

**OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO DE
POLIFENOLES A PARTIR DE LA ALMENDRA DE MANGO HILACHA (*Mangifera
indica*. Var. *Magdalena River*) Y AJUSTE DE SUS PARÁMETROS CINÉTICOS.**

**ANA MARÍA ROSSO CERÓN
SAID TORO URIBE**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTADER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FÍSICOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2011

**OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO DE
POLIFENOLES A PARTIR DE LA ALMENDRA DE MANGO HILACHA (*Mangifera
indica. Var. Magdalena River*) Y AJUSTE DE SUS PARÁMETROS CINÉTICOS.**

**ANA MARÍA ROSSO CERÓN
SAID TORO URIBE**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniero Químico**

Director

Prof. Luis Javier López Giraldo

Co-director

Prof. Yaneth Aidé Perea Villamil

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTADER

FACULTAD FÍSICOQUÍMICA

ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

BUCARAMANGA

2011

DEDICATORIA

No resulta fácil plasmar en un papel el cúmulo de sentimientos que suscita mi pensamiento en estos escasos segundos.

En primer lugar le doy gracias a Dios por darme la posibilidad de terminar este gran peldaño dentro del camino de la vida.

A la memoria de mi madre Adriana Cerón Célis quien con todo su amor y comprensión me acompañó durante los momentos más felices de estos cinco años y aunque hoy no está presente, su recuerdo siempre está en mi mente y en mi corazón. Gracias mamita porque este logro es tuyo.

A mis hermanos que a pesar de su ausencia, siempre matizaban mi vida y le ponían ese toque de color a cada cosa que hacíamos juntos.

A mi padre quien aún me acompaña y que desde pequeña me enseñó lo que es trabajar con disciplina y dedicación para lograr cada escalón hasta alcanzar la meta.

A Daniel por ser esa personita tan especial estos dos años de difíciles cambios en mi vida, gracias por ser esa lucecita que alumbra cada uno de mis días. Te amo.

A todos mis familiares y amigos.

Dos claveles en el agua no se pueden marchitar. Dos amigas que se quieren no se pueden olvidar.

A mis maestros del CAMM y la UIS sembradores de conocimiento, gigantes sobre cuyos hombros sigo alcanzando parte de mis sueños.

Ana María Rosso Cerón

DEDICATORIA

Esta tesis es el resultado de todo lo que me ha enseñado la vida, es por ello que dedico primeramente este trabajo a Dios y la virgen María porque siempre se han manifestado generosamente en mi vida.

A mi madre, por ser la mamá, papá y amiga a la vez, y por estar en todos los momentos de mi vida. Gracias por la paciencia que has tenido para enseñarme que es lo bueno y lo malo, a ser honesto, entregado al trabajo, por el amor que me das, por tus cuidados y por tus regaños.

A mi abuela, por ayudar a formarme y por enseñarme el camino de la vida. Gracias por tus consejos, tus cuidados y apoyo incondicional. Gracias por llevarme en tus oraciones porque estoy seguro que siempre lo haces.

A mi hermana Leydy, mi sobrina, mi madrina, ahijadas, tía, primos, primas por ayudarme a salir adelante, y hacer parte de esta etapa tan importante.

A mi padre que desde el cielo me ilumina y me protege siempre.

A cada uno de mis profesores que pusieron en mí cada grano de conocimiento.

A mis amigos por pasar a mi lado los momentos de mi vida universitaria que hoy culmina para dar paso a la profesión.

Said Toro Uribe

AGRADECIMIENTOS

A la Vicerrectoría de Investigación y Extensión de la Universidad Industrial de Santander por el apoyo económico recibido a través del proyecto: Aprovechamiento de subproductos obtenidos de la industria del procesamiento del mango (*Magdalena River*) código 5446.

Al CICTA por su apoyo y cooperación con los equipos, instalaciones y los análisis fisicoquímicos realizados.

A la Dr. Aide Perea por su colaboración en el proceso de adaptación al laboratorio.

Al Dr. Custodio Vásquez por su guía para elaborar el diseño experimental.

Al Dr. Luis Javier López Giraldo quien con su apoyo y dedicación nos acompañó en cada paso de éste proyecto. Mil gracias “profe” por todas sus enseñanzas, sus consejos y por ser ese magnífico ser humano. Siempre lo recordaremos.

Al semillero de alimentos AICT por haber sido nuestro primer paso en este largo camino de la investigación.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	18
1. MARCO TEÓRICO	20
1.1 COMPUESTOS POLIFENÓLICOS	20
1.2 TIPOS DE POLIFENOLES	21
1.2.1 Flavonoides	21
1.2.2 Ácidos Fenólicos	22
1.2.3 Taninos	22
1.3 MANGO VARIEDAD HILACHA	22
1.3.1 Polifenoles en la Almendra del Mango	22
1.4 EXTRACCIÓN	23
1.4.1 Métodos de Extracción.	23
1.4.1.1 Extracción con Solventes	23
1.4.1.2 Extracción con CO ₂ a Condiciones Supercríticas	24
1.5. CINÉTICA DE EXTRACCIÓN	24
1.5.1 Modelos Cinéticos	24
2. MATERIALES Y METODOLOGÍA	26
2.1 REACTIVOS	26
2.2 MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO	26
2.3 RECOLECCIÓN DE LA MATERIA PRIMA	26
2.4 ACONDICIONAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA	27
2.5 PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN	27
2.6 DETERMINACION DE POLIFENOLES TOTALES (PT)	28
2.7 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ELECCIÓN DE LAS VARIABLES	28
2.8 DISEÑO DE EXPERIMENTOS	30
2.9 VALIDACIÓN DEL MODELO DE OPTIMIZACIÓN	30

2.10 CINÉTICA DE EXTRACCIÓN	31
2.11 ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS CINÉTICOS A PARTIR DE DATOS EXPERIMENTALES	31
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	32
3.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA	32
3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL	32
3.3 EFECTO DE LA TEMPERATURA	34
3.4 EFECTO DE LA RELACIÓN ETANOL: AGUA	36
3.5 EFECTO DE LA RELACIÓN SOLUTO:SOLVENTE	36
3.6 OPTIMIZACIÓN DE LA EXTACCIÓN DE POLIFENOLES	37
3.7 VALIDACIÓN DEL MODELO	37
3.8 CINÉTICA	38
4. CONCLUSIONES	41
BIBLIOGRAFÍA	42
ANEXOS	49

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura fenólica	21
Figura 2. Superficie de Respuesta SS vs T a EA=50 v:v	34
Figura 3: Superficie de Respuesta EA vs T a SS=1:3 m:v	34
Figura 4: Superficie de Respuesta EA vs SS a T=45°C	34
Figura 5. Diagrama de efectos Principales	35
Tabla 4. Parámetros cinéticos de los modelos ajustados	38
Figura 6. Comportamiento cinético del proceso de extracción de PT a partir de la almendra de mango (○), semillas de uva (□) (Bucić-Kojić <i>et al.</i> , 2007) y soya (Δ) (Jokić <i>et al.</i> , 2010)	39

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Modelos cinéticos empleados en la descripción del comportamiento experimental del proceso de extracción sólido-líquido de polifenoles totales a partir de la almendra de mango (<i>Magdalena River.</i>)	25
Tabla 2. Factores y niveles del diseño experimental	30
Tabla 3. Resultados del análisis estadístico (Análisis de varianza ANOVA)	33
Tabla 4. Parámetros cinéticos de los modelos ajustados	38

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. CURVA DE SECADO DE LA ALMENDRA DE MANGO HILACHA	49
ANEXO 2. PROCEDIMIENTO OPERACIONAL DE DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES	50
ANEXO 3. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA MEDICIÓN DE POLIFENOLES TOTALES POR EL MÉTODO DE FOLÍN-CICALTEAU	52
ANEXO 4. RESULTADOS DEL DISEÑO FACTORIAL 2^3 COMPUESTO CENTRAL ROTABLE + PUNTOS CENTRALES (CIRCUNSCRITO PARA T Y SS Y FIJADO EN LAS CARAS PARA EA)	53
ANEXO 5. DIAGRAMA DE PARETO PARA EFECTOS ESTANDARIZADOS	54
ANEXO 6. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE LA CINÉTICA	55
ANEXO 7. DIAGRAMAS DE LOS MODELOS CINÉTICOS AJUSTADOS A LOS DATOS EXPERIMENTALES	56
ANEXO 8. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE LA VALIDACIÓN DEL MODELO DE POLIFENOLES TOTALES	58
ANEXO 9. CÁLCULO DE TIEMPO DE EQUILIBRIO CON UN ERROR MENOR AL 5%	59

LISTA DE ABREVIATURAS

a,b	Constantes del modelo logarítmico
AOAC	Association of Official Analytical Chemist
CEq	Concentración de polifenoles totales en el equilibrio
C(t)	Concentración de polifenoles totales en el tiempo)
EA	Relación etanol:agua
EAG	Equivalentes de Ácido Gálico
FDA	Food and Drug Administration
F y P	Coeficientes de Fisher
GL	Grados de Libertad
HAMS	Harina de almendra de mango seca
k1	Constante del modelo de Peleg
k2	Constante de velocidad de Peleg
k3	Constante de capacidad de Peleg
k4	Constante de velocidad global
MS	Suma media de cuadrados
PT	Polifenoles totales
R²	Coeficiente de correlación
rpm	Revoluciones por minuto
RMSD	Raíz del error cuadrático medio
SC	Suma de cuadrados
SCM	Suma media de cuadrados
SS	Relación soluto:solvente
t	Tiempo de extracción
T	Temperatura
Var.	Variedad
σ	Desviación estándar

RESUMEN

TÍTULO: OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN SÓLIDO-LÍQUIDO DE POLIFENOLES A PARTIR DE LA ALMENDRA DE MANGO HILACHA (*Mangifera indica*. Var. *Magdalena River*) Y AJUSTE DE SUS PARÁMETROS CINÉTICOS*

AUTORES: Rosso Cerón, Ana María.
Toro Uribe, Said**.

PALABRAS CLAVES: polifenoles, extracción sólido-líquido, optimización, mango, *Magdalena River*, cinética.

DESCRIPCIÓN:

En este trabajo, se evaluó el efecto de la temperatura, la relación soluto:solvente y la relación etanol:agua, sobre la extracción sólido-líquido de los componentes polifenólicos presentes en la almendra de mango (Var. *Magdalena River*). Para tal fin se empleó un diseño factorial 2^3 compuesto central rotatable + puntos centrales con replica. Además se ajustaron los parámetros cinéticos del proceso, probando cuatro modelos ampliamente utilizados en la literatura para describir este tipo de fenómeno. En todos los casos se midió el contenido de polifenoles empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu a 760nm. Los resultados experimentales fueron ajustados a un modelo de segundo orden con un R^2 ajustado del 99,19% y mostraron que todas las variables estudiadas tienen un efecto significativo sobre la concentración de polifenoles totales (PT). El mayor rendimiento de extracción (144,52 mg de equivalentes de ácido gálico/g de harina de la almendra de mango seca) se alcanzó bajo las siguientes condiciones: temperatura 67°C; relación etanol:agua 57,6:43,4 (v:v) y relación soluto:solvente 1:5 (m:v). A estas condiciones se realizó el estudio cinético para finalmente comparar los modelos resultando que el modelo que proporcionó el mejor ajuste fue el de Peleg Modificado con un R^2 de 0,98 observándose que el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio es de 94 min y a partir de los parámetros cinéticos ajustados se infiere que la extracción de polifenoles a partir de la almendra de mango es un proceso rápido cuando se le compara con estudios hechos empleando otros tipos de residuos agroindustriales.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas, Escuela de Ingeniería Química, Director. Luis Javier López Giraldo. Codirector: Yaneth Aidé Perea Villamil

ABSTRACT

TITLE: OPTIMIZATION OF CONDITIONS OF SOLID-LIQUID EXTRACTION OF POLYPHENOLS FROM KERNEL OF HILACHA MANGO (*Mangifera indica* Var. *Magdalena River*) AND ADJUSTMENT OF ITS KINETICS PARAMETERS*

AUTHORS: Rosso Cerón, Ana María.
Toro Uribe Said**.

