

TUES  
1506  
5216e  
2000  
Ej. 2

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA  
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA



**Evaluación Técnica para la Extracción de un  
Pigmento a partir del Fruto del Arbol Cerezo Beliceño  
“Eugenia mirtyfolia” para su uso en la Industria.**

PRESENTADO POR

Pablo Arturo García Reyna  
Salvador de Jesús Murillo Rodríguez

15101013  
15101013

PARA OPTAR AL TITULO DE  
INGENIERO QUIMICO

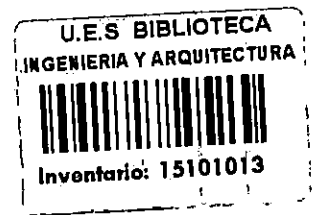
CIUDAD UNIVERSITARIA, MARZO DEL 2000.



4836

*Recibido el 14 marzo 2000*

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**



**RECTORA : DRA. MARÍA ISABEL RODRÍGUEZ**

**SECRETARIA GENERAL : LICDA. LIDIA MARGARITA MUÑOZ VELA**

**FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA**

**DECANO : ING. ALVARO ANTONIO AGUILAR ORANTES**

**SECRETARIO : ING. SAÚL ALFONSO GRANADOS**

**ESCUELA DE INGENIERIA QUÍMICA**



A handwritten signature in black ink, appearing to read "Eugenia Salvadora Gamero Rodriguez".

**DIRECTORA : ING. EUGENIA SALVADORA GAMERO RODRIGUEZ**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE INGENIERIA Y ARQUITECTURA  
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PREVIO A LA OPCIÓN DE:  
INGENIERO QUÍMICO**

**TÍTULO :**  
**Evaluación Técnica para la Extracción de un  
Pigmento a partir del Fruto del Arbol Cerezo Beliceño  
“Eugenia mirtyfolia” para su uso en la Industria.**

**PRESENTADO POR :**

**PABLO ARTURO GARCIA REYNA  
SALVADOR DE JESUS MURILLO RODRIGUEZ**

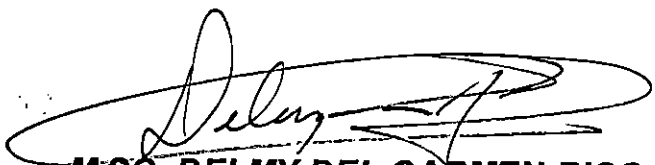
**TRABAJO DE GRADUACIÓN APROBADO POR :**

**COORDINADORA : M.SC. DELMY DEL CARMEN RICO PEÑA**


**ASESORA : ING. TANIA TORRES RIVERA**

**SAN SALVADOR, MARZO DEL 2000.**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN APROBADO POR:**

**COORDINADORA** :  **M.SC. DELMY DEL CARMEN RICO PEÑA**



**ASESORA** :  **ING. TANIA TORRES RIVERA**

## **AGRADECIMIENTOS**

Hacer una lista de todas las personas que nos mostrarón interés en la investigación realizada son muchas y de alguna manera queremos agradecerles a todos, pero nos llevaría a llenar un volumen, casi igual a esta tesis. De manera que, hicimos una larga lista, y una vez hecha, sacamos un resumen corto, quedaron los nombres siguientes:

M.Sc. Delmy del Carmen Rico Peña

Ing. Tania Torres Rivera

Edwin Antonio Alvarenga

A esta última persona, queremos agradecer de manera muy especial, por toda la ayuda brindada, que fue mucha, mucha y por hacerlo de manera desinteresada y sincera.

## **DEDICATORIA**

**A DIOS TODO PODEROSO**

**Y LA VIRGEN MARIA** : Por darme la fortaleza y perseverancia siempre en los momentos de flaqueza. Por estar siempre ayudándome, y permitir que cierre una etapa mas de mi vida.

**A MIS PADRES** : Por apoyarme siempre y animarme cuando lo necesitaba ayudándome incondicionalmente siempre.

**A MIS HERMANOS** : Carlos y Norma García por su ayuda y apoyo  
Toda mi vida.

**A MI TIA** : Isaura García Ruiz, por ser otra madre para mí y siempre estar pendiente de las cosas que pasan en mi vida.

**A MI FAMILIA** : Por estar siempre en los acontecimientos que pasan en mi vida, y ayudarme siempre que pueden sin ningún interés

**Pablo.**

## **DEDICATORIA**

- A DIOS:** Por haberme iluminado y así alcanzar el triunfo
- A MI PADRE:** Salvador de Jesús Murillo, por todo su amor, cariño, apoyo y consejo en los momentos mas difíciles de la carrera y por depositar su confianza en que podría alcanzar esta meta.
- A MI MADRE:** Lucy Rodríguez, por el amor, cariño, apoyo en el transcurso de los años de estudio.
- A MIS HERMANOS:** Manela, Luchy y Gerber, Por todo el interés que me brindaron, su confianza y sobre todo por el ánimo que siempre me dieron para conseguir esta meta.
- A MIS AMIGOS:** Gracias por su apoyo y amistad, ya que siempre se mostraron dispuestos a ayudarme y que nunca me hubiesen negado su ayuda al momento de necesitarla.

**Salvador**

## RESUMEN

El objetivo de la realización de esta investigación está centrado en un estudio básico que permita conocer las variables que afectan la extracción de un pigmento que se obtiene a partir de la fruta que cosecha el árbol del Cerezo de Belice.

Las especies salvadoreñas que son útiles para la extracción de colorantes, ya han sido clasificados en estudios previos, de manera que en la flora del país existen una serie de plantas y árboles de los que todavía no se han hecho estudios. Para la investigación desarrollada se seleccionó un árbol de nombre botánico *Eugenia Myrtifolia*, del que se puede extraer un pigmento a partir del fruto, de uso en productos alimenticios. Este árbol se encuentra cultivado en forma silvestre ó con fines ornamentales en muchos lugares de El Salvador.

El desconocimiento de las propiedades del jugo extraído a partir de la "cereza" condujo a efectuar una serie de experimentos a nivel de laboratorio, partiendo de pruebas preliminares, a fin de determinar cuales variables son las que podrían influir en el proceso de extracción de colorante. Estas pruebas preliminares se realizaron en 2 etapas:

La primera etapa comprendió el estudio cualitativo del efecto de variables como temperatura, pH y tiempo sobre la extracción y comportamiento del extracto de cerezo. Observándose efecto del pH en el color del pigmento y presencia de azúcar que daban lugar a un proceso probablemente de carácter fermentativo.



La segunda etapa comprendió el estudio cualitativo del efecto de procesos físico-químicos sobre la extracción del colorante y comportamiento del extracto de cerezo, como son la operación de evaporación y la valoración con base débil.

De los resultados de la investigación preliminar se procedió a seleccionar las variables que pudieran afectar el rendimiento en la extracción de colorante y se realizaron pruebas adicionales que condujeron a la caracterización cuantitativa del extracto, donde las pruebas fueron: a) Determinación de sólidos solubles totales, b) azúcares reductores y c) sacarosa remanente.

Las variables seleccionadas fueron: Masa de la fruta (100 y 200 g), volumen del solvente (50 y 100 ml), y tiempo de maceración (1 y 6 días). Evaluándose como variable respuesta la concentración de colorante expresado en rendimiento de jugo.

Por no contarse en el mercado con un patrón certificado, ni con soluciones estandares del pigmento en estudio, que para el caso, es un compuesto químico de la familia de las antocianinas (absorbe la luz, según la literatura, entre 510 y 530 nm), se procedió a la preparación de una solución patrón de referencia que era jugo puro de cereza fermentado sin adición de agua, que se utilizó para determinar el rendimiento relativo de extracción del pigmento, expresado como absorbancia, y de esta forma se obtuvieron datos para la construcción de la curva de calibración del extracto del cerezo.

El modelo estadístico para determinar el efecto de las variables: masa, tiempo y volumen fue el diseño factorial  $2^k$  con 3 factores a dos niveles y 3 replicas, a un nivel de confianza de la estimación del 95%. Se determinó que existe diferencia significativa en el rendimiento en la extracción de colorante por efecto de las variables masa de fruta y volumen de solvente.

Estas variables, son las que se usarían de base para el escalamiento posterior y para la instalación de un proceso de producción industrial de extracción del colorante a partir de la fruta del Cerezo de Belice.

Se recomiendan efectuar análisis toxicológicos del consumo del colorante, con base en la antocianina, para determinar su efecto a largo plazo en el ser humano.

# INDICE DEL DOCUMENTO

Tema	Página
INTRODUCCION.....	1
1.0 HISTORIA Y GENERALIDADES DE LOS PIGMENTOS .....	3
1.1 Aspectos Actuales en Consideración con los Colorantes Naturales .....	6
2.0 QUIMICA DE LOS PIGMENTOS NATURALES, COMPUESTOS COLOREADOS Y COLORANTES .....	9
2.1 Naturaleza del Color.....	10
2.2 Clasificación de los Colorantes.....	12
2.2.1 Colorantes Naturales.....	14
2.2.2 Colorantes Artificiales.....	37
2.2.3 Colorantes Azoicos.....	42
2.3 Leyes y Regulaciones de los Colorantes para Alimentos.....	44
2.4 Usos de los Pigmentos Naturales.....	48
2.5 Impactos Ambientales de los Pigmentos.....	49
2.5.1 Efectos de los Pigmentos.....	49
2.5.2 Disposición de los Pigmentos.....	50
3.0 GENERALIDADES DEL CEREZO DE BELICE "E. Myrtifolia".....	51
3.1 Aspectos Botánicos del Cerezo de Belice.....	52
3.2 Variedades del Cerezo de Belice.....	54
3.3 Características Agronómicas.....	57

<b>Tema</b>	<b>Página</b>
4.0 INVESTIGACION PRELIMINAR PARA LA DESCRIPCION CUALITATIVA DE LA OBTENCION Y COMPORTAMIENTO DEL PIGMENTO DEL FRUTO DEL CEREZO. DESCRIPCION DE VARIABLES.....	61
4.1 Recolección y Acondicionamiento de la Materia	
Prima .....	63
4.2 Preparación del Extracto de la Fruta del Cerezo.....	64
4.2.1 Procedimiento de Elaboración del Extracto.....	64
4.3 Efecto Cualitativo de las Variables de Control sobre el Extracto de Cerezo.....	65
4.3.1 Variaciones de Temperatura.....	66
4.3.2 Variaciones de pH.....	68
4.3.3 Comportamiento del Extracto con el Tiempo.....	71
4.3.4 Reconocimiento de Presencia de Colorante en la Fruta.....	74
4.4 Efecto de Procesos Fisico-Químicos.....	75
4.4.1 Proceso de Evaporación Lenta.....	76
4.4.2 Efecto de Base Débil.....	77
4.5 Resultado Final de las Pruebas Preliminares sobre el Extracto de Cerezo.....	79
4.6 Propuesta de Preparación de Extracto a Usar en las siguientes Etapas de la Investigación.....	85
4.7 Determinación de la Longitud de Onda para la lectura de Absorbancia del Extracto de Cerezo.....	89

