueven a velocidades medias para promover el flujo, y agitadores más pequeños a velocidades elevadas cuando lo que se requiere es una elevada turbulencia interna.

2.10.5. Numero de potencia

El consumo de potencia se relaciona con la densidad del fluido, su viscosidad, la velocidad de rotación y el diámetro del impulsor, el número de potencia es:

$$Np = \frac{P g_c}{\rho N^3 D_a^5} \dots \dots (2.7)$$

Donde:

N: velocidad de agitación [rev/s]

P: potencia [W]

g_c : factor de proporcionalidad de la Ley de Newton. $G_c=32,174$ [pies*lb/lbf*s²]

D: diámetro de impulsor [m]

ρ : densidad de la mezcla [kg/m³]

2.10.6. Numero de Reynolds

Con diversos estudios se ha podido demostrar que la transición del flujo laminar al turbulento en tuberías no está solo en una función de la velocidad, sino también de la densidad y viscosidad del fluido y del diámetro del tubo. Estas variables se combinan en la expresión del número de Reynolds, que es adimensional.³¹

$$N_{Re} = \frac{v * D * \rho}{\mu} \dots \dots (2.8)$$

Donde:

v: velocidad del flujo [m/s]

D: diametro interno del tubo [m]

ρ : densidad de la mezcla [kg/m³]

μ : viscosidad dinámica del fluido [Pa*s]

³¹ McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*. (España) Pág. 250.

2.10.7. Diseño estándar de una turbina

El diseñador de un tanque agitado dispone de un gran número, que no es habitual, de elecciones sobre el tipo y localización del agitador, las proporciones del tanque, el número y dimensiones de las placas deflectoras, etc. Cada una de estas decisiones afecta a la velocidad de circulación del líquido, los modelos de velocidad y el consumo de potencia.³¹

Como punto de partida en el diseño de los problemas ordinarios de agitación, generalmente se utiliza un agitador de turbina del tipo que se muestra en la Figura 17. Las proporciones típicas son:

$$\frac{D_a}{D_t} = \frac{1}{3} \dots (2.9) \quad \frac{H}{D_t} = 1 \dots (2.10) \quad \frac{J}{D_t} = \frac{1}{12} \dots (2.11)$$

$$\frac{E}{D_a} = 1 \dots (2.12) \quad \frac{W}{D_a} = \frac{1}{5} \dots (2.13) \quad \frac{L}{D_a} = \frac{1}{4} \dots (2.14)$$

Dónde:

D_a es el diámetro del agitador con eje completo

D_t es el diámetro del tanque

H es la altura del tanque

J es el ancho de la placa deflectora

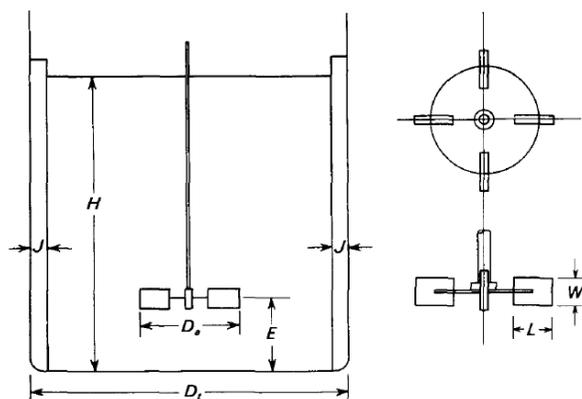
E es la altura de la base del tanque al centro del eje del agitador

W es el ancho de la paleta del agitador

L es el largo de la paleta del agitador

El número de placas deflectoras es generalmente de 4; el número de palas del agitador varía entre 4 y 16, pero generalmente es de 6 u 8. Situaciones especiales pueden, por supuesto, aconsejar proporciones diferentes de las que se acaban de indicar.³¹

Figura 18. Medidas de un agitador de turbina (según Rushton)



Fuente: McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*.

³¹ McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*. (España) Pág. 251.

2.10.8. Escalamiento

En las industrias de procesos los datos experimentales suelen estar disponibles a partir de un sistema de agitación de tamaño de laboratorio o de unidad piloto, y se desea aumentar la escala de los resultados para diseñar una unidad a escala completa.

Como hay una gran diversidad en los procesos cuya escala se debe aumentar, no hay un solo método que pueda manejar todos los tipos de problema de aumento de escala, y hay muchas maneras de hacer esto.

- ✓ La semejanza geométrica es importante, por supuesto, y es la más fácil de lograr.
- ✓ La semejanza cinemática puede definirse en términos de razones de velocidades o de tiempos.
- ✓ La semejanza dinámica requiere proporciones fijas de fuerzas viscosas, inerciales o gravitatorias.

Aun si se logra la semejanza geométrica, la semejanza dinámica y cinemática no siempre se pueden obtener al mismo tiempo.

Por consiguiente, a veces lo que el diseñador debe hacer es confiar en su buen juicio y experiencia para hacer el aumento de escala.

Escalar un proceso o equipo es convertirlo de su escala de investigación (laboratorio o piloto) a escala industrial (producción). Por ejemplo; en un laboratorio de investigación se desarrolla un nuevo producto con valor comercial por medio de una reacción química usando equipo como frascos, matraces, mecheros, agitadores, etc. El ingeniero químico es el profesional capacitado para llevar este nuevo producto al mercado mediante el escalamiento; analizar las condiciones de reacción y los factores de influencia para definir los equipos necesarios (bombas, intercambiadores de calor, reactores, etc.) y proponer el proceso de producción en masa del producto.³²

2.10.9. Tipos de escalamiento

El paso fundamental en el escalamiento consiste en pasar los datos obtenidos en la planta piloto a un modelo que puede ser:

³² Anaya, A., Pedroza, H. (2008). *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe España y Portugal escalamiento, el arte de la Ingeniería química.* (México) Pág. 25.

- Fenomenológico: Fundamentado en algunos razonamientos teóricos, pero de tipo microscópico. No involucra consideraciones moleculares y permite hacer predicción en rangos o intervalos de operación no estudiados experimentalmente.
- Empírico: El cual se postula sin bases teóricas y se espera solamente que ajuste la interacción entre los datos en el rango o intervalo de experimentación.
- Geométrico: Obtenido a partir de un análisis de similaridad con respecto a analogías físicas de tipo térmico, mecánico, geométrico, químico, etc.

El tipo de modelo de escalamiento depende tanto del proceso en cuestión como de la geometría de los equipos involucrados.³²

2.11. Estudio fenomenológico de la extracción Sólido-Líquido

La extracción sólido-líquido es una operación que consiste en separar uno más componentes de un sólido, por disolución de este en un disolvente dado.

A través de esta operación, suele obtenerse muchos productos como ser, colorantes vegetales, diversos tipos de aceites, productos alimenticios, ciertos alcaloides, etc.

El principio fisicoquímico que se aprovecha en esta operación, es la diferencia de solubilidad que existe entre los diferentes componentes de una mezcla sólida en un disolvente dado, donde el componente a separarse, deberán ser altamente solubles en relación a los componentes no deseados.³³

2.11.1. Mecanismo de la extracción sólido líquido.

En el estudio del mecanismo de la extracción de un soluto contenido en una partícula sólida, mediante un líquido, se considera que ocurre en tres etapas sucesivas hasta alcanzar el equilibrio.

a) Cambio de fase

Es el paso del soluto desde la fase sólida al líquido. La disolución del soluto se realiza a través de una interfase sólido-líquido.

³² Anaya, A., Pedroza, H. (2008). *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe España y Portugal escalamiento, el arte de la Ingeniería química.* (México) Pág. 25.

³³ Aquino H. *Estudio fenomenológico del proceso de secado del extracto de ayrapmu para utilizarlo como agente antiviral.* (Bolivia). Pág. 22.

Aunque para el estudio de esta etapa podría aplicarse la teoría de la capa límite, suele considerarse que la disolución es instantánea, por lo que no influye en la velocidad global de la extracción.

b) Difusión del soluto en el disolvente (transferencia de masa por difusión)

La transferencia de sólido desde el interior de la partícula sólida hasta su superficie se realiza por difusión molecular, debido a un gradiente de concentración existente entre la interfase sólido-líquido y la superficie exterior del sólido. Es por ello que la ecuación de velocidad de transferencia de materia, para esta etapa se expresa por la segunda Ley de Fick:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -D_{eff} * \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} \dots \dots (2.15)$$

Donde:

$\frac{\partial C}{\partial t}$ es el término de acumulación

$\frac{\partial^2 C}{\partial r^2}$ es el término de difusión

r es el radio de la esfera [m]

t es el tiempo de difusión [s]

D_{eff} es el coeficiente de difusividad efectiva del soluto [m^2/s]

Esta ecuación es especialmente útil en la descripción de procesos de difusión en sistemas biológicos, químicos y físicos, como la difusión de gases a través de una membrana, la difusión de sustancias en un sólido, etc.³³

En general la D_{eff} aumenta con la temperatura, por lo que un incremento de la temperatura aumentaría la velocidad de transferencia. Además, si las partículas se desmenuzan se logra que la longitud de los poros disminuya, lo que trae consigo el que la velocidad de transferencia aumente.

En algunos casos puede ocurrir que el disolvente rompa la estructura de los sólidos inertes produciéndose partículas finas que puedan llegar a obstruir los poros, dificultando de este modo la penetración del disolvente.³³

³³ Aquino H. *Estudio fenomenológico del proceso de secado del extracto de ayrapmu para utilizarlo como agente antiviral*. (Bolivia). Pág. 22.

c) Transferencia del soluto desde la superficie de las partículas hasta el seno de la disolución (transferencia de masa por convección)

Una vez que el soluto ha alcanzado la superficie de la partícula, se transfiere desde ese punto hasta el seno de la disolución gracias a un gradiente de concentraciones y al movimiento de la disolución, realizándose esta transferencia de materia por transporte molecular y turbulento, de forma simultánea.³³

En esta etapa la velocidad de transferencia de materia viene dada por la expresión:

$$N_s = -\frac{1}{A} \frac{dm_s}{dt} = K(C_D^i - C_D) \dots \dots (2.16)$$

Donde:

m_s es la masa transferida del soluto

A es el área de superficie de contacto partícula- disolución

t es el tiempo

C_D^i es la concentración del soluto en la interfase

C_D es la concentración del soluto en el seno de la disolución en el instante t

K es la constante de transferencia de masa

La transferencia de masa se ve favorecida por el aumento de la temperatura y la agitación de la disolución, ya que ello incrementa el coeficiente K .

Cada una de las etapas descritas posee su propia velocidad de transferencia, siendo la etapa más lenta la que controla el proceso de extracción tal como se ha mencionado con anterioridad, en la primera etapa la disolución del soluto se considera instantánea, por lo que no influirá en el proceso. De las otras etapas, es la segunda la que suele controlar la velocidad del proceso, ya que normalmente se desarrolla lentamente. Sin embargo, en el caso que el soluto recubra el sólido inerte, será la tercera etapa la que controle el proceso pues el soluto ya se encuentra en el exterior de la partícula.³⁰

³³ Aquino H. *Estudio fenomenológico del proceso de secado del extracto de ayrapmu para utilizarlo como agente antiviral*. (Bolivia). Pág. 22.

2.11.2. Coeficiente de difusión.

El coeficiente de difusión D_{AB} , generalmente depende de la temperatura, presión y la composición. En tablas se dan valores de la difusividad para algunos sistemas.

Los datos existentes para la mayor parte de las mezclas binarias son bastante limitados, tanto en exactitud como en intervalos conocidos. Las correlaciones propuestas para D_{AB} tienen un campo de aplicación limitado y se basan en la teoría que en la experiencia.

Actualmente se carece de datos de difusividad para la mayor parte de las mezclas que tienen interés en ingeniería, siendo necesario utilizar en casi todos los cálculos valores estimados o extrapolados de D_{AB} para efectuar estudios de extracción. Por lo tanto, deberán utilizarse, a ser posible, valores experimentales, ya que generalmente son más seguros.³³

2.11.3. Teoría de la difusión ordinaria en líquidos.

A falta de una teoría rigurosa para la difusión en líquidos, existen dos métodos aproximados que resultan útiles para conocer el orden de la magnitud de los cálculos: la Teoría Hidrodinámica y la Teoría de Eyring.

a) Teoría Hidrodinámica.

La teoría Hidrodinámica toma como punto de partida la ecuación de Nernst-Einstein, que establece que la difusividad de una partícula aislada o molécula de soluto A, a través del medio es:

$$D_{AB} = k T \frac{u_A}{F_A} \dots \dots (2.17)$$

En la que u_A/F_A es la movilidad de la partícula A (es decir, la velocidad en estado estacionario que alcanza la partícula cuando se somete a la acción de una unidad de fuerza), y k es la constante de Boltzmann.

Mediante un tratamiento hidrodinámico se obtienen expresiones para el coeficiente de difusión de moléculas esféricas en disoluciones diluidas, así como también para el coeficiente de auto difusión. La teoría predice que D_{AB} debe variar con el tamaño de la especie que difunde por ser muy importante, puesto que el factor de fricción se hace aproximadamente el doble cuando la relación de la longitud a la anchura de un cuerpo pasa de 1 a 10.³³

³³ Aquino H. *Estudio fenomenológico del proceso de secado del extracto de ayra mpu para utilizarlo como agente antiviral.* (Bolivia). Pág. 22.

b) Teoría de la velocidad de Eyring.

Esta teoría trata de explicar los fenómenos de transporte a base de un modelo sencillo para el estado líquido. En esta teoría se supone que existe algún proceso de velocidad unimolecular en función del cual puede describirse el proceso de difusión, y que, a su vez, en dicho proceso existe alguna configuración que puede identificarse como el estado activado. A este proceso elemental se le aplica la teoría de las velocidades de reacción de Eyring.³

Debido al carácter aproximado de las anteriores teorías, se han propuesto varias relaciones empíricas, de las que solo mencionamos una de ellas.

Wilke ha desarrollado una correlación para los coeficientes de difusión basada en la ecuación de Stokes-Einstein. Sus resultados pueden resumirse en la siguiente relación analítica de carácter aproximado, que expresa el coeficiente de difusión en $\text{cm}^2\text{seg}^{-1}$ para bajas concentraciones de A en B:

$$D_{AB} = 7,4 * 10^{-8} * \frac{(\phi M_B)^{0,5} T}{\mu_B V_A^{0,6}} \dots \dots (2.18)$$

Donde:

D_{AB} es el coeficiente de difusión en $\text{cm}^2\text{seg}^{-1}$ para bajas concentraciones de A y B

M_B es el peso molecular del solvente B

T es la temperatura del solvente en K

μ_B es la viscosidad del solvente B en cp

V_A es el volumen molar del soluto A en $\text{cm}^3\text{g-mol}^{-1}$

ϕ es el factor de asociación del solvente B, adimensional

Los valores que se recomiendan son 2,6 para el agua, 1,9 para el metanol, 1,5 para el etanol y 1,0 para el benceno, éter, heptano y otros disolventes no asociados. Esta ecuación conduce a buenos resultados solo para disoluciones diluidas, en cuyos casos el error esta generalmente, comprendido entre $\pm 10\%$. Se sabe poco acerca de la predicción de la difusividad de líquidos y gases densos.³³

³³ Aquino H. *Estudio fenomenológico del proceso de secado del extracto de ayrapmu para utilizarlo como agente antiviral*. (Bolivia). Pág. 34.

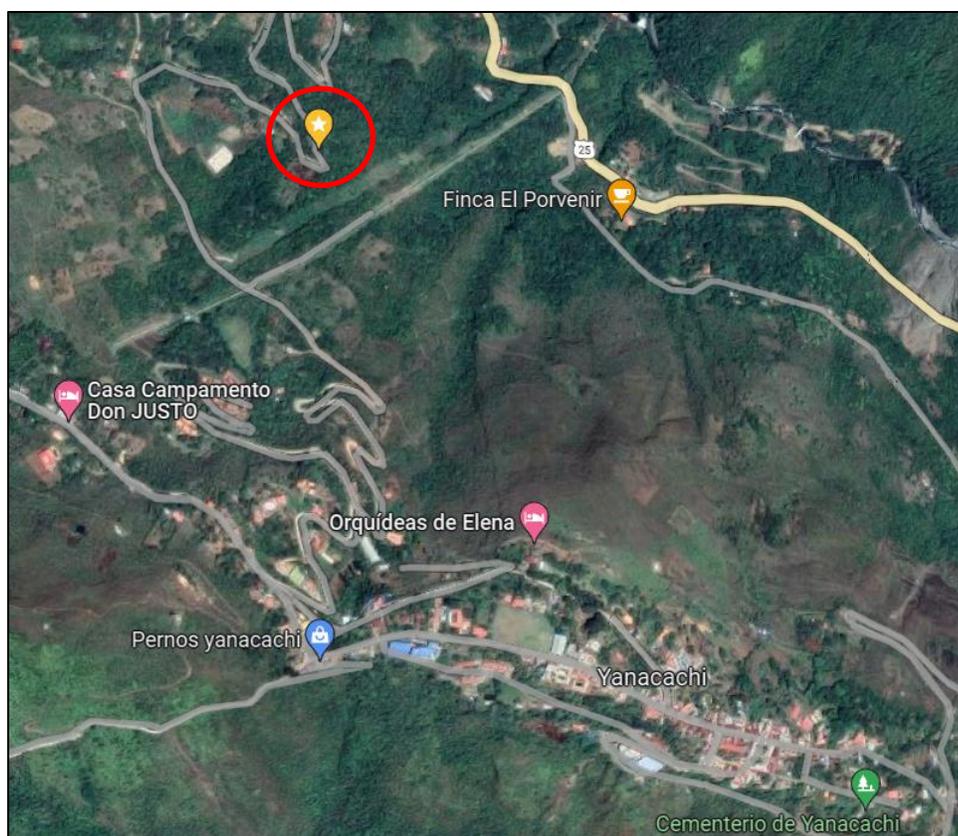
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1. Caracterización de la Materia Prima

3.1.1. Localización del llantén

La materia prima utilizada en el presente proyecto fue recolectada del Municipio de Yanacachi, en la provincia Sud Yungas del departamento de La Paz – Bolivia.

Figura 19. Ubicación geográfica del Municipio de Yanacachi

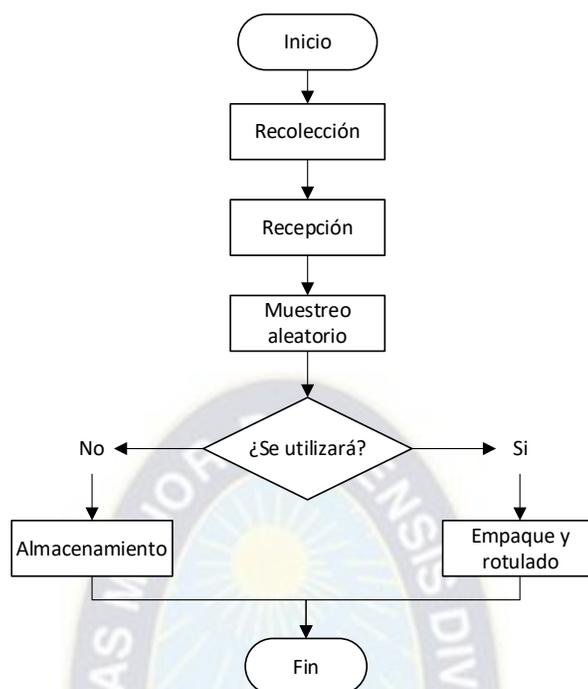


Fuente: <https://www.google.com/maps/place/16%C2%B023'26.5%22S>

3.1.2. Recepción y recolección de la materia prima

Se realiza la recolección de la materia prima, el Llantén, del municipio de Yanacachi en la provincia Sud Yungas del departamento de La Paz, en coordenadas de longitud y latitud dadas por: -16.390699,-67.742936; durante los meses de julio de 2022 a agosto de 2022.

Figura 20. Procedimiento para la recepción y muestreo del material vegetal

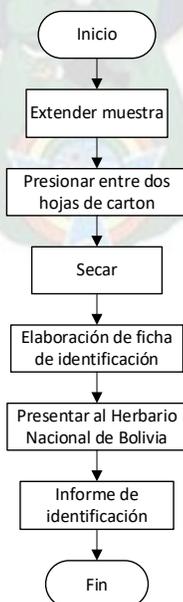


Fuente: NB/ISO 948:2007. Transcripción propia.

3.1.3. Identificación botánica en el herbario nacional de Bolivia

Se verifica que la especie vegetal del lugar se tratase de la especie *Plantago Major*, con el certificado obtenido por el Herbario Nacional de Bolivia (ANEXO A).