KEYWORDS: polyphenols, solid-liquid extraction, optimization, mango, *Magdalena River*, kinetic.

DESCRIPTION:

In this study was evaluated the effect of temperature, solute:solvent ratio and ethanol:water ratio on the solid-liquid extraction of polyphenols compounds from mango's kernel (Var. Magdalena River). For this purpose, a rotatable central composite design factorial 2^3 whit four replicates at the centre point was then applied. Also the kinetic parameters were adjusted in the process, testing four models widely used in the literature to describe this phenomenon. In all cases, the polyphenols content was measured using Folin-Ciocalteu to 760nm. The experimental results were fitted a second order polynomial model whit an R^2 adjusted of 99.19% and the results showed that all the variables studied have a significant effect on the concentration of total polyphenols (TP). The highest yield (144,52 mg gallic acid equivalents/g flour dry mango kernel) were reached under the following conditions: temperature 67°C, ethanol:water ratio 57,6:43,4 (v:v) and soluto:solvente ratio 1:5 (m:v). In these conditions the kinetic study was conducted to finally compare the models and was found that the best fit was Peleg Modified with an R^2 of 0.98 was observed that the time required to reach equilibrium is 94 min and from the fitted kinetic parameters the extraction of polyphenols from kernel of mango is a process faster than other agro-industrial waste.

*WorkDegree

**Faculty of Physicochemical Engineering, Department of Chemical Engineering Director. Luis Javier López Giraldo. Co director: Yaneth Villamil Aide Perea

INTRODUCCIÓN

Actualmente el procesamiento de material agrícola para la manufactura de productos elaborados genera una gran cantidad de residuos que son desechados sin tratamiento alguno provocando problemas ambientales como: (i) contaminación del agua, (ii) malos olores y (iii) emisiones de gases de efecto invernadero (Zamorano *et al.*, 2007). En consecuencia, hay un gran interés en la recuperación, reciclaje y aprovechamiento de los residuos agroindustriales para su transformación en productos de mayor valor agregado (antioxidantes naturales, ingredientes alimenticios, biocombustibles, etc.).

Una de las frutas más populares en Colombia es el mango, en el 2009, su producción fue de 170000 toneladas (Universidad del Rosario, 2011). Las plantaciones existentes en Cundinamarca y en las orillas del río Magdalena cuentan con variedades internacionales entre las que se destacan Tommy Atkins, Kent, Keitt y Edward-Haden; así como con variedades criollas entre las que sobresalen el hilacha (*Magdalena River*), el azúcar, el manzano y el chupa. Este fruto se utiliza principalmente en la elaboración de néctares, jugos, conservas y dulces. Según Min. Agricultura (2010), el procesamiento de esta materia prima generó 86900 ton de residuos entre los años 2007-2008 y se espera que para el 2025 este valor se incremente a 130350 ton/año.

El mango hilacha es un fruto originario de Colombia, de tamaño mediano, color amarillo y es la variedad de mango más usada en la industria despulpadora de frutas a lo largo del territorio nacional (CORPOICA, 2006). Su peso es de $200,94 \pm 17,14$ g de los cuales la almendra representa aproximadamente el 10% del peso total del fruto. (Medina *et al.*, 2010).

Los estudios correspondientes a la valorización de los subproductos obtenidos a partir del procesamiento del mango generalmente se enfocan a (i) al manejo de residuos

sólidos para la producción de compost, (ii) al aprovechamiento del tejido lignocelulósico para la producción de hidrolizados fermentables con el fin de producir etanol, (iii) a la producción de harina para la elaboración de almidón (Mejía *et al.*, 2007) y (iv) a la síntesis de polisacaridasas (Buenrostro *et al.*, 2010).

Además estos residuos pueden ser empleados en la producción de químicos finos. En ese sentido sobresalen los aceites y polifenoles extraídos de la almendra de mango que encuentran aplicaciones en las industrias alimenticias (como sustituyente de manteca de cacao y en bebidas como refuerzo proteínico), cosméticas y farmacéuticas (en productos contra el acné, por ser antimicrobiano y antioxidante) (Nakajima *et al.*, 2000; Maisuthisakul y Gordon, 2009).

Por otro lado, la bibliografía que concierne a la extracción de compuestos polifenólicos a partir de la almendra del mango es bastante limitada. Los principales estudios se han realizado con las variedades zebda, baladi y succary características de Egipto (Abdalla *et al.*, 2007). Adicionalmente, a lo mejor de nuestro conocimiento, no existen trabajos precedentes que describan el comportamiento cinético de la extracción de compuestos polifenólicos obtenidos a partir de la almendra de mango.

En consecuencia, este trabajo pretende determinar las mejores condiciones de extracción que permitan maximizar el contenido de compuestos polifenólicos (ácido caféico, taninos, mangiferina, etc.) expresados como equivalentes de ácido gálico (EAG). Una vez encontrada las condiciones óptimas se procederá a realizar el ajuste de los parámetros cinéticos evaluando diferentes modelos de extracción propuestos en la literatura.

1. MARCO TEÓRICO

Entre las sustancias bioactivas que se encuentran en los vegetales y las frutas se destacan particularmente el grupo denominado polifenoles que tienen beneficios a largo plazo sobre la salud humana. Además, ellos pueden ser utilizados en cosméticos, fármacos y como aditivos alimentarios con el fin de impedir o retardar las oxidaciones catalíticas, el enranciamiento natural o acciones provocadas por agentes físicos (luz, aire, calor, etc.) (Conde *et al.*, 2009).

Hay dos tipos de antioxidantes: sintéticos y naturales. Los sintéticos, son compuestos que se caracterizan por poseer una estructuras fenólicas con sustitución alquílica y generalmente son empleados como aditivos en alimentos. Sin embargo, existen estudios que plantean que estos últimos tienen actividad carcinogénica lo que ha limitado su uso en las últimas décadas (Universidad de Pamplona, 2006). En esta clase se destacan el butilhidroxianisol (BHA) y el butilhidroxitolueno (BHT).

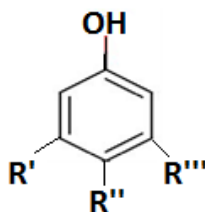
Por otro lado, los antioxidantes naturales son sustancias más saludables y seguras que los antioxidantes sintéticos. Entre las principales familias se destacan los ácidos fenólicos, los ácidos cinámnicos, los flavonoides y los taninos.

1.1 COMPUESTOS POLIFENÓLICOS

El reino vegetal ofrece una gran variedad de compuestos de alto y bajo peso molecular con propiedades antioxidantes. La mayoría de los compuestos antioxidantes naturales que se han estudiado para su aplicación en la industria alimentaria son compuestos polifenólicos (Conde *et al.*, 2009). Los compuestos polifenólicos son metabolitos secundarios que se caracterizan por estar formados por unidades de fenoles-anillos

aromáticos- que llevan al menos un sustituyente hidroxilo (Figura 1.). Estas biomoléculas se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración varia a lo largo del ciclo vegetativo, además participan en diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente (Pinelo, 2004).

Figura 1. Estructura fenólica.



Fuente: Autores

Donde R', R'' y R''' pueden ser funciones: carboxílicas, glucosídicas, anillos aromáticos, etc.

Los compuestos polifenólicos pueden presentar actividad antioxidante en virtud, entre otros factores, de su capacidad donadora de electrones, es decir de su carácter reductor. La actividad reductora de los polifenoles se debe a la presencia de los grupos hidroxilo en el anillo aromático y su capacidad para deslocalizar los electrones del radical fenólico (Conde *et al.*, 2007; Paladino, 2008).

1.2 TIPOS DE POLIFENOLES

1.2.1 Flavonoides. Los flavonoides son el grupo más abundante en los vegetales, son compuestos de bajo peso molecular que generalmente están enlazados a moléculas de azúcar; se clasifican en antocianinas y antoxantinas. Las antocianinas son moléculas de pigmentos rojos, azules y púrpuras. Las antoxantinas, que incluyen

flavonoles, flavonas, flavanoles, e isoflavonas, son moléculas incoloras o de colores que oscilan desde el blanco hasta el amarillo (Paladino, 2008).

1.2.2 Ácidos Fenólicos. Los ácidos fenólicos son muy abundantes en el reino vegetal, distinguiéndose dos grupos principales el ácido cinámico y el ácido benzoico. Entre los principales ácidos fenólicos que encuentran aplicaciones alimenticias se destacan el caféico (presente en el café en su forma esterificada) y el felúrico (Pinelo *et al.*, 2004).

1.2.3 Taninos. Los taninos son polímeros fenólicos de alto peso molecular que se clasifican como taninos hidrolizables (pirogálicos) y taninos condensados. Entre los taninos hidrolizables se distinguen los taninos gálicos. En cuanto a los taninos condensados (no hidrosolubles) estos tienen una estructura similar a la de los flavonoides y carecen de osas en su molécula; se destacan los taninos catéquicos (formados por 2 o más moléculas de 3-flavanoles) y los leucoantocianos o procianidoles (formados por 2 o más moléculas de 3,4-flavandioles) (Paladino, 2008).

1.3 MANGO VARIEDAD HILACHA

El mango hilacha es un fruto originario de Colombia, de tamaño mediano, color amarillo y es la variedad de mango más usada en la industria despulpadora de frutas a lo largo del territorio nacional (CORPOICA, 2006). Su peso es de $200,94 \pm 17,14$ g de los cuales la almendra representa aproximadamente el 10% del peso total del fruto. (Medina *et al.*, 2010).

1.3.1 Polifenoles en la Almendra del Mango. En lo que concierne a la almendra de mango, diversos estudios han mostrado que a partir de procesos de extracción sólido-líquido se puede extraer de este material una cantidad apreciable de polifenoles que varían de acuerdo con las condiciones de operación. Según Abdalla *et al.*, (2007) y Pitchaon (2009) el contenido total de compuestos polifenólicos extraíbles la almendra de mango varía entre 110 y 117mgEAG/g.

En lo que respecta a la caracterización del material polifenólico, algunas investigaciones han revelado que entre los compuestos más sobresalientes se encuentran la vanilina, taninos, cumarina, ácido ferúlico, ácido gálico y mangiferina (Abdalla *et al.*, 2007). Se ha demostrado que este tipo de compuestos pueden actuar como inhibidores de los procesos oxidativos involucrados en el desarrollo de enfermedades degenerativas (Abdalla *et al.*, 2007; Maisuthisakul y Gordon, 2009). Adicionalmente, los compuestos fenólicos pueden ser empleados como aditivos en productos alimenticios al incorporar moléculas con propiedades antioxidantes y antirradicales (Kanazawa y Sakakibara, 2000; Jiménez-Ecrig *et al.*, 2001), anticancerígenas (Chung *et al.*, 1999) y antibacterianas (Chun *et al.*, 2005). Gracias a estas propiedades, los polifenoles son útiles en la formulación de productos nutricionales cada vez más saludables y seguros con una demanda creciente de consumidores preocupados por su salud.