<b>Tema</b>	<b>Página</b>
4.8 Cálculo de los Sólidos Solubles Totales (SST).....	93
4.9 Cálculo del % de Azúcares Reductores.....	95
4.10 Cálculo de Sacarosa Remanente.....	98
<b>5.0 EVALUACION DEL RENDIMIENTO EN LA EXTRACCION DEL COLORANTE DEL FRUTO DEL ARBOL DE CEREZO.....</b>	<b>100</b>
5.1 Descripción de Factores, Niveles de Tratamiento y Variable Respuesta.....	100
5.2 Descripción de la Variable Respuesta.....	102
5.2.1 Determinación de la Curva de Calibración para Evaluar el Rendimiento en la Extracción del Colorante.....	103
5.3 Planteamiento de la Hipótesis.....	108
5.4 Presentación de Datos y Cálculos del Análisis Aplicado.....	109
5.5 Conclusiones sobre el Efecto de las Variables en el Rendimiento de Extracción.....	113
5.6 Determinación del Comportamiento con el Tiempo, de las Variables pH y Sólidos Totales Solubles.....	115
5.6.1 Comportamiento con el Tiempo de los Grados Brix.....	115
5.6.2 Comportamiento del pH con el Tiempo del Jugo de la Cereza.....	119
<b>6.0 PROPUESTA PARA LA APLICACIÓN Y UTILIZACIÓN DEL COLORANTE EXTRAIDO DEL FRUTO DEL ARBOL DE CEREZO.....</b>	<b>123</b>
6.1 Aplicaciones del Extracto del Cerezo en Alimentos.....	123

<b>Tema</b>	<b>Página</b>
6.1.1 En bebidas Alcoholicas.....	124
6.1.2 En Productos de Confitería.....	125
6.1.3 Otras Aplicaciones.....	126
6.2 Materiales de Empaque para conservar el Extracto de Cerezo.....	127
6.3 Adición de Preservante al Extracto de Cerezo para su Conservación a largo Plazo.....	128
OBSERVACIONES.....	129
RECOMENDACIONES.....	130
CONCLUSIONES.....	131
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	133
 ANEXOS.....	 136
ANEXO A: Curvas de Absorción de Luz para Diferentes Longitudes de Onda de Soluciones de Extracto de Cerezo a Diferentes Diluciones usando una Solución Patrón.....	137
ANEXO B: Diseño de Experimentos Factoriales.....	147
ANEXO C: Resultados de las Sumas Parciales de Aplicación del Modelo Factorial al Experimento Realizado.....	160
ANEXO D: Espectrofotometría de Absorción.....	163
ANEXO E: Procedimiento de Elaboración de Bebida Alcohólica usando Como Colorante el Extracto de Cerezo.....	167
ANEXO F: Procedimiento de Elaboración de Productos de Confitería Usando como Colorante el Extracto de Cerezo.....	168

<b>ANEXO</b>	<b>PAGINA</b>
ANEXO G: Determinación de Azúcares Reductores y Sacarosa	
Remanente por el Método de Lane y Eynon.....	169
ANEXO H: Evaluación de Sólidos Totales del Extracto de Cerezo.....	173
ANEXO I: Puntos Porcentuales de la Distribución F.....	178
ANEXO J: Análisis de Varianza para las gráficas de calibración; y de	
Sólidos totales y pH con el tiempo.....	179

## INDICE DE FIGURAS

<u>FIGURA</u>	<u>PAGINA</u>
FIGURA 2.1 Algunos Grupos Orgánicos Cromóforos Funcionales .....	9
FIGURA 2.2 Algunos Grupos Orgánicos Auxocromos Funcionales.....	10
FIGURA 2.3 Algunos Compuestos Naturales Coloreados.....	15
FIGURA 2.4 Colorantes Naturales Presentes en las Flores.....	16
FIGURA 2.5 Colorantes Orgánicos Derivados de la Antocianidina.....	16
FIGURA 2.6 Estructura Química de la Curcumina.....	18
FIGURA 2.7 Estructura Química de la Rivoflavina.....	18
FIGURA 2.8 Estructura Química del Acido Carmínico.....	20
FIGURA 2.9 Estructura Química de la Clorofila "a".....	22
FIGURA 2.10 Estructura Química de la Bixina.....	27
FIGURA 2.11 Estructura Química del Licopeno.....	27
FIGURA 2.12 Estructura Química de la Xantina.....	30
FIGURA 2.13 Estructura Química de la Luteína.....	31
FIGURA 2.14 Estructura Química de la Betalaina.....	33
FIGURA 2.15 Estructura Química de la Antocianina.....	34
FIGURA 2.16 Fijación de un Colorante Particular a la Fibra.....	40
FIGURA 2.17 Estructuras Químicas Derivadas del Indigo.....	41
FIGURA 2.18 Estructura Química del Producto del Producto entre la Alizarina y la Fibra usando como mordiente una Sal De Aluminio.....	41



<b><u>FIGURA</u></b>	<b><u>PAGINA</u></b>
FIGURA 4.1 Metodología de la Investigación Preliminar para la Obtención del pigmento del Fruto del Arbol de Cerezo.....	62
FIGURA 4.2 Metodología para la Realización de Pruebas Formales en la Obtención del Colorante a Partir dela Cereza.....	84
FIGURA 4.3 Propuesta de Preparación de Extracto de Fruta a Utilizar en las siguientes etapas de la Investigación.....	87
FIGURA 4.4 Curvas de Absorbancia del Extracto de Cerezo.....	92
FIGURA 5.1 Curva de Calibración de Soluciones de Extracto.....	106
FIGURA 5.2 Diagrama de Realización del Experimento Formal de Extracción del Colorante a partir del Cerezo.....	109
FIGURA 5.3 Curva de Descenso de la Cantidad de Sólidos Solubles Totales durante el Tiempo.....	117
FIGURA 5.4 Gráfica de valores de pH contra Tiempo del Jugo de Cerezo....	120

## INDICE DE CUADROS

<u>CUADRO</u>	<u>PAGINA</u>
CUADRO 2.1 Consumo de Pigmentos por Regiones.....	8
CUADRO 2.1 Color y Longitud de Onda de la Luz.....	11
CUADRO 2.2 Resumen acerca de los Pigmentos Naturales mas Importantes.....	36
CUADRO 2.3 Limitaciones de Colorantes para Uso en Alimentos Permanentemente exentos de Certificación.....	47
CUADRO 3.1 Nombres mas Comunes con los que se conoce el Cerezo de Belice.....	52
CUADRO 3.2 Clasificación Taxonómica del Cerezo de Belice.....	53
CUADRO 4.1 Comportamiento del Extracto con la Temperatura.....	67
CUADRO 4.2 Comportamiento del Extracto al adicionarle una Base Fuerte.....	69
CUADRO 4.3 Comportamiento del Extracto al adicionarle un Acido Fuerte.....	70
CUADRO 4.4 Cambios observados en la Solución del Extracto Patrón al adicionarle Etanol como Base Débil.....	78
CUADRO 4.5 Datos Promedio de Transmitancia de Diluciones del Patrón y su correspondiente Absorbancia calculada.....	91
CUADRO 4.6 Datos calculados por el método descrito en Anexo H sección (b).....	94

<u>CUADRO</u>	<u>PAGINA</u>
CUADRO 4.7 Gasto de Patrón de Azúcar Invertida para Determinar el valor de la Solución de Fehling "A" .....	95
CUADRO 4.8 Gasto de Extracto en la Titulación para la Determinación de Azucares Reductores.....	97
CUADRO 4.9 Gasto en ml del Extracto de Cerezo en la Valoración de Sacarosa Remanente.....	98
CUADRO 5.1 Tablas Comparativas de Diluciones.....	104
CUADRO 5.2 Valores Calculados de Absorbancia del Experimento Realizado.....	110
CUADRO 5.3 Datos Calculados de Absorbancia del Experimento Realizado.....	111
CUADRO 5.4 Datos del comportamiento del pH del Jugo de la Cereza con el Tiempo.....	112
CUADRO 5.5 Análisis de Varianza de los Datos de Concentraciones Relativas de Pigmento de Cerezo en los Extractos.....	116
CUADRO 5.6 Descenso de la Cantidad de Sólidos Solubles durante el Tiempo.....	118
CUADRO 5.7 Velocidad de Variación de los grados Brix respecto al Tiempo.....	119
CUADRO 6.1 Mezclas de Color Resultante de la Adición de Extracto a una Solución de Etanol al 10%.....	125

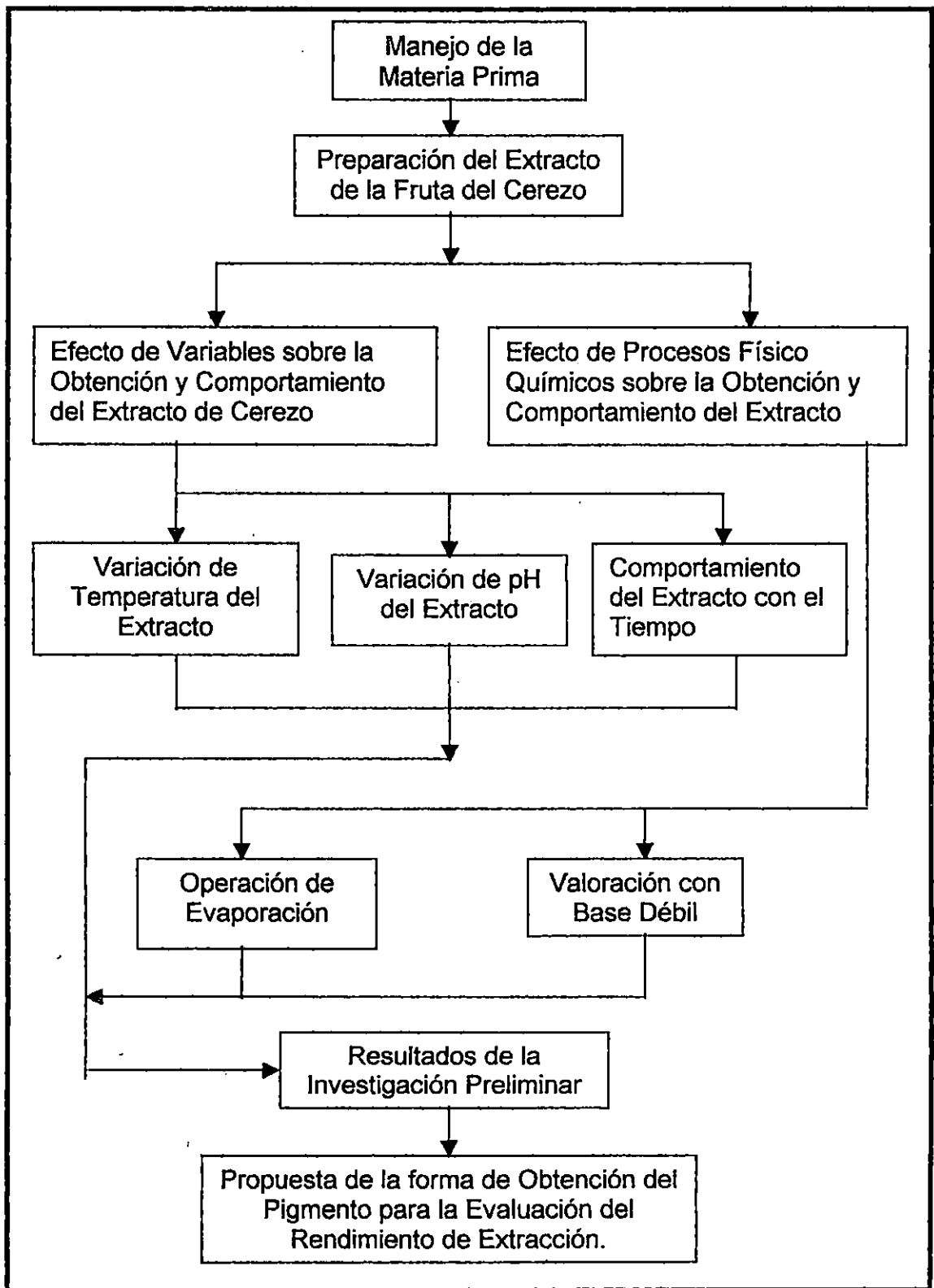
#### **4.0 INVESTIGACION PRELIMINAR PARA LA DESCRIPCIÓN CUALITATIVA DE LA OBTENCIÓN Y COMPORTAMIENTO DEL PIGMENTO DEL FRUTO DEL CEREZO DE BELICEÑO. IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES**

Antes de evaluar técnicamente la obtención de un pigmento del fruto del árbol de Cerezo Beliceño, para su uso en la industria, es necesario efectuar una investigación preliminar que permita caracterizar cualitativamente la obtención y el comportamiento del pigmento.