Figura 21. Procedimiento para obtener certificado del Herbario Nacional



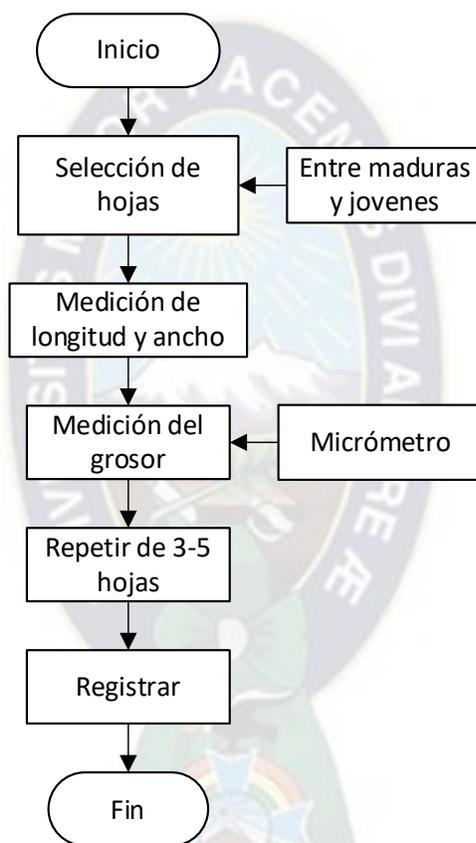
Fuente: Procedimiento del Herbario. Transcripción propia.

3.1.4. Determinación de propiedades físicas

Se determinan propiedades físicas del llantén, en base al protocolo para la medición de características funcionales de la Universidad Autónoma de Madrid (ANEXO D), como ser:

- a) Dimensiones de la hoja
- b) Peso de la hoja fresca y seca
- c) Densidad de la hoja fresca y seca

Figura 22. Protocolo de medición de características funcionales

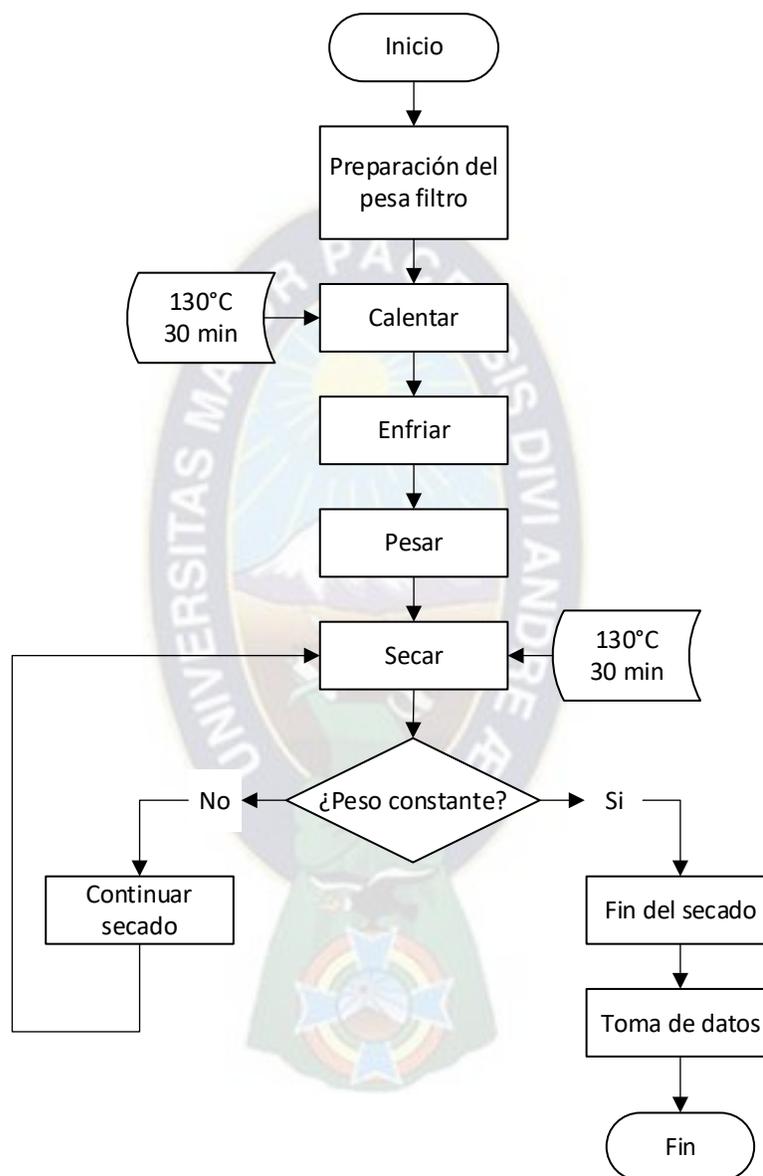


Fuente: Universidad Autónoma de Madrid. (2012) Protocolo para la medición de características funcionales. Transcripción propia.

3.1.5. Determinación de humedad.

Se determina el porcentaje de humedad del llantén en base a la NB-074 para la determinación del contenido de humedad.

Figura 23. Determinación del contenido de humedad NB-074

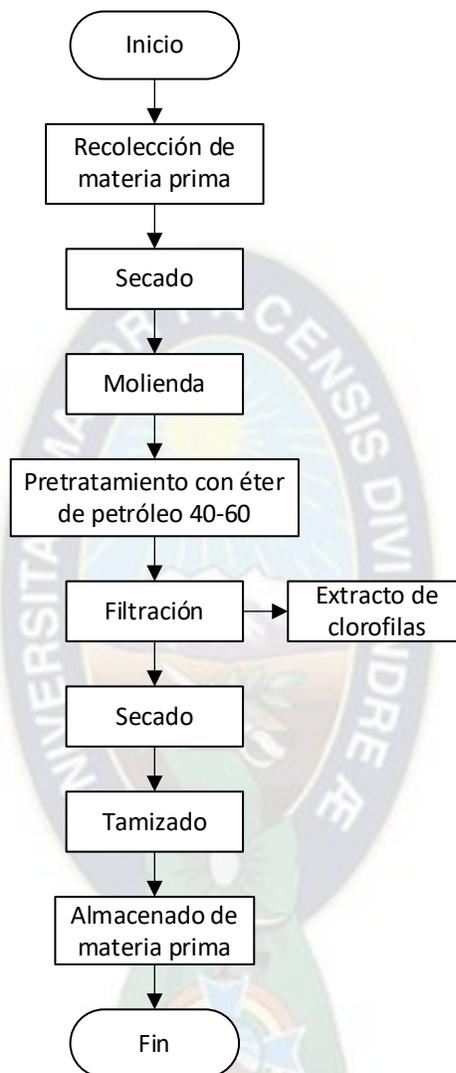


Fuente: NB-074. Transcripción propia.

3.2. Pretratamiento de la Materia Prima

Se hace el pretratamiento a la materia prima que se detalla a continuación:

Figura 24. Metodología del pretratamiento



Fuente: Elaboración propia

3.3. Selección del solvente

El uso de etanol al 70% como solvente para la extracción de flavonoides se justifica en base a diversos factores. En primer lugar, su similitud en polaridad con el metanol lo convierte en una opción eficaz para extraer compuestos polares como los flavonoides. Además, el etanol ofrece ventajas en términos de seguridad y disponibilidad en comparación con el metanol, que es conocido por su toxicidad. Su facilidad de recuperación posterior al proceso de extracción y su conveniente almacenamiento lo hacen altamente viable para aplicaciones industriales, contribuyendo así a la eficiencia y la sostenibilidad del proceso de extracción.

3.4. Determinación de las variables más importantes

Para la selección de las variables se utiliza el diagrama de Ishikawa.

Figura 25. Diagrama de causa-efecto Ishikawa



Fuente: Elaboración propia

Las variables independientes seleccionadas para el proceso de extracción sólido-líquido son las siguientes:

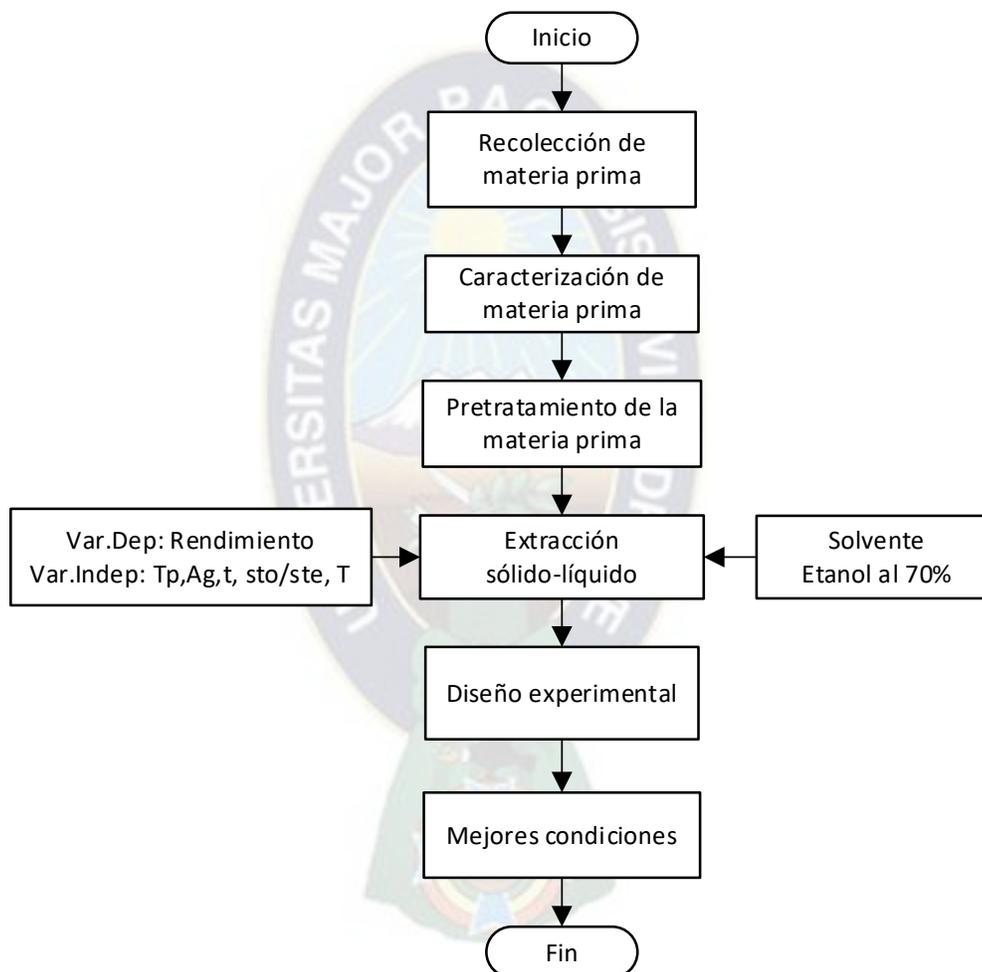
- ✓ Tamaño de partícula
- ✓ Temperatura
- ✓ Velocidad de agitación
- ✓ Relación soluto/solvente
- ✓ Tiempo de maceración

La variable dependiente para evaluar el proceso es el Rendimiento, que vendrá dado por:

$$\eta = \frac{m_{\text{extracto seco}}}{m_{\text{plantén seco}}} * 100\% \dots \dots (3.1)$$

El procedimiento para determinar estas variables experimentalmente se describe en el siguiente esquema:

Figura 26. Procedimiento para determinar las variables más importantes

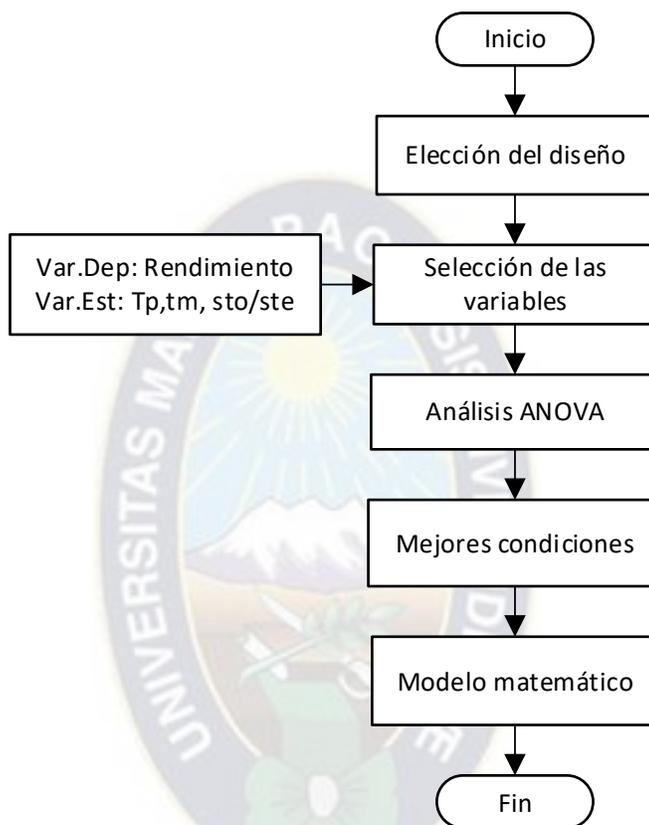


Fuente: Elaboración propia

3.4. Diseño Experimental

Las mejores condiciones para la extracción se determinan mediante el diseño experimental.

Figura 27. Procedimiento para el diseño experimental



Fuente: Elaboración propia

3.5. Caracterización del producto

3.5.1. Identificación por placas cromatográficas

Se realiza la caracterización de componentes del extracto obtenido, sembrando dos patrones como son la quercetina que es un flavonoide y el ácido gálico que forma parte de los fenoles.

Figura 28. Esquema para la siembra en placa cromatográfica

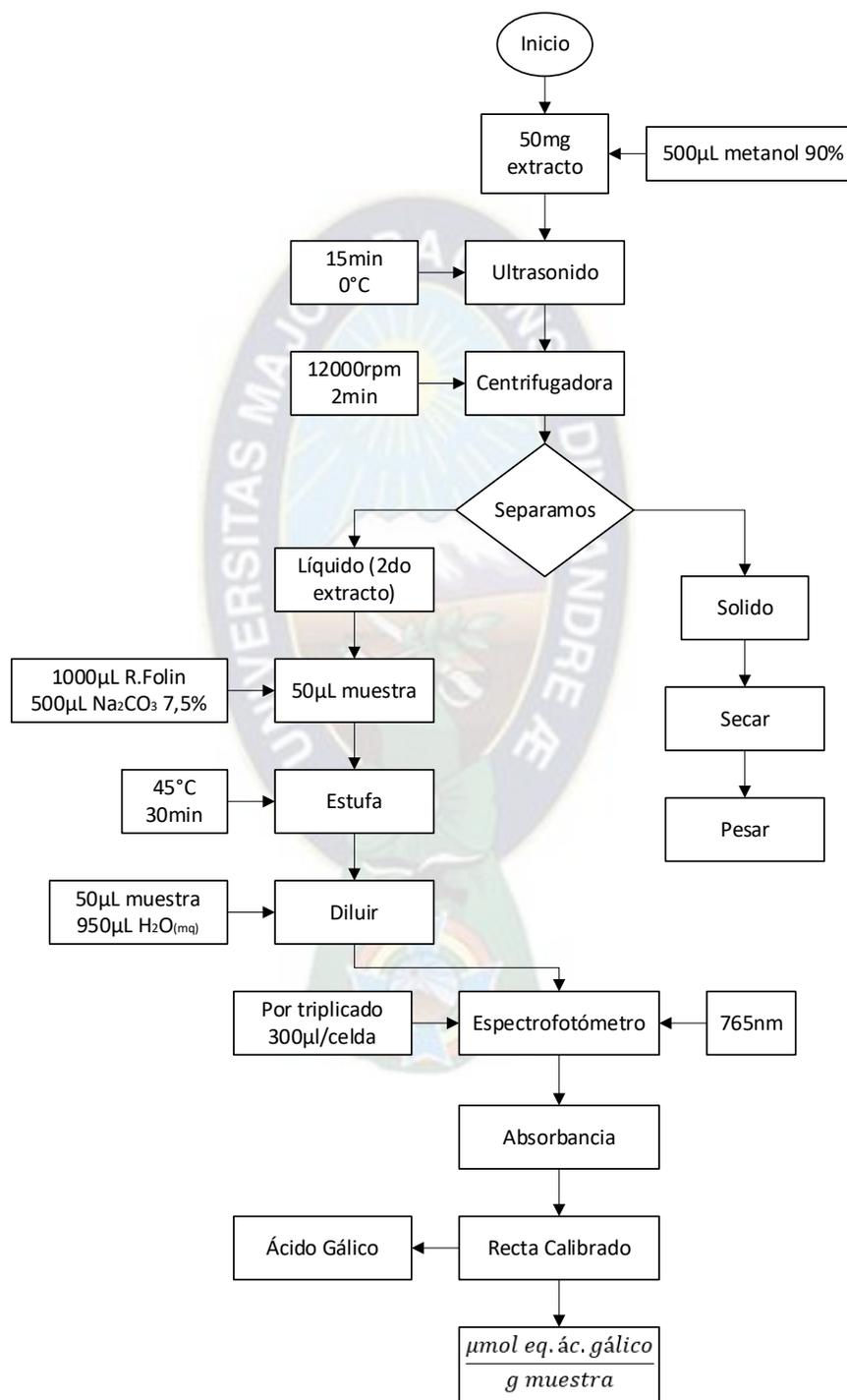


Fuente: Elaboración propia

3.5.2. Determinación de fenoles totales

Se utiliza el procedimiento estandarizado de la Carrera del Ciencias Químicas para la determinación de fenoles totales, como se muestra en el siguiente diagrama:

Figura 29. Determinación de Fenoles Totales

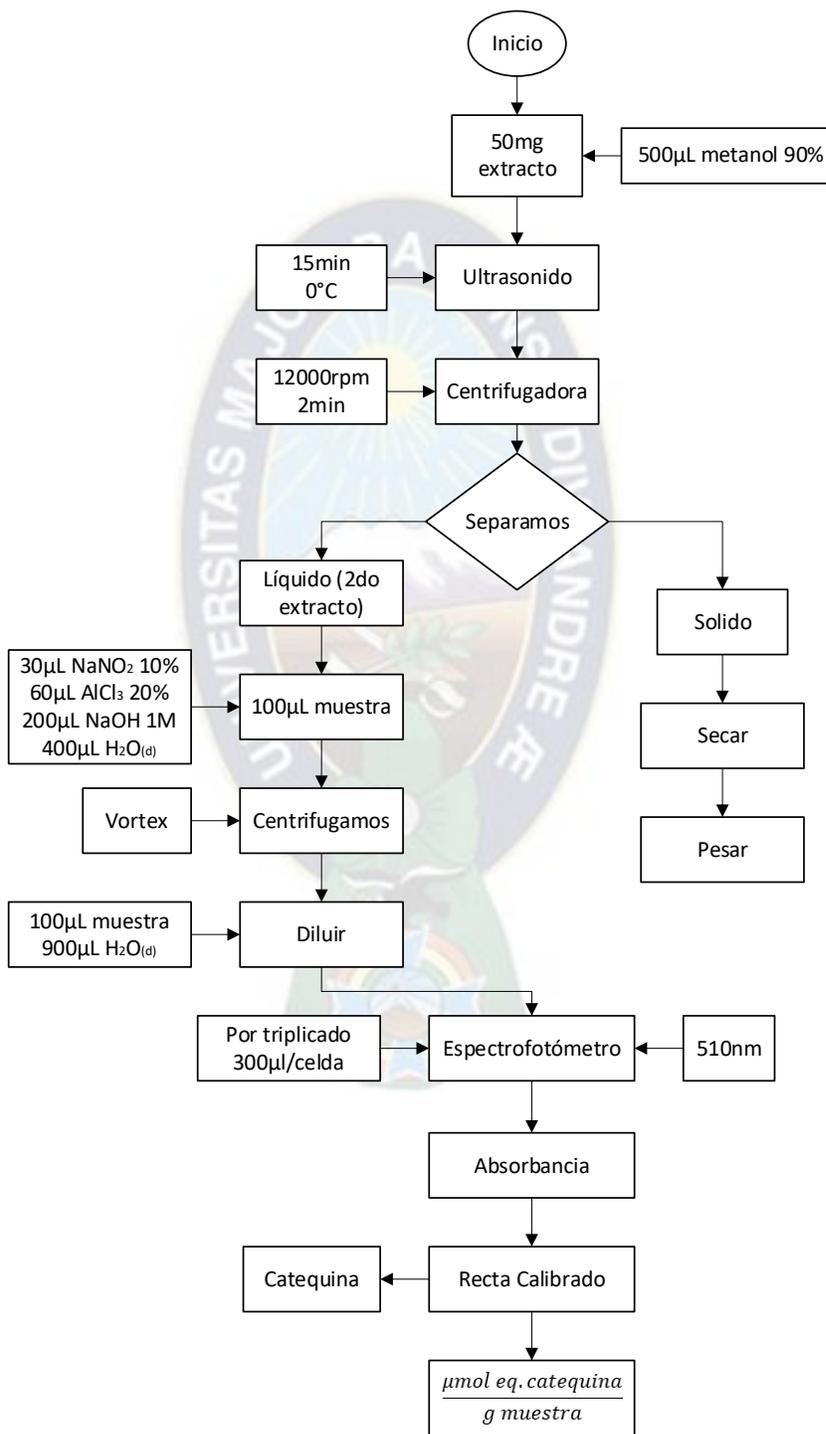


Fuente: Procedimiento de Cs. Químicas. Transcripción propia

3.5.3. Determinación de flavonoides totales

Se utiliza el procedimiento estandarizado de la Carrera del Ciencias Químicas para la determinación de flavonoides totales, como se muestra en el siguiente diagrama:

Figura 30. Determinación de flavonoides totales

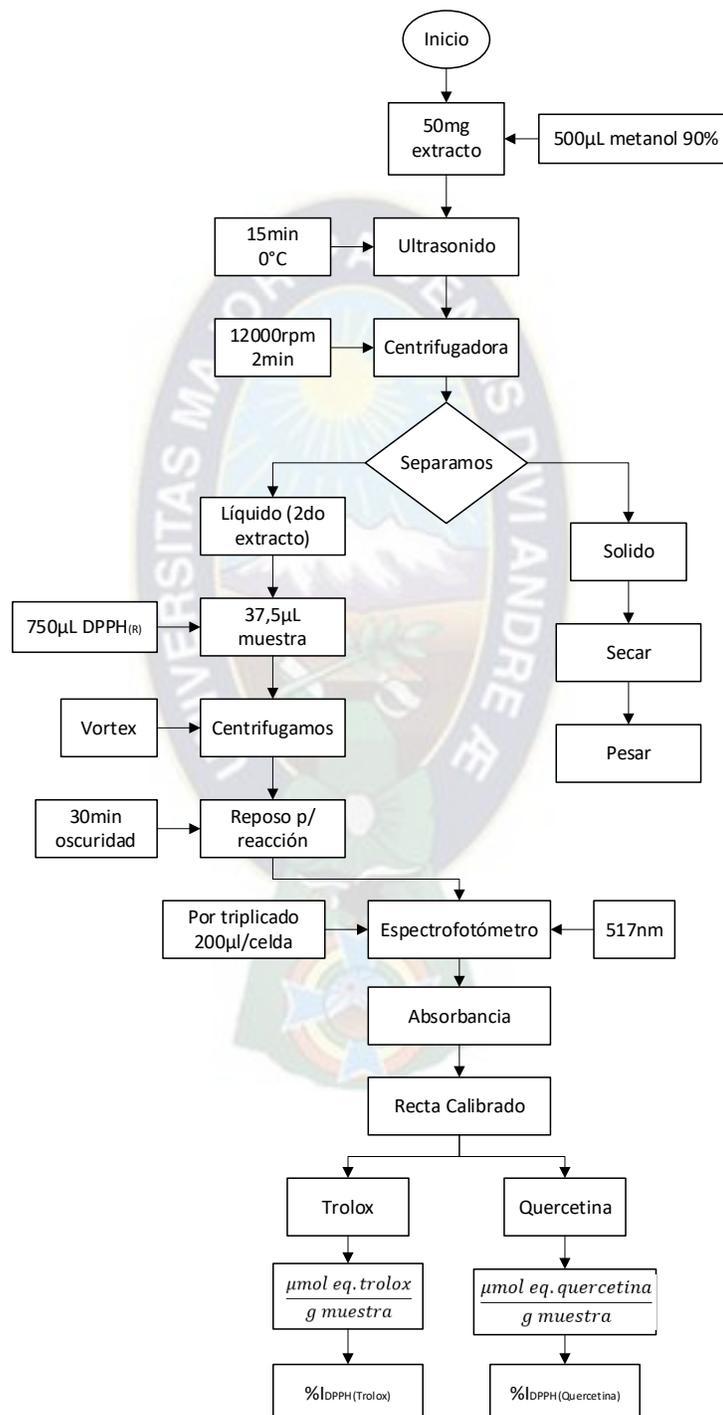


Fuente: Procedimiento de Cs. Químicas. Transcripción propia

3.5.4. Evaluación de la actividad antioxidante

Para la evaluación de la actividad antioxidante del extracto obtenido, se sigue el procedimiento estandarizado de la Carrera del Ciencias Químicas.

Figura 31. Procedimiento para la evaluación de la actividad antioxidante



Fuente: Procedimiento de Cs. Químicas. Transcripción propia

CAPÍTULO 4. RESULTADOS

4.1. Caracterización de la Materia Prima.

4.1.1. Identificación botánica en el herbario nacional de Bolivia.

El material vegetal en estudio se identifica por el Herbario Nacional de Bolivia como *Plantago Major L.* (ANEXO A).

Figura 32. Plantago Major L.



Fuente: Elaboración propia

4.1.2. Determinación de propiedades físicas.

Se determinan propiedades físicas del llantén, en base al protocolo para la medición de características funcionales de la Universidad Autónoma de Madrid, obteniendo valores dados en la siguiente tabla:

Tabla 9. Propiedades Físicas de la hoja del llantén

Propiedad	Valor
Longitud [cm]	15,15
Ancho [cm]	9,22
Espesor [mm]	0,87
Peso de la hoja fresca [g]	17,05
Peso de la hoja seca [g]	4,02
Densidad de la hoja fresca [g/cm ³]	0,87
Densidad de la hoja seca [g/cm ³]	0,35

Fuente: Elaboración propia

4.1.3. Determinación de humedad.

Se determina la humedad según la NB-074 (ANEXO E).

Tabla 10. Humedad de las hojas del llantén

Propiedad	Valor
Humedad NB-074 [%]	78,1

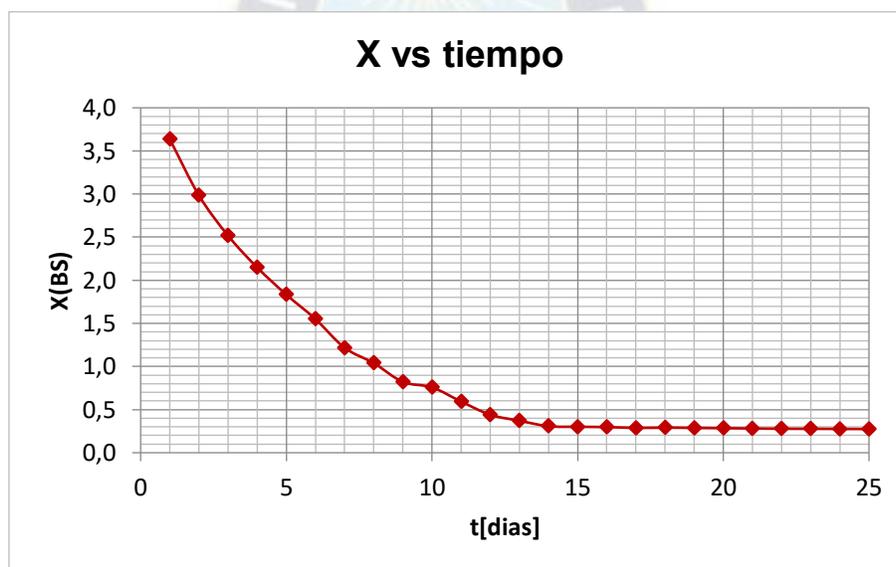
Fuente: Elaboración propia

4.2. Pretratamiento de la materia prima.

4.2.1. Secado

Se realiza el secado de la materia prima que constaba de un peso igual a 2,55 Kg de hojas frescas, obteniendo una cantidad de 570 g de hojas secas de llantén. (ANEXO F).

Gráfica 1. Curva de secado: humedad en base seca vs tiempo



Fuente: Elaboración propia

Donde la humedad residual que permanece en las hojas se expresa como humedad en base seca, siendo esta igual a:

$$X_{BS} = 0,2750 \frac{g H_2O}{g \text{ sólido seco}}$$

El rendimiento de la cantidad de hojas secas obtenidas es:

$$\eta_{secado} = \frac{m_{hojas \text{ secas}}}{m_{hojas \text{ frescas}}} * 100\% = \frac{570 \text{ g}}{2550 \text{ g}} * 100\%$$

$$\eta_{secado} = 22,3\%$$

4.2.2. Extracción de clorofilas

Se realiza la extracción con éter de petróleo (40-60) para reducir la cantidad de clorofilas que hay presentes en las hojas del llantén obteniendo un rendimiento de extracción igual a:

$$\eta_{\text{extracción de clorofilas}} = \frac{m_{\text{extracto seco de clorofila}}}{m_{\text{hojas secas}}} * 100\%$$

$$\eta_{\text{extracción de clorofilas}} = \frac{3,8971 \text{ g}}{550 \text{ g}} * 100\%$$

$$\eta_{\text{extracción de clorofilas}} = 0,71\%$$

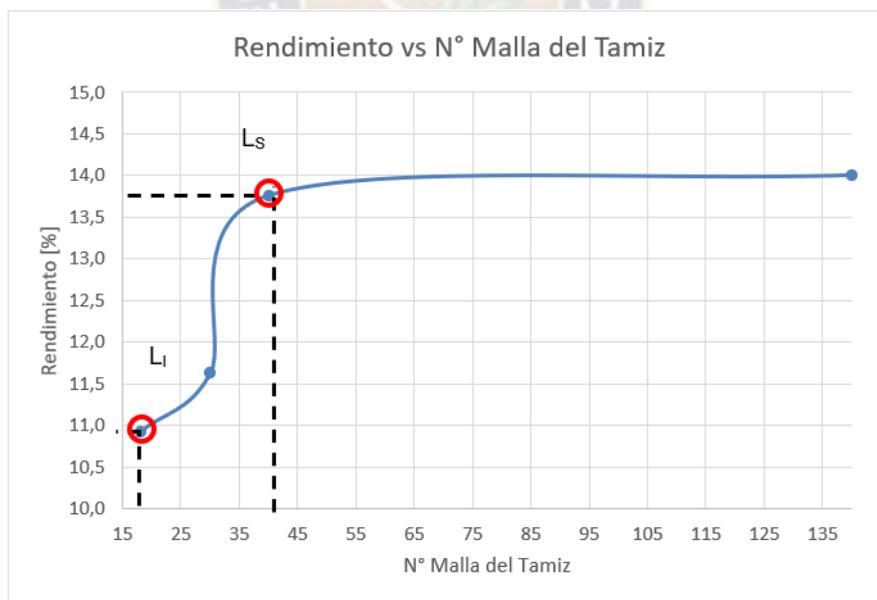
4.3. Determinación de las variables más importantes.

El solvente seleccionado por procedimientos estandarizados de extracción de flavonoides es etanol al 70% en todas las pruebas experimentales.

4.3.1. Extracción solido-liquido.

a) Tamaño de partícula

Gráfica 2. Rendimiento vs N° Malla del tamiz

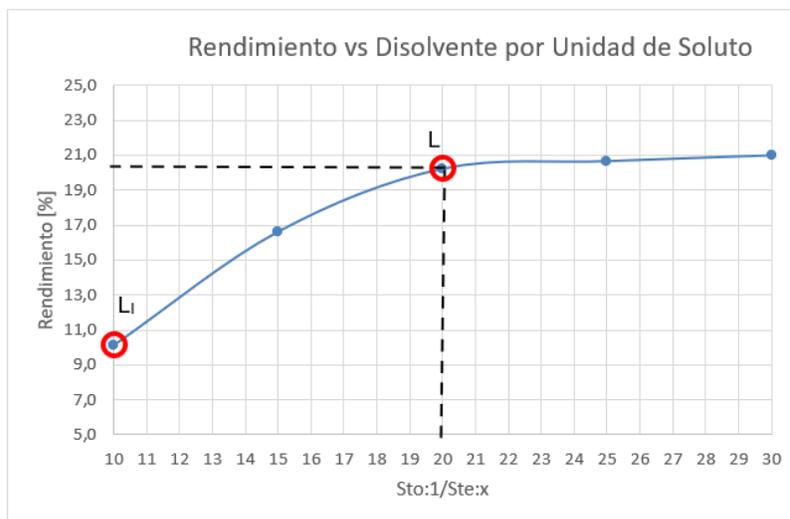


Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Se observa que entre los límites de N° Malla 18 y N° Malla 40 existe una variación apreciable en el rendimiento, para el N° de Malla 140 ya se mantiene el rendimiento constante. Tomamos como límites superior e inferior: $L_s = N^\circ$ Malla 18 y $L_i = N^\circ$ Malla 40.

b) Relación soluto-disolvente

Gráfica 3. Rendimiento vs disolvente por unidad de soluto



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: La variación significativa se observa en los rangos de 10ml a 20ml, mayores cantidades dan una variación muy pequeña en el rendimiento. Tomamos los límites superior e inferior como: $L_S=20\text{ml}$ y $L_I=10\text{ml}$.

c) Tiempo de maceración

Gráfica 4. Rendimiento vs tiempo de maceración

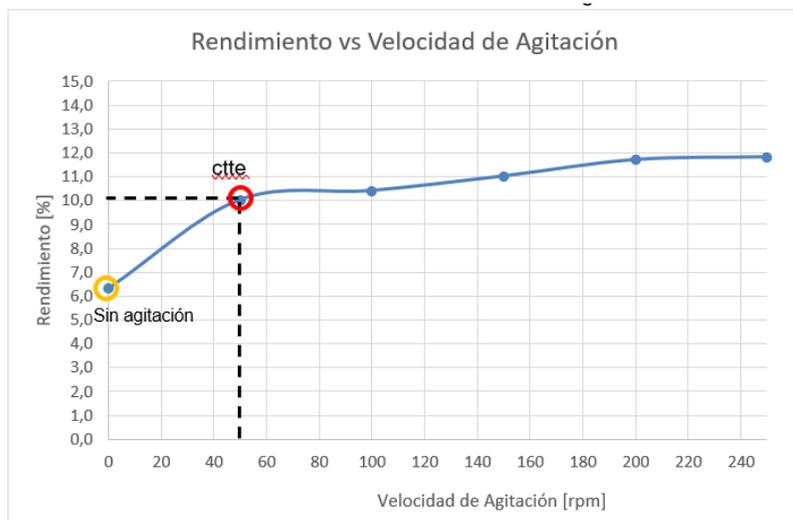


Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Se observa en el rango de 3 horas a 24 una variación considerable del rendimiento, posterior a este tiempo hay incrementos en el rendimiento, pero no son viables para el tiempo que llevan. Tomamos los límites superior e inferior como: $L_S=24\text{ hrs}$ y $L_I=3\text{hrs}$.

d) Velocidad de agitación

Gráfica 5. Rendimiento vs Velocidad de agitación

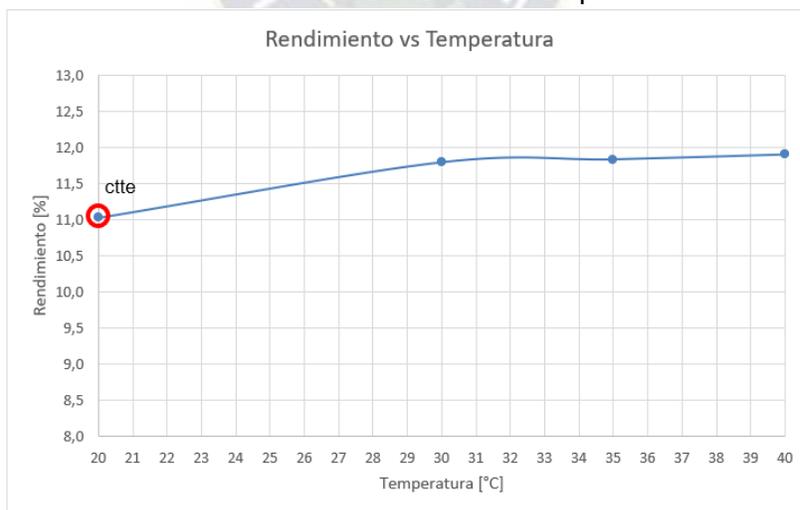


Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Se considero agitación cero para validar la influencia de esta variable que se verifica al tener una agitación de 50rpm con un incremento cercano al 4% en el rendimiento. Posterior a esta velocidad el rendimiento es prácticamente constante. Esta variable se considera constata con el valor de $v_{\text{agitación}}=50$ rpm.

e) Temperatura

Gráfica 6. Rendimiento vs Temperatura



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Se trabajó a una temperatura ambiente casi constante de 20°, a temperaturas elevadas el rendimiento fue prácticamente constante. Esta variable se considera constata con el valor de $T=20^{\circ}\text{C}$.

4.4. Diseño Experimental.

4.4.1. Variables más significativas.

Con las pruebas experimentales se logra determinar las variables más significativas en el proceso de extracción, teniendo así los parámetros variables y constantes.

Tabla 11. Parámetros variables

Factor	Variable	Símbolo	Límite inferior	Límite superior
A	Tamaño de partícula (N° Malla)	t_p	ASTM-18 (1mm)	ASTM-40 (425 μ m)
B	Tiempo de maceración	t_m	3 hrs	24 hrs
C	Relación soluto-solvente	sto/ste	1:10	1:20

Fuente: Elaboración propia

Tabla 12. Parámetros constantes

Variable	Símbolo	Valor constante
Velocidad de agitación	v_a	50 rpm
Temperatura	T	20 °C

Fuente: Elaboración propia

4.4.2. Selección del diseño.

Al tener tres factores (A, B y C), se selecciona un diseño 2^3 .

Gráfica 7. Selección del modelo de diseño

	2	3	4
4	2^2	2^{3-1}_{III}	
8		2^3	2^{4-1}_{IV}
16			2^4

Fuente: Design Expert Versión 12

Por bibliografía al tener un diseño 2^3 se toman dos replicas para obtener así 16 corridas.

4.4.3. Matriz de diseño.

El software nos da la matriz de diseño con los parámetros variables seleccionados, las cuales se evalúan con la variable respuesta que es el rendimiento, el cual se determina experimentalmente para cada secuencia sugerida:

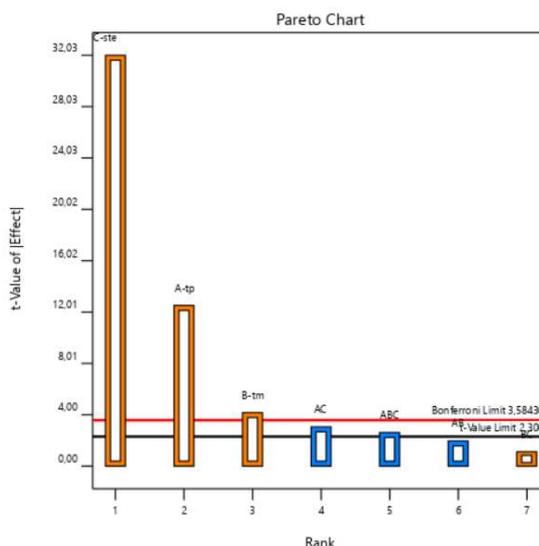
Tabla 13. Matriz de diseño

		Factor 1	Factor 2	Factor 3	Response
		A: t _p	B: t _m	C: ste	Rendimiento
Std	Run	Nº Malla	H	ml	%
2	1	18	3	10	8,06
4	2	40	3	10	7,08
16	3	40	24	20	19,88
11	4	40	3	20	9,41
3	5	40	3	10	7,57
9	6	18	3	20	15,87
15	7	40	24	20	18,97
1	8	18	3	10	7,31
6	9	18	24	10	8,48
8	10	40	24	10	12,63
14	11	18	24	20	17,51
7	12	40	24	10	12,23
5	13	18	24	10	8,11
13	14	18	24	20	18,85
12	15	40	3	20	9,08
10	16	18	3	20	15,47

Fuente: Design Expert Versión 12

4.4.4. Diagrama de Pareto.

Gráfica 8. Diagrama de Pareto

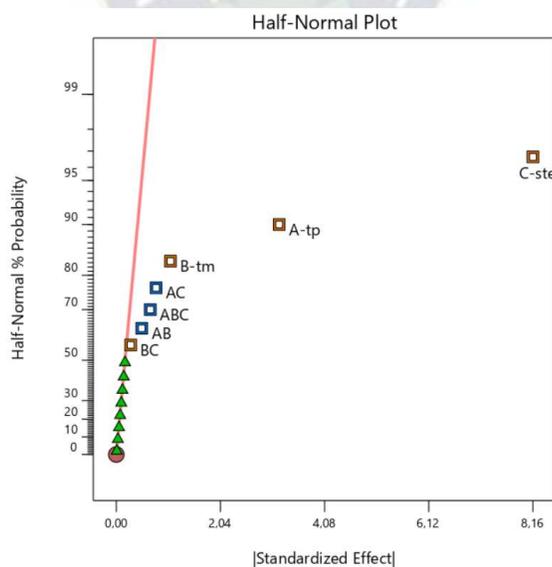


Fuente: Design Expert Versión 12

Interpretación: Se observa como el factor C es el más significativo para el modelo, seguido del factor A y finalmente el B, las interacciones AC y ABC se estiman como significantes, mientras que todas las demás interacciones se ven poco significativas.