1.4 EXTRACCIÓN

La extracción está influenciada por la naturaleza química de los componentes (fenoles simples y complejos), el método de extracción empleado, condiciones de extracción y la presencia de sustancias de interferencia (Chirinos *et al.*, 2007).

1.4.1 Métodos de Extracción. Los métodos de extracción más utilizados para productos vegetales son la destilación al vapor, la extracción por prensado, la extracción con solventes químicos y la extracción con CO₂ a condiciones supercríticas; siendo las dos últimas las más empleadas en la recuperación de polifenoles (Grupo Nutracéutico ChíaSa., 2011).

1.4.1.1 Extracción con Solventes. La extracción de muestras sólidas con solventes químicos, generalmente conocida como extracción sólido-líquido o lixiviación, es un

proceso diseñado para recuperar compuestos solubles, mediante difusión, desde una matriz sólida (soluta) hacia una matriz líquida (solvente).

Es un método muy utilizado en la recuperación de polifenoles a partir de residuos sólidos agro-industriales (Li *et al.*, 2006; Chirinos *et al.*, 2007; Durling *et al.*, 2007; Amendola *et al.*, 2010 y Rusak *et al.*, 2008). Los disolventes habituales son agua acidificada, etanol, metanol y acetona. A nivel industrial se emplean equipos de extracción continua con solventes convencionales y equipos discontinuos para la extracción con fluidos supercríticos (Conde, 2009).

1.4.1.2 Extracción con CO₂ a Condiciones Supercríticas. La extracción con fluidos supercríticos es una técnica relativamente reciente; el dióxido de carbono es el solvente más utilizado para ésta técnica debido a sus condiciones críticas moderadas (31,1°C y 73,8 Mpa) (Castro *et al.*, 2010). Se utiliza para separar sustancias principalmente de carácter liposoluble lo que la hace apta para la extracción de sustancias como los aceites vegetales. Cuando este método se utiliza para la extracción de sustancias polares como los polifenoles, se hace necesaria la ayuda de un co-solvente que mejore el poder extractor (Saiz *et al.*, 2010).

1.5. CINÉTICA DE EXTRACCIÓN

El conocimiento de un modelo matemático que describa la cinética de extracción puede ser ampliamente utilizado desde el punto de vista ingenieril para el escalamiento y el diseño de procesos. Conscientes de esta importancia en este trabajo se analizaron algunos de los modelos más empleados para la descripción de este tipo de fenómeno.

1.5.1 Modelos Cinéticos. Según Bucić-Kojić *et al.*, (2007) la tendencia de los datos experimentales (concentración de polifenoles totales vs. tiempo) tienen una forma similar a las curvas de sorción. En consecuencia, es posible usar los mismos modelos

matemáticos (Ecuaciones 1-3, Tabla 1) para describir la cinética de extracción. Además se analizó el modelo propuesto por [Rakotondramasy et al., \(2010\)](#) (Ecuación 4), que describe de manera simplificada el comportamiento físico del proceso de extracción ya que para sólidos orgánicos se acepta que éstos sean estudiados como medios porosos homogéneos descritos mediante una difusión intracelular.

Tabla 1. Modelos cinéticos empleados en la descripción del comportamiento experimental del proceso de extracción sólido-líquido de polifenoles totales a partir de la almendra de mango (*Magdalena River*)

Modelo	Ecuación	Parámetros
(1) Peleg	Amendola et al. (2010) $C(t) = \exp(k_1 t^n)$	k_1, n : constantes de Peleg
(2) Peleg Modificado	Bucić-Kojić et al. (2007) $C(t) = \frac{t}{k_2 + k_3 * t}$	k_2 : relacionada con la velocidad de extracción. $B_0 = \frac{1}{k_2} \left(\frac{\text{mgEAG}}{\text{ming}_{\text{HMS}}} \right)$ k_3 : relacionada con la concentración máxima de PT. $C_{t \rightarrow \infty} = C_e = \frac{1}{k_3 \left(\frac{\text{mgEAG}}{\text{g}_{\text{HAMS}}} \right)}$
(3) Logarítmico	Bucić-Kojić et al. (2007) $C(t) = a \log(t) + b$	a, b : constante del modelo logarítmico
(4) Rakotondramasy	Rakotondramasy et al. (2010) $\ln \left(\frac{C_{Eq}}{C_{Eq} - C(t)} \right) = k_4 t$	k_4 : constante de velocidad global (min^{-1})

Fuente: Bucić-Kojić et al., (2007)

2. MATERIALES Y METODOLOGÍA

2.1 REACTIVOS

Para el desarrollo del proyecto se emplearon: n-hexano, etanol, reactivo de Folin-Ciocalteu, agua destilada y carbonato de sodio. Todos los reactivos fueron grado analítico y adquiridos en SIGMA-ALDRICH.

2.2 MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO

Balanza analítica AB204-S marca Mettler Toledo, espectrofotómetro Genesys 20 marca Thermo Spectronic, baño ultrasónico marca Elmasonic E., agitador vibrador para tubos de ensayo marca Schott Gerate, microcentrífuga 1-14 marca SIGMA, baño termostataado marca VWR Poly Science, pH metro marca Schott Geratey agitadores mecánicos marca Eurostar Power Basic.

2.3 RECOLECCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Se recolectaron 100 semillas de mango que pesaron 1840 g (variedad hilacha) proveniente de la zona del sur del Cesar después del proceso de despulpado en la empresa Potosí S.A. ubicada en el parque industrial del área metropolitana de Bucaramanga.

2.4 ACONDICIONAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA

Las semillas recolectadas fueron lavadas, secadas al aire durante tres días y posteriormente se retiró manualmente la almendra. Inicialmente, la almendra se trituró manualmente y el material resultante fue sometido a un proceso de secado con recirculación de aire a 50°C hasta alcanzar peso constante siguiendo el método de [Pitchaon y Gordon, \(2009\)](#) (ANEXO 1). Seguidamente, el material seco se molió en un molino de bolas hasta alcanzar un tamaño de partícula de 0,125 mm. Finalmente, el material resultante se almacenó a 4°C aislado de la luz, según el procedimiento de [Abdalla et al., \(2007\)](#).

La etapa de desengrasado se desarrolló siguiendo el protocolo propuesto por [Herrera y Cadena, \(2008\)](#). El material vegetal fue mezclado con n-hexano a una proporción de 20:80 (m:v). Seguidamente, la mezcla se sometió a un proceso de sonicación durante 4h a 30°C. Posteriormente el material desengrasado se separó de la solución de n-hexano mediante decantación. Adicionalmente el material fue secado en una cámara de extracción durante 12h a temperatura ambiente, aislado de la luz, para evitar la degradación de los polifenoles y almacenado a 4°C hasta su uso.

Finalmente la materia prima fue caracterizada empleando como parámetros el contenido total de grasa (método AOCS-963.15) y la humedad (método de Karl Fischer).

2.5 PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN

El material procedente de la etapa anterior fue sometido al proceso de extracción siguiendo la metodología propuesta por [Tan et al. \(2011\)](#). Después de la extracción, el extracto obtenido de la harina de mango hilacha fue centrifugado a 8000 rpm a 4°C; el sobrenadante fue recuperado y almacenado en viales (color ambar) hasta el análisis del contenido de polifenoles totales (PT).

2.6 DETERMINACION DE POLIFENOLES TOTALES (PT)

El contenido de PT fue determinado empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu siguiendo la metodología propuesta por [Piombo \(2007\)](#) (ANEXO 2). El contenido total de polifenoles fue expresado como mg equivalentes de ácido gálico/g de harina de almendra de mango seca (mgEAG/g_{HAMS}) (ANEXO 3).

2.7 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ELECCIÓN DE LAS VARIABLES.

La extracción de compuesto polifenólicos a partir de materiales vegetales está influenciada por la temperatura, método y tiempo de extracción, tipo y relación entre solventes, relación soluto-solvente, tamaño de partícula y pH de extracción ([Chirinos et al., 2007](#); [Pinelo et al., 2004](#)). Por esto, es importante evaluar la influencia de estos factores sobre el grado de extracción de polifenoles. Sin embargo, no hay un método de extracción universal aplicable para extracción de fitoquímicos de plantas debido a la complejidad de dichos compuestos y sus interacciones con compuestos bioactivos de la matriz vegetal ([Chew et al., 2011](#); [Chirinos et al., 2007](#); [Silva et al., 2007](#)).

Esto se debe a que los rangos de estudio de estos factores son muy amplios, por ejemplo temperatura entre 25 -100 °C ([Silva et al., 2007](#); [Arabshahi-D et al., 2007](#); [Fonseca et al., 2008](#); [Berardini et al., 2004](#); [Mané et al., 2007](#)), tiempo de extracción de 15min – 8h ([Silva et al., 2007](#); [Arabshahi-D et al., 2007](#)), relación soluto-solvente entre 1/80 – ½ m:v ([Silva et al., 2007](#); [Abdalla et al., 2007](#)), tamaño de partícula entre 0,08-0,3 mm ([Tan et al., 2011](#); [Gião et al., 2009](#)), pH entre 1 – 10 ([Chen et al., 2008](#); [Arabshahi-D et al., 2007](#)) y como solventes agua, etanol, metanol, acetona e hidróxido de sodio ([Ashoush et al., 2011](#); [Zhao et al., 2008](#); [Ribeiro et al., 2008](#); [Tabart et al., 2007](#)).

A lo mejor de nuestro conocimiento es la primera vez que se optimizan las variables que afectan el proceso de extracción de polifenoles obtenidos a partir de la almendra de mango y en vista de que es uno de los objetivos del trabajo; las variables tamaño de partícula, tiempo de extracción, agitación y pH se mantuvieron constantes. Como se mostrará a continuación, los valores seleccionados para estas variables se fundamentan en optimizaciones hechas para otras matrices vegetales.

El tamaño de partícula se mantuvo en 0,125mm que es el valor optimizado por [Gião et al. \(2009\)](#); pH ligeramente ácido (5-6) porque [Arabshahi-D et al., \(2007\)](#); [Chen et al., \(2008\)](#) han reportado que el contenido total polifenólico y la actividad antioxidante se favorece a estos valores; agitación de 400rpm ([Makris, 2010](#)) y tiempo de 4h con el objeto de garantizar que se alcance la fase de equilibrio debido a que se recomienda que el tiempo no debe ser menor a 2h ([Thoo et al., 2010](#)) ni mayor a 5 h ([Spigno et al., 2007](#)). Además, el potencial antioxidante aportado por los PT se ve favorecido con un incremento del tiempo de extracción y un pequeño tamaño de partícula, esto significa que un incremento en el tiempo y en el área superficial disponible para el transporte molecular contribuye a una transferencia de masa extensiva de soluto entre fases ([Chew et al., 2011](#)).

Por lo tanto, los factores estudiados fueron a) Temperatura, b) Relación Soluta-Solvente, c) Relación Etanol:Agua porque generalmente son éstos lo que tienen mayor influencia en el proceso de extracción ([Bucić-Kojić et al., 2007](#)).