Dichas pruebas preliminares permitirán a la vez, identificar las variables que posiblemente afecten la obtención del pigmento del fruto y con ello proceder luego a estudios cuantitativos del rendimiento en la extracción. La metodología de la investigación preliminar comprende las siguientes etapas:

- a. Recolección y acondicionamiento del fruto
- b. Obtención del extracto
- c. Identificación del comportamiento del extracto por el efecto de variables como pH, temperatura y tiempo
- d. Identificación del comportamiento del extracto por el efecto de procesos físico-químicos como evaporación lenta y efecto de base débil
- e. Análisis de resultados de la investigación preliminar
- f. Propuesta de obtención del pigmento del fruto, para la evaluación del rendimiento en la extracción

En la figura 4.1 se presenta un diagrama de la metodología de la investigación preliminar.



**FIGURA 4.1 METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN PRELIMINAR PARA LA OBTENCIÓN DEL PIGMENTO DEL FRUTO DEL ARBOL DE CEREZO DE BELICE**

#### **4.1 RECOLECCION Y ACONDICIONAMIENTO DEL FRUTO**

El primer paso de la investigación preliminar para la obtención del pigmento, es el manejo de la materia prima, que en este caso lo constituye el fruto maduro del árbol del Cerezo de Belice conocido como "cereza", y cuya cosecha se da durante los meses de Junio a Octubre.

La fruta en su punto de madurez total se desprende del árbol que la cosecha en forma de racimo, alcanzando el suelo desde una altura un poco mayor de los cinco metros, donde el pericarpio sufre ruptura con la consiguiente liberación de líquidos internos del fruto, perdiendo parte del colorante contenido.

Por esta razón, para evitar daños estructurales y controlar de mejor forma la extracción del pigmento, el fruto se corto manualmente separando de los racimos, la fruta verde de la madura, que como ya se menciona en la sección 3.2.1 presenta un color violeta oscuro a negro.

Luego del corte y selección del fruto se procedió al lavado del mismo el cual puede efectuarse con agua del grifo, no ocupando detergente o jabón ya que solamente se pretende remover polvo y algunas basuras como hojas, ramas, insectos y otros.

## **4.2 PREPARACION DEL EXTRACTO DE LA FRUTA DEL CEREZO**

Una vez caracterizado el manejo previo de cortado y recolección de fruta se procedió a preparar una solución extracto a partir de las cerezas colectadas, con el objeto de investigar su comportamiento frente a las diferentes condiciones que se especificaron en la Figura 4.1 (El procedimiento indicado no incluye identificación de variables involucradas de ningún tipo y solo se limita a la obtención de una solución que contiene el pigmento).

### **4.2.1 PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DEL EXTRACTO DE CEREZO**

A continuación, se describe el procedimiento seguido para la obtención del extracto que se empleó para las pruebas de la investigación preliminar.

- a) Se pesó una cantidad de fruta y se colocó en un beaker de 1000 ml.
- b) Se adicionó una cantidad de agua equivalente a 500 ml.
- c) Se maceró la fruta durante un periodo de tiempo de 24 horas en condiciones de temperatura ambiente y presión atmosférica.
- d) Después de transcurridas 24 horas (tiempo ocupado en la prueba preliminar como tentativo de cambio ya que no se han definido variables todavía) la solución se filtró en colador para la remoción de la mayor parte de la sustancia orgánica del fruto (cáscara, semilla, partículas, etc.), y se procedió luego a sellar el beaker con papel aluminio para evitar contaminaciones posteriores.

- e) La solución colada, se dejó en reposo, con refrigeración para evitar su descomposición posterior.
- g) Antes de efectuar cada prueba (de las establecidas en la sección 4.1) se hizo una segunda filtración de la solución obtenida, con papel filtro Whatman No 40.

#### **4.3 EFECTO CUALITATIVO DE VARIABLES DE CONTROL SOBRE EL EXTRACTO DEL CEREZO**

El objeto de esta etapa es sondear el comportamiento de la solución preparada, frente al cambio manipulado de ciertas variables, que se considera pueden influir en la separación del pigmento de su estado en solución logrando con estos resultados conducir el experimento de evaluación de rendimiento en la extracción de forma adecuada.

Las variables con las cuales se caracterizará el comportamiento del extracto son las siguientes: Temperatura, pH y tiempo.



### 4.3.1 VARIACIONES DE TEMPERATURA

Debido a que no se conoce el comportamiento del extracto del cerezo respecto a la temperatura, ni el punto de ebullición de la mezcla se hace necesario realizar un estudio cualitativo del comportamiento de la solución al variar la temperatura, hasta el punto de ebullición de la misma.

Las condiciones establecidas para efectuar dicha investigación fueron las siguientes:

- Determinar como temperatura de inicio de las pruebas, la temperatura ambiente del área de trabajo, que es de aproximadamente de 30° C, y como temperatura final la temperatura de ebullición de la solución extraída.
- Tomar observaciones del comportamiento del extracto para cada 10° C de incremento en la temperatura.
- Considerar como indicadores del comportamiento de la solución cambios de coloración y/o formación de precipitado.
- Mantener como pH fijo, el pH natural de la solución (ver sección 4.3.2) que es aproximadamente 3.2.

En el Cuadro 4.1 se presentan los resultados obtenidos de la prueba. En él puede observarse que no existen cambios apreciables de coloración con la variación de temperatura.

- A partir de 80° C se da formación de precipitados. El punto de ebullición de la solución es de 95.2° C.

**CUADRO 4.1: COMPORTAMIENTO DEL EXTRACTO CON LA TEMPERATURA.**

<b>TEMPERATURA (°C)</b>	<b>CAMBIO OBSERVADO</b>
30	No hay cambios
40	No hay cambios
50	No hay cambios
60	No hay cambios
70	No hay cambios
80	Formación de flóculos
90	Aumento de formación de flóculos
95	Ebullición de la solución

Temperatura de ebullición de la solución: 95.2° C

Floculos: véase observación III

Entre otras observaciones tomadas durante la investigación se encuentran las siguientes:

- I- Al momento de la ebullición, la solución se evapora de manera integra arrastrando el agua y sustancias volátiles de la solución, que presentaba un color morado claro.
- II- Cuando se evapora la mayor cantidad de la solución se observa una solución pastosa de color morado, que pudo ser absorbida por el papel filtro dándole una tonalidad violeta.
- III- Los Floculos formados son partículas minúsculas de materia orgánica remanente que no pudo ser filtrado y que se conglomeran para formar miscelas de material orgánico del endocarpio de la fruta.

### 4.3.2 EFECTO DE LA VARIACION DE pH

El objetivo que se persigue al estudiar el efecto de la variación de pH es determinar el comportamiento cualitativo del extracto de la "cereza" obtenido en presencia de medios ácidos y básicos.

El primer paso para efectuar las pruebas de variación de pH, fue establecer como condiciones del experimento las siguientes:

- Mantener la temperatura del extracto constante e igual, a la temperatura del área de trabajo (~30° C) durante las pruebas.
- Usar como pH de partida para las pruebas, el pH natural del extracto que se evaluó en el valor de 3.2 (lo que indica que la solución es ácida).
- Emplear como adicinante básico, una solución de NaOH (0.068N), y como adicinante ácido, una solución de ácido clorhídrico 10% v/v.
- Definir como indicador del comportamiento del extracto, con la variación del pH a la variación de color observada en la solución y la formación de precipitado.

Las pruebas se efectuaron como se explica a continuación:

a) Prueba del comportamiento del extracto en medios básicos

Se colocaron 100 ml de extracto en un beaker y partiendo del pH de 3.2, se adicionó la solución de NaOH (0.068N), observándose el comportamiento del extracto, a medida que variaba el pH. La adición del NaOH, con la

consiguiente elevación de pH, se llevó a cabo hasta ya no observar cambios en la coloración del extracto.

En el Cuadro 4.2, se presentan las variaciones de color del extracto, a medida que se eleva el pH, y como puede observarse no hay variación en la coloración a partir de un pH de 9.04. Por otra parte, las variaciones de la coloración del extracto, van desde rosado claro, pasando por tonalidades de violeta, hasta el verde oscuro. No hubo formación de precipitados durante la prueba.

**CUADRO 4.2: COMPORTAMIENTO DEL EXTRACTO DEL CEREZO AL ADICIONAR UNA BASE FUERTE.**

<b>Cantidad de NaOH Adicionado (ml)</b>	<b>pH</b>	<b>Cambio Observado</b>
0	3.21	Inicial rosado claro
10	3.38	Rosado claro
15	4.02	Mas claro
20	4.24	Mas claro
30	4.68	Morado claro
40	5.27	Viraje de color de
50	6.11	Morado a Azul oscuro
55	6.80	Verde Claro
60	8.62	Verde Oscuro
70	9.04	No mas cambios

**b) Prueba del comportamiento del extracto en medio ácido**

Se colocaron 5 ml de extracto en un beaker, y partiendo del pH de 3.2, se adicionó HCl 10% v/v, para bajar el pH, hasta ya no observar variaciones significativas en el color de la solución. Los resultados de la prueba del comportamiento del extracto en medios aun mas ácidos que el medio natural se presentan en el Cuadro 4.3, en donde puede observarse que el viraje de color va desde rosado claro a rojo intenso. No hubo formación de precipitado durante la prueba.

**CUADRO 4.3: COMPORTAMIENTO DEL EXTRACTO DEL CEREZO AL  
ADICIONAR UN ACIDO FUERTE**

<b>Cantidad de HCl adicionado (ml)</b>	<b>pH</b>	<b>Cambio observado</b>
0	3.21	Rosado claro
3	1.93	Viraje de rosado a rojo
5	1.26	Rojo intenso

**b) Observaciones:**

- I- Se verifica que el colorante tiene una alta reactividad frente al NaOH y al HCl en diferentes valores de pH que permiten utilizarlo como indicador ácido – base para determinar los puntos finales de reacciones químicas de neutralización.