4.4.5. Gráfica de Daniel.

Gráfica 9. Gráfica de Daniel



Fuente: Design Expert Versión 12

Interpretación: Respalda las conclusiones dadas en el diagrama de Pareto, donde se ve la significancia del factor C, seguido del A y B.

4.4.6. Matriz ANOVA.

La matriz ANOVA también nos indica que factores e interacciones son las más significantes para el modelo, esto en “p-value” donde si los valores son menores a 0,0500 son términos significantes, valores mayores a este pueden ser descartados y enviados al error.

Tabla 14. Matriz ANOVA

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	316,79	7	45,26	174,53	< 0.0001 significant
A-tp	40,67	1	40,67	156,85	< 0.0001
B-tm	4,51	1	4,51	17,37	< 0,0031
C-ste	266,1	1	266,1	1026,19	< 0.0001
AB	0,995	1	0,995	3,84	0,0858
AC	2,43	1	2,43	9,35	< 0,0156
BC	0,3221	1	0,3221	1,24	0,2974
ABC	1,78	1	1,78	6,85	< 0,0308
Pure Error	2,07	8	0,2593		
Cor Total	318,87	15			

Fuente: Design Expert Versión 12

Interpretación: Se verifica como los factores A, B y C, son significantes para el modelo, así también las interacciones AC y ABC; mientras que las demás interacciones son insignificantes.

4.4.7. Estadísticas de ajuste

Tabla 15. Estadísticas de ajuste

Std. Dev.	0,5092	R²	0,9935
Mean	14,05	Adjusted R²	0,9878
C.V. %	3,62	Predicted R²	0,974
Adeq Precision		32,6044	

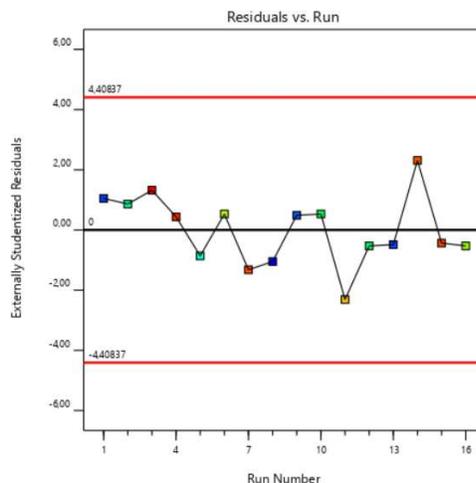
Fuente: Design Expert Versión 12

Interpretación: Las estadísticas de ajuste nos muestran un valor de R cercano a 1 que, valida el modelo, el cual debe asemejarse a un comportamiento lineal, además de que “Adeq Precision” que es la relación señal/ruido igual a 32,6044. Por bibliografía se recomienda que esta relación sea mayor a 4, en este caso cumple lo requerido por lo que el modelo es válido.

4.4.8. Verificación de supuestos.

Se tienen dos gráficas para esta validación, la primera de residuos vs orden de corrida y la segunda de probabilidad normal vs residuos.

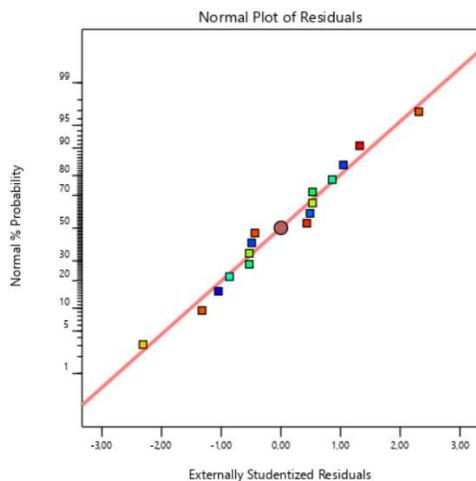
Gráfica 10. Residuos vs Orden de corrida



Fuente: Design Expert Versión 12

Interpretación: En la gráfica se verifica que el principio de independencia se cumple, ya que los residuos caen aleatoriamente en una banda horizontal, es decir no siguen ningún patrón, ya que de violarse esto el análisis puede dar conclusiones incorrectas.

Gráfica 11. Probabilidad normal vs Residuos



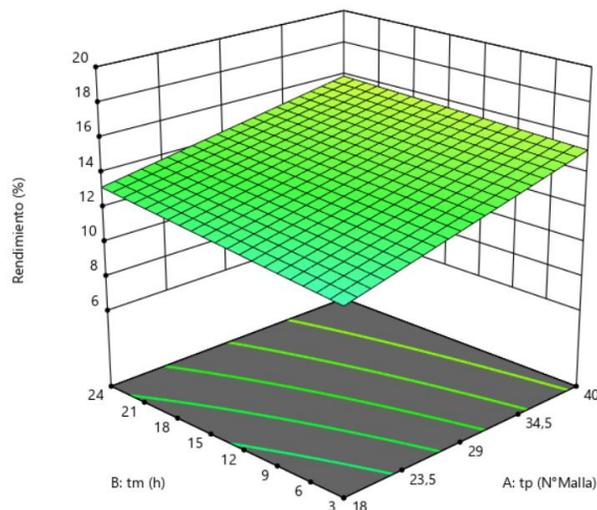
Fuente: Design Expert Versión 12

Interpretación: Se puede observar que también se cumple el supuesto de normalidad de los residuos, ya que estos se ajustan bien a una recta en la gráfica de probabilidad normal, lo que nuevamente valida el modelo.

4.4.9. Superficies de respuesta.

a) Interacción AB:

Gráfica 12. Superficie de respuesta - Interacción AB

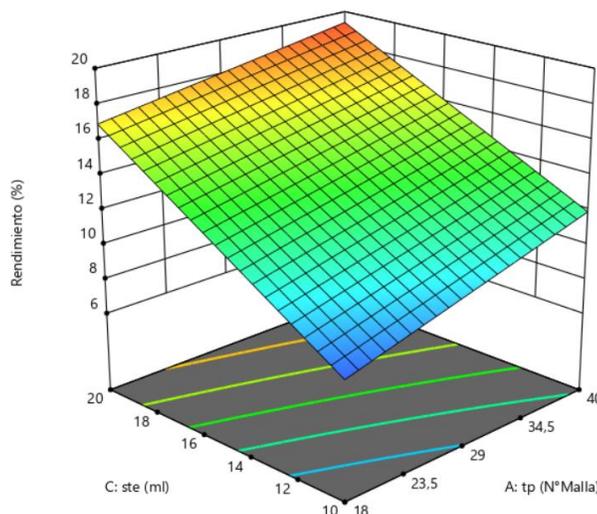


Fuente: Design Expert Versión 12

Interpretación: Se observa como el rendimiento tiene un mejor resultado a menor tamaño de partícula y a mayor tiempo de maceración.

b) Interacción AC:

Gráfica 13. Superficie de respuesta - Interacción AC

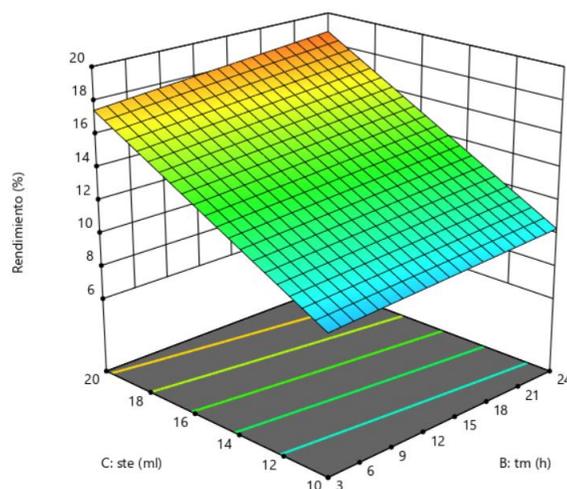


Fuente: Design Expert Versión 12

Interpretación: Se observa como el rendimiento mejora a menor tamaño de partícula y mayor cantidad de solvente; además cabe destacar que la variación del rendimiento en la interacción de estos factores es significativamente más relevante que la de los factores AB.

c) Interacción BC:

Gráfica 14. Superficie de respuesta - Interacción BC



Fuente: Design Expert Versión 12

Interpretación: Se observa como el rendimiento mejora a mayor tiempo de maceración y mayor cantidad de solvente, donde la zona de color naranja indica un alto rendimiento.

4.4.10. Mejores condiciones de extracción.

Obtenemos las mejores condiciones en el proceso de extracción de las hojas de llantén, condiciones que dan como resultado el mejor rendimiento, teniendo para los parámetros variables los siguientes valores:

Tabla 16. Mejores condiciones de extracción

Variable	Símbolo	Valor
Tiempo de maceración	t_m	24 h
Tamaño de partícula (N° Malla)	t_p	N° 40
Relación soluto/solvente	sto/ste	1:20

Fuente: Elaboración propia

4.4.11. Modelo matemático.

El software nos da un modelo matemático en función a los parámetros variables siendo este:

$$\eta = -3,05825 + 0,163474 * t_p - 0,178312 * t_m + 0,758617 * ste + 0,006494 * t_p * t_m + 0,000708 * t_p * ste + 0,019431 * t_m * ste - 0,000577 * t_p * t_m * ste \dots \dots (4.1)$$

Con el cual y con las mejores condiciones de extracción obtenemos el rendimiento teórico:

$$\eta_{teórico} = 19,4\%$$

4.5. Caracterización del producto.

4.5.1. Extracción a las mejores condiciones de extracción.

Con ayuda del diseño experimental, determinamos las mejores condiciones de extracción, las cuales vienen dadas en la siguiente tabla:

Tabla 17. Mejores condiciones de extracción

Variable	Símbolo	Valor
Temperatura	T	20 °C
Velocidad de agitación	v_{ag}	50 rpm
Tiempo de maceración	t_m	24 h
Tamaño de partícula (N° Malla)	t_p	N° 40
Relación soluto/solvente	sto/ste	1:20

Fuente: Elaboración propia

Con estas condiciones, obtenemos el rendimiento experimental a las mejores condiciones de extracción, utilizando esta vez como solvente metanol 9:1.

$$\eta_{exp} = 18,6 \%$$

Comparando estos rendimientos experimentales con el teórico tenemos un porcentaje de diferencia igual a:

$$\%Dif = 4,1\%$$

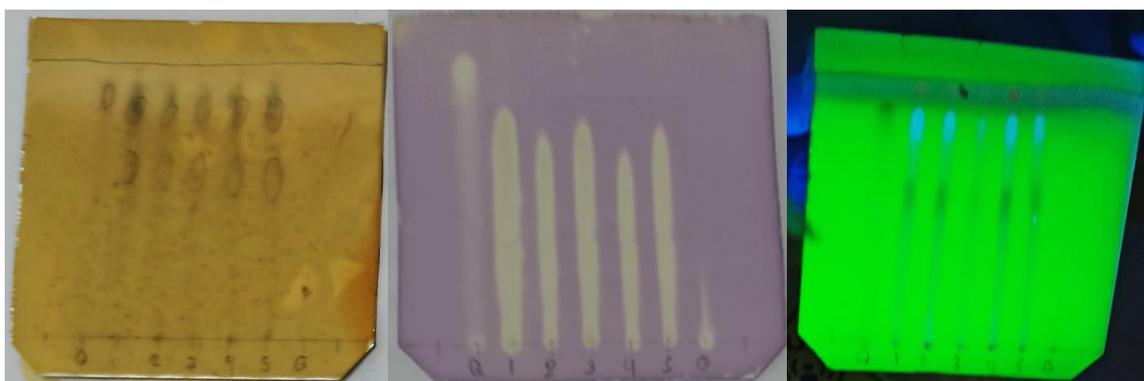
Teniendo una diferencia menor al 5% por lo que es un valor dentro de lo esperado.

4.5.2. Identificación por placas cromatográficas.

Se hace la siembra de los cinco extractos sujetos a análisis, donde el primero es el extracto a las mejores condiciones de extracción; además de dos puntos adicionales uno de Quercetina y otro de Ácido Gálico como patrones. El solvente utilizado es una mezcla de 60% cloroformo y 40% metanol.

Se marcan los compuestos eluidos, obteniendo 2 compuestos identificables en la placa, los cuales se revelaron con cloruro férrico, DPPH y luz UV.

Figura 33. Revelado con cloruro férrico, DPPH y Luz UV



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En las tres placas se observa la presencia de los compuestos, cabe destacar que el punto sembrado de Quercetina eluyó casi a la par de todas las muestras de extractos, en cambio el del ácido gálico eluyó una distancia muy corta.

- ✓ En la placa revelada con cloruro férrico, se aprecian dos manchas de coloración oscura, uno muy a la par de la quercetina identificando un flavonoide de estructura muy similar a la quercetina y otro algo más alejado que debe presentar una estructura diferente.
- ✓ En la placa revelada con DPPH, se observa un recorrido muy notorio de los extractos y la quercetina, esto comprobando la existencia de flavonoides y su alto poder antioxidante.
- ✓ En la placa revelada con Luz UV se observan dos compuestos en cada extracto, uno con un color algo oscuro y otro con uno azul fosforescente, demostrando la presencia de flavonoides.

4.5.3. Determinación del factor de retención R_f.

Determinamos el factor de retención, el cual viene dado por:

$$R_f = \frac{d_m}{d_s} \dots \dots (4.2)$$

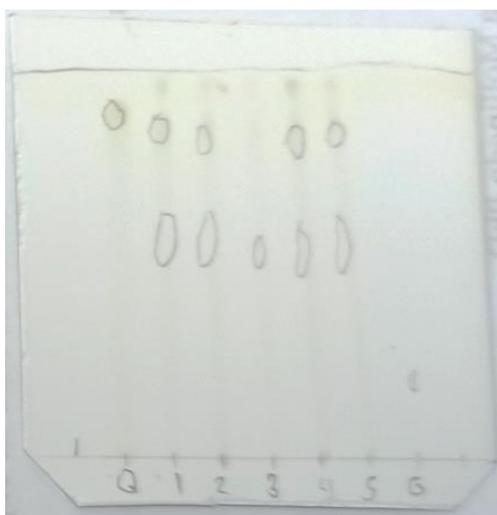
Donde:

d_M es la distancia que recorre la muestra

d_s es la distancia que recorre el solvente

A continuación, se muestra la placa sin ningún revelador, donde se midieron las distancias para el cálculo del R_f.

Figura 34. Placa cromatográfica sin revelador



Fuente: Elaboración propia

Con lo cual calculamos los valores del factor de retención para la quercetina y el ácido gálico:

Tabla 18. Factores de Retención para la quercetina y ácido gálico

Muestra	ds [cm]	dm [cm]	Rf
Quercetina	3,90	3,60	0,92
Ácido Gálico	3,90	0,65	0,17

Fuente: Elaboración propia

También se determinan los valores de los factores de retención para los extractos:

Tabla 19. Factor de retención para el extracto a las mejores condiciones

Muestra	ds [cm]	dm ₁ [cm]	dm ₂ [cm]	Rf ₁	Rf ₂
M.Con.	3,90	3,40	2,40	0,87	0,62

Fuente: Elaboración propia

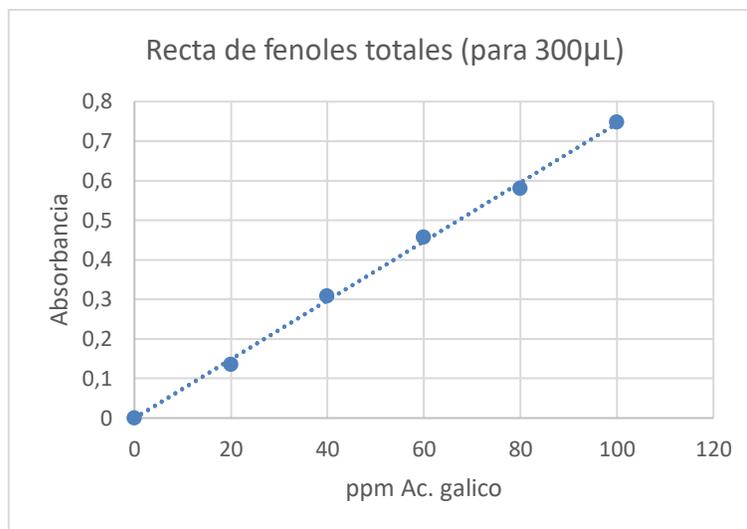
Interpretación: Los valores de Rf₁ muestran mucha proximidad con el valor de Rf de la quercetina, lo que nos comprueba la existencia de un flavonoide con una estructura similar a la quercetina; en cambio los valores de Rf₂ que también tienen un poder antioxidante muy fuerte muestran la presencia de otro flavonoide de estructura no tan similar a la quercetina, pero que si está presente en el extracto.

El valor del Rf para el ácido gálico muestra que no existen compuestos con una estructura similar a este fenol, pero si con estructuras similares a la quercetina que es un flavonoide.

4.5.4. Determinación de Fenoles totales.

Se construye la recta de calibrado con ácido gálico para celdas de 300 μL , graficando:

Gráfica 15. Recta de calibrado de ácido gálico



Fuente: Elaboración propia

La ecuación de la recta de calibrado viene dada por:

$$A_{FT} = 0,0074 * C_{FT} \dots \dots (4.3)$$

Los equivalentes de ácido gálico o GAE, se calculan con la siguiente expresión:

$$GAE \left[\frac{\mu\text{mol}}{\text{g}} \right] = \frac{\text{Abs}}{\text{pendiente}} * \left(\frac{S + B}{H} \right) * \left(\frac{H - P}{S} \right) * \frac{f_d}{PM_{\text{ác.gálico}}} \dots \dots (4.4)$$

Para el extracto obtenemos:

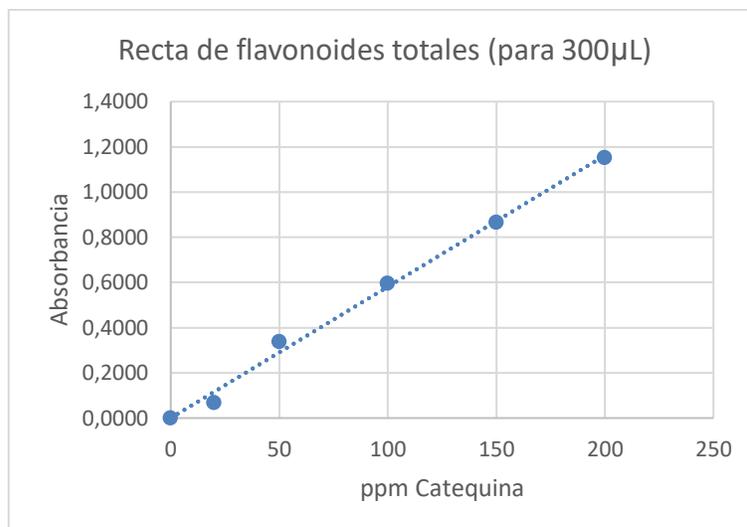
$$GAE = 34,86 \frac{\mu\text{mol eq. ác. gálico}}{\text{g muestra}}$$

Interpretación: Se obtiene una cantidad considerable de equivalentes de ácido gálico en el extracto a las mejores condiciones, esto quiere decir que existe esa cantidad de componentes similares a este fenol por gramo de muestra.

4.5.5. Determinación de Flavonoides totales.

Se construye la recta de calibrado con catequina para celdas de 300 μL , graficando:

Gráfica 16. Recta de calibrado de catequina



Fuente: Elaboración propia

La ecuación de la recta de calibrado viene dada por:

$$A_{FLT} = 0,0058 * C_{FLT} \dots \dots (4.5)$$

Los equivalentes de catequina o CAE, se calculan con la siguiente expresión:

$$CAE \left[\frac{\mu\text{mol}}{\text{g}} \right] = \frac{Abs}{pendiente} * \left(\frac{S+B}{H} \right) * \left(\frac{H-P}{S} \right) * \frac{f_d}{PM_{catequina}} \dots \dots (4.6)$$

Para el extracto obtenemos:

$$CAE = 23,28 \frac{\mu\text{mol eq. catequina}}{\text{g muestra}}$$

Interpretación: Se obtiene una cantidad considerable de equivalentes de catequina en el extracto a las mejores condiciones, esto quiere decir que existe esa cantidad de componentes similares a este flavonoide por gramo de muestra. El valor determinado es menor al de fenoles totales, esto era esperado debido a que los flavonoides son un subgrupo de los fenoles.