La temperatura por el impacto en la solubilidad del solvente y la degradación de compuestos termolábiles. La relación etanol:agua porque es el solvente comúnmente empleado para extraer fitoquímicos de las plantas gracias a la ausencia de toxicidad (aceptado por la FDA como solvente grado alimenticio) y a los requerimientos mínimos de seguridad en su manipulación ([Pitchaon et al., 2011](#); [Chew et al., 2011](#)). Finalmente, la relación soluto:solvente fue considerada porque: (i) modifica la solubilidad y la cantidad máxima de polifenoles totales extraíbles ([Cacace y Mazza, 2003](#)) y (ii) no hay

muchos estudios que la consideren dentro de los parámetros a optimizar (Makris, 2010).

2.8 DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Para establecer las condiciones óptimas que maximicen la extracción de polifenoles a partir de la harina de la almendra de mango se realizó, por duplicado, un diseño factorial 2^3 compuesto central rotatable + puntos centrales, empleando para su análisis la metodología de superficie de respuesta. El software utilizado fue **STATISTICA 10** versión prueba para Windows. Los factores estudiados fueron: *i*) temperatura (24 - 70°C), *ii*) relación soluto-solvente (1:40 - 1:2 m:v) y *iii*) relación etanol:agua (0-100 v:v).

En la Tabla 2 se presenta las variables independientes y los niveles empleados.

Tabla 2. Factores y Niveles del diseño experimental.

Variables Independientes	Niveles de los Factores	
Temperatura	30 (-1)	60 (+1)
Relación soluto:solvente	0,1 (-1)	0,5 (+1)
Relación etanol:agua	0 (-1)	100 (+1)

Fuente: Autores

2.9 VALIDACIÓN DEL MODELO DE OPTIMIZACIÓN

La validación del modelo de extracción de PT se verificó empleando puntos experimentales (diferentes a los del diseño) escogidos al azar para compararlos con el valor predicho. La concordancia entre los valores experimentales y los datos calculados fue estableció empleando la raíz del error cuadrático medio (Ecuación 5).

Ecuación 5: Raíz del error cuadrático medio

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\text{experimental} - \text{calculado})^2}$$

2.10 CINÉTICA DE EXTRACCIÓN

Para hallar un modelo matemático que describa la cantidad de polifenoles totales extraídos en un determinado tiempo se requirió de una serie de experimentos que se triplicaron a las condiciones óptimas de extracción encontradas previamente (67°C, 57,6% de etanol y una relación de m:v de 1:5).

El experimento consistió en la toma de muestras de 150 μL , a intervalos de tiempos de 5 min hasta completar 20 min, luego a intervalos de 10 min hasta completar 40 min y finalmente se mantuvieron intervalos de 20 min hasta completar 4h. Posteriormente las muestras se sometieron a centrifugación (8000 rpm durante 10 min a 4°C). Finalmente, la cantidad de polifenoles totales (PT) fue determinada empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu siguiendo el procedimiento propuesto por [Piombo \(2007\)](#). El contenido de PT fue expresado como mg equivalentes de ácido gálico/g de harina de almendra de mango seca (mgEAG/g_{HAMS}).

2.11 ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS CINÉTICOS A PARTIR DE DATOS EXPERIMENTALES

Para la estimación de parámetros de cada uno de los modelos escogidos se utilizó el método de regresión no lineal (método Levenberg-Marquardt), del paquete estadístico **Statistica 10** versión de prueba para Windows.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Los resultados obtenidos para el contenido total de grasas y porcentaje de humedad después del proceso de desengrasado y secado fueron respectivamente de 4,42% y 8,23%. Estos valores son semejantes a los encontrados por [Solis et al. \(2004\)](#) para la almendra de mango Var. *Manila* con contenido total de grasa de 3,0% y porcentaje de humedad de 10%. Con estos niveles de lípidos y humedad (*i*) se aumenta la migración de los polifenoles hacia el agente extractor debido a una disminución de la barrera lipídica y (*ii*) se reducen los riesgos de degradación enzimática.

3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

A partir de los resultados de los 26 experimentos (ANEXO 4) se evaluó el efecto de las variables y su interacción, aplicando el análisis de varianza ANOVA (Tabla 3), y de acuerdo con el valor P se infiere que todas las variables tienen incidencia significativa sobre la variable respuesta a un nivel de confianza del 95%. En el (ANEXO 5) se puede apreciar el diagrama de Pareto que confirma lo obtenido por el ANOVA.

Tabla 3. Resultados del análisis estadístico (Análisis de varianza ANOVA).

Factores	SC	GL	SMC	F	P
A:T	2370,06	1	2370,06	342,969	0,000000
AA	215,71	1	215,71	31,216	0,000163
B:SS	606,25	1	606,25	87,731	0,000001
BB	1423,19	1	1423,19	205,948	0,000000
C: EA	3259,2	1	3259,2	471,636	0,000000
CC	19430,64	1	19430,64	2811,789	0,000000
AB	321,24	1	321,24	46,487	0,000029
AC	409,63	1	409,63	59,277	0,000009
BC	661,97	1	661,97	95,793	0,000001
Falta de Ajuste	102,81	5	20,56	2,975	0,061238
Error Puro	76,01	11	6,91		
Total SC	34682,15	25			

Fuente: Autores

R²:0,99484; R²Ajustado:0,99194;SC: suma de cuadrados; GL: grados de libertad; SMC: suma media de cuadrados; F y P: Coeficientes de Fisher; SS: Relación soluto:solvente; EA: Relación Etanol-Agua y T:Temperatura.

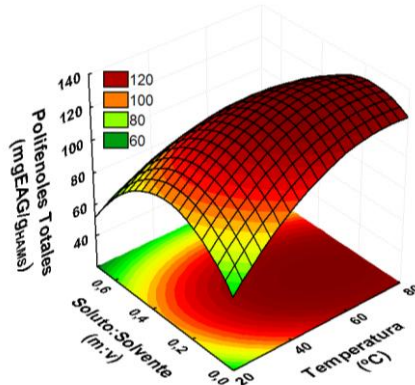
Una vez identificados lo factores e interacciones relevantes se procedió a realizar el ajuste de los resultados experimentales (**STATISTICA 10**, versión prueba Windows) obteniéndose un polinomio de segundo orden (Ecuación 6) con un R² de 0,994

Ecuación 6: Función objetivo empleada para maximizar la cantidad de PT a partir de la almendra de mango

$$PT = -37,0818 + 2,65992 * T + 184,404 * SS + 2,26613 * EA - 0,0203486 * T^2 - 1,4936$$

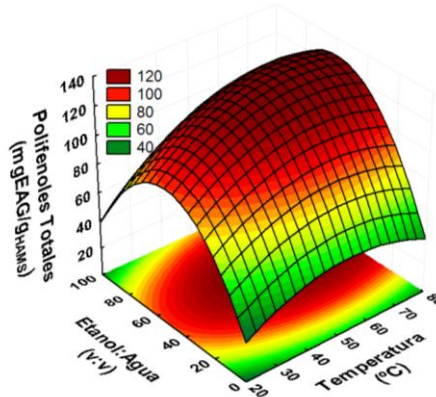
Empleando la ecuación 6 fue posible representar el comportamiento de la variable de respuesta a través de sus respectivas superficies (Figura 2 - 4)

Figura 2: Superficie de Respuesta SS vs T a EA=50 v:v.



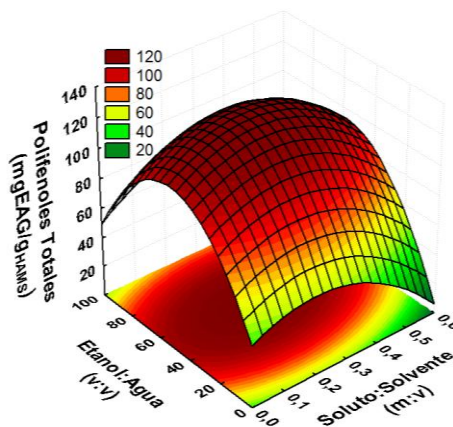
Fuente: Autores

Figura 3: Superficie de Respuesta EA vs T a SS=1:3 m:v. Fuente: Los autores



Fuente: Autores

Figura 4: Superficie de Respuesta EA vs SS a T=45°C. Fuente: Los autores

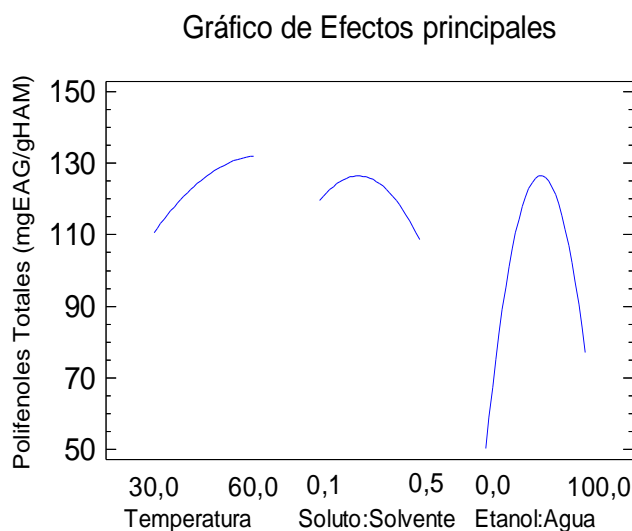


Fuente: Autores

3.3 EFECTO DE LA TEMPERATURA

El análisis de efectos principales (Figura 5) muestra la influencia de los factores en forma individual sobre la concentración de polifenoles totales (PT) y se puede deducir que la extracción de polifenoles se incrementa con el aumento de la temperatura.

Figura 5. Diagrama de efectos Principales.



Fuente: Autores

Esta tendencia ha sido observada por [Juntachote et al. \(2006\)](#) quien explica que el aumento en el contenido de PT se debe al incremento de la solubilidad de estos últimos en el solvente (Figura 2 y 3). Además, el calentamiento tiene la capacidad de ablandar los tejidos vegetales, debilitar la integridad de la pared celular y por lo tanto favorecer la liberación de compuestos polifenólicos ([Spigno et al., 2007](#)). También se puede apreciar que existe un cambio de pendiente para la temperatura por encima del cual se reduce el porcentaje de extracción. Esta situación se explica considerando la termolabilidad de las sustancias extraíbles, como por ejemplo la mangiferina que decrece en un 6% a 70°C ([Berardini et al., 2004](#)).

3.4 EFECTO DE LA RELACIÓN ETANOL: AGUA

El impacto de la relación etanol:agua a diferentes concentraciones (0:100, 50:50, 100:0 v:v) presenta el efecto individual más significativo debido a que la solubilidad de polifenoles es afectada por la polaridad del solvente. A partir de la Figura 3 se puede concluir que los compuestos polifenólicos de la almendra del mango son poco solubles cuando se emplean los solventes puros (etanol o agua). Sin embargo, el grado de extracción es aún menor cuando se emplea como solvente agua pura (Figura 3). Este comportamiento también fue reportado por [Zhao et al., \(2008\)](#), quién encontró que los compuesto bioactivos son menos solubles a concentraciones de 100% agua comparados con soluciones a 100% etanol. Basándose en el efecto curvilíneo mostrado en las Figura 3 y 4, se puede inferir que hay presencia de polifenoles con diferentes polaridades. Esto se puede deber a que los taninos son solubles en medios de extracción anfifílicos y a que el coeficiente de difusión incrementa con la concentración de etanol (39-67% v:v) ([Zhao et al., 2008](#)).

[Chew et al. \(2011\)](#) encontró que se obtienen mejores resultados de extracción cuando se adiciona cierta cantidad de etanol (50-60%, v:v) al agua. Sin embargo, estos autores también concluyen que por encima del 60% (etanol:agua, v:v) se reduce el rendimiento de la extracción. Estos resultados también fueron confirmados en el proceso de extracción sólido-líquido a partir de la almendra de mango donde los mejores rendimientos de polifenoles totales se obtuvieron en zona de mezcla agua-etanol alrededor del 57% de concentración (Figura 3).