- II- La solución del extracto posee al principio un pH altamente ácido lo que permite afirmar que la composición de la fruta del cerezo posee cantidades significativas de ácidos orgánicos libres.
- III- El extracto tratado con NaOH produce una solución final de color verde oscuro (pH = 9.04) que con el transcurso de 4-6 días se colorea de café precipitando un sólido de color café claro.
- IV- El extracto tratado con HCl produce una solución final de color rojo intenso (pH = 1.26) no formando sólidos depositados y presentando un líquido de composición uniforme.

#### **4.3.3 COMPORTAMIENTO DEL EXTRACTO CON EL TIEMPO**

La determinación cualitativa del comportamiento del extracto con el tiempo se hizo en base a 2 tipos de observaciones:

- a) Observación del comportamiento del extracto preparado de la forma especificada en la sección 4.2.1, cuando se encuentra a la temperatura del ambiente de trabajo, aproximadamente 30° C.
- b) Observación del nivel de extracción del pigmento, con el tiempo para distintas preparaciones de la materia prima.

En las secciones 4.3.3.1 y 4.3.3.2 se describen los resultados obtenidos para cada experimento.

#### **4.3.3.1 Comportamiento del Extracto preparado con el Tiempo**

El extracto fresco del fruto del cerezo solamente puede durar un rango de 12 – 24 horas al medio ambiente ya que fuera de estos rangos comienza la descomposición del sustrato por formación de hongos en la superficie de esta y sin modificar la homogeneidad de la solución. No hay separación de fases, no hay precipitados, no hay cambios apreciables en la coloración de la mezcla

El crecimiento de hongos se realiza en forma de islas aisladas de forma circular con un diámetro de entre 1.2 y 1.5 centímetros con bordes de la colonia de color blanco, y son moderadamente irregulares y elevadas que poseen un color gris –verdoso parecida al polvo.

La formación de las colonias se da solamente en la superficie del sustrato, no presentándose en el seno ni en el fondo del recipiente.

#### **4.3.3.2 Comportamiento del Extracto con el Tiempo para Diferentes Preparaciones Iniciales de la Fruta.**

##### **a) Condiciones del Extracto**

El nivel de extracción con el tiempo para diferentes preparaciones se analiza respecto a la preparación particular que se le da a la fruta al momento de macerar ya que como no se conoce donde este presente el colorante las pruebas de maceración permitirían dar una pista sobre

donde se encuentra la mayor cantidad de colorante y la mejor forma de realizar la maceración si esta es necesaria.

El procedimiento para conocer el rendimiento del colorante a partir de la fruta es preparar extractos (sin residuos frutales) para 3 tipos de maceración de la materia prima:

MUESTRA 1: Obtención de extracto a partir de fruta entera

MUESTRA 2: Obtención de extracto a partir de fruta parcialmente machacada

MUESTRA 3: Obtención de extracto a partir de fruta totalmente desmenuzada

#### **b) Observaciones**

I- Las muestra 2 presenta un color morado más intenso (absorbancia de 17.8) que nos indica que no es necesario hacer una maceración con fruta totalmente desmenuzada ya que el endocarpio que queda suelto y que parece no poseer colorante queda coloreado al final de la prueba reteniendo pigmento.

II- Como las soluciones fueron preparadas con cantidades de frutas que no exceden los 20 g, se determino que las soluciones diluidas se descomponen mas rápidamente que las concentradas de manera que las primeras duran cuando mucho 2-3 días en cambio las concentradas pueden llegar a durar hasta 8 días sin refrigeración y sin formar el desarrollo de hongos descritos en la sección 4.2.5.



- IV- Las soluciones puestas a macerar no deberán exceder de 1 día debido a la retención de colorante por parte del pericarpio y a la pérdida de sustancias por descomposición.

#### **4.3.4 RECONOCIMIENTO DE PRESENCIA DE COLORANTE EN LA FRUTA.**

En base a los resultados establecidos en la sección 4.3.3.2, se hace necesario tratar de identificar donde se concentra la mayor cantidad de colorante en la fruta para determinar la parte de la fruta que es más útil en el estudio y si es posible aislarla para tener un mejor rendimiento.

Para evaluar la presencia de colorante cualitativamente en el fruto se procedió a preparar 3 muestras de la siguiente manera:

**MUESTRA 1:** Cáscaras del fruto en 10 ml. de agua.

**MUESTRA 2:** Endocarpio de fruta en 10 ml de agua.

**MUESTRA 3:** Semilla externa con 10 ml de agua.

Al cabo de 24 horas se mide la absorbancia de las soluciones resultantes y se encuentran los valores de 72.5, 12 y 37.5% de Absorbancia respectivamente para cada muestra observando que hay una mayor concentración de colorante en la cáscara de la fruta.

Se concluye que la cantidad mayor de colorante se concentra en la cáscara y esta, en un proceso industrial no es posible aislar con facilidad y por tanto al momento de macerar la fruta se debe de usar toda la fruta para extracción.

En la superficie interna de la semilla se concentra alta cantidad de colorante que se encuentra adherida a la semilla y que no se puede remover con facilidad.

El endocarpio al momento de macerar ofrece la desventaja de absorber cierta parte del colorante, ya que inicialmente es blanco y al final de la maceración es rosado, obteniendo con esto un menor rendimiento de colorante de la fruta.

#### **4.4 EFECTO DE PROCESOS FISICOQUÍMICOS**

Observar el efecto de procesos fisicoquímicos sobre el extracto de la "cereza" extraído, tiene como objetivo simular algunos procesos al que puede ser sometido el extracto, con el fin de separar el pigmento que se supone contiene.

En estas pruebas preliminares se simularan 2 procesos que se consideran de importancia y que son:

- a) Evaporación lenta; y
- b) Valoración con base débil.

En las secciones 4.4.1 y 4.4.2, se describen los resultados obtenidos de estas pruebas.

#### **4.4.1 Proceso de Evaporación Lenta**

El objetivo de someter el extracto al proceso de evaporación lenta, es verificar si dicho extracto, es una mezcla coloidal del colorante, con el jugo de la fruta, constituido por agua, azúcares y otras sustancias.

El procedimiento seguido para efectuar el proceso de evaporación lenta, fue el siguiente:

1. Se colocaron 100 ml de extracto en un beaker y se llevaron a ebullición
2. Se dejó evaporar la mezcla por 3 horas, hasta que alcanzara un volumen de 10 ml.
3. Esta mezcla se continuo evaporando en una estufa con una temperatura de 80° C durante 24 hr.
4. Luego se pasó la muestra al desecador

Entre las observaciones tomadas durante esta prueba se encuentran:

- I- Formación de una capa adherente en el fondo del beaker de color caramelo oscuro fácilmente lavable con agua donde existe presencia mínima de colorante púrpura.
- II- Esta prueba nos permite inferir que existe una alta concentración de azúcares en el extracto.

- III. La capa adherente en el fondo del beaker posee olor a caramelo quemado afirmando la presencia de azúcar en la muestra.

Puede observarse que en general lo que se concentraron fueron los azúcares y no el colorante, lo que pone de manifiesto que no se trata de una mezcla coloidal del colorante con el jugo.

#### 4.4.2 Efecto de Base Débil

Dados los resultados de la sección 4.4.1, es necesario verificar si puede ocurrir precipitación del pigmento por algún efecto fisicoquímico, como por ejemplo la acción de una base débil.

Las condiciones establecidas para efectuar esta prueba fueron:

- Emplear como base débil etanol absoluto ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ), dada su fácil obtención y su bajo coste de adquisición
- La temperatura de la experimentación fue la temperatura del ambiente de trabajo de aproximadamente  $30^\circ\text{C}$ .
- La adición de etanol se efectuó de acuerdo a los cambios observados en el color de la solución.

En el Cuadro 4.4 se presentan los cambios observados a medida se adiciona el etanol.



**CUADRO 4.4: CAMBIOS OBSERVADOS EN LA SOLUCION DEL EXTRACTO  
PATRON AL ADICIONARLE ETANOL COMO BASE DEBIL.**

Cantidad de Base Adicionada (ml)	Cambio en el Color de la Solución
0	Rosado Claro
5	Ninguno
10	Ninguno
22	Cambia a violeta
27	Ninguno
31	Ninguno
50	Ninguno

Entre las observaciones del experimento se encuentran:

- I- Existe un cambio de morado claro a violeta cuando se han adicionado 25 ml de etanol al extracto de cerezo y la solución se presenta ligeramente turbia.
- II- En ningún momento se observa la precipitación de sólidos en el fondo del beaker donde se realiza la prueba.
- III- A la solución final que contenía 50 ml de etanol le fue adicionado un exceso de etanol que dejándolo en reposo durante varios días presento 2 fases: una sólida que deposito en el fondo(sólido de composición desconocido) y una fase líquida de color rojo violáceo.

#### 4.5 RESULTADO FINAL DE LAS PRUEBAS PRELIMINARES SOBRE EL EXTRACTO DEL CEREZO

De la investigación preliminar realizada se puede concluir que:

- El aumento o disminución de la temperatura de la solución del cerezo preparada, no afecta la propiedad de homogeneidad de la solución, mostrando una estabilidad general en un amplio **intervalo de temperatura** pero que no es útil para la extracción del colorante por sedimentación.
- El extracto presenta variados colores desde el rojo púrpura hasta café solamente con el cambio de pH, presentando en su punto de equivalencia un color verde por adición de base fuerte; y con adición de ácido fuerte tenemos un rojo intenso pero no se observa la depositación de sólidos por precipitación de colorante en el punto de equivalencia lo que implica que, al variar pH se llevan a cabo reacciones químicas con la antocianina sin precipitarla alterando su estructura de manera que no se encuentra útil el aislamiento por **adición de ácido o base fuerte** para obtenerlo, aunque deben de hacerse mas estudios en este sentido.
- El Extracto del Cerezo presenta facilidad para desarrollar hongos en solución preparadas con grandes cantidades de agua (soluciones diluidas)

lo que permite especular que **el volumen de solvente** usado influye en la formación de hongos como una variable que interviene en el proceso.

- La mayor cantidad de pigmento se encuentra concentrada en la cáscara de la fruta y una menor cantidad en el endocarpio de la fruta y en la semilla del cerezo por lo que sería necesario una máquina que efectúe la separación de la cáscara del resto del fruto pero habría mucho desperdicio.
- Para evitar interferencias de los azúcares se recomienda fermentar la solución y luego evaporar el etanol formado eliminando la mayor parte de materia orgánica del extracto con el tiempo, de lo que se infiere que la **variable tiempo** debería tener alguna relación en el proceso de extracción de colorante.
- La evaporación de la solución preparada no muestra separación de fases presentando una composición homogénea, pero al final de la evaporación un residuo sólido se deposita en el fondo del crisol que al quemarse libera olor a azúcar caramelizada y presenta textura de caramelo indicando la presencia de fructosa en la solución de extracto que se necesita determinar ya que es uno de los interferentes presentes y que debe determinarse la cantidad presente en la solución mediante el **método de cálculo del % de azúcares reductores**.