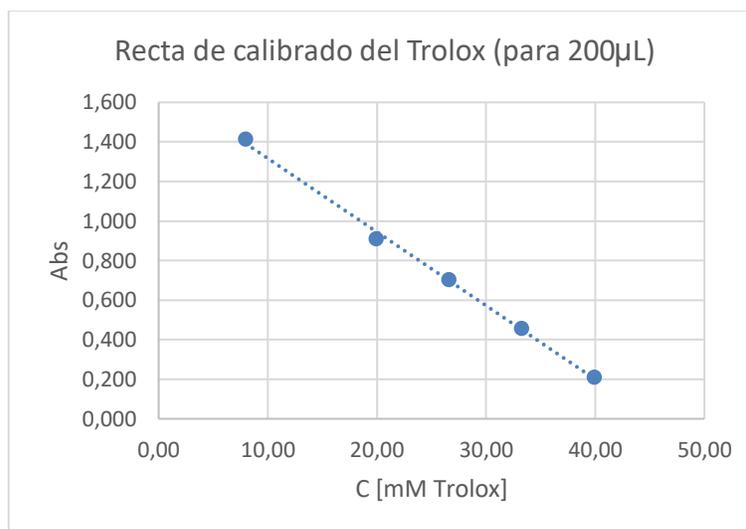
4.5.6. Evaluación de la actividad antioxidante.

Para la evaluación de la actividad antioxidante se determina el porcentaje de inhibición, el cual mientras más cercano sea a 100% indica que es un mejor antioxidante, para este estudio se tomó en cuenta a dos reactivos para construir rectas de calibrado, el Trolox y la Quercetina.

4.5.6.1. Trolox

Se construye la recta de calibrado con trolox para celdas de 200 μ L, graficando:

Gráfica 17. Recta de calibrado del Trolox



Fuente: Elaboración propia

La ecuación de la recta de calibrado viene dada por:

$$A_T = 1,6888 - 0,0372 * C_T \dots \dots (4.7)$$

El porcentaje de inhibición viene dado por:

$$\%I_{DPPH} = \left(1 - \frac{Abs_x}{Abs_{DPPH}}\right) * 100 \dots \dots (4.8)$$

Donde obtenemos los equivalentes de trolox y el porcentaje de inhibición;

$$E.T. = 1,17 \frac{\mu mol \text{ eq. trolox}}{g \text{ muestra}}$$

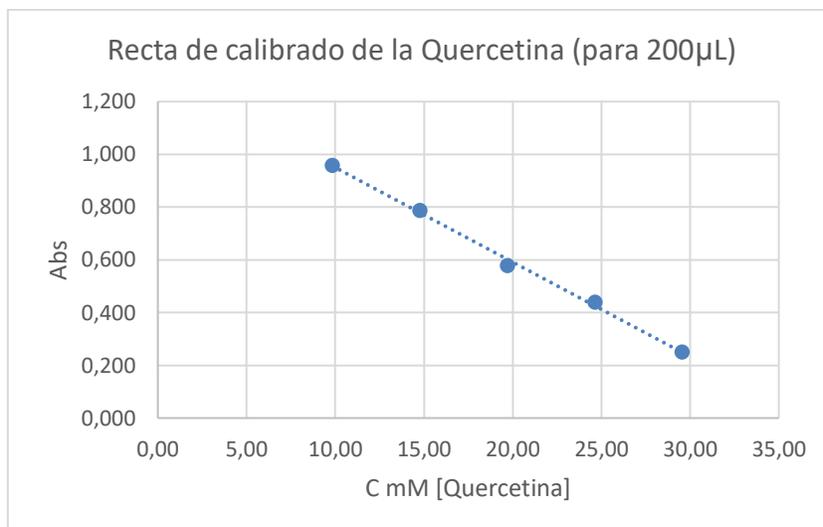
$$\%I_{DPPH} = 78,2\%$$

Interpretación: Se observa que el porcentaje de 78,2% arroja un valor alto de inhibición por parte del radical libre DPPH, lo que demuestra la capacidad antioxidante del llantén debido a la presencia de compuestos fenólicos equivalentes a la capacidad del compuesto de referencia Trolox.

4.5.6.2. Quercetina

Se construye la recta de calibrado con quercetina para celdas de 200 μ L, graficando:

Gráfica 18. Recta de calibrado de la Quercetina



Fuente: Elaboración propia

La ecuación de la recta de calibrado viene dada por:

$$A_Q = 1,3084 - 0,0359 * C_Q \dots \dots (4.9)$$

El porcentaje de inhibición viene dado por:

$$\%I_{DPPH} = \left(1 - \frac{Abs_x}{Abs_{DPPH}}\right) * 100 \dots \dots (4.10)$$

Donde obtenemos los equivalentes de trolox y el porcentaje de inhibición;

$$E. Q. = 0,73 \frac{\mu\text{mol eq. quercetina}}{\text{g muestra}}$$

$$\%I_{DPPH} = 67,9\%$$

Interpretación: Se observa que el porcentaje de 67,9% arroja un valor alto de inhibición por parte del radical libre DPPH, lo que demuestra la capacidad antioxidante del llantén debido a la presencia a la presencia de compuestos fenólicos equivalentes a la capacidad del compuesto de referencia Quercetina. El valor medido es menor al del análisis con trolox debido a que el patrón utilizado es un flavonoide que es un subgrupo de los fenoles por lo tanto se excluye gran parte de la actividad de los fenoles en este análisis.

4.6. Análisis de costos

4.6.1. Producto referencial.

Según estudios estadísticos realizados en la ciudad de La Paz y El Alto, el principal grupo de riesgo de enfermedades cardiovasculares son personas del género femenino de 45 años para adelante¹³, por consiguiente, el principal consumidor, en el mercado nacional no hay productos disponibles que sean utilizados para tratar este tipo de afecciones con productos a base de flavonoides. A nivel internacional, existe el producto denominado Flavoxan.

Este suplemento alimenticio, rico en flavonoides de origen vegetal, se utiliza para proteger las células del daño oxidativo y como apoyo en la lucha contra enfermedades degenerativas y cardiovasculares.

Figura 35. Flavoxan como suplemento alimenticio



Fuente: Bonusan. (2023). <https://www.bonusan.es/es-ES/>

Con las siguientes características:

Tabla 20. Características del Flavoxan

Característica	Presentación
Presentación	Frasco
Cantidad de capsulas blandas	60
Cantidad de principio activo p/cápsula	157 mg Flavonoides totales
Precio	30 \$us (208 Bs)

Fuente: Bonusan. (2023). <https://www.bonusan.es/es-ES/>

¹³ Figueredo F. (2018) *Perfil de mortalidad cardiovascular en las ciudades de La Paz y El Alto*. Bolivia. Pág. 40.

4.6.2. Características del producto propuesto.

Estas son:

Tabla 21. Características del producto

Característica	Presentación
Presentación	Frasco
Cantidad de capsulas blandas	150
Cantidad del principio activo	1000 µg Flavonoides totales

Fuente: Elaboración propia

Realizando un análisis estimado de costos tenemos (ANEXO Q).

Tabla 22. Análisis de costos para el precio estimado

Factor	Precio [Bs]
Materia prima	900
Mano de obra	700
Análisis químicos	660
Gastos generales de fabricación	600
Energía y servicios públicos	200
Costos administrativos	60
Costos de comercialización	60
Solvente recuperado	-450
Total	2730

Fuente: Elaboración propia

Para cada frasco:

$$\frac{2730 \text{ Bs}}{25 \text{ frascos}} = 109,20 \frac{\text{Bs}}{\text{frasco}}$$

Agregamos el IVA del 13% el IT del 3% y el margen de utilidad del 30%, con lo que tendríamos un precio estimado de venta igual a:

$$\text{Precio} = 159,40 \frac{\text{Bs}}{\text{Frasco}}$$

CAPÍTULO 5. DISEÑO DEL EXTRACTOR

5.1. Extractor a Nivel Laboratorio.

Para el diseño del extractor partimos de valores obtenidos a nivel laboratorio, los cuales son medidos experimentalmente y son necesarios para realizar los cálculos para el diseño, estos vienen dados en la siguiente tabla:

Tabla 23. Parámetros y valores del extractor nivel laboratorio

Parámetro	Valor	Valor en el S.I.
Densidad del solvente	0,8729 g/ml	872,9 kg/m ³
Densidad del extracto	0,8851 g/ml	885,1 kg/m ³
Viscosidad del extracto	1,817*10 ⁻³ Pa-s	1,817*10 ⁻³ Pa-s
Diámetro del agitador	2,5 cm	0,0250 m

Fuente: Elaboración propia.

Y las mejores condiciones de extracción determinadas:

Tabla 24. Mejores condiciones de extracción

Variable	Símbolo	Valor	Valor en el S.I.
Temperatura	T	20 °C	293 K
Velocidad del agitador	v _a	50 rpm	0,83 rev/s
Tiempo de maceración	t _m	24 h	86400 s
Tamaño de partícula (N° Malla)	t _p	N°40	425*10 ⁻⁶ m
Relación soluto/solvente	sto/ste	1:20	2*10 ⁻⁵ m ³

Fuente: Elaboración propia.

5.1.1. Cálculo del número de Reynolds.

El número de Reynolds viene dado por:

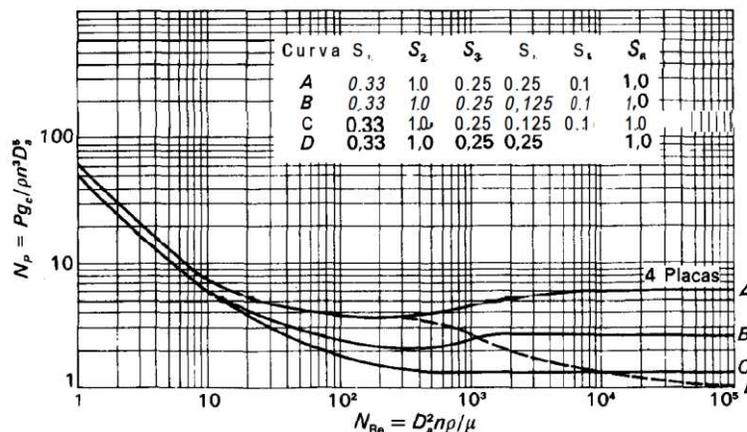
$$N_{Re} = \frac{N D_a^2 \rho_{ex}}{\mu_{ex}} \dots \dots (5.1)$$

$$N_{Re} = \frac{0,83 \frac{rev}{s} * (0,0250m)^2 * \left(885,1 \frac{kg}{m^3}\right)}{1,817 * 10^{-3} Pa - s}$$

$$N_{Re} = 253,61$$

Con el valor del número de Reynolds, obtenemos el valor del número de potencia de la gráfica:

Gráfica 19. Número de potencia vs Número de Reynolds



Fuente: McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*

Donde haciendo intersección con la curva A, el número de potencia será igual a:

$$N_p = 4$$

5.1.2. Determinación de la potencia del impulsor.

Para el cálculo de la potencia del impulsor, se lo hace a partir del número de potencia:

$$P = N_p * \rho * N^3 * D_a^5 \dots \dots (5.2)$$

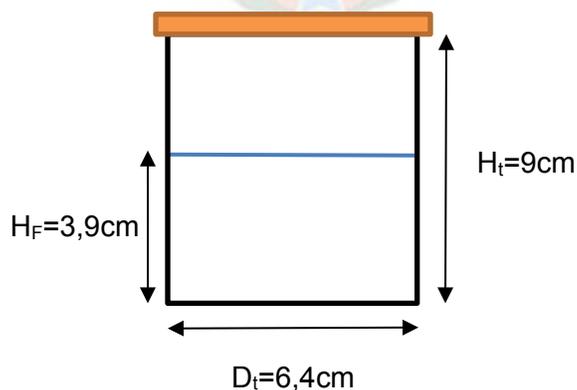
$$P = 4 * 885,1 \frac{kg}{m^3} * \left(0,83 \frac{rev}{s}\right)^3 * (0,025m)^5$$

$$P = 1,99 * 10^{-5} W$$

5.1.3. Dimensiones del tanque a nivel laboratorio.

Todas las pruebas experimentales se realizaron en un recipiente de forma cilíndrica como se muestra a continuación:

Figura 36. Dimensiones del tanque nivel laboratorio



Fuente: Elaboración propia

Donde podemos recopilar los valores para la extracción a nivel laboratorio siendo estos:

Tabla 25. Dimensiones del tanque extractor nivel laboratorio

Parámetro	Símbolo	Valores
Volumen del tanque	V_t	289,53 cm ³
Volumen del fluido	V_F	100 cm ³
Altura del tanque	$H_{(t)}$	9,00 cm
Altura del fluido	$H_{(F)}$	3,90 cm
Diámetro del tanque	$D_{(t)}$	6,40 cm
Número de Reynolds	N_{Re}	253,61
Número de potencia	N_p	4
Potencia del agitador	P	$1,99 \cdot 10^{-5}$ W

Fuente: Elaboración propia

5.2. Diseño del extractor a Nivel Bench Scale.

5.2.1. Análisis previo para el diseño del equipo.

Partimos de un estimado de producción de 25 frascos cada uno con 150 capsulas, donde cada capsula contiene 1000ug del componente activo, en nuestro caso flavonoides totales, y de la relación obtenida en la cuantificación de flavonoides totales de 23,2845 μmol equivalentes Flavonoides Totales / g extracto seco.

$$25 \text{ frascos} * \frac{150 \text{ cápsulas}}{1 \text{ frasco}} * \frac{1000 \mu\text{gFlaTot}}{1 \text{ cápsula}} * \frac{1 \mu\text{mol FlaTot}}{290,26 \mu\text{g FlaTot}} * \frac{1 \text{g extracto seco}}{23,28 \mu\text{mol eq. Flav. Tot}}$$

$$m_{\text{extracto seco}} = 554,85 \text{ g}$$

La cantidad de hojas secas necesarias para este fin vendrá relacionada con el rendimiento máximo obtenido en el diseño experimental:

$$\eta_{\text{máx}} = 19,4\%$$

Entonces:

$$554,85 \text{ g extracto seco} * \frac{100 \text{ g hojas secas}}{19,4 \text{ g extracto seco}} = 2856,72 \text{ g hojas secas}$$

$$\text{Materia prima a utilizar} = 2,86 \text{ kg hojas secas}$$

Se utilizo una relación soluto/solvente 1:20, entonces la masa de etanol al 70% a utilizar será:

$$2,86 \text{ kg hojas secas} * \frac{1000 \text{ g hojas secas}}{1 \text{ kg hojas secas}} * \frac{20 \text{ ml solvente}}{1 \text{ g hojas secas}} * \frac{0,8729 \text{ g ste}}{1 \text{ ml ste}} * \frac{1 \text{ kg ste}}{1000 \text{ g ste}}$$

$$m_{\text{solvente}} = 49,87 \text{ kg solvente}$$

Cálculo del volumen de etanol al 70% a utilizar:

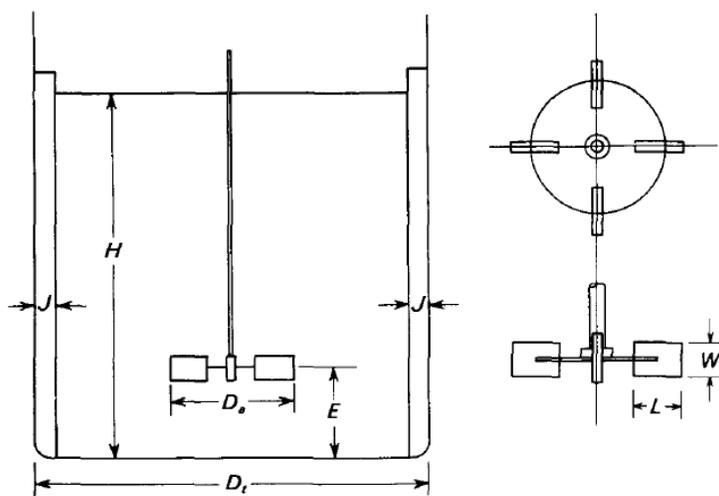
$$V_{\text{solvente}} = 49,87 \text{ kg} * \frac{1 \text{ m}^3}{872,9 \text{ kg}} * \frac{1000 \text{ L}}{1 \text{ m}^3}$$

$$V_{\text{solvente}} = 57,13 \text{ L}$$

5.2.2. Dimensiones del extractor.

Las dimensiones a ser calculadas se detallan en el siguiente gráfico:

Figura 37. Dimensiones del tanque nivel Bench Scale



Fuente: McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*

5.2.3. Determinación del diámetro.

Por fines de diseño el extractor tiene un volumen de fluido de 57,13 litros ya que este cumple con el objetivo planteado de tener un tanque de extracción a nivel Bench Scale, considerando:

$$D_t = H_t \dots \dots (5.3)$$

Tenemos que:

$$D_t = \sqrt[3]{\frac{4 * V}{\pi}} \dots \dots (5.4)$$

$$D_t = \sqrt[3]{\frac{4 * 0,0571 \text{ m}^3}{\pi}}$$

$$D_t = 0,42 \text{ m}$$

5.2.4. Sobredimensionamiento para el tanque.

Consideramos un sobredimensionamiento igual al 15%, por lo tanto, el volumen del tanque es:

$$V_T = 1,15 * V_t \dots \dots (5.5)$$

$$V_T = 1,15 * 0,0571 \text{ m}^3$$

$$V_T = 0,07 \text{ m}^3$$

5.2.5. Determinación de la altura del extractor.

Con el nuevo volumen ya considerando el sobredimensionamiento tenemos:

$$H_t = \frac{4 * V_T}{\pi * D_t^2} \dots \dots (5.6)$$

$$H_t = \frac{4 * 0,07 \text{ m}^3}{\pi * (0,42 \text{ m})^2}$$

$$H_t = 0,48 \text{ m}$$

5.2.6. Determinación del diámetro del agitador.

De la relación dada:

$$\frac{D_a}{D_t} = \frac{1}{3} \dots \dots (5.7)$$

$$D_a = \frac{D_t}{3} = \frac{0,42}{3}$$

$$D_a = 0,14 \text{ m}$$

5.2.7. Determinación de la altura del fluido.

De la relación dada:

$$\frac{E}{D_a} = 1 \dots \dots (5.8)$$

$$E = D_a$$

$$E = 0,14 \text{ m}$$

5.2.8. Determinación de la altura del agitador.

De la relación dada:

$$\frac{W}{D_a} = \frac{1}{5} \dots \dots (5.9)$$

$$W = \frac{D_a}{5} = \frac{0,14}{5}$$

$$W = 0,03 \text{ m}$$

5.2.9. Determinación del ancho del agitador.

De la relación dada:

$$\frac{L}{D_a} = \frac{1}{4} \dots \dots (5.10)$$

$$L = \frac{D_a}{4} = \frac{0,14}{4}$$

$$L = 0,04 \text{ m}$$

5.2.10. Determinación de la razón del aumento de escala.

Para el cálculo del aumento de escala R, tenemos:

$$R = \left(\frac{V_2}{V_1} \right)^{\frac{1}{3}} \dots \dots (5.11)$$

Haciendo referencia a los sufijos 1 y 2, se utiliza el sufijo 1 para las dimensiones a nivel laboratorio y el sufijo 2 para las dimensiones en la escala Bench, ambos volúmenes se refieren al volumen de solvente, reemplazando datos:

$$R = \left(\frac{0,0571}{0,0001} \right)^{\frac{1}{3}} = 8,30$$

El cálculo del diámetro ayuda a determinar las demás dimensiones del tanque a la nueva escala definida, se calcula multiplicando el factor de aumento de escalamiento R:

5.2.11. Determinación de la velocidad rotacional.

$$N_2 = N_1 * \left(\frac{1}{R} \right)^n \dots \dots (5.12)$$

Siendo $n=2/3$, que es utilizado para iguales tasas de transferencia de masa:

$$N_2 = 0,83 * \left(\frac{1}{8,30} \right)^{\frac{2}{3}}$$

$$N_2 = 0,20 \frac{rev}{s}$$

5.2.12. Cálculo del número de Reynolds.

De la ecuación (5.1):

$$N_{Re} = \frac{(0,14m)^2 * \left(0,20 \frac{rev}{s}\right)^2 * 885,1 \frac{kg}{m^3}}{0,001817 Pa - s}$$

$$N_{Re} = 389,55$$

Con el valor del número de Reynolds, obtenemos el valor del número de potencia de la Gráfica 22 haciendo intersección con la curva A, el número de potencia será igual a:

$$N_p = 4$$

5.2.13. Determinación de la potencia del impulsor.

Para el cálculo de la potencia del impulsor, se lo hace a partir del número de potencia:

$$P = N_p * \rho * N_2^3 * D_a^5 \dots \dots (5.13)$$

$$P = 4 * 885,1 \frac{kg}{m^3} * \left(0,20 \frac{rev}{s}\right)^3 * (0,14m)^5$$

$$P = 0,0015 W$$

5.2.14. Pérdida de eficiencia de potencia.

La pérdida de eficiencia por la altura tiene una relación de 1% de pérdida por cada 100 metros de altura, por lo tanto, para la ciudad de La Paz la pérdida considerada es igual al 36%, determinamos la potencia efectiva:

$$P_{ef} = 1,36 * P$$

$$P_{ef} = 1,36 * 0,0015 W$$

$$P_{ef} = 2,04 * 10^{-3} W$$

Al tener una potencia tan baja se elige un motor para un agitador con la potencia más baja del mercado, siendo este de:

$$P_{ef} = 15 W$$

5.3. Valores y parámetros del extractor a nivel Bench Scale.

Se detallan a continuación:

Tabla 26. Valores para el diseño del extractor a nivel Bench Scale

Parámetro	Símbolo	Valores en el S.I.
Masa de hojas secas	m	0,55 kg
Volumen del solvente	V_F	57,13 L
Altura del tanque	H_t	0,48 m
Diámetro del tanque	D_t	0,42 m
Diámetro del agitador	D_a	0,14 m
Altura del fluido	E	0,14 m
Altura del agitador	W	0,03 m
Ancho del agitador	L	0,04 m
Velocidad Rotacional	N	0,20 rev/s
Número de Reynolds	N_{Re}	389,55
Número de potencia	N_P	4
Potencia del agitador	P_{ef}	15 W

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO 6. ESTUDIO FENOMENOLÓGICO

6.1. Datos experimentales.

Partimos de los datos experimentales que muestran la relación entre el rendimiento y el tiempo de extracción (Gráfica 20). Estos datos se encuentran dentro del rango en el que el rendimiento presenta una variación significativa en función del tiempo de extracción, mostrando un comportamiento lineal.