3.5 EFECTO DE LA RELACIÓN SOLUTO:SOLVENTE

En las Figuras 2 - 4 se evidencia que el aumento en la masa del soluto no presenta una respuesta lineal, este comportamiento se puede explicar por la saturación del solvente o la presencia de un medio muy diluido. Estos resultados también fueron

encontrados por (Tan *et al.*, 2011) y son consistentes con los principios de transferencia de masa donde la fuerza conductora es el gradiente de concentración entre el sólido y el solvente y por la segunda ley de Fick que se da por un equilibrio final entre la concentración del soluto en la matriz sólida y la solución durante las 4h de extracción.

3.6 OPTIMIZACIÓN DE LA EXTACCIÓN DE POLIFENOLES

Bajo condiciones optimizadas (etanol:agua 57,6:43,4; soluto:solvente 1:5 y temperatura de 67°C) se obtiene un máximo teórico de 136,14 mgEAG/g_{HAMS} y experimental de 144,52 mgEAG/g_{HAMS} (mg de Equivalentes de ácido gálico/g de harina de la almendra de mango seca). Al comparar estos resultados con otros materiales vegetales se evidencia que la almendra de mango tiene un contenido de PT mayor que el tamarindo (94,50 ± 4,9 mgEAG/g), el aguacate (88,20 ± 2,2 mgEAG/g), el cacao (38,01 ± 2,27 mgEAG/g), la guayaba (20mgEAg/g), la papaya (7 mgEAG/g) y la semilla de uva (66,81 mgEAG/g) (Pitchaon *et al.*, 2009; Bucić-Kojić *et al.*, 2006; Herrera *et al.*, 2008; Norshazila *et al.*, 2010). Estos resultados confirman la potencialidad de emplear este residuo como fuente de extractos polifenólicos.

3.7 VALIDACIÓN DEL MODELO

Empleando la ecuación y los datos experimentales (ANEXO 8 – Tabla 6) el valor de la raíz del error cuadrático medio fue de 1,97. De lo anterior se infiere que el modelo explica la mayor parte de la variabilidad del proceso.

3.8 CINÉTICA

La Tabla 4. muestra los parámetros estimados para cada uno de los modelos propuestos (sus representaciones gráficas se encuentran en el ANEXO 7. Según el coeficiente de correlación (R^2) el grado de ajuste de los modelos en orden descendente es Peleg modificado > Logarítmico > Peleg > Rakotondramasy. Este hecho no es sorprendente ya que resultados similares han sido encontrados por [Jokić et al., \(2010\)](#) y [Amendola et al. \(2010\)](#) en sus trabajos de extracción de polifenoles a partir de residuos del procesamiento de soya y la uva, respectivamente.

Tabla 4. Parámetros cinéticos de los modelos ajustados.

Modelo de Peleg	Modelo de Peleg Modificado	Modelo Logarítmico	Modelo de Rakotondramasy
$R^2:0,955$	$R^2:0,988$	$R^2:0,981$	$R^2:0,898$
$k_1:4,33$	$k_2:0,035$	$a:36,49$	$k_4:0,097$
$n:0,027$	$k_3:0,0070$	$b:61,29$	

Fuente: Autores

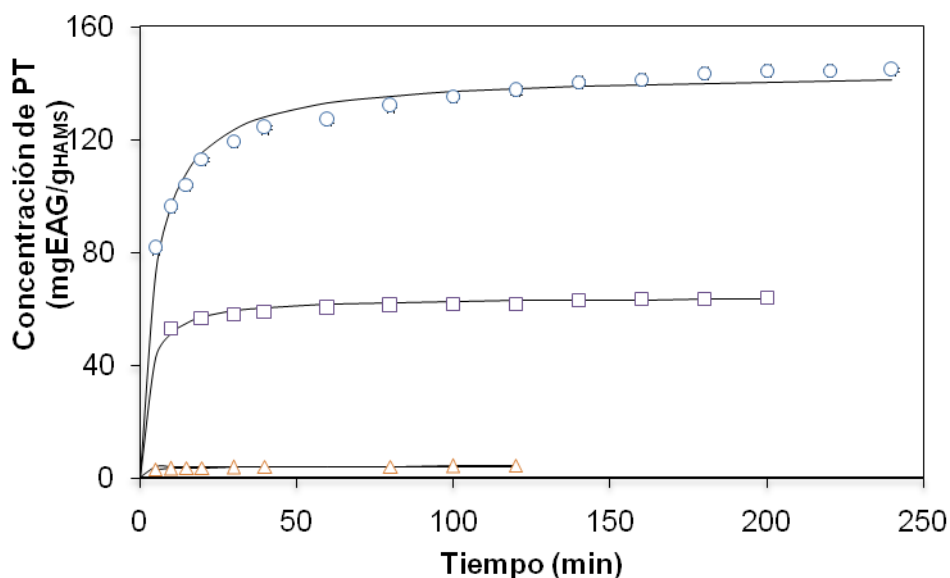
Al aumentar el número de parámetros de un modelo el ajuste de los datos se hace mejor, pero también la incertidumbre se hace mayor debido a la propagación de errores como lo demuestran los resultados para los modelos de Peleg y el modelo logarítmico (Tabla 4); por lo tanto se debe buscar un modelo con un número pequeño de parámetros que de un ajuste aceptables (principio de parsimonia).

A pesar que el mejor ajuste se obtiene a través de un modelo empírico (Peleg Modificado) y a veces resulta difícil asignar un significado físico a cada uno de sus parámetros ([Amendola et al., 2010](#)) para este caso los valores de sus constantes brindan información relevante. En efecto, si se compara el valor de la constante k_2 ($\text{min} \times g_{\text{HAMS}} / \text{mgEAG}$), cuyo inverso es análogo a la constante de velocidad, se infiere que la extracción de compuestos polifenólicos a partir de la almendra de mango es un proceso rápido. Además, este valor es $\sim 19,43$ veces mayor al obtenido por [Jokić et al. \(2010\)](#) para la soya y $\sim 1,15$ para la semilla de uva ([Bucić-Kojić et al., 2007](#)). En lo

referente a la constante k_3 , ésta puede considerarse como el inverso de la concentración máxima obtenible para el proceso de extracción. En nuestro caso, esta concentración es de $\sim 144,52\text{mgEAG/g}_{\text{HAMS}}$ que supera en $\sim 35,14$ veces el valor obtenido para la soya (Jokić *et al.*, 2010) y 2,23 para la semilla de la uva (Bucić-Kojić *et al.*, 2007). Además, la concentración de PT empleando extracción sólido-líquido convencional (para la HAMS empleada en este estudio) fue de 1,30 a 1,58 veces superior a las de otras variedades de mango (Pitchaon, 2009 y 2011). Infortunadamente, no fue posible hacer una comparación del comportamiento cinético de la extracción con otras variedades de mango, porque a lo mejor de nuestro conocimiento este trabajo es el primero en proponer valores ajustados del modelo cinético de extracción.

Lo anteriormente expuesto se puede ver de forma gráfica en la Figura 6. A partir de ésta se confirma que el material proveniente de la almendra de mango tiene un mayor potencial de ser empleado para la obtención de extractos polifenólicos.

Figura 6. Comportamiento cinético del proceso de extracción de PT a partir de la almendra de mango (○), semillas de uva (□) (Bucić-Kojić *et al.*, 2007) y soya (△) (Jokić *et al.*, 2010).



Fuente: Autores

De otro lado la concentración de equilibrio es alcanzada en ~ 94 min, (determinado como se muestra en el ANEXO 9), confirmando que el proceso es rápido. Este hecho se explica si se considera que los polifenoles están levemente ligados a la pared celular y a las vacuolas vegetales (Pinelo *et al.*, 2004). Adicionalmente las condiciones de operación empleadas en este trabajo permiten una mejor área de contacto aumentando el proceso de transferencia de masa.

4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos del análisis estadístico confirmaron que todas las factores considerados tienen una influencia significativa ($P < 0,05$) sobre la cantidad de Polifenoles Totales extraídos. A partir de este análisis fue posible describir el fenómeno de extracción a través de un modelo cuadrático validado (RMSD: 1,97) y optimizar los parámetros de extracción. Es importante subrayar que a lo mejor de nuestro conocimiento, este trabajo es pionero al considerar la relación soluto:solvente como un factor dentro del diseño experimental. Se evidenció que el valor óptimo de dicha relación (1:5 m:v). , cuando se compara éste último valor con los valores tradicionalmente empleados en este tipo de procesos de extracción (1:10 y 1:40) se infiere que el valor optimizado en este trabajo reduce al menos en un 50% el empleo de solventes.

Es de resaltar que la mayor cantidad de polifenoles totales extraídos para la almendra de mango se alcanza al cabo de 94 min (proceso rápido), lo cual implicaría un menor tiempo de producción y consecuentemente reducciones en los costos de operación.

Además, este trabajo enriquece las bases de datos (casi inexistentes) que agrupan parámetros cinéticos de los procesos de extracción de polifenoles a partir de material vegetal. Posibilitándose así la evaluación, simulación, diseño y control de los procesos que buscan la valorización de residuos agroindustriales a través de la producción de extractos polifenólicos.

BIBLIOGRAFÍA

- ABDALLA, EM.; DARWISH, S.;AYAD, EHE, EL-HAMAHMY RM. Egyptian mango by-product 1. Compositional quality of mango seed kernel En: Food Chemistry. Vol. 103 (2007); p. 1134-1140.
- ABDALLA,EM.; DARWISH, S.;AYAD, EHE, EL-HAMAHMY RM. Egyptian mango by-product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. En: Food Chemistry. Vol. 103 (2007); p. 1141-1152.
- AMENDOLA, D.; DE FAVERI, D.M.; SPIGNO,G. Grape marc phenolics: Extraction kinetics, quality and stability of extracts. En: Journal of Food Engineering .Vol.97, (2010);p. 384–392
- AOAC ,2005, Official Methods of Analysis,(Ed). HORWITZ, W. Official methods of Analysis Chemical
- ARABSHAHI-D, S.; DEVI V.;ASNA, U. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their heat, pH and storage stability. En: Journal of Food Chemistry Vol. 100 (2007); p. 1100–1105.
- ASHOUSH, I.S.; GADALLAH, M.G.E. Utilization of mango peels and seed kernels powders as sources of phytochemicals in biscuit. En: World Journal of Dairy & Food Sciences. Vol.6 (2011); p. 35-42.
- BERARDINI, N.; CARLE, R. Y SCHIEBER, A. Characterization of gallotannins and benzophenone derivatives from mango (*Mangifera indica* L. cv. “Tommy Atkins”) peels, pulp and kernels by high-performance liquid chromatography/ electrospray ionization mass spectrometry. En: Rapid Communication in Mass Spectrometry. Vol.18, (2004); p. 2208–2216.
- BUCIC-KOJIC, A.; PLANINIC, M.; TOMAS, S.; BILIC, M. Y VELIC, D. Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. En: Journal of Food Engineering. Vol. 81, (2007); p. 236–242