- El etanol y el Isopropanol presentan el mismo poder de extracción de colorante de manera que el producto final obtenido por los tres distintos **tipos de solventes** utilizados (etanol, Isopropanol y agua) se obtiene el mismo comportamiento físico del extracto.
- Dada la observación del grado de coloración de las soluciones extraídas con etanol que tienen altas cantidades de azúcar que no pueden fermentarse debido al solvente y que el color presenta una coloración menor se opta por no utilizar este solvente en pruebas preliminares ni formales esto dado que como debido al auge que tiene el concepto de tecnología limpia quedan como resultado grandes cantidades de etanol de deshecho y de desperdicio durante el proceso además del manejo cuidadoso que se debe tener en su manejo por ser inflamable y altamente volátil al momento de exponerse al aire.
- Se cree que el colorante natural a obtener, después de las etapas de experimentación realizadas, se obtendrá en estado líquido con las propiedades explicadas y que posee un gran poder colorante para líquidos y sólidos aplicables a la industria de alimentos.
- El colorante natural obtenido es químicamente una antocianina que presenta una estructura química compleja y que es fácilmente atacable por otros grupos funcionales alterando sus propiedades tintóreas.



Ahora se pueden listar las variables que se supone intervienen en el proceso de extracción de colorante determinada en la investigación preliminar y otras que pueden considerarse factores externos:

**a) Variables encontradas:** Cantidad de solvente, Tiempo (de extracción), Tipos de solvente, presión de trabajo, temperatura, reacción con químicos, pH, masa de la fruta ocupada, condición inicial de la fruta, grado de maduración.

**b) Variables Seleccionadas:** Las pruebas preliminares nos conducen a 3 variables que parece tienen algún tipo de efecto sobre el proceso de extracción de colorante a partir de la fruta y estos son: **masa de la fruta, volumen de solvente y el tiempo de maceración.**

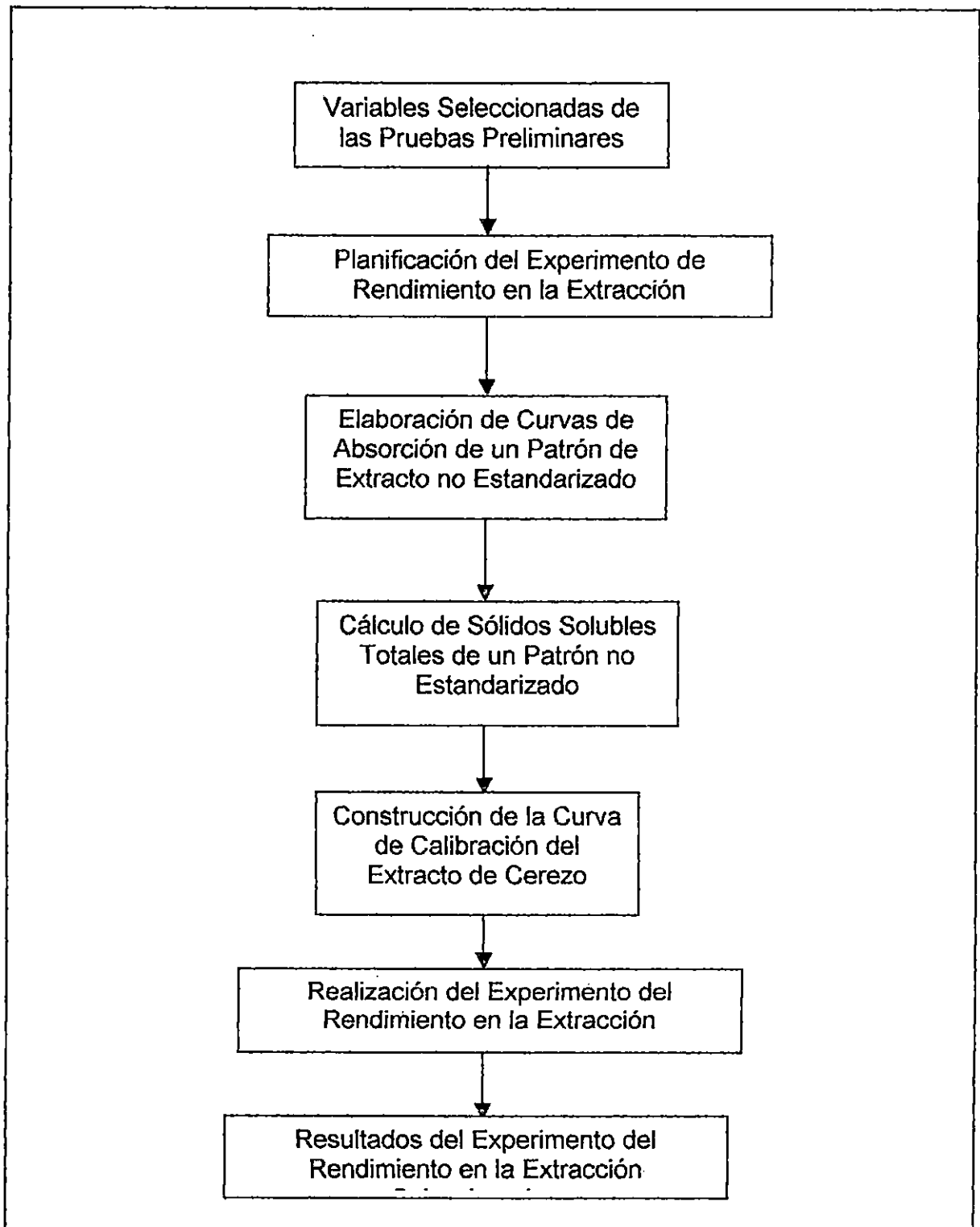
Las demás variables o bien no ejercían algún cambio significativo en el sistema o dicho cambio no iba tendido al aislamiento del pigmento en forma sólida o líquida de manera que dichas variables han sido descartadas y no se continúa con su investigación particular.

También cabe mencionar que el estudio preliminar permitió conocer que se debe llevar a cabo una cuantificación de la cantidad de azúcares reductores en el extracto y como dichos azúcares se comportan con el tiempo.

Se evaluará el colorante en disolución mediante una **Prueba de Sólidos Totales** pero que no puede realizarse sin antes realizar **Pruebas de Absorción de**

**Luz de la Solución Extracto** para conocer la longitud de onda donde se da el máximo de absorción; una vez realizados se puede construir la curva de calibración por diluciones que permita conocer la **ecuación matemática** que relaciona concentración y absorbancia; para luego realizar un experimento formal de las variables aplicando un **diseño factorial** donde definiendo los valores de prueba se lee la absorbancia para evaluar por la ecuación la concentración de sólidos y concluir con los **resultados del experimento** del efecto de las variables sobre el rendimiento.

En la Figura 4.2 se presentan las etapas necesarias para determinar la influencia de las variables seleccionadas en la extracción del colorante en fase líquida.



**FIGURA 4.2 METODOLOGIA PARA LA REALIZACIÓN DE PRUEBAS FORMALES EN LA OBTENCIÓN DE COLORANTE A PARTIR DEL CEREZO**

## **4.6 PROPUESTA DE PREPARACIÓN DE EXTRACTO A USAR EN LAS SIGUIENTES ETAPAS DE LA INVESTIGACION**

Debido a la formación de hongos en la superficie del sustrato para extracciones con mucha cantidad de agua, se procedió a preparar extractos puros de fruta de cerezo (aproximadamente con 1000 g de fruta) según el procedimiento descrito en la sección 4.5.1.

### **4.5.1 Procedimiento de Elaboración del Extracto de Cerezo**

El procedimiento para la elaboración del extracto a utilizar como patrón para las pruebas de extracción es el siguiente:

- a) Selección y limpieza del fruto
- b) Machacado del fruto sin agua (aproximadamente 1000 g)
- c) Reposo por 1 día
- d) Filtración y remoción de sustancias sólidas
- e) Reposo por 6 días. Durante ese tiempo la mezcla sufrió fermentación orgánica degradándose el azúcar (fructosa), en etanol por descomposición bacteriana lo que permite eliminar estos azúcares por evaporación posterior dada la volatilidad del etanol.
- f) Almacenamiento del extracto de cerezo (una vez enfriada, el extracto es almacenada en frascos de vidrio transparentes para su posterior conservación y utilización).

El procedimiento anterior permite una extracción del colorante de una manera practica y sin contaminación con cepas de hongos en el manejo de las soluciones de extracto del fruto de cerezo.

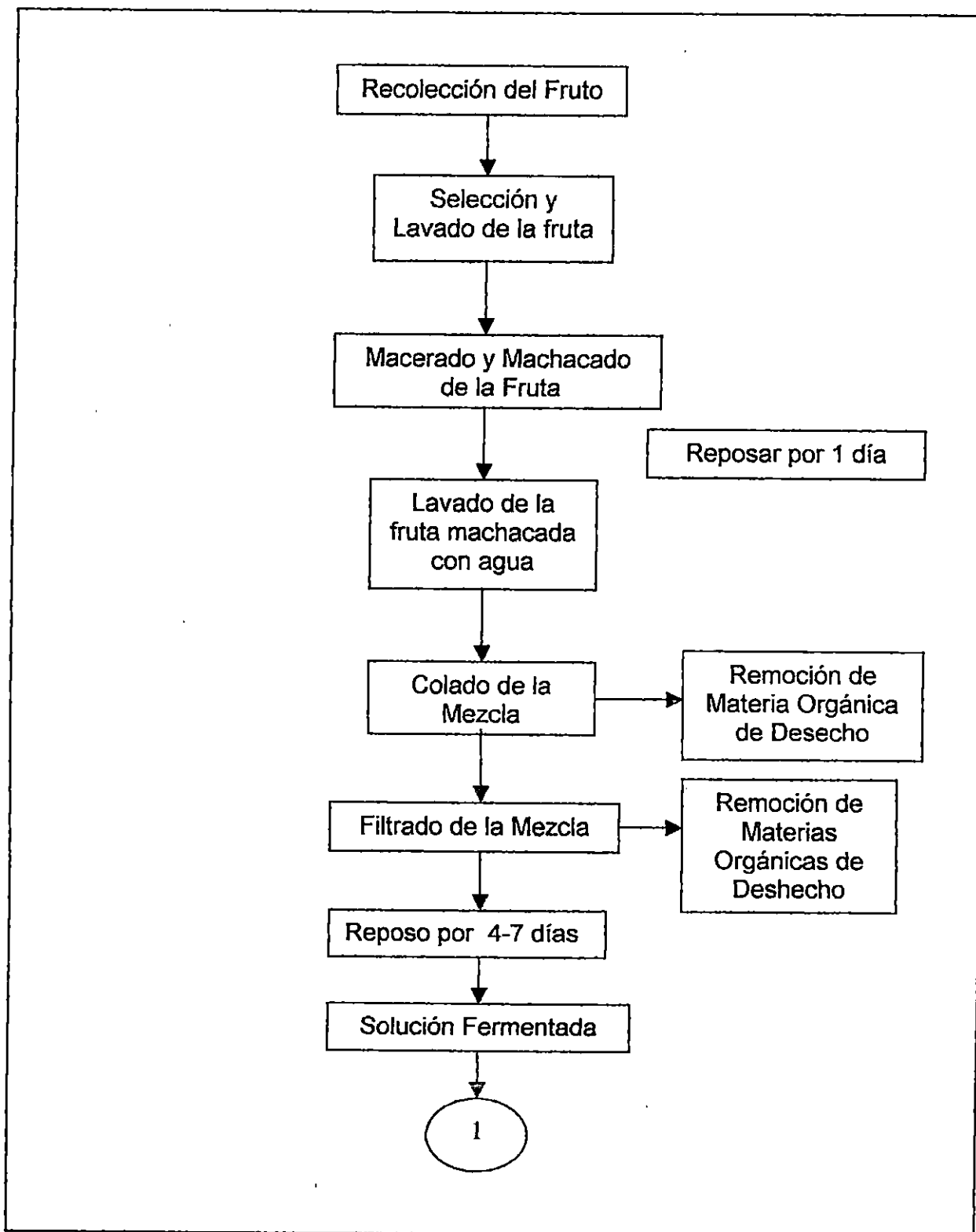
En la figura 4.3 se esquematiza el procedimiento seguido para la preparación del extracto de la "cereza" propuesto a partir de los resultados de la investigación preliminar.