Gráfica 20. Rendimiento vs tiempo de extracción (Experimental)



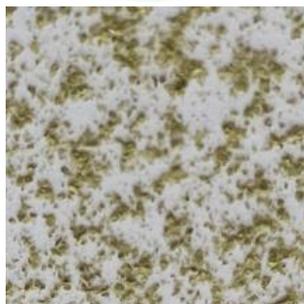
Fuente: Elaboración propia

6.2. Consideraciones previas.

Tomamos en cuenta las consideraciones para elegir y aplicar un modelo matemático:

- ✓ La partícula se considera esférica con un radio igual e uniforme para todas las partículas.

Figura 38. Partícula considerada para el análisis



Fuente: Elaboración propia

- ✓ El coeficiente de difusión debe ser una constante independiente del radio de la partícula sólida.
- ✓ La estructura sólida debe ser homogénea e isotrópica, es decir que posee las mismas propiedades en todas las direcciones.
- ✓ La temperatura es homogénea en todo el sistema.

6.3. Modelo “Y”

6.3.1. Segunda Ley de Fick.

El modelo seleccionado es la segunda ley de difusión de Fick, el método de cálculo utilizará logaritmos naturales, para un posterior análisis de regresión lineal de una relación de la cantidad de soluto con respecto al tiempo para así determinar el coeficiente de difusividad efectiva. La ecuación diferencial que describe el proceso de difusión es:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -D_{eff} * \frac{\partial^2 C}{\partial r^2} \dots \dots (6.1)$$

6.3.2. Consideraciones para la resolución de la segunda Ley de Fick.

Para la solución de la ecuación (6.1), consideramos las condiciones:

Condiciones iniciales: para $t=0$; $C=0$

Condiciones límite: para $r=0$; $C=0$ y para $r=r$; $C=C_M$

La solución de la ecuación (6.1) toma la forma:

$$\frac{(C_M - C)}{(C_M - C_{t=t_0})} = \sum_{i=1}^{\infty} \frac{6}{i^2 * \pi^2} * e^{-\frac{i^2 * \pi^2}{4 * r^2} * D_{eff}(t-t_0)} \dots \dots (6.2)$$

Para tiempos largos, la serie de la ecuación (6.2) converge y en consecuencia para fines prácticos solo unos pocos puntos son suficientes, de hecho, todos los puntos de la serie excepto por el primero son despreciables.

Para fines prácticos la relación de concentraciones se transforma en una relación másica. La solución de la ecuación (6.2) viene dada en la ecuación (6.3).

$$\frac{(Y_M - Y)}{(Y_M - Y_{t=t_0})} = e^{-D_{eff} * \frac{\pi^2}{4 * r^2} * (t-t_0)} \dots \dots (6.3)$$

Donde:

Y_M es la cantidad máxima de soluto extraído cuando el tiempo tiende al infinito.

Y es la cantidad de soluto extraída en el tiempo "t".

$Y_{t=t_0}$ es la cantidad de soluto al inicio a un tiempo inicial "t₀".

D_{eff} es el coeficiente de difusividad efectiva del soluto.

r es el radio de la partícula.

Aplicamos logaritmos naturales para linealizar la ecuación (6.3) y obtenemos:

$$\ln\left(\frac{Y_M - Y}{Y_M - Y_{t=t_0}}\right) = -D_{eff} * \frac{\pi^2}{4 * r^2} * (t - t_0) \dots \dots (6.4)$$

Consideramos que para un $t_0=0$ tenemos $Y_{t=0}=0$, entonces la ecuación (6.4) toma la forma:

$$\ln\left(\frac{Y_M - Y}{Y_M}\right) = -D_{eff} * \frac{\pi^2}{4 * r^2} * t \dots \dots (6.5)$$

Ecuación que nos servirá para tener un valor estimado del coeficiente de difusión efectivo a partir de la pendiente de la recta; para este análisis utilizaremos datos experimentales.

6.3.3. Determinación del coeficiente de difusión efectivo.

Con los datos experimentales (Gráfica 20) y la ecuación (6.5) obtenemos por regresión lineal la ecuación:

$$y = -0,1872 - 0,0369 * x \dots \dots (6.6)$$

Haciendo semejanza con la ecuación (6.5) tenemos:

$$\ln\left(\frac{Y_M - Y}{Y_M}\right) = -0,1872 - 0,0369 * t \dots \dots (6.7)$$

Por semejanza la pendiente de la recta viene dada por:

$$b = -D_{eff} * \frac{\pi^2}{4 * r^2} \dots \dots (6.8)$$

Entonces la difusividad efectiva será:

$$D_{eff} = 0,75 * 10^{-12} \frac{m^2}{s}$$

El cual se encuentra en el rango de otros coeficientes de difusión para sólidos que comprende un rango entre 10^{-12} a 10^{-10} m²/s (Varzakas, 2005), lo que valida el coeficiente determinado.

6.3.4. Determinación del coeficiente de transferencia de masa (k).

Utilizamos el modelo de Lakota & Levec, el cual relaciona el Sherwood con el número de Reynolds y Schmidt.

$$Sh = 0,487 * Re^{0,495} Sc^{1/3} \dots \dots (6.9)$$

Donde estos números vienen dados por:

$$Sh = \frac{k * d_p}{D_{eff}} \dots \dots (6.10) \quad Sc = \frac{\mu}{\rho * D_{eff}} \dots \dots (6.11)$$

Obteniendo un valor de coeficiente de transferencia de masa igual a:

$$k = 1,03 * 10^{-3} \left[\frac{\frac{mol}{s}}{m^2 * \frac{mol}{m^3}} \right] \text{ ó } \left[\frac{m}{s} \right]$$

Valor que se encuentra en el rango de coeficientes de transferencia de masa entre sólidos y líquidos de 10^{-5} a 10^{-3} m/s (Varzakas, 2005).

6.4. Modelo “Q”

6.4.1. Segunda Ley de Fick.

El modelo seleccionado es la segunda ley de difusión de Fick, el método de cálculo utilizará logaritmos naturales, para un posterior análisis de regresión lineal de una relación de la cantidad de soluto con respecto al tiempo para así determinar el coeficiente de difusividad efectiva. La difusividad efectiva del sólido es constante en toda la esfera y la ecuación diferencial que describe el proceso de difusión en coordenadas esféricas es:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -D_{eff} * \left(\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{2\partial C}{r\partial r} \right) \dots \dots (6.12)$$

6.4.2. Consideraciones para la resolución de la segunda Ley de Fick.

Para la solución de la ecuación (6.12), consideramos las condiciones:

Condiciones iniciales: para $t=0$; $C=C_0$

Condiciones límite: para $r=0$; $C=0$ y para $r=a$; $C=C$

La solución matemática de la ecuación diferencial (6.12) puede ser determinada por:

$$\frac{C}{C_0} = -\frac{2a}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} * e^{-\frac{D_{eff} * n^2 * \pi^2 * t}{a^2}} * \sin \frac{n\pi r}{a} \dots \dots (6.13)$$

Para tiempos largos, la serie de la ecuación (6.13) converge y en consecuencia para fines prácticos solo unos pocos puntos son suficientes, de hecho, todos los puntos de la serie excepto por el primero son despreciables.

Para fines prácticos la relación de concentraciones se transforma en una relación másica. La solución de la ecuación (6.13) viene dada en la ecuación (6.14).

$$\frac{Q}{Q_0} = -\frac{6}{\pi^2} * e^{-\pi^2 * \frac{D_{eff} * t}{r^2}} \dots \dots (6.14)$$

Donde:

Q es la cantidad de extracto remanente en un tiempo "t"

Q₀ es la cantidad de extracto inicial

Aplicamos logaritmos naturales para linealizar la ecuación (6.14) y obtenemos:

$$\ln \frac{Q}{Q_0} = -0,498 - \frac{9,87 * D_{eff}}{r^2} * t \dots \dots (6.15)$$

6.4.3. Determinación del coeficiente de difusión efectivo.

Con los datos experimentales (Gráfica 20) y la ecuación (6.15) obtenemos por regresión lineal la ecuación:

$$y = -0,0686 - 0,0066 * x \dots \dots (6.16)$$

Haciendo semejanza con la ecuación (6.5) tenemos:

$$\ln \frac{Q}{Q_0} = -0,0686 - 0,0066 * t \dots \dots (6.17)$$

Por semejanza la pendiente de la recta viene dada por:

$$b = -\frac{9,87 * D_{eff}}{r^2} \dots \dots (6.18)$$

Entonces la difusividad efectiva será:

$$D_{eff} = 0,34 * 10^{-13} \frac{m^2}{s}$$

6.4.4. Determinación del coeficiente de transferencia de masa (k).

Utilizamos el modelo de Lakota & Levec, el cual relaciona el Sherwood con el número de Reynolds y Schmidt. Obteniendo un valor de coeficiente de transferencia de masa igual a:

$$k = 1,04 * 10^{-3} \left[\frac{\frac{mol}{s}}{m^2 * \frac{mol}{m^3}} \right] \text{ ó } \left[\frac{m}{s} \right]$$

6.5. Comparación de los modelos “Y” y “Q”

La relación entre la ecuación (6.5) y el rendimiento es:

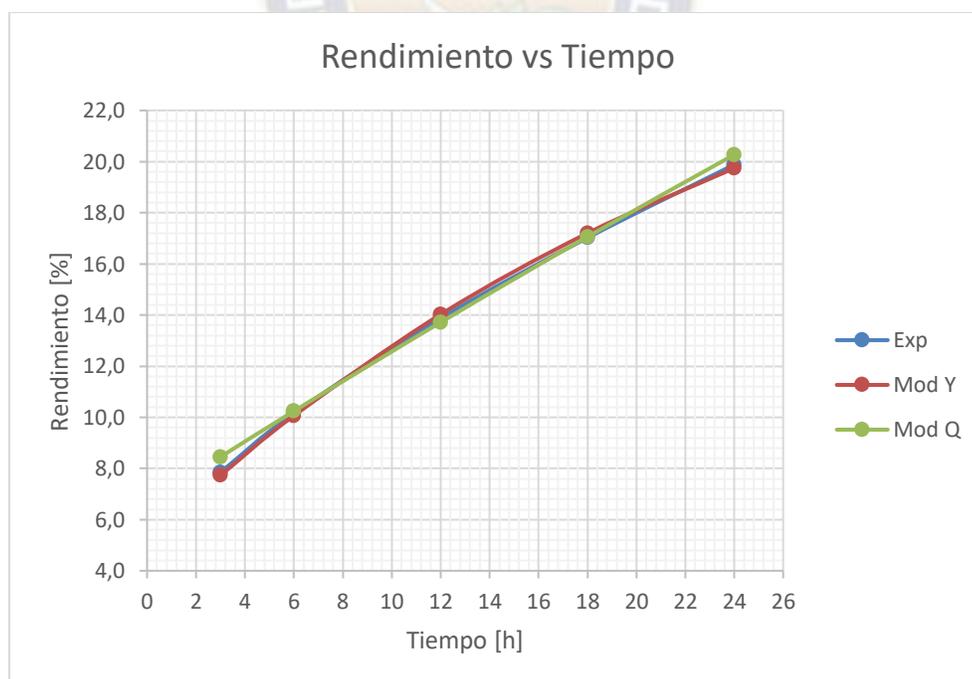
$$\eta_F = \frac{Y}{m_{sto}} * 100\% \dots \dots (6.19)$$

Donde: Y es la cantidad de soluto extraída en el tiempo “t”.

m_{sto} es la cantidad de soluto inicial al t=0.

Graficamos:

Gráfica 21. Comparación del Modelo “Y” y “Q”



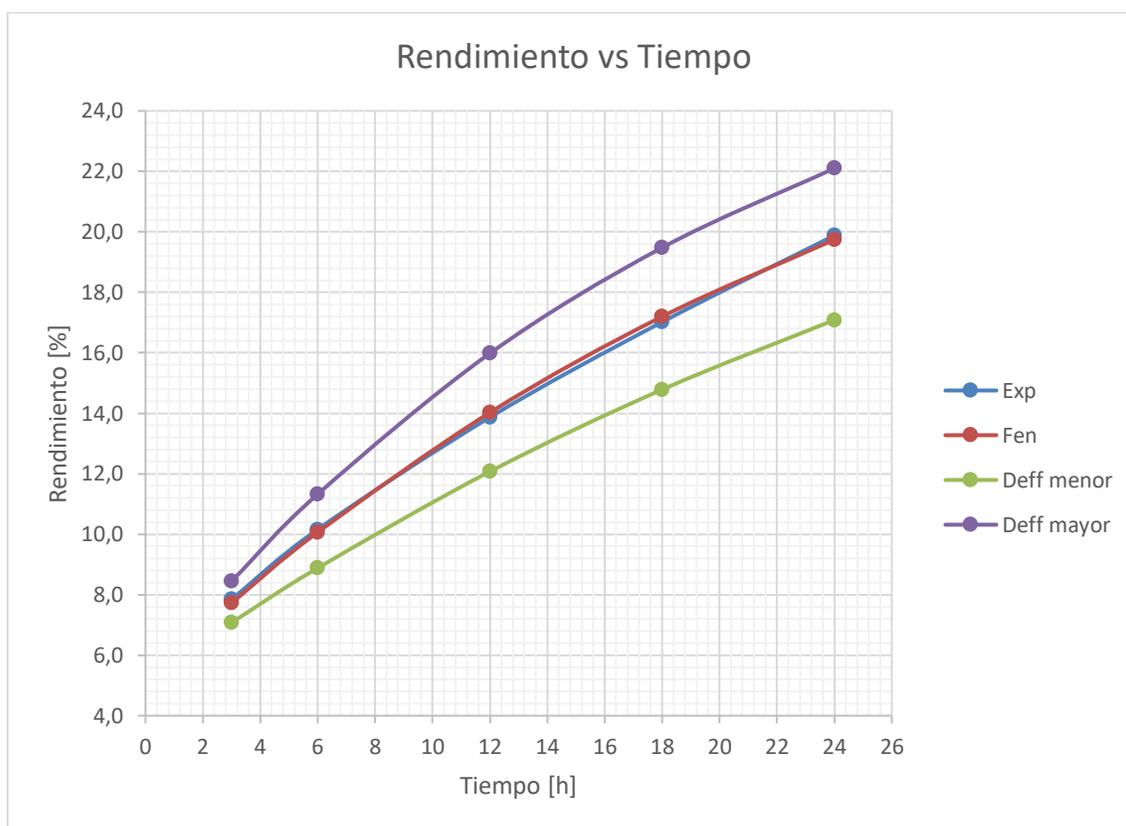
Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Se observa como el modelo “Y” el que se ajusta mejor a los datos experimentales.

6.7. Comportamiento en función a la difusividad.

Determinamos los rendimientos para valores supuestos de difusividad efectiva siendo uno de estos un valor de difusividad efectiva mayor al determinado y otro menor, para analizar el comportamiento de la difusión en la extracción.

Gráfica 22. Rendimiento vs Tiempo



Fuente: Elaboración propia

Interpretación: Se aprecia que la curva determinada del estudio fenomenológico se ajusta a la curva determinada experimentalmente. También notamos que con una difusividad efectiva mayor a la determinada experimentalmente, los valores de rendimiento son también mayores; mientras que, con una difusividad efectiva menor, los rendimientos son menores.

CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1. Conclusiones.

De la caracterización de la materia prima:

- Se verificó que la especie recolectada corresponder a Plantago Major L., respaldada por la certificación emitida por el Herbario Nacional de Bolivia.
- Se realizó la recolección de la materia prima, el Llantén (Plantago Major L.), del municipio de Yanacachi en la provincia Sud Yungas del departamento de La Paz; durante los meses de julio de 2022 a agosto de 2022.
- Se determinó propiedades físicas del llantén, dando como resultados:

Propiedad	Valor
Longitud [cm]	15,15
Ancho [cm]	9,22
Espesor [mm]	0,87
Peso de la hoja fresca [g]	17,05
Peso de la hoja seca [g]	4,02
Densidad de la hoja fresca [g/cm ³]	0,87
Densidad de la hoja seca [g/cm ³]	0,35

- Se determinó la humedad en las hojas del llantén, con el procedimiento estandarizado de la NB-074, con un valor igual a 78,1%.
- Se realizó la curva de secado de las hojas del llantén, determinando la humedad residual expresándola en humedad en base seca igual a 0,2750 g H₂O / g sólido seco.

De la determinación de las variables más importantes:

- Se determinó las variables independientes más influyentes en el proceso de extracción para someterlas al diseño experimental; estas son:

Variable	Símbolo	Límite inferior	Límite superior
Tamaño de partícula (N° Malla)	t _p	ASTM-18 (1mm)	ASTM-40 (425 µm)
Tiempo de maceración	t _m	3 h	24 h
Relación soluto-solvente	sto/ste	1:10	1:20

Variable dependiente: el rendimiento.

- Se determinó los parámetros constantes para el proceso de extracción:

Variable	Símbolo	Valor constante
Velocidad de agitación	v_a	50 rpm
Temperatura	T	20 °C

De las mejores condiciones de extracción y diseño experimental:

- Se realizó el diseño experimental 2³, el cual dio las mejores condiciones del proceso:

Variable	Símbolo	Valor
Tiempo de maceración	t_m	24 h
Tamaño de partícula (N° Malla)	t_p	N° 40
Relación soluto/solvente	sto/ste	1:20
Rendimiento	η	19,4%

- Se obtuvo el modelo matemático ajustado de los parámetros estudiados, en función de las variables más influyentes y el rendimiento, siendo este:

$$\eta = -3,05825 + 0,163474 * t_p - 0,178312 * t_m + 0,758617 * ste + 0,006494 * t_p * t_m + 0,000708 * t_p * ste + 0,019431 * t_m * ste - 0,000577 * t_p * t_m * ste$$

De la caracterización del producto final:

- Se realizó la extracción de flavonoides de las hojas del llantén con las mejores condiciones de operación obteniendo un rendimiento experimental del 18,6%, comparándolo con el rendimiento teórico de 19,4% da un porcentaje de diferencia de 4,1%.
- Se identificó la presencia de fenoles por cromatografía en placas (TCL) utilizando cloruro férrico como revelador.
- Se identificó la presencia de flavonoides por cromatografía en placas (TCL) utilizando Luz UV como revelador.
- Se verificó la capacidad antioxidante por cromatografía en placas (TCL) utilizando el DPPH como revelador.