- BUENROSTRO, J.; DE LA GARZA, H.; IBARRA, V. Y AGUILAR, N.; Aprovechamiento de las cascaras de mango como soporte para la producción de polisacaridasas. En: AQM Revista de Divulgación Científica.Vol.2 (2010)
- CACACE, J. E.; MAZZA, G. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. En: Journal of Food Engineering 59 (2003), p. 379-389.
- CACACE, J. E.; MAZZA, G. Pressurized low polarity water extraction of lignans from whole flaxseed. En: Journal of Food Engineering. Vol. 77 (2006); p. 1087–1095.
- CASTRO V, H.; RODRIGUEZ V, L.; FERREIRA, S.; PARADA, F. Extraction of phenolic fraction from guava seeds (*Psidiumguajava* L.) using supercritical carbon dioxide and co-solvents. En: Journal of Supercritical Fluids. Vol. 51 (2010); p. 319–324
- CHEN, Yi-Tzu; KAO,Wen-Tzu; LIN,Kuo-Wei. Effects of pH on the total phenolic compound, antioxidative ability and the stability of discoing of various yam cultivars. Journal of Food Chemistry. Vol. 107 (2008); p. 250–257.
- CHEW, K. K.; KHOO, M. Z.; NG, S. Y.; THOO, Y. Y.; WAN AIDA, W. M.Y HO, C. W.Effect of ethanol concentration, extraction time and extractiontemperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphonstamineus* extracts. En:International Food Research Journal. Vol. 18, (2011); p.1427-1435.
- CHIRINOS, R.; ROGEZ ,H.; CAMPOS,D.; PEDRESCHI,R.Y LARONDELLE,Y. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ru'iz&Pav'on) tubers. En : Separation and Purification Technology .Vol.55, (2007) ; p.217–225
- CHUN, SS.;VATTEM DA.;LIN YT.;SHETTY K. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanumvulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. Process Biochemistry. Vol. 40 (2005); p. 809-816.
- CHUNG HS.;CHANG LC.;LEE SK.;SHAMON LA.;VAN BREEMEN RB.;MEHTA RG.;FARNSWORTH NR.;PEZZUTO JM.;KINGHORN AD. Flavonoids constituents

- of Chorizante diffusa with potencial cancer chemopreventive activity. Journal Agricultural and Food Chemistry. Vol. 47 (1999); p. 36-41.
- CONDE, Enma. Revalorización de Residuos Agroindustriales y Forestales para la Obtención de Antioxidantes Naturales con Aplicaciones en la Industria Alimentaria, Cosmética y/o Farmacéutica. Ourense, España, 2009, Trabajo de Maestría. Universidad de Vigo. Facultad de Química.
 - CORPOICA. Atributos de la calidad del mango criollo para la agroindustria. [Base de datos en línea].[consultado 25 de Enero de 2011].Disponible en: <<http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Archivos/Publicaciones/JGLBOLETINTECNICOCalidadAgroindustrialdemangosciollo.pdf> >
 - DURLING, N.; CATCHPOLE , O.; GREY, J.; WEBBY, R.; MITCHELL, K.; FOO, L. ; PERRY, N. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. En: Food Chemistry. Vol. 101 (2007); p. 1417–1424
 - FONSECA, M.; LOPEZ, J.; NOVY, G.; BASTOS, M. Extraction of red cabbage anthocyanins: optimization of the operation conditions of the column process. En: International Journal of Brazilian Archives of Biology and Technology. Vol.51 (2008); p.143-152.
 - GIÃO, M; PEREIRA, C.; FONSECA, S, PINTADO, M.; MALCATA, F.Effect of particle size upon the extent of extraction of antioxidant power from the plants Agrimoniaeupatoria, Salvia sp. and Satureja Montana. En: Journal of Food Chemistry. Vol. 117 (2009); p. 412 – 416.
 - GRUPO NUTRACÉUTICO ChíaSa. [Base de datos en línea].[consultado 21 Marzo de de 2011]. Disponible en:< <http://www.chiasagroup.es/pdf/docu24.pdf>
 - HERRERA , Yenny Y CADENA, Tatiana ;. Evaluación del efecto del procesamiento del cacao sobre el contenido de polifenoles y su actividad antioxidante. Bucaramanga, 2008, Trabajo de Grado. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química.

- JIMÉNEZ-ECRIG A.;RINCÓN M.;PULIDO R.;SAURA-CALIXTO F. Guava fruit (*Psidium guajava* L) as a new source of antioxidant dietary fiber. Journal Agricultural and Food Chemistry. Vol. 49 (2001); p. 5489-5493.
- JOKIĆ, S.; VELIĆ,D.; BILIĆ,M.; BUCIĆ-KOJIĆ,A.; INIĆ,M. y TOMAS,S. Modelling of the Process of Solid-Liquid Extraction of Total Polyphenols from Soybeans.En:Czech Journal Food Science. Vol. 28,(2010);p 206-212.
- JUNTACHOTE, T.; BERGHOFER, E.; SIEBENHANDL Y BAUER, F.The antioxidant properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork. En: Meat Science. Vol. 72, (2006); p. 446-456.
- KANAZAWA K, SAKAKIBARA H. High content of dopamine, a strong antioxidant, in Cavendish Banana. En: Journal Agricultural and Food Chemistry. Vol. 48 (2000); p.844-848.
- LI, B; SMITH A, Md; HOSSAIN, M. Extraction of phenolics from citrus peels I. Solvent extraction method. En: Separation and Purification Technology. Vol 48, (2006) ; p. 182–188
- MAISUTHISAKUL P.; GORDON, MH. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. En: Food Chemistry. Vol. 117 (2009); p. 332-341.
- MANE, C.; SOUQUET, J. M.; OLLEA, D.;VERRIREAS, C.;VEARAN F.;MAZEROLLES, G. CHEYNIDIER, V.; FULCRAND, H. Optimization of simultaneous flavanol, phenolic acid, and anthocyanin extraction from grapes using an experimental design: application to the characterization of champagne grape varieties. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 55 (2007); p. 7224-7233.
- MAKRIS, Dimitris P. Optimisation of anthocyanin recovery from onion (*allium cepa*) solid wastes using response surface methodology. En: Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry. Vol. 9 (2010); p. 1587 – 1592.
- MEDINA, Carlos. Evaluación de dos métodos de extracción de almidón a partir de cotiledones de mango. En: Bioagro.Vol. 22 (2010).

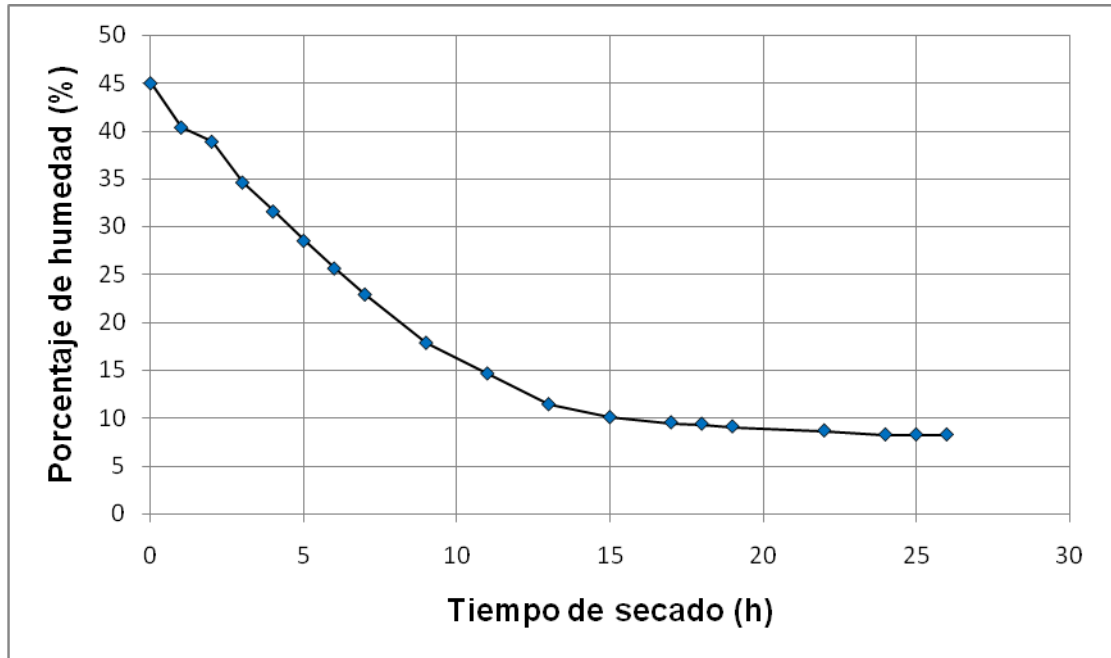
- MEJÍA G., LF.; MARTÍNEZ C., HA.; BETANCOURT G., JE.; CASTRILLÓN C. CE.; Aprovechamiento del residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L) en la obtención de azúcares fermentables. *Ingeniería y Ciencia*, 3: 41-62, 2007.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de mango criollo procesado para exportación en Colombia. [Base de datos en línea].[consultado 25 de Enero de 2011]. Disponible en: <http://www.minagricultura.gov.co/archivos/cadena_productiva_de_mango.pdf>
- NAKAJIMA H, TADOKORO S, HASHIBA H, ITO F, FURYA H, KABUKI T, ARAI M, DOSAKO S. Bacteriostatic and antibacterial agent containing mango kernel component. US6063382, 2000
- NORSHAZILA, S.; SYED ZAHIR, I.; MUSTAPHA SULEIMAN, K.; AISYAH, M. R. Y KAMARUL RAHIM, K. Antioxidant Study of Selected Seeds of Malaysian Tropical Fruits. *Malaysian. En: Journal of Nutrition*. Vol. 16,(2010); p.149-159.
- PALADINO, Silvia. Actividad Antioxidante de los Compuestos Fenólicos Contenidos en las Semillas de la Vid (*Vitis vinifera* L). Mendoza, Argentina, 2008, Trabajo de Maestría. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias.
- PINELO, M.; RUBILAR, M.; SINEIRO, J, NUÑEZ M.J. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). *En: Journal of Food Chemistry*. Vol. 85 (2004); p. 267–273
- PIOMBO, G. Détermination des phénols totaux. Procédure Opérationnelle CIRAD-AMIS-IATE (2007).
- PITCHAON, M; GORDON, M. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. *En: Journal Food Chemistry*. Vol. 117 (2009); p. 332-341
- PITCHAON, M. Antioxidant capacity of extracts and fractions from mango (*Mangifera indica* Linn). *En: International Food Research Journal*. Vol.18, (2011); p.520-525.

- PITCHAON, M. Antioxidant potential and Phenolic Constituents Mango Seed Kernel from Various Extraction Methods. En: Kasentsart Journal. Vol.43, (2009); p.290-297.
- RAKOTONDRAMASY, L.; HAVET, J.L.; PORTE, C. y FAUDUET, H. Estimation of effective diffusion and transfer rate during the protopine extraction process from *Fumaria officinalis* L. En: Separation and Purification Technology. Vol.76 ,(2010);p. 126–131
- RAMOS, L.; KRISTENSON, E. M.; BRINKMAN, U. A. Th. Current use of pressurized liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. En: Journal of Chromatography. Vol. 975 (2002); p. 3–29.
- RIBEIRO, S.; BARBOSA, L.; QUEIROZ, J.; KNODLER, M.; SCHIEBER, A. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. En: Journal of Food Chemistry. Vol. 110 (2008); p. 620–626
- ROUDSARI, M.H.; CHANG, P.R.; PEGG, R.; TYLER, R. Antioxidant capacity of bioactives extracted from canola meal by subcritical water, ethanolic and hot water extraction. En: Journal of Food Chemistry. Vol. 114 (2009); p. 717–726
- RUSAK, G.; KOMEZ, D.; LIKIC, S.; HORZIC, D.; KOVAC, M. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. En: Food Chemistry Vol. 110 (2008); p. 852–858
- SAIZ; GIRAL. CENTRO NACIONAL DE TECNOLOGÍA Y SEGURIDAD ALIMENTARIA (CNTA). Obtención y Aplicación de Extractos Naturales [diapositivas]. España: Ebro, 2010.
- SPIGNO, G.; TRAMELLI, L.; FAVERI, D. M. D. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. En: Journal of Food Engineering. Vol. 81 (2007): p. 200-208.
- SILVA, E.M.; ROGEZ, H.; LARONDELLE, Y. Optimization of extraction of phenolics from *Indaedulis* leaves usingn response surface methodology. En: Journal od Separation and Purificaation Technology. Vol. 55 (2007); p. 381-387.