#### **4.5.2 Descripción del Extracto Obtenido**

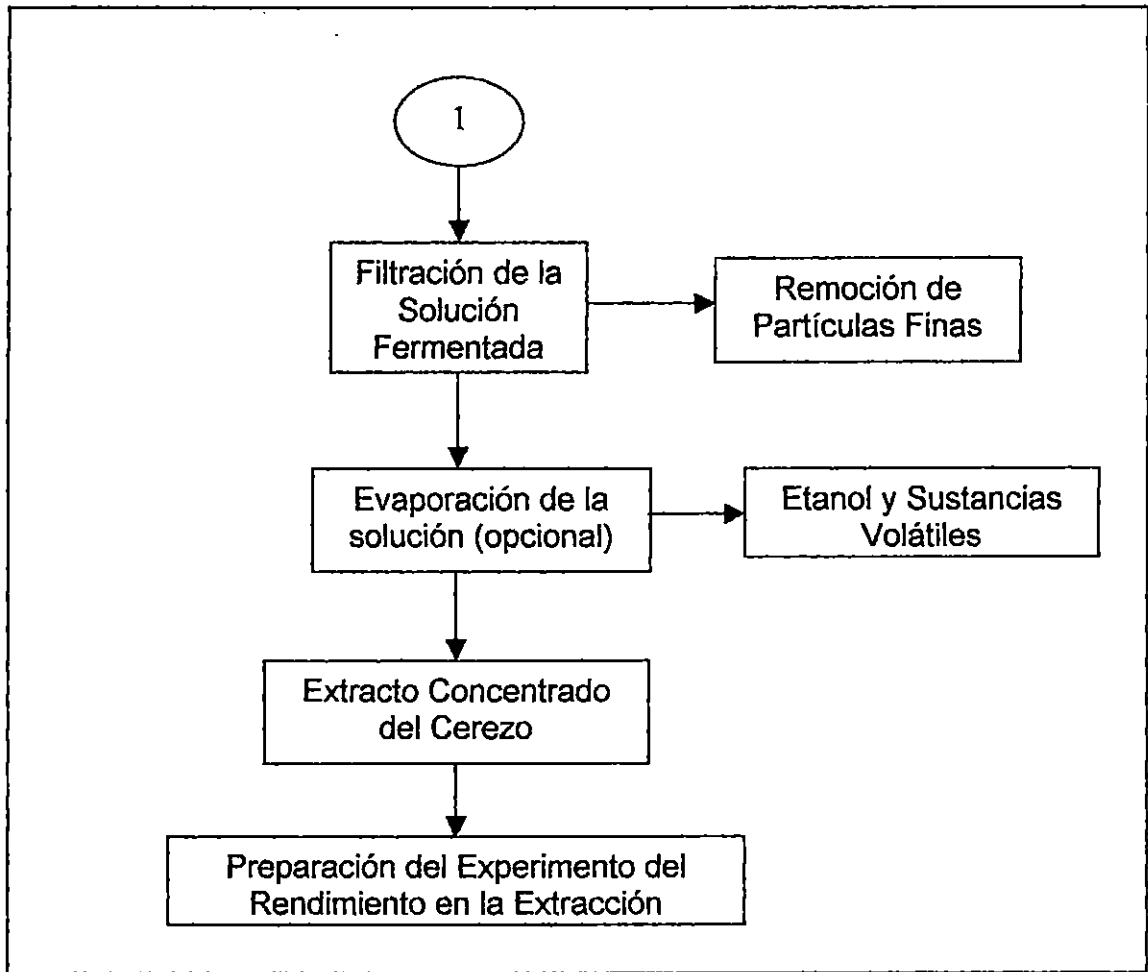
El extracto del cerezo es un líquido de aspecto físico parecido al caramelo, oleaginoso al tacto y de sabor ácido astringente de color negro.

Posee una viscosidad moderada y una densidad mayor que el agua, tiene aspecto homogéneo, a la luz.

Mediante diluciones es posible obtener una gama de colores que van desde el morado oscuro pasando por púrpura hasta obtenerse soluciones de color rosado claro.



**FIGURA 4.3: PROPUESTA DE PREPARACIÓN DE EXTRACTO DE FRUTA A UTILIZAR EN LAS SIGUIENTES ETAPAS DE LA INVESTIGACIÓN.**



Continuación de la FIGURA 4.3 de la página 87

#### 4.5.3 Recomendaciones para la Realización del Experimento Formal

En la etapa de fermentación del extracto obtenido se recomienda sellar la parte superior del beaker con papel toalla para luego cubrirlo con papel aluminio a fin de evitar atraer a la mosca de la fruta (drosófila), debido a la degradación de la fructosa a etanol con una pequeña deriva para los gases producidos en la fermentación.

#### **4.6 DETERMINACION DE LA LONGITUD DE ONDA PARA LA LECTURA DE ABSORBANCIA DEL EXTRACTO DEL CEREZO.**

Dada que la solución del Extracto de Cerezo es coloreada, se indica en la literatura la presencia de un compuesto químico con base en la antocianina que absorbe en longitudes de onda determinadas. Sin embargo no se conoce el valor de la longitud a la cual se da la máxima absorción de luz el cual es útil para determinar posteriormente la curva de calibración que permita obtener una relación entre concentración de sólidos y la absorbancia de la solución y de esta forma evaluar el comportamiento del rendimiento en la extracción del colorante como función del efecto de las variables: tiempo de maceración, volumen del solvente y cantidad de fruta.

Lo anteriormente expuesto, implica la necesidad de determinar, cual es la longitud de onda a la cual se da la máxima absorción de luz por la solución para luego crear una curva de calibración en base a soluciones patrón del colorante que sirva para evaluar el rendimiento en la extracción de colorante.

La evaluación de la máxima longitud de onda, se hizo partiendo del jugo obtenido de 400 g de fruta, que aproximadamente fue de 100 ml.

Sobre este jugo se prepararon 3 diluciones jugo-agua: 1:10, 2:10, 3:10.

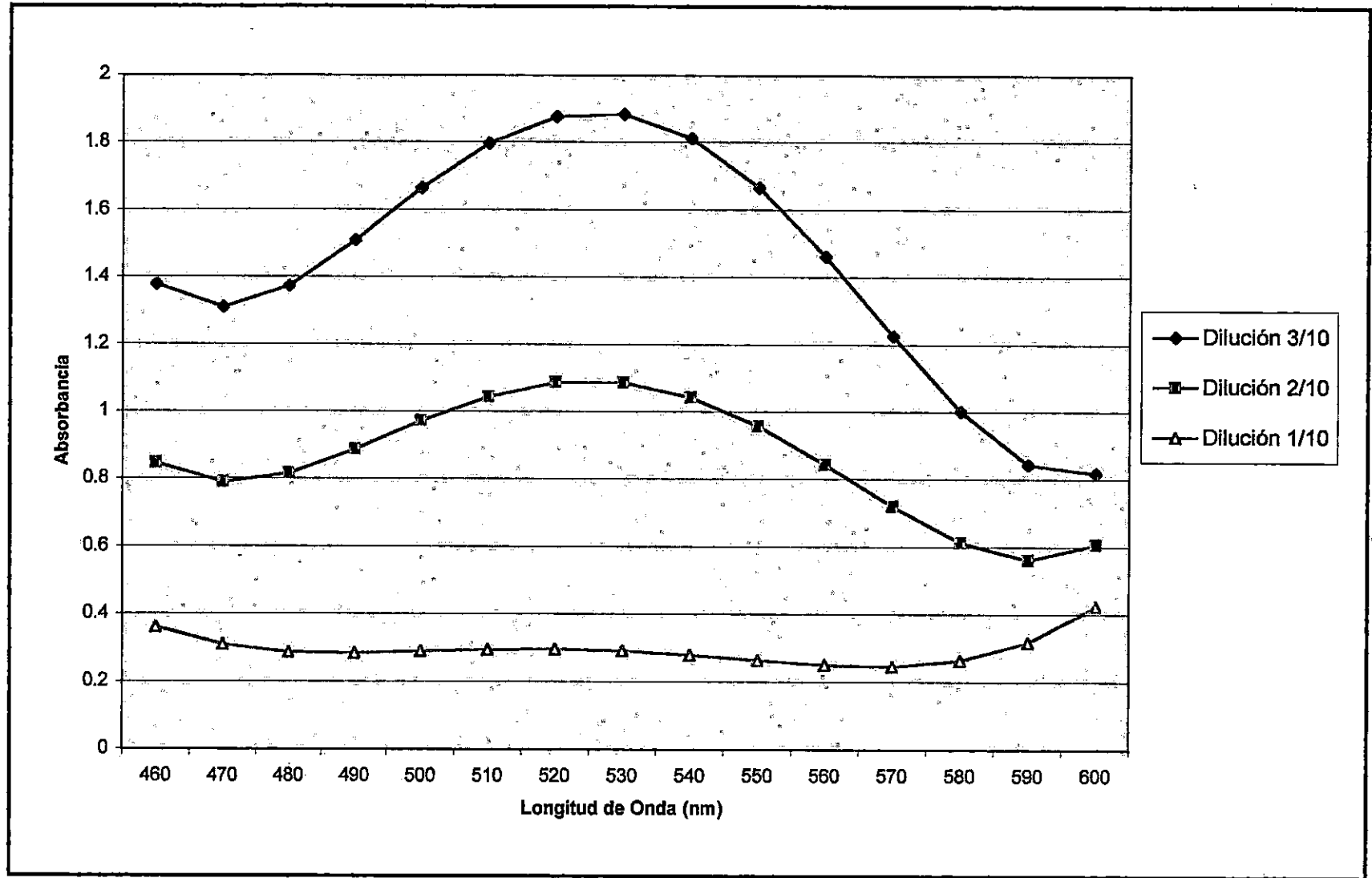


Para cada una de estas diluciones se efectuaron lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro visible (Spectronic 20) a medida que se variaba la longitud de onda con el objeto de identificar la longitud de onda a la cual se da la máxima absorbancia (mínima transmitancia).