- Se midió el factor de retención en las placas cromatográficas, comparando con quercetina como patrón, obteniendo un valor de R_f para el extracto igual a 0,87, valor cercano al de la quercetina que dio 0,92; comprobando la existencia de flavonoides con una estructura similar al patrón.
- Se determinó la cantidad de fenoles totales en el extracto a las mejores condiciones de operación, con el valor de 34,86 micromoles equivalentes de ácido gálico / g muestra, esto quiere decir que existe esa cantidad de componentes similares a este fenol por gramo de muestra.
- Se determinó la cantidad de flavonoides totales en el extracto a las mejores condiciones de operación, con el valor de 23,28 micromoles equivalentes de catequina / g muestra, esto quiere decir que existe esa cantidad de componentes similares a este flavonoide por gramo de muestra.
- Se realizó la evaluación de la actividad antioxidante del extracto obtenido frente al radical libre DPPH, utilizando Trolox y Quercetina como patrón, obteniendo un porcentaje de inhibición igual a 78,2% para el Trolox y 67,9% para la Quercetina, demostrando la gran capacidad antioxidante de extracto de llantén.
- Se determinó el precio estimado de venta del producto propuesto igual a 159,40 Bs por frasco de 150 cápsulas.

Del diseño del extractor:

- Se diseñó un extractor a nivel BenchScale a partir del escalamiento de las condiciones empleadas a nivel laboratorio, dando como resultado los siguientes valores para las dimensiones y requerimientos:

Parámetro	Símbolo	Valores en el S.I.
Masa de hojas secas	m	0,55 kg
Volumen del solvente	V_F	57,13 L
Altura del tanque	H_t	0,48 m
Diámetro del tanque	D_t	0,42 m
Diámetro del agitador	D_a	0,14 m
Altura del fluido	E	0,14 m
Altura del agitador	W	0,03 m
Ancho del agitador	L	0,04 m
Velocidad Rotacional	N	0,20 rev/s
Número de Reynolds	N_{Re}	389,55
Número de potencia	N_P	4
Potencia del agitador	P_{ef}	15 W

Del estudio fenomenológico:

- Se realizó el estudio fenomenológico a partir de la segunda ley de Fick para la difusión, obteniendo el coeficiente de difusividad efectivo siendo este de $0,75 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$.
- Se determinó el coeficiente de transferencia de masa con el modelo propuesto por Lakota & Levec siendo este de $1,03 \cdot 10^{-13} \text{ m/s}$.
- Se determinó un modelo matemático siendo este:

$$\ln\left(\frac{Y_M - Y}{Y_M}\right) = -0,1872 - 0,0369 * t$$

- Se determinó el rendimiento por análisis fenomenológico máximo siendo igual a 19,7%, y comparándolo con el experimental de 18,6% obtuvimos un porcentaje de diferencia igual al 5,9%.

7.2. Recomendaciones.

Se recomienda realizar estudios a través de proyectos de grado que consistan en:

- Estudiar el proceso de secado del Llantén con el fin de establecer las mejores condiciones de secado y diseñar un secador.
- Estudiar el escalamiento del proceso a nivel planta piloto, por lo que se recomienda realizar un estudio en un extractor cuyas dimensiones sean mayores a las del empleado a nivel laboratorio, para así reducir errores en el escalamiento.
- Estudiar la factibilidad del proceso.
- Estudiar la composición de las diferentes especies de llantén para identificar otros principios activos beneficiosos para la salud.



BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez R., Cáceres M., Guamán P. (1996). Plantas y Tratamientos Kallawayas. (Bolivia).
- Anaya, A., Pedroza, H. (2008). Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe España y Portugal escalamiento, el arte de la Ingeniería química. (México).
- Aquino H. (2014) Estudio fenomenológico del proceso de secado del extracto de ayrampu para utilizarlo como agente antiviral. (Bolivia).
- Ávalos A., Pérez E., Carril U. (2009) Metabolitos secundario de plantas. (Madrid).
- Benavides, C. (2016). Espectrofotometría UV - Visible. (España)
- Cartaya, O. (2001). Flavonoides: características químicas y aplicaciones. (Cuba).
- Colina C. (2016) Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de "Muehlenbeckia hastulata (J.E.Sm) I.M. Johnst" de la zona de Yucay. (Perú).
- Cruz J. (2007). Más de 100 plantas medicinales en medicina popular. (Canaria).
- Cusi Aruquipa, W. (2015). Operaciones de Separación IV en Ingeniería. La Paz.
- Diaz N., Barcena A. (2017) Espectrometría: espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. (Córdoba).
- Enriquez S. (2016). Concentracion de flavonoides en la masa foliar de chilca (baccharis latifolia) a tres niveles altitudinales en época de transicion (humeda-seca) lluto-la paz. (Bolivia)
- Evans W. (2009). Pharmacognosy. (Inglaterra).
- Figueredo F. (2018) Perfil de mortalidad cardiovascular en las ciudades de La Paz y El Alto. (Bolivia)
- Galagovsky L. (2002). Química orgánica. Fundamentos teórico practicos para el laboratorio. (Argentina).
- Garrido G., Ortiz M. (2013). Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de Lampaya medicinalis F. Phil. (Chile)
- Girault L. (1987). Kallawaya Curanderos Itinerantes de los Andes. (Bolivia).

- Gracia M. (2019). Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. (México).
- Gutiérrez Pulido, H., & De la Vara Salazar, R. (2008). Análisis y Diseño de Experimentos 2º Ed. (México).
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Springer Science & Business Media. (Reino Unido).
- Hegnauer R. (1969). *Chemotaxonomie der Pflanzen Band 5*. (Alemania).
- Lakota A., Levec, J. (1990) Solid-liquid mass transfer in packed beds with concurrent downward two-phase flow. (EE.UU.)
- Leslie S. (2015). *Plantago major*. (EE.UU).
- Linares N. (2013). *Plantas Medicinales*. (Madrid).
- Martinez S., González G., Culebras J. (2012) Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. (España)
- McCabe W., Smith J. (1998) *Operaciones unitarias en ingeniería química*. (España).
- Mehmet O. (2009). Effect of *Plantago major* sap on Ehrlich ascites tumours. (Turquía).
- México: CECSA. Geankoplis, C. J. (1998). *Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias*. CECSA.
- México: Tesis. Geankoplis, C. J. (1998). *Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias*.
- Mijalenko S., (2012). *Llantén funcional*. (Cuba)
- Mohamed I., Kobeasy M. (2015). Biochemical studies on *Plantago major* L. and *Cyamopsis tetragonoloba* L. (Egipto).
- Montgomery D. (2004). *Análisis y diseño de experimentos*. (México): Limusa Wiley.
- Ochoa C. (2004). Flavonoides extraídos de la cascara de naranja tangelo (*Citrus reticulata* x *Citrus paradisi*) y su aplicación como antioxidante natural en el aceite vegetal sachá inchi (*Plukenetia volubilis*). (Colombia).

Ochoa C., Ayala A. (2014) Los Flavonoides: Apuntes Generales y su Aplicación en la Industria de Alimentos. (Colombia)

Ocon, J. - Tojo, G. (1980) Problemas de ingeniería química. (Madrid).

Operaciones Unitarias en Ingeniería Química, IV ed. México: McGraw-Hil. Yarke, E. (2007).

Rodríguez Y. (2014). Conocimiento sobre el uso del plantago-major como terapia alternativa en lesiones inflamatorias bucales. (Venezuela).

Roig, J. (2012) Plantas medicinales, aromáticas o venenosas. (Cuba).

Rojas G., Ticona I. (2019) Estudio de los parámetros para la obtención de acetogeninas a partir de las hojas y semillas de la Guanábana. (Bolivia).

Sabag V. (2010). Formulación de un fitomedicamento con actividad gastroprotectora a partir de extractos de llantén (Plantago Major). (Cochabamba).

Skoog D., West D., Holler J. (2005) Fundamentos de química analítica. (Australia) .

Soto M. (2015). Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región Amazonas. (Perú).

Tenorio M. (2016). Flavonoides extraídos de la cascara de naranja tangelo (*Citrus reticulata* x *Citrus paradisi*) y su aplicación como antioxidante natural en el aceite vegetal sachá inchi (*Plukenetia volubilis*). (México)

Treybal R. (1991). Operaciones de transferencia de masa. (Sidney): McGrawHill.

Universidad Autónoma de Madrid. (2012) Protocolo para la medición de características funcionales (España).

Valcarcel C., Gomez A. (2003) Técnicas analíticas de separación. (España).

Vega K. (2018) Actividad antioxidante y antibacteriana determinadas en extractos metanólicos obtenidos desde partes aéreas de *Rhaphithamnus spinosus*. (Chile)

Villagómez J.R., Mollinedo P., Almanza G. (2006) (E)-3-prenil-4-hidroxycinamato de metilo de *Baccharis Santeliciis*. (Bolivia).

Villamil J. (2021). Extracción de compuestos fenólicos a partir del residuo agroindustrial de frutilla (Argentina).

Warren, L., McCabe, Julián, C., Sminth, & Peter Harriott. (1982).

Zegarra F., (2002) Manual: Fundamentos de la cromatografía en capa fina (México)

Zegarrundo V. (2022) Estudio para la extracción de acetogeninas a partir de la guanábana. (Bolivia).

ANEXOS

ANEXO A. Certificación del Herbario Nacional de Bolivia



HERBARIO NACIONAL DE BOLIVIA
Casilla 10077 Correo Central, La Paz – Bolivia / Campus Universitario, Calle 27 Cota Cota
Teléfonos (591 -2) 2121751 – 2792582 – 2792416 * Fax (591-2) 2770962
e-mail: direccion.herbariobolivia@gmail.com

N° 83

PLANTAS COLECTADAS POR: ABIMAEEL GUTIERREZ HUANCA
(Ingeniería Química)

Determinado por: Rossy de Michel (LPB)

Fecha : 6 de julio de 2022

N°	FAMILIA	GENERO Y ESPECIE
1	<i>Plantaginaceae</i>	<i>Plantago major L.</i>



ANEXO D. Punteo de pasos para la medición de características funcionales.

Manual de Campo corto:

1. Se eligen 5 (–10) individuos al azar por especie.
2. De los primeros 5 individuos vivos, se elige una rama que se encuentre más expuesta al sol, que sus hojas no sean demasiado jóvenes y que no presenten daños como: herbivoría, hongos necrosis y/o enfermedades.
3. De la pieza escoger de 3–5 hojas, estas hojas son sacadas con sus peciolo.
4. Todas estas hojas son colocas entre dos hojas de plexiglás, además, se incluye una escala (papel milimetrado) que este visible y es importante enumerar cada hoja para identificarlas, para esto es posible escribir sobre el plexiglás con un marcador de agua.
5. Registrar las medidas lineales de las hojas con una regla graduada en mm (largo, desde el primer foliolo basal hasta la punta de foliolo terminal, y ancho, medido en los foliolo de la parte media de la hoja completamente extendidos) según se muestra en el esquema.



Esquema representativo de la forma en que se realizaron las medidas lineales de largo y ancho de las hojas

6. Con el micrómetro se mide el espesor de estas mismas hojas (3–5), la medida debe realizarse entre las nervaduras secundarias (es decir evitando las mismas). En el caso de hojas pubescentes se toma la medida incluyendo los tricomas.
7. Adicionalmente se colecta de 10–20g de hojas, para el análisis del contenido de Nitrógeno. Estas hojas son colocadas igualmente en sobres manila etiquetados con número de placa del individuo, código de parcela, colector y también deben ser secados como material de herbario.

ANEXO E. Determinación de la cantidad de humedad NB-074**Aparatos:**

- Pesa filtros con tapadora
- Balanza analítica de precisión $\partial = 0.1$ mg
- Estufa con regulador de temperatura
- Desecador

Proceso:

- El pesa filtros y su tapa se calentara a $130^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 30 min se enfría en el desecador y se pesa.
- El pesa filtros tapado como se indica se pesa 5 a 10 g de la muestra y se coloca destapada dentro la estufa así como la tapa del mismo.
- Se eleva la temperatura de la estufa $130^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ manteniéndolo allí.
- Antes de sacar el pesa filtros de la estufa se coloca su tapa, se lo transfiere al desecador y se pesa tan pronto como haya alcanzado la temperatura ambiente.
- Se calienta el nuevo pesa filtros, conteniéndolo la muestra durante 30 minutos se deja enfriar y se pesa tal como se indica anteriormente.
- Se repite este proceso hasta que la diferencia de peso entre dos pesadas sucesivas sea menor de 0.001 g.

Resultados:

$$\%H = \frac{G_2 - G_3}{G_2 - G_1}$$

Donde:

G1 = Peso del pesa filtros vacío, con su tapa, en g.

G2 = peso del pesa filtros y tapa con la muestra sin secar, en g.

G3 = Peso del pesa filtros y tapa con la muestra seca, en g.

ANEXO F. Curva de secado de las hojas del llantén

T [días]	%H	x (Base Húmeda)	X (Base Seca)
1	21,5686	0,7843	3,6364
2	25,0980	0,7490	2,9844
3	28,4314	0,7157	2,5172
4	31,7647	0,6824	2,1481
5	35,2941	0,6471	1,8333
6	39,2157	0,6078	1,5500
7	45,0980	0,5490	1,2174
8	49,0196	0,5098	1,0400
9	54,9020	0,4510	0,8214
10	56,8627	0,4314	0,7586
11	62,7451	0,3725	0,5938
12	69,4118	0,3059	0,4407
13	72,9412	0,2706	0,3710
14	76,4706	0,2353	0,3077
15	76,8627	0,2314	0,3010
16	77,0588	0,2294	0,2977
17	77,6471	0,2235	0,2879
18	77,4510	0,2255	0,2911
19	77,6471	0,2235	0,2879
20	77,8431	0,2216	0,2846
21	78,0392	0,2196	0,2814
22	78,2353	0,2176	0,2782
23	78,2745	0,2173	0,2776
24	78,3529	0,2165	0,2763
25	78,4314	0,2157	0,2750

Fuente: Elaboración propia

ANEXO G. Determinación de las variables más importantes

ANEXO G1. Tamaño de partícula.

Tamiz	N° Malla	Apertura	m llantén [g]	m extracto [g]	Rendimiento [%]
ASTM	18	1 mm	5,0037	0,5467	10,92
ASTM	30	600 µm	5,0679	0,5893	11,62
ASTM	40	425 µm	5,0184	0,6908	13,76
ASTM	140	105 µm	5,0573	0,7085	14,00

Fuente: Elaboración propia

ANEXO G2. Relación soluto/solvente

sto/ste	m llantén [g]	m extracto [g]	Rendimiento [%]
1:10	5,0064	0,5076	10,13
1:15	5,0010	0,8323	16,64
1:20	5,0196	1,0162	20,24
1:25	5,0032	1,0344	20,67
1:30	5,0099	1,0526	21,01

Fuente: Elaboración propia

ANEXO G3. Tiempo de maceración

Tiempo [h]	m llantén [g]	m extracto [g]	Rendimiento [%]
3	5,0059	0,3814	7,61
6	5,0159	0,4213	8,39
18	5,0144	0,4861	9,69
24	5,0039	0,5556	11,10
42	5,0111	0,6183	12,33
48	5,0263	0,6537	13,00
72	5,0346	0,6667	13,24

Fuente: Elaboración propia

ANEXO G4. Velocidad de agitación

Velocidad de Agitación [rpm]	m llantén [g]	m extracto [g]	Rendimiento [%]
0	5,0103	0,3166	6,31
50	5,0101	0,5023	10,02
100	5,0760	0,5282	10,40
150	5,0046	0,5512	11,01
200	5,0536	0,5912	11,69
250	5,0624	0,5980	11,81

Fuente: Elaboración propia

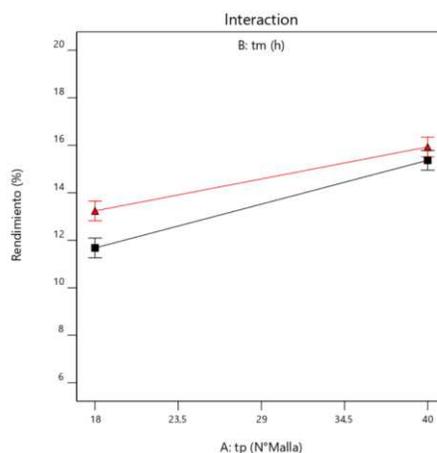
ANEXO G5. Temperatura

Temperatura [°C]	m llantén [g]	m extracto [g]	Rendimiento [%]
20	5,0296	0,5546	11,02
30	5,0793	0,5991	11,79
35	5,0567	0,5985	11,83
40	5,0122	0,5966	11,90

Fuente: Elaboración propia

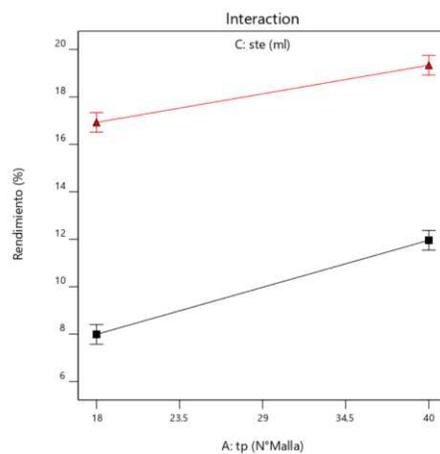
ANEXO H. Diseño experimental

ANEXO H1. Interacciones entre factores

a) Interacción AB:

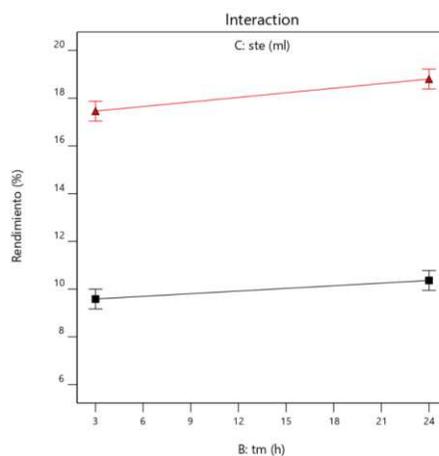
Fuente: Design Expert Versión 12

b) Interacción AC:



Fuente: Design Expert Versión 12

c) Interacción BC:



Fuente: Design Expert Versión 12

ANEXO I. Caracterización del producto.