- SOLIS, J.A. Y DURÁN, M.C. Mango seed uses: thermal behavior of mango seed almond fat and mixtures with cocoa butter. En: *Bioresource Technology*. Vol. 92 (2004); p. 71-78
- TABART, J.; KEVERS, C.; SIPEL, A.; PINCEMAIL, J.; DEFRAIGNE, J.; DOMMES, J. Optimisation of extraction of phenolics and antioxidants from black currant leaves and buds and of stability during storage. En: *Journal of Food Chemistry*. Vol. 105 (2007); p. 1268–1275
- TAN, P. W.; TAN, C.P. Y HO, C.W. Antioxidant properties: Effects of solid-to-solvent ratio on antioxidant compounds and capacities of Pegaga (*Centella asiatica*). En: *International Food Research Journal*. Vol. 18 (2011); p. 557-562
- THOO, Y.Y.; HO, S.W.; LIANG, J.Y.; HO, C.W.; TAN, C.P. Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (*Morinda citrifolia*). En: *Journal of Food Chemistry*. Vol. 120 (2010); p. 290–295.
- UNIVERSIDAD DE PAMPLONA, Evaluación de la Actividad Antioxidante de los Extractos Cáscaras de Banano (*Musa cavendish*) en un Producto Cárnico (Chorizo Mixto). [Base de datos en línea]. [consultado 25 de Junio de 2011]. Disponible en: <http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/hermesoft/portallG/home_15/recursos/fac_ingenierias/15042008/vol_4_2_ok.pdf>.
- UNIVERSIDAD DEL ROSARIO, El mango fruta con excelente oportunidad de exportación. [Base de datos en línea]. [consultado 20 de Marzo de 2011]. Disponible en: <<http://www.urosario.edu.co/sala-de-prensa/noticias/Generales/El-mango,-fruta-con-excelente-oportunidad-de-exportar/>>.
- ZHAO, B.; HALL, C. Composition and antioxidant activity of raisin extracts obtained from various solvents. En: *Journal of Food Chemistry*. Vol. 108 (2008); p. 511-518.
- ZAMORANO, M.; PÉREZ, J. I.; PAVÉS, I. A.; RIDAO, Á. R. Study of the energy potential of the biogas produced by an urban waste landfill in Southern Spain. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Vol. 11 (2007); p. 909–922.

ANEXOS

ANEXO 1. CURVA DE SECADO DE LA ALMENDRA DE MANGO HILACHA



Fuente: Autores

ANEXO 2. PROCEDIMIENTO OPERACIONAL DE DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES.

CIRAD-AMIS-IATE.

VERSIÓN C.

21/11/07

AUTOR: PIOMBO G.

1. REACTIVOS

- Carbonato de sodio Na_2CO_3
- Reactivo de FolinCiocalteu
- Extracto
- Agua deionizada

2. MATERIAL

- Agitador magnético
- Balanza analítica
- Pipeta
- Balón de aforado de 100ml
- Vaso precipitado
- Espectrofotómetro

3. PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACION DEL ÁCIDO GÁLICO

Preparación de una solución de ácido gálico concentrado a 200mg/l.

Pesar 20 mg de ácido gálico y aforar en un balón de 100 ml y realizar las siguientes diluciones: 1/2/10/20/40 para obtener una gama de concentraciones de 5 a 200mg/l de ácido gálico.

Cada punto se utilizará para construir la línea de calibración a partir de las concentraciones conocidas.

4. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE CARBONATO DE SODIO AL 20% p/v.

Pesar 20g de carbonato de sodio en vaso y adicionar 80 ml de agua deionizada y homogenizar la solución.

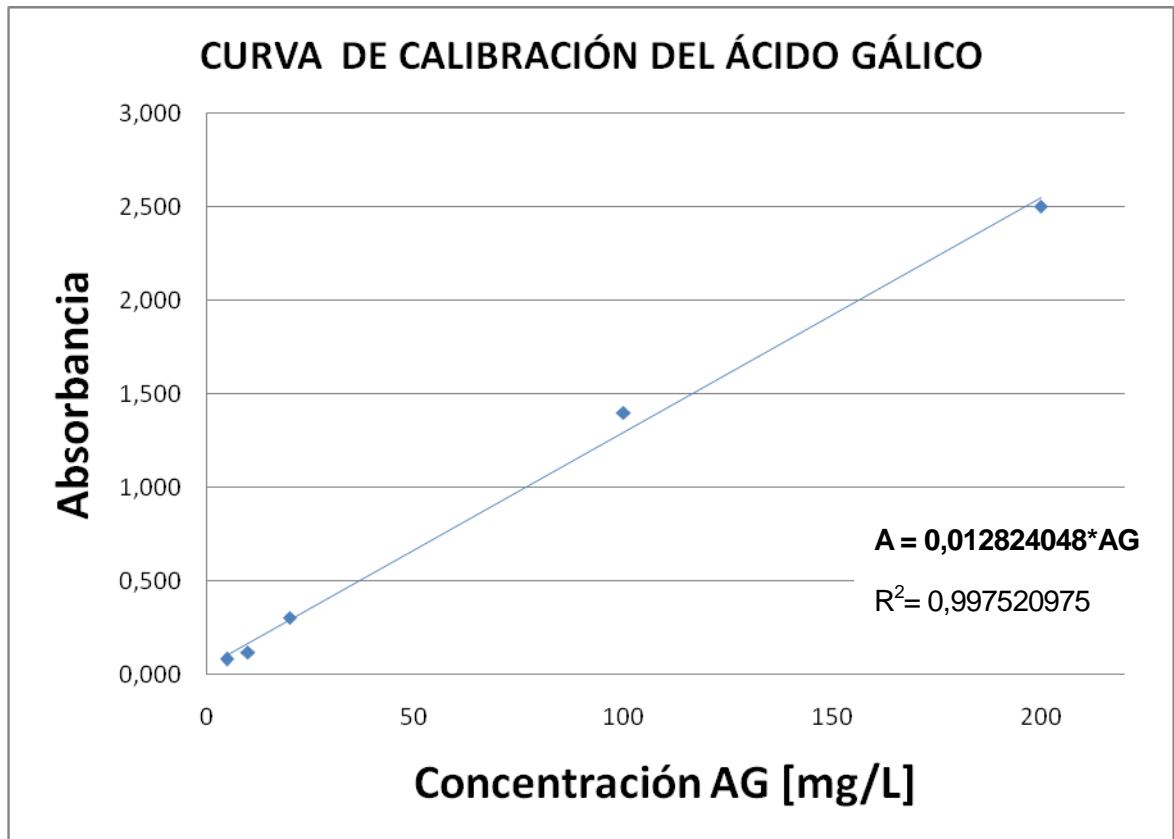
5. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

En un tubo de ensayo agregar:

- 400 uL de la solución a analizar
- 2400 uL de agua destilada
- 400 uL del reactivo de Folin Ciocalteu
- Realizar vortex y esperar 3 minutos
- 800 uL de la solución de carbonato de sodio al 20% p/v.

Guardar el tubo de ensayo en la oscuridad durante 60 min a temperatura ambiente, seguidamente leer la absorbancia de la muestra a 760 nm en el espectrofómeto, usando como blanco una mezcla del reactivo y agua.

**ANEXO 3. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA MEDICIÓN DE POLIFENOLES
TOTALES POR EL MÉTODO DE FOLÍN-CICALTEAU**



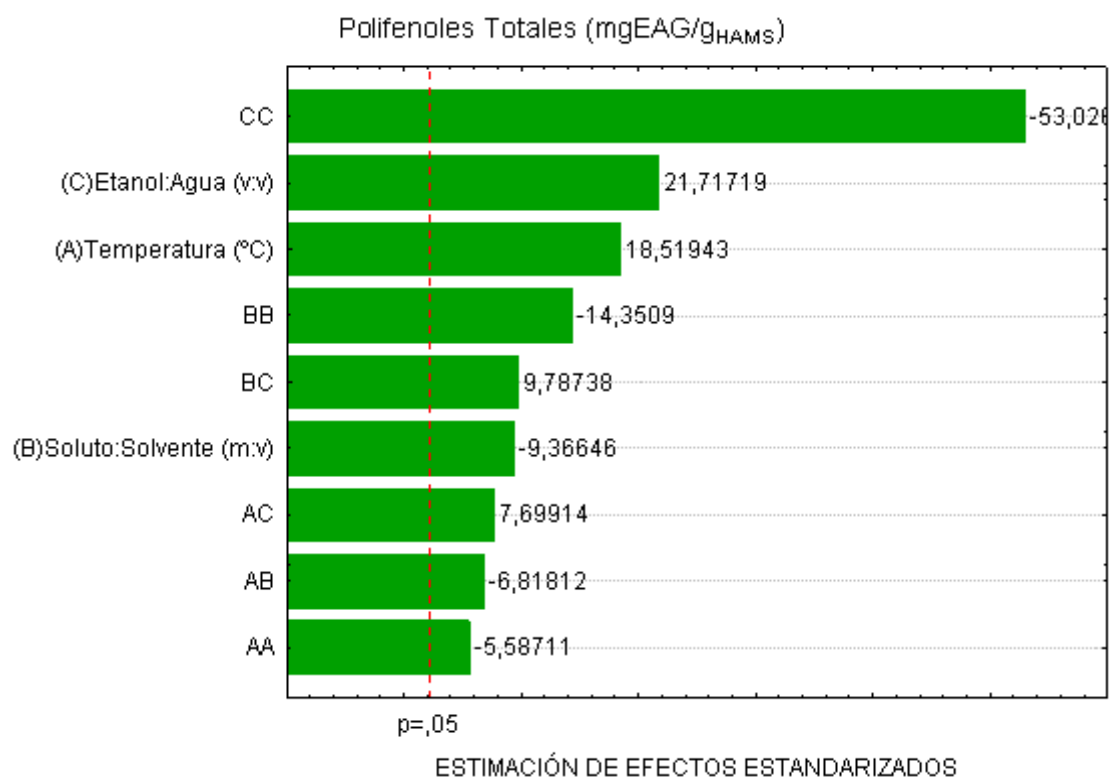
Fuente: Autores

**ANEXO 4. RESULTADOS DEL DISEÑO FACTORIAL 2³ COMPUESTO CENTRAL
ROTABLE + PUNTOS CENTRALES (CIRCUNSCRITO PARA T Y SS Y FIJADO EN LAS
CARAS PARA EA)**