Tal como se observa en el Cuadro 4.5 y en la Figura 4.4 la longitud de onda a la cual se da la máxima absorbancia para las 3 diluciones fue de ~525 nm, lo cual si se compara con el Cuadro 2.1 indica en efecto, la longitud de onda correspondiente al color morado, igual al de la solución obtenida, con color verde como color absorbido por la luz .

**CUADRO 4.5: DATOS PROMEDIO DE TRANSMITANCIA DE DILUCIONES DEL PATRON DE CEREZO DE BELICE Y SU CORRESPONDIENTE ABSORBANCIA CALCULADA**

Longitud de Onda (nm)	% de Transmitancia			Absorbancia		
	Dilución 3/10	Dilución 2/10	Dilución 1/10	Dilución 3/10	Dilución 2/10	Dilución 1/10
460	4.18	14.25	43.37	1.3790	0.8462	0.3628
470	4.90	16.23	48.97	1.3102	0.7896	0.3101
480	4.22	15.26	51.49	1.3748	0.8165	0.2883
490	3.09	12.94	51.89	1.5103	0.8881	0.2849
500	2.16	10.65	51.29	1.6648	0.9726	0.2900
510	1.60	9.02	50.62	1.7971	1.0448	0.2957
520	1.33	8.19	50.44	1.8767	1.0865	0.2972
530	1.30	8.18	51.05	1.8846	1.0870	0.2920
540	1.54	9.06	52.48	1.8134	1.0427	0.2800
550	2.15	11.03	54.40	1.6672	0.9575	0.2644
560	3.45	14.35	56.16	1.4623	0.8432	0.2506
570	5.92	19.09	56.62	1.2274	0.7193	0.2470
580	9.92	24.36	54.33	1.0036	0.6134	0.2650
590	14.29	27.46	48.02	0.8449	0.5613	0.3186
600	15.19	24.72	37.58	0.8184	0.6069	0.4250



**FIGURA 4.4: CURVAS DE ABSORBANCIA DE LUZ DEL EXTRACTO DEL CEREZO DE BELICE**

#### **4.7 CALCULO DE LOS SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES (SST)**

La determinación de los sólidos solubles totales es importante en el cálculo de la cantidad de sólidos presentes en una solución particular de fruta que ha sido fermentada o que se acaba de preparar.

Esta determinación sirve de base para relacionar la concentración y la absorbancia al momento de construir la curva de calibración y es importante también para conocer las unidades en que se expresa la cantidad de colorante que podría depositarse en forma sólida.

Esta determinación no solo se limita al colorante en estudio sino también incluye azúcares, ácidos y demás sustancias sólidas que se depositan al momento de evaporarse el solvente y las sustancias volátiles.

Para la determinación de la cantidad de sólidos totales contenidos en una muestra de extracto del Cerezo de Belice se empleo el método descrito en el Anexo H sección (c).

#### 4.7.1 Cálculos de acuerdo al método descrito en Anexo H sección (c)

En el Cuadro 4.6 se presentan la prueba para la determinación de los sólidos soluble totales mediante el peso del crisol vacío y de la diferencia una vez que se ha evaporado la solución patrón y que fueron realizados por triplicado.

**CUADRO 4.6: DATOS CALCULADOS POR EL METODO DESCRITO EN ANEXO H SECCION (B)**

Cápsula	Pesos de cápsulas de porcelana vacías ( $w_1$ )	Pesos de cápsulas + muestra ya evaporada ( $w_2$ )	Sólidos depositados ( $w_2-w_1$ )
Nº 1	46.52 g	47.30 g	0.78 g
Nº 2	46.52 g	47.12 g	0.77 g
Nº 3	43.75 g	44.53 g	0.78 g

Como las alícuotas tomadas fueron de 25 ml tenemos los valores expresados en concentración (gr/ml).

$$C1 = 0.0312 \text{ g / ml}$$

$$C2 = 0.0308 \text{ g / ml}$$

$$C3 = 0.0312 \text{ g / ml}$$

Siendo la concentración promedio de:

$$C = 0.03107 \text{ g de sólidos solubles totales / ml}$$

Por tanto:  $C = 0.7767 \text{ gr / 25ml de solución}$

Expresado en otras unidades:

$$C = 31.0667 \text{ gr de sólidos solubles totales / L}$$

#### 4.8 CALCULO DEL % DE AZUCARES REDUCTORES

Para determinar el porcentaje de azúcares reductores en la muestra patrón del extracto se procede a aplicar el método descrito en el anexo G, sección G-2 parte (a).

Se aplicó el método descrito por ser bastante confiable a la hora de hacer determinaciones de azúcares reductores y sacarosa y porque el equipo para realizarlo está disponible.

Los valores que se muestran en el Cuadro 4.7 fueron leídos en el experimento realizado por triplicado en la determinación del valor de la solución de Fehling A por adición de patrón de azúcar invertido.

**CUADRO 4.7: GASTO DE PATRÓN DE AZÚCAR INVERTIDA PARA DETERMINAR EL VALOR DE LA SOLUCIÓN DE FEHLING A.**

<b>Replica</b>	<b>ml. consumidos de sol. de azúcar invertido</b>
1	5.8
2	6.0
3	6.2
<b>Promedio</b>	<b>6.0</b>

Por tanto:

Valor de la solución de Fehling A:

$$\begin{aligned}\text{Valor} &= \text{ml de solución de azúcar invertido} * 0.005 \\ &= 6 \text{ ml} * 0.005 = 0.03\end{aligned}$$

Ahora el valor determinado del porcentaje de azúcares reductores es:

$$(R1) \text{ \% Azúcar reductor} = \frac{\text{Valor de Fehling} * 100}{\text{ml consumidos de la muestra}}$$

La cantidad de solución de extracto de cerezo usado para la valoración de azúcares reductores mediante titulación de la solución de complejo tartrato-cobre realizado por triplicado se muestra en el Cuadro 4.8.

**CUADRO 4.8: GASTO DE EXTRACTO EN LA TITULACION  
PARA LA DETERMINACION DE  
AZUCARES REDUCTORES**

Replica	ml. consumidos de sln. de extracto de cerezo
1	0.95
2	1.00
3	1.41
<b>Promedio</b>	<b>1.21</b>

Sustituyendo:

$$\text{\% de Azúcar Reductor} = \frac{0.03 * 100\%}{1.12}$$

$$\% \text{ de Azúcar Reductor} = 2.678\%$$

O sea que la concentración de azúcar reductor es :

$$C = 2.678 \text{ gr de azúcar reductor} / 100 \text{ gr de solución}$$

Auxiliándose con el valor de la densidad de la solución presentada en la sección

7.7.3.1 y expresada por litro se tiene:

$$C = \frac{2.678 \text{ gr de azúcar reductor}}{100 \text{ gr de solución}} \times \frac{1.004 \text{ gr de solución}}{1 \text{ ml de solución}} \times \frac{1000 \text{ ml de sol.}}{1 \text{ lt de sol.}}$$

$$C = 26.887 \text{ gr de azúcar reductor} / \text{L de sol.}$$

Dado que en el experimento de SST tenemos una concentración de sólidos de  $C_T = 31.0066 \text{ g} / \text{L de sln.}$  se observa que los azúcares reductores actúan como interferentes y por tanto la diferencia de estos 2 valores nos daría un aproximado del colorante orgánico de antocianina que posee la solución patrón:

$$\begin{aligned} \text{Aprox. [ Colorante ]} &= 31.066 \text{ g} / \text{L} - 26.887 \text{ g} / \text{L} \\ &= 4.1797 \text{ g/L de sln. Patrón} \end{aligned}$$



#### 4.9 CALCULO DE LA SACAROSA REMANENTE

La determinación de sacarosa remanente se puede expresar en términos de azúcar invertido mediante la aplicación de las formulas planteadas en el Anexo G, sección G-3, parte (b).

Los valores promedio expresados en el Cuadro 4.9 son las pruebas promedio realizadas por triplicado para encontrar un valor aproximado de los ml gastados en la bureta en la valoración del extracto del cerezo con la solución complejo de tartrato-cobre donde la solución extracto ha sido tratada con ácido clorhídrico para la inversión no de la sacarosa presente sino de la inversión total de los compuestos azucarados presentes en el jugo de cerezo ya que como se conoce la mayor cantidad de azúcar en la fruta es la fructosa que simplemente se reduce a alcohol pero no solamente esta presente esta sustancia en la muestra.

En el Cuadro 4.9 se presentan los mililitros gastados de extracto de cerezo en la valoración de la sacarosa remanente.

**CUADRO 4.9: GASTO EN MILILITROS DEL EXTRACTO DEL CEREZO EN LA VALORACION DE SACAROSA REMANENTE**

<b>Replica</b>	<b>ml. consumidos de soln. de extracto de cerezo</b>
1	1.38
2	1.50
3	1.43
<b>Promedio</b>	<b>1.44</b>

Sustituyendo la ecuación:

$$(R2) \quad \% \text{ total de azúcar invertido} = \frac{\text{Valor de Fehling} * 100}{\text{ml consumidos de la muestra}}$$

$$\% \text{ total de azúcar} = \frac{0.03 * 100\%}{1.44}$$

$$\% \text{ total de azúcar} = 2.778\%$$

Expresando este resultado en otras unidades y con ayuda de la densidad se tiene:

$$C = \frac{2.778 \text{ gr de azúcar reductor}}{100 \text{ gr de solución}} \times \frac{1.004 \text{ gr de solución}}{1 \text{ ml de solución}} \times \frac{1000 \text{ ml de sol.}}{1 \text{ lt de sol.}}$$

$$C = 27.89 \text{ gr de azúcar inv. / L de solución}$$

Ahora calculando el % de sacarosa remanente como la diferencia de los 2 valores anteriores se tiene:

$$\% \text{ de sacarosa remanente} = (R2 - R1) * 0.90$$

$$\% \text{ de sacarosa} = (2.778\% - 2.678\%) * 0.90$$

$$\% \text{ de Sac. Remanente} = 0.09\% \text{ (como otros azucares)}$$

Como se observa en este ultimo valor, el porcentaje de sacarosa remanente como otros azucares es despreciable y puede suponer que estos azucares no causan ninguna interferencia en la valoración del colorante natural.

## **5.0 EVALUACION DEL RENDIMIENTO EN LA EXTRACCIÓN DEL COLORANTE DEL FRUTO DEL ARBOL DE CEREZO**

La investigación preliminar, presentada en el capítulo 4 permitió identificar las variables que pueden afectar al rendimiento en la extracción del colorante del fruto del árbol de Cerezo de Belice, las cuales son: volumen de solvente (agua), tiempo de maceración y masa de fruta triturada.

Sin embargo, no se ha cuantificado, ni validado el efecto de dichas variables, lo que conduce a realizar un diseño estadístico de experimentos, siendo el modelo seleccionado, el Diseño Factorial  $2^k$ . La teoría y formulas a aplicar en el modelo factorial se encuentran especificadas en el Anexo A.