ANEXO I1. Rendimientos a las mejores condiciones de extracción

N°	m llantén [g]	m extracto [g]	Rendimiento [%]
1	0,5028	0,0939	18,67
2	0,5125	0,0951	18,55
3	0,5046	0,0942	18,66
Promedio			18,63

Fuente: Elaboración propia

ANEXO I2. Cálculo de Rf para las cinco muestras sembradas

Muestra	ds [cm]	dm ₁ [cm]	dm ₂ [cm]	Rf ₁	Rf ₂
M.Con	3,90	3,40	2,40	0,87	0,62
So	3,90	3,20	2,40	0,82	0,62
Sf	3,90	3,20	2,30	0,82	0,59
Mo	3,90	3,20	2,30	0,82	0,59
Mf	3,90	3,20	2,25	0,82	0,58

Fuente: Elaboración propia

ANEXO J. Determinación de fenoles totales

ANEXO J1. Recta de calibrado de ácido gálico

Concentración [ppm Ac. Gálico]	Dato 1	Dato 2	Dato 3	Promedio	Absorbancia
0	0,085	0,081	0,091	0,085	0,000
20	0,206	0,232	0,224	0,220	0,135
40	0,377	0,400	0,404	0,393	0,308
60	0,510	0,539	0,581	0,543	0,457
80	0,672	0,645	0,681	0,666	0,580
100	0,755	0,851	0,896	0,834	0,748

Fuente: Elaboración propia

ANEXO J2. Valores de Absorbancia para Fenoles Totales

Muestra	Dilución	Dato 1	Dato 2	Dato 3	Absorbancia Promedio
M.Con₁	10	0,443	0,497	0,522	0,487
M.Con₂	10	0,533	0,553	0,616	0,567
M.Con₃	10	0,543	0,624	0,656	0,608
Promedio					0,554

Fuente: Elaboración propia

ANEXO J3. Valores para calcular los equivalentes de ácido gálico

MUESTRA	S (g)	B(g)	H(g)	P (g)	GAE [$\mu\text{mol/g}$]
M.Con₁	0,0505	0,3642	0,4147	0,0445	28,38
M.Con₂	0,0509	0,4104	0,4613	0,0468	36,70
M.Con₃	0,0514	0,4062	0,4576	0,0369	39,51
Promedio					34,86

Fuente: Elaboración propia

ANEXO J4. Equivalentes de ácido gálico en extractos de llantén

Expresado en (μmol equivalentes de ácido gálico/g de muestra)				
	1er análisis	2do análisis	3er análisis	Promedio
M.Con	28,38	36,70	39,51	34,86

Fuente: Elaboración propia

ANEXO K. Determinación de flavonoides totales

ANEXO K1. Recta de calibrado de catequina

Concentración [ppm Catequina]	Dato 1	Dato 2	Dato 3	Promedio	Absorbancia
0	0,138	0,066	0,079	0,094	0,000
20	0,170	0,165	0,155	0,163	0,069
50	0,420	0,447	0,428	0,432	0,337
100	0,662	0,693	0,715	0,690	0,596
150	0,955	0,925	1,002	0,961	0,866
200	1,185	1,245	1,307	1,246	1,151

Fuente: Elaboración propia

ANEXO K2. Valores de Absorbancia para Flavonoides Totales

Muestra	Dilución	Dato 1	Dato 2	Dato 3	Absorbancia Promedio
M.Con ₁	10	0,541	0,504	0,534	0,526
M.Con ₂	10	0,434	0,459	0,460	0,451
M.Con ₃	10	0,516	0,491	0,543	0,517
Promedio					0,498

Fuente: Elaboración propia

ANEXO K3. Valores para calcular los equivalentes de catequina

MUESTRA	S (g)	B(g)	H(g)	P (g)	CAE [$\mu\text{mol/g}$]
M.Con ₁	0,0505	0,3642	0,4147	0,0445	22,92
M.Con ₂	0,0509	0,4104	0,4613	0,0468	21,82
M.Con ₃	0,0514	0,4062	0,4576	0,0369	25,12
Promedio					23,28

Fuente: Elaboración propia

ANEXO K4. Equivalentes de catequina en extractos de llantén

Expresado en (μmol equivalentes de catequina/g de muestra)				
	1er análisis	2do análisis	3er análisis	Promedio
M.Con	22,92	21,82	25,12	23,28

Fuente: Elaboración propia

ANEXO L. Evaluación de la capacidad antioxidante

ANEXO L2. Recta de calibrado de Trolox

V _{Trolox} [ml]	V _{metanol} [ml]	C [mM Trolox]	Dato 1	Dato 2	Dato 3	Absorbancia
3	0,00	39,95	0,184	0,216	0,223	0,208
2,5	0,50	33,29	0,495	0,459	0,412	0,455
2	1,00	26,64	0,709	0,675	0,723	0,702
1,5	1,50	19,98	0,961	0,912	0,854	0,909
0,6	2,40	7,99	1,528	1,290	1,414	1,411

Fuente: Elaboración propia

ANEXO L3. Valores de Absorbancia para actividad antioxidante (Trolox)

Muestra	Dato 1	Dato 2	Dato 3	Absorbancia Promedio
M.Con ₁	0,312	0,307	0,305	0,308
M.Con ₂	0,323	0,311	0,305	0,313
M.Con ₃	0,296	0,310	0,301	0,302
Promedio				0,308

Fuente: Elaboración propia

ANEXO L4. Valores de equivalentes de trolox y porcentaje de inhibición de DPPH

MUESTRA	S (g)	B(g)	H(g)	P (g)	C [$\mu\text{molT/g}$ muestra]	%I _{DPPH}
M.Con ₁	0,0505	0,3642	0,4147	0,0445	1,09	78,17
M.Con ₂	0,0509	0,4104	0,4613	0,0468	1,20	77,79
M.Con ₃	0,0514	0,4062	0,4576	0,0369	1,22	78,60
Promedio					1,17	78,19

Fuente: Elaboración propia

ANEXO L5. Recta de calibrado de Quercetina

V _{Quercetina} [ml]	V _{metanol} [ml]	C [mM Quercetina]	Dato 1	Dato 2	Dato 3	Absorbancia
3	0,00	29,56	0,239	0,246	0,263	0,249
2,5	0,50	24,63	0,426	0,412	0,475	0,438
2	1,00	19,71	0,604	0,545	0,584	0,578
1,5	1,50	14,78	0,781	0,811	0,768	0,787
1	2,00	9,85	0,839	1,002	1,033	0,958

Fuente: Elaboración propia

ANEXO L6. Valores de Absorbancia para actividad antioxidante (Quercetina)

Muestra	Dato 1	Dato 2	Dato 3	Absorbancia Promedio
M.Con ₁	0,312	0,307	0,305	0,308
M.Con ₂	0,323	0,311	0,305	0,313
M.Con ₃	0,296	0,310	0,301	0,302
Promedio				0,308

Fuente: Elaboración propia

ANEXO L7. Valores de equivalentes de quercetina y porcentaje de inhibición de DPPH

MUESTRA	S (g)	B(g)	H(g)	P (g)	C [$\mu\text{molQ/g muestra}$]	%I _{DPPH}
M.Con₁	0,0505	0,3642	0,4147	0,0445	0,68	67,84
M.Con₂	0,0509	0,4104	0,4613	0,0468	0,75	67,29
M.Con₃	0,0514	0,4062	0,4576	0,0369	0,76	68,47
Promedio					0,73	67,87

Fuente: Elaboración propia

ANEXO M. Estudio fenomenológico

ANEXO M1. Rendimiento vs tiempo de extracción (Experimental)

t(h)	%n Exp
3	7,85
6	10,16
12	13,87
18	17,02
24	19,88

Fuente: Elaboración propia

ANEXO M2. Valores para el análisis por regresión lineal modelo "Y"

t(h)	m ₀ (g)	Y (g)	Y _M (g)	Y _M -Y/Y _M	ln(Y _M -Y/Y _M)
3	5,0059	0,3930	1,5018	0,7383	-0,3034
6	5,0159	0,5096	1,5048	0,6613	-0,4135
12	5,0152	0,6956	1,5046	0,5377	-0,6205
18	5,0144	0,8535	1,5043	0,4327	-0,8378
24	5,0039	0,9948	1,5012	0,3373	-1,0867

Fuente: Elaboración propia

ANEXO M3. Valores para el análisis por regresión lineal modelo "Q"

t(h)	ln(Q/Qo)	Q/Qo
3	-0,0883	0,9155
6	-0,1081	0,8976
12	-0,1475	0,8628
18	-0,1870	0,8294
24	-0,2265	0,7973

Fuente: Elaboración propia

ANEXO M4. Comparación del rendimiento del modelo "Y", "Q" y el experimental

t(h)	%n Exp	%n Y	%n Q
3	7,85	7,72	8,45
6	10,16	10,06	10,24
12	13,87	14,02	13,71
18	17,02	17,19	17,05
24	19,88	19,74	20,27

Fuente: Elaboración propia

ANEXO M5. Variación de la difusividad a un valor menor.

t [h]	%n Exp	%n Fen	%n Deff menor	%n Deff mayor
3	7,85	7,72	7,07	8,44
6	10,16	10,06	8,88	11,32
12	13,87	14,02	12,07	15,98
18	17,02	17,19	14,78	19,47
24	19,88	19,74	17,08	22,10

Fuente: Elaboración propia

ANEXO N. Pretratamiento de la materia prima

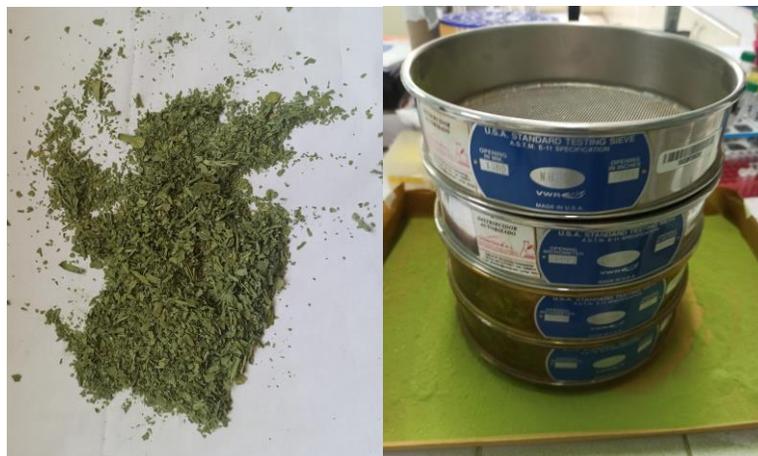
ANEXO N1. Hojas del llantén recolectadas



ANEXO N2. Recolección y secado del llantén



ANEXO N3. Molienda y tamizado de las hojas



ANEXO N4. Pretratamiento con éter de petróleo (40-60)**ANEXO N5. Determinación de la humedad****ANEXO O. Determinación de las variables más importantes****ANEXO O1. Extracción y filtrado a diferentes condiciones de operación**

ANEXO O2. Concentración en rotavapor del extracto

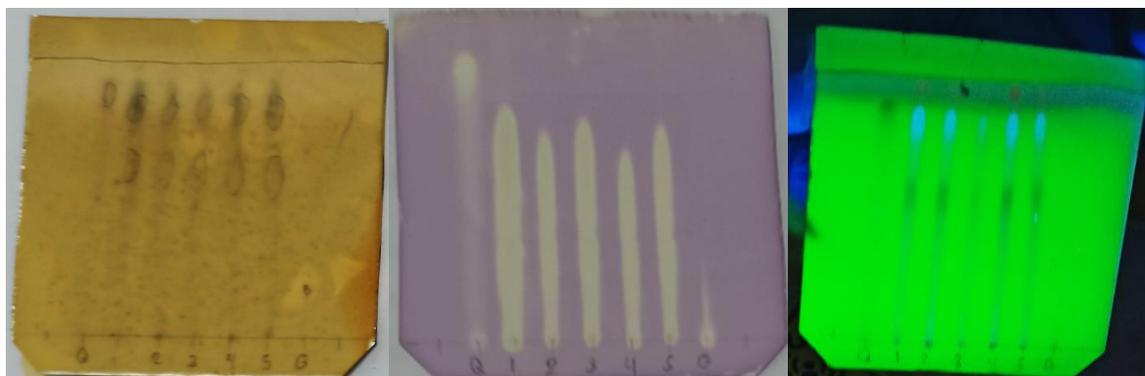


ANEXO P. Caracterización del producto

ANEXO P1. Cámara de reacción para las placas cromatográficas



ANEXO P2. Placas cromatográficas con sus reveladores

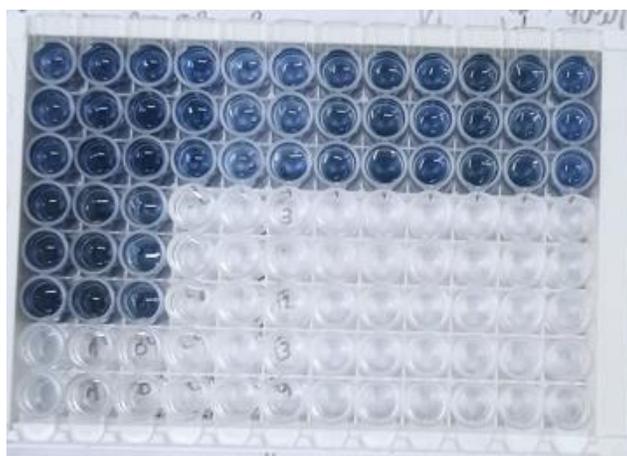


a) Cloruro Férrico

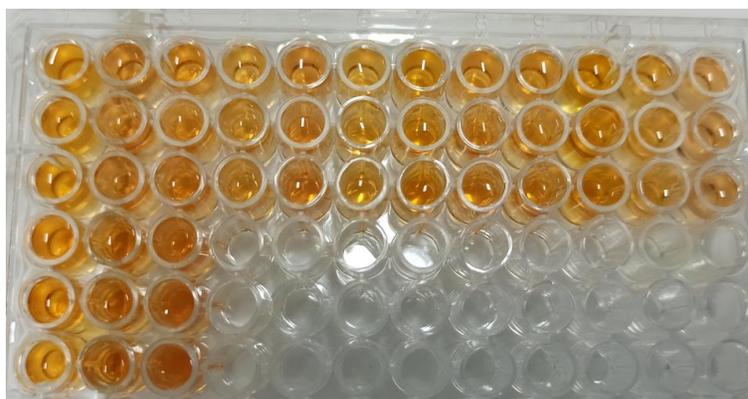
b) DPPH

c) Luz UV

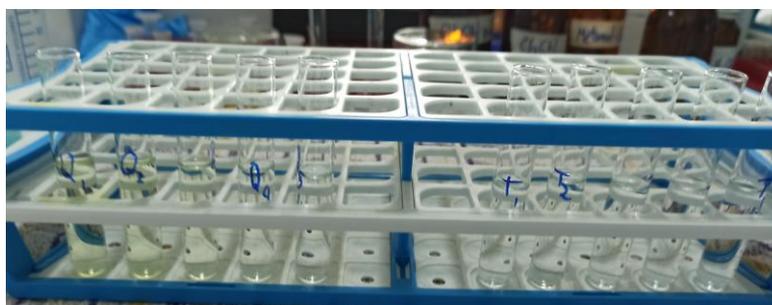
ANEXO P3. Lectura en espectrofotómetro UV. Fenoles totales.



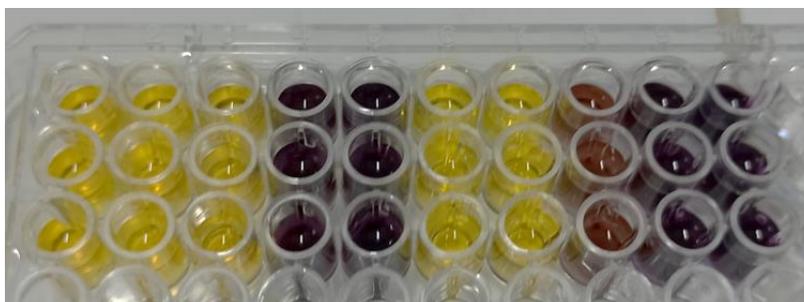
ANEXO P4. Lectura en espectrofotómetro UV. Flavonoides totales.



ANEXO P5. Curvas de calibración de trolox y quercetina



ANEXO P6. Evaluación de la actividad antioxidante.



ANEXO Q. Análisis de costos estimados

Factor	Cantidad	Precio [Bs]
Materia prima	15 kg	300
Solvente	60 L	600
Mano de obra		700
Barrido UV-Vis Fenoles T.		200
Barrido UV-Vis Flavonoides T.		200
Barrido UV-Vis Act. Antioxidante		200
Humedad		60
Gastos generales de fabricación		600
Agua		80
Electricidad		120
Costos administrativos		60
Costos de comercialización		60
Solvente recuperado	45 L	-450
	Total	2730

Fuente: Elaboración propia

Abimael Gutiérrez Huanca

Correo de contacto: abimaelgutierrezh@gmail.com

Cel: (+591) 73032124



2024-TTES-180-D-1

**DIRECCIÓN DE DERECHO DE AUTOR
Y DERECHOS CONEXOS
RESOLUCIÓN ADMINISTRATIVA NRO. 1-789/2024
La Paz, 21 de marzo de 2024**

VISTOS:

La solicitud de Inscripción de Derecho de Autor presentada en fecha **14 de marzo de 2024**, por **ABIMAEEL GUTIERREZ HUANCA** con **C.I. N° 5994379 LP**, con número de trámite **DA 450/2024**, señala la pretensión de inscripción del Proyecto de Grado titulado: **"ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS PARA LA EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DEL LLANTÉN"**, cuyos datos y antecedentes se encuentran adjuntos y expresados en el Formulario de Declaración Jurada.

CONSIDERANDO:

Que, en observación al Artículo 4º del Decreto Supremo N° 27938 modificado parcialmente por el Decreto Supremo N° 28152 el *"Servicio Nacional de Propiedad Intelectual SENAPI, administra en forma desconcentrada e integral el régimen de la Propiedad Intelectual en todos sus componentes, mediante una estricta observancia de los regímenes legales de la Propiedad Intelectual, de la vigilancia de su cumplimiento y de una efectiva protección de los derechos de exclusiva referidos a la propiedad industrial, al derecho de autor y derechos conexos; constituyéndose en la oficina nacional competente respecto de los tratados internacionales y acuerdos regionales suscritos y adheridos por el país, así como de las normas y regímenes comunes que en materia de Propiedad Intelectual se han adoptado en el marco del proceso andino de integración"*.

Que, el Artículo 16º del Decreto Supremo N° 27938 establece *"Como núcleo técnico y operativo del SENAPI funcionan las Direcciones Técnicas que son las encargadas de la evaluación y procesamiento de las solicitudes de derechos de propiedad intelectual, de conformidad a los distintos regímenes legales aplicables a cada área de gestión"*. En ese marco, la Dirección de Derecho de Autor y Derechos Conexos otorga registros con carácter declarativo sobre las obras del ingenio cualquiera que sea el género o forma de expresión, sin importar el mérito literario o artístico a través de la inscripción y la difusión, en cumplimiento a la Decisión 351 Régimen Común sobre Derecho de Autor y Derechos Conexos de la Comunidad Andina, Ley de Derecho de Autor N° 1322, Decreto Reglamentario N° 23907 y demás normativa vigente sobre la materia.

Que, la solicitud presentada cumple con: el Artículo 6º de la Ley N° 1322 de Derecho de Autor, el Artículo 26º inciso a) del Decreto Supremo N° 23907 Reglamento de la Ley de Derecho de Autor, y con el Artículo 4º de la Decisión 351 Régimen Común sobre Derecho de Autor y Derechos Conexos de la Comunidad Andina.

Que, de conformidad al Artículo 18º de la Ley N° 1322 de Derecho de Autor en concordancia con el Artículo 18º de la Decisión 351 Régimen Común sobre Derecho de Autor y Derechos Conexos de la Comunidad Andina, referentes a la duración de los Derechos Patrimoniales, los mismos establecen que: *"la duración de la protección concedida por la presente ley será para toda la vida del autor y por 50 años después de su muerte, a favor de sus herederos, legatarios y cesionarios"*

Que, se deja establecido en conformidad al Artículo 4º de la Ley N° 1322 de Derecho de Autor, y Artículo 7º de la Decisión 351 Régimen Común sobre Derecho de Autor y Derechos Conexos de la Comunidad Andina que: *"...No son objeto de protección las ideas contenidas en las obras literarias, artísticas, o el contenido ideológico o técnico de las obras científicas ni su aprovechamiento industrial o comercial"*

Que, el artículo 4, inciso e) de la ley N° 2341 de Procedimiento Administrativo, instituye que: *"... en la relación de los particulares con la Administración Pública, se presume el principio de buena fe. La confianza, la cooperación y la lealtad en la actuación de los servidores públicos y de los"*



ciudadanos ...", por lo que se presume la buena fe de los administrados respecto a las solicitudes de registro y la declaración jurada respecto a la originalidad de la obra.

POR TANTO:

El Director de Derecho de Autor y Derechos Conexos sin ingresar en mayores consideraciones de orden legal, en ejercicio de las atribuciones conferidas.

RESUELVE:

INSCRIBIR en el Registro de Tesis, Proyectos de Grado, Monografías y Otras Similares de la Dirección de Derecho de Autor y Derechos Conexos, el Proyecto de Grado titulado: "**ESTUDIO DE LOS PARÁMETROS PARA LA EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DEL LLANTÉN**" a favor del autor y titular: **ABIMAEEL GUTIERREZ HUANCA** con **C.I. N° 5994379 LP** bajo el seudónimo **MAEL**, quedando amparado su derecho conforme a Ley, salvando el mejor derecho que terceras personas pudieren demostrar.

Regístrese, Comuníquese y Archívese.

CASA/Im

Firmado Digitalmente por:

Servicio Nacional de Propiedad Intelectual - SENAPI
CARLOS ALBERTO SORUCO ARROYO
DIRECTOR DE DERECHO DE AUTOR Y DERECHOS CONEXOS
LA PAZ - BOLIVIA



Firma:



g6mFh6Jc7Ce8L

PARA LA VALIDACIÓN DEL PRESENTE DOCUMENTO INGRESAR A LA PÁGINA WEB www.senapi.gob.bo/verificacion Y COLOCAR CÓDIGO DE VERIFICACIÓN O ESCANEAR CÓDIGO QR.



Oficina Central - La Paz
Av. Montes, N° 515,
entre Esq. Uruguay y
C. Batallón Illimani.
Telfs.: 2115700
2119276 - 2119251

Oficina - Santa Cruz
Av. Uruguay, Calle
prolongación Quijarro,
N° 29, Edif. Bicentenario.
Telfs.: 3121752 - 72042936

Oficina - Cochabamba
Calle Bolívar, N° 737,
entre 16 de Julio y Antezana.
Telfs.: 4141403 - 72042957

Oficina - El Alto
Av. Juan Pablo II, N° 2560
Edif. Multicentro El Ceibo
Ltda. Piso 2, Of. 5B,
Zona 16 de Julio.
Telfs.: 2141001 - 72043029

Oficina - Chuquisaca
Calle Kilómetro 7, N° 366
casi esq. Urriagoitia,
Zona Parque Bolívar.
Telf: 72005873

Oficina - Tarija
Av. La Paz, entre
Calles Ciro Trigo y Avaroa
Edif. Santa Clara, N° 243.
Telf: 72015286

Oficina - Oruro
Calle 6 de Octubre, N° 5837,
entre Ayacucho
y Junín, Galería Central,
Of. 14.
Telf: 67201288

Oficina - Potosí
Av. Villazón entre calles
Wenceslao Alba y San Alberto,
Edif. AM. Salinas N° 242,
Primer Piso, Of. 17.
Telf: 72018160