	Temperatura (°C)	Soluto:Solvente (m:v)	Etanol:Agua (v:v)	Polifenoles Totales (mgEAG/g_{HAMS})
1	60	0,1	100	82,657
2	60	0,5	100	74,485
3	24	0,3	50	99,033
4	45	0,3	50	127,105
5	30	0,5	100	51,372
6	60	0,5	0	27,137
7	30	0,1	0	38,599
8	45	0,3	0	46,423
9	30	0,5	0	22,084
10	45	0,3	50	122,946
11	30	0,1	100	39,145
12	45	0,636	50	78,714
13	60	0,1	0	56,456
14	45	0,3	100	74,210
15	70	0,3	50	130,744
16	45	0,025	50	114,784
17	60	0,1	100	78,134
18	60	0,5	100	71,085
19	45	0,3	50	128,924
20	30	0,5	100	54,086
21	60	0,5	0	23,300
22	30	0,1	0	34,155
23	30	0,5	0	19,838
24	45	0,3	50	128,665
25	30	0,1	100	36,806
26	60	0,1	0	51,778

Fuente: Autores

ANEXO 5. DIAGRAMA DE PARETO PARA EFECTOS ESTANDARIZADOS



Fuente: Autores

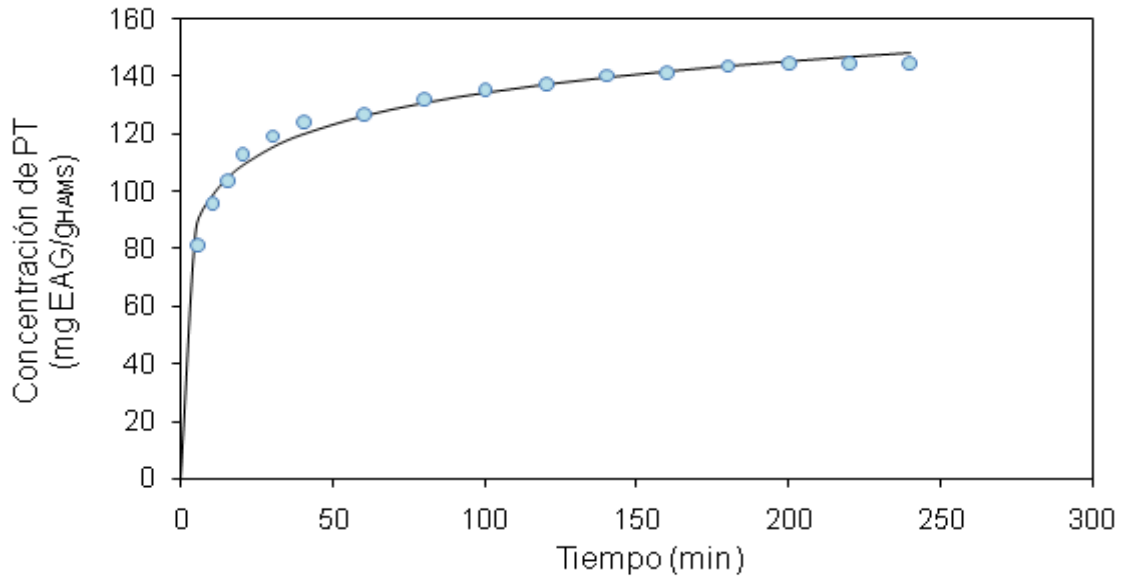
ANEXO 6. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE LA CINÉTICA

Tiempo (min)	Polifenoles mgEAG/gHAMS	Polifenoles mgEAG/gHAMS	Polifenoles mgEAG/gHAMS	Promedio Polifenoles mgEAG/gHAMS	σ
5	81,29	81,88	80,71	81,29	0,58
10	95,33	96,11	96,30	95,91	0,52
15	104,30	103,71	103,13	103,71	0,58
20	112,87	112,09	113,46	112,81	0,68
30	118,92	119,31	119,50	119,24	0,30
40	124,57	124,18	123,21	123,99	0,70
60	126,13	126,52	127,69	126,78	0,81
80	131,78	131,39	131,98	131,72	0,30
100	134,32	135,10	135,88	135,10	0,78
120	138,22	138,22	135,29	137,24	1,69
140	139,19	141,34	140,17	140,23	1,07
160	141,73	140,95	140,75	141,14	0,52
180	143,09	143,48	143,68	143,42	0,30
200	143,87	144,65	144,46	144,33	0,41
220	143,87	144,26	144,85	144,33	0,49
240	144,00	144,56	145,00	144,52	0,50

Fuente: Autores

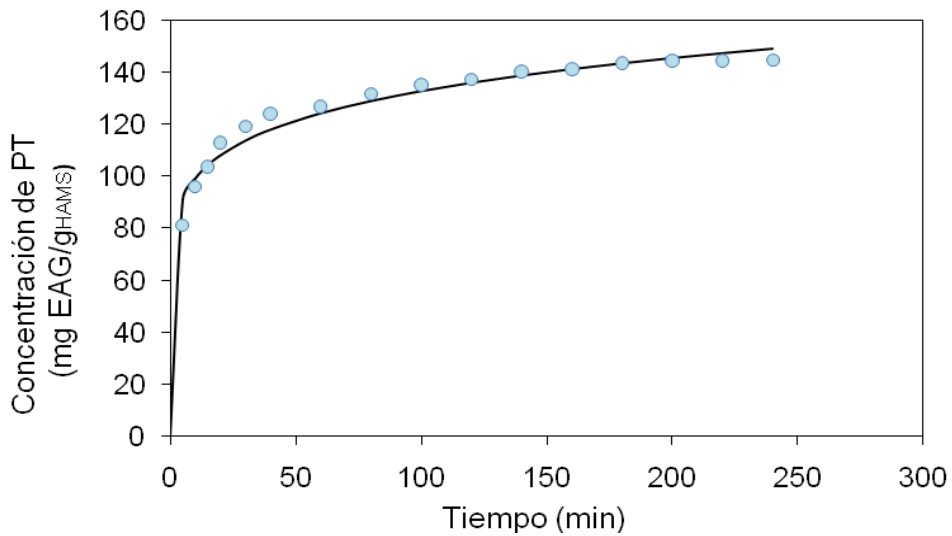
ANEXO 7. DIAGRAMAS DE LOS MODELOS CINÉTICOS AJUSTADOS A LOS DATOS EXPERIMENTALES.

Modelo Logarítmico



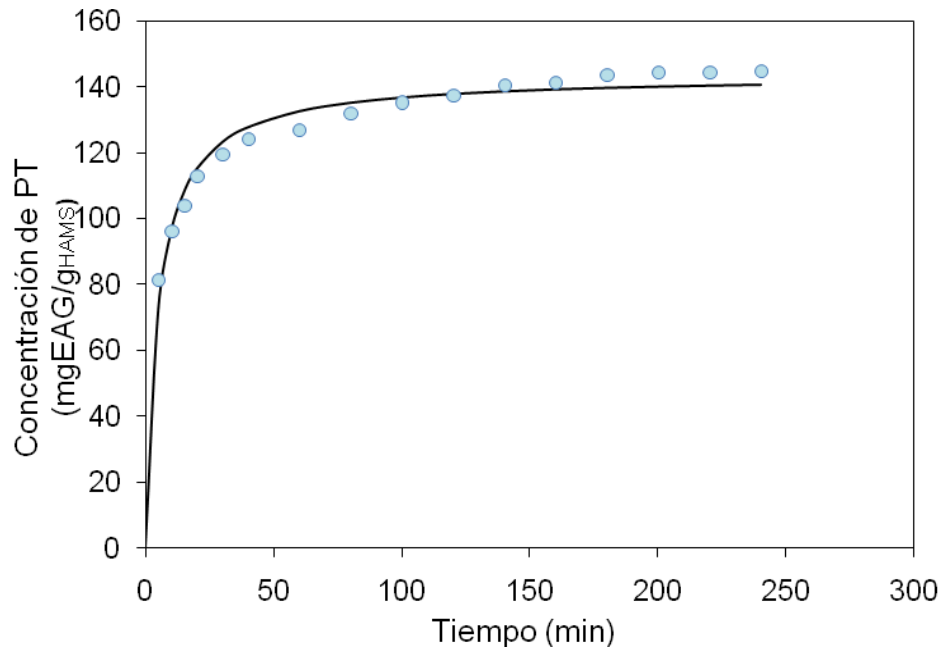
Fuente: Autores

Modelo de Peleg



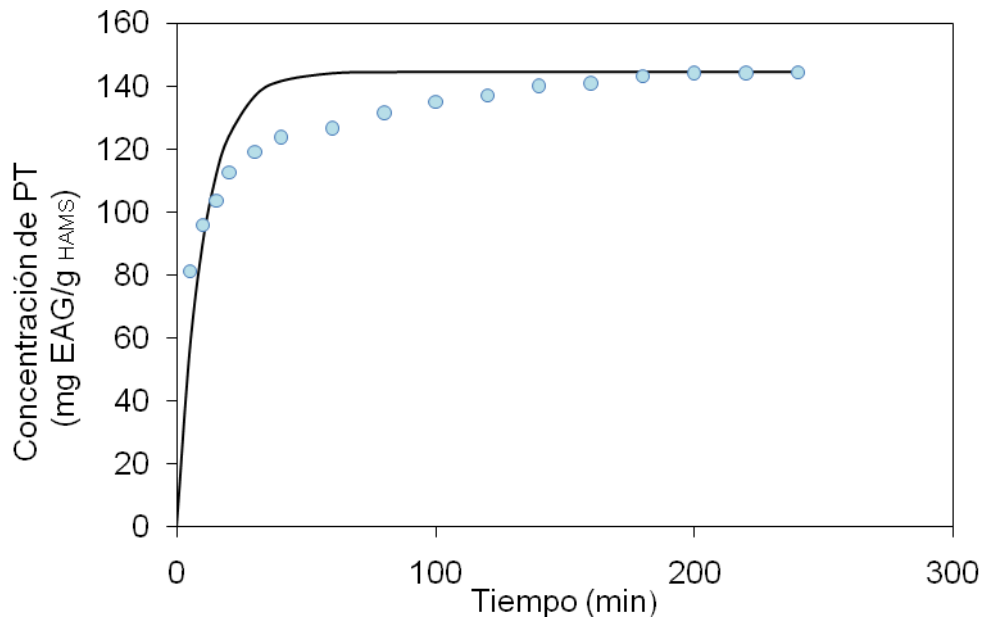
Fuente: Autores

Modelo de Peleg Modificado



Fuente: Autores

Modelo de Rakotondramasy



Fuente: Autores

ANEXO 8. RESULTADOS EXPERIMENTALES DE LA VALIDACIÓN DEL MODELO DE POLIFENOLES TOTALES.

	T	SS	EA	Experimental	Modelo
1	40,00	0,10	30,00	103,240	101,844
2	40,00	0,10	70,00	104,100	106,114
3	50,00	0,20	50,00	129,050	129,447
4	60,00	0,30	70,00	131,260	129,387
5	60,00	0,10	30,00	114,630	115,310
6	60,00	0,10	70,00	128,660	124,977
7	60,00	0,30	30,00	112,809	114,574

Fuente: Autores

**ANEXO 9. CÁLCULO DE TIEMPO DE EQUILIBRIO CON UN ERROR MENOR AL
5%**

Derivando la ecuación de Peleg Modificado (mejor ajuste)

$$\frac{k_2}{[(k)_2 + k_3 t]^2} = 0,05$$
$$\frac{0,0345}{(0,0345 + 0,00696t)^2} = 0,05$$

t = 94 min