### **5.1 DESCRIPCION DE LOS FACTORES, NIVELES Y VARIABLE RESPUESTA**

Como ya se menciona, en esta fase se realizara un diseño factorial  $2^k$ , en el que los factores estudiados y sus niveles se especifican a continuación:

a) **MASA DE LA FRUTA ( M )** : Cantidad de la fruta triturada a usar en el ensayo y sera medido en gramos, los niveles son:

$M_1 = 100$  gramos de fruta de cerezo (-)

$M_2 = 200$  gramos de fruta de cerezo(+)

**b) VOLUMEN DEL SOLVENTE ( V ) :** Cantidad de agua utilizada para la extracción del colorante de la fruta triturada, medido en mililitros y con los siguientes niveles:

$V_1 = 50$  mililitros de agua (-)

$V_2 = 100$  mililitros de agua (+)

**c) TIEMPO DE MACERACIÓN ( T ) :** El tiempo necesario para permitir que el colorante contenido en la fruta sea extraído por el solvente, medida en días, y con los siguientes niveles:

$T_1 = 1$  día (asumiendo extracto no fermentado) (-)

$T_2 = 6$  días (extracto fermentado) (+)

El valor  $T_1 = 1$  día es acorde a que el sustrato preparado esta fresco y la cantidad de azucares presentes no se ha transformado sustancialmente en otras compuestos como etanol, esterres y otros.

El valor de  $T_2 = 6$  días esta definido, ya que cuando ha transcurrido este tiempo en la solución fresca de extracto se han fermentado la mayor cantidades de azucares que posee y la velocidad de disminución de azucares es mínimo y el cambio de valor de los azucares presentes es casi constante (véase sección 5.6.1).

Dado que se quiere evaluar el efecto de 3 factores, se tiene un experimento factorial  $2^3$ . Por otra parte, se efectuaran 3 replicas por tratamiento lo que implica un total de 24 ensayos.

## **5.2 DESCRIPCION DE LA VARIABLE RESPUESTA**

La variable respuesta será el rendimiento en la extracción del colorante, el cual se expresara en términos de la absorbancia de la solución.

El registro de la absorbancia de la solución se hará en un espectrofotómetro de luz visible (Spectronic 20) usando como curva de calibración la obtenida según se especifica en la sección 5.2.1.

## **5.2.1 DETERMINACION DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN PARA EVALUAR EL RENDIMIENTO EN LA EXTRACCIÓN DEL COLORANTE**

La determinación de una curva de calibración es la base para relacionar la concentración de una solución con las lecturas de absorbancia de la misma.

Dado que para elaborar una curva de calibración, se necesitan soluciones estandarizadas con concentraciones conocidas y que para esta investigación no se tiene identificado el colorante del fruto, se hace necesario usar como patrón de referencia, jugo puro de la fruta, y sobre este hacer diluciones de concentración relativa.

### **5.2.1.1 Construcción de la Curva de Calibración del Extracto**

Para la elaboración de la curva de calibración se procede a preparar diluciones a partir del jugo puro de la fruta (se considera que el jugo puro de la fruta es la solución mas concentrada que puede obtenerse del colorante).

El jugo usado para la construcción de la curva fue previamente fermentado para evitar el efecto de los azucares presentes.

Las diluciones efectuadas en fracción volumen jugo-agua se presentan en el Cuadro 5.1, donde estas lecturas han sido tomadas haciendo uso de un espectrofotómetro visible (Spectronic 20) para la longitud de onda donde se obtiene la máxima absorbancia para las soluciones del colorante, que según se planteo en la sección 4.6 es de 525 nm.

En la Figura 5.1 se presenta la curva de calibración ajustada basándose en los datos obtenidos del Cuadro 5.1 que muestra las diluciones efectuadas del jugo puro de cerezo fermentado.

**CUADRO 5.1: TABLAS COMPARATIVAS DE DILUCIONES**

<b>Dilución</b>	<b>Transmitancia</b>	<b>Absorbancia</b>
1/4	19.25	71.55
1/5	26.9	57.02
1/6	33.25	47.82
1/7	38	42.02
1/8	42.9	36.75
1/9	47.25	32.55
1/10	51.4	28.90
1/14	62	20.76
1/16	66.25	17.88

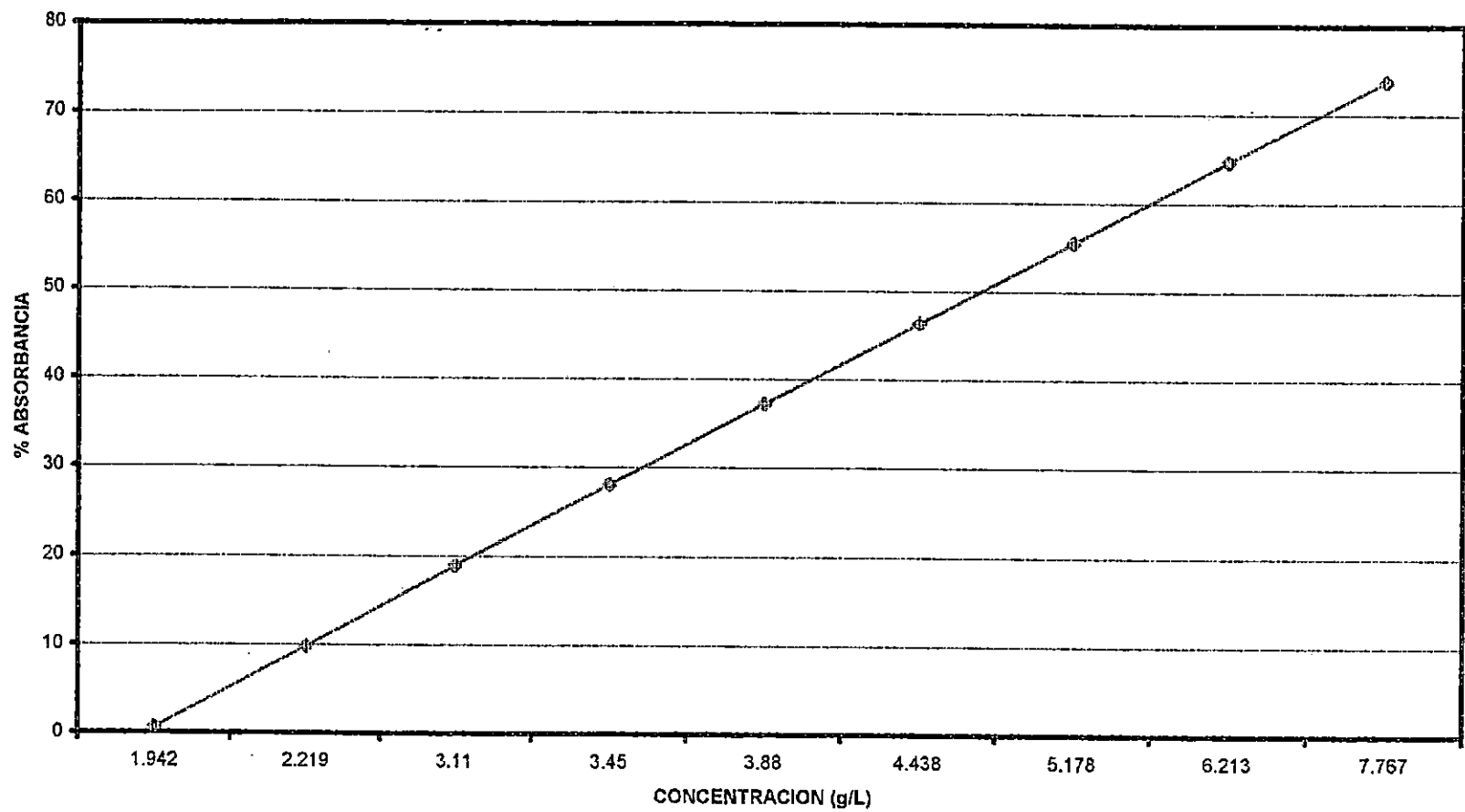


FIGURA 5.1: CURVA DE CALIBRACION DEL JUGO DE CEREZO NO ESTANDARIZADO

$$r^2 = 0.99985131 \quad y = 0.66895 + 9.1437 x$$



### 5.2.1.2 Análisis de Variancia de la Curva de Calibración Construida

La ecuación obtenida por regresión para el ajuste de los datos obtenidos de absorbancia y fracción volumen posee las siguientes características:

Tipo de ecuación: Polinomial

Ecuación matemática:

$$y = a + bx + cx^2 + dx^3 + ex^4$$

Con valores de las constantes:

$$a = 0.66895$$

$$b = 9.1437$$

$$c = -156.26196$$

$$d = 402.34316$$

$$e = -380.85108$$

Con un valor r - ajustado de regresión es de:

$$r^2 = 0.999851318$$

Debido a que es necesario validar la ecuación obtenida por regresión, se debe calcular los intervalos entre los cuales el valor que se obtuvo de la observación debe de estar dentro de dicho intervalo.

En el Anexo J, sección (a) se muestra el análisis estadístico aplicado a esta gráfica particular para los intervalos límites con un 95% de confianza.

Como se observa, los intervalos para esta gráfica para un 95% de confianza son:

$$a : 0.90 \text{ hasta } 2.016 \quad (\text{No toma valor de cero})$$

- b : 14.29 hasta 47.91 (No toma valor de cero)
- c : -334.36 hasta 21.83 (Toma valor de cero)
- d : -385.37 hasta 1190.05 (Toma valor de cero)
- e : -1616.92 hasta 855.23 (Toma valor de cero)

Debido a que para estas constantes, en el modelo de regresión aplicado, en el intervalo de confianza, existen valores que toman cero, indica la posibilidad de reducir el modelo de la ecuación predeterminada, ya que solamente los coeficientes "a" y "b" tienen intervalos que no contienen el cero y que poseen valor al momento de validar la ecuación.

Por tanto, la ecuación se reduce a la forma lineal:

$$y = 0.66895 + 9.1437 x \quad (\text{Ecuación 5.1})$$

El análisis de variancia permite concluir que los datos experimentales no parecen sugerir la necesidad de considerar términos mayores que los de primer orden (Ecuación 5.1) en el modelo y que dicho modelo tiene comportamiento lineal.

### 5.3 PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS

Al momento de efectuar el experimento los resultados podrían validar o rechazar las siguientes hipótesis planteadas:

**Hipótesis nula,  $H_0$ :** No existe efecto significativo de las variables masa de fruta, tiempo de extracción y volumen de solvente ni de sus interacciones sobre el experimento de rendimiento en la extracción de colorante a partir de la fruta del cerezo con un nivel de significación del 5%.

Y su respectiva hipótesis alternativa:

**Hipótesis alternativa,  $H_1$ :** Existe efecto significativo de las variables masa de fruta, tiempo de extracción y volumen de solvente ni de sus interacciones sobre el experimento de rendimiento en la extracción de colorante a partir de la fruta del cerezo con un nivel de significación del 5%.

Para la comprobación de las hipótesis nulas planteadas se realiza un análisis de varianza ANOVA con un nivel de confianza del 95%.

Los resultados obtenidos de aplicar el modelo de análisis de varianza ANOVA se presentan tabulados Anexos B y C donde en el Anexo B se presentan los cuadros teóricos del modelo ANOVA mientras que en el Anexo C se muestran los

resultados obtenidos en la experimentación aplicando el modelo factorial con sus respectivos cálculos.

En la Figura 5.2 se presenta el método que se ha venido desarrollando hasta este momento donde se presentan los resultados de rendimiento del colorante como concentración de sólidos en disolución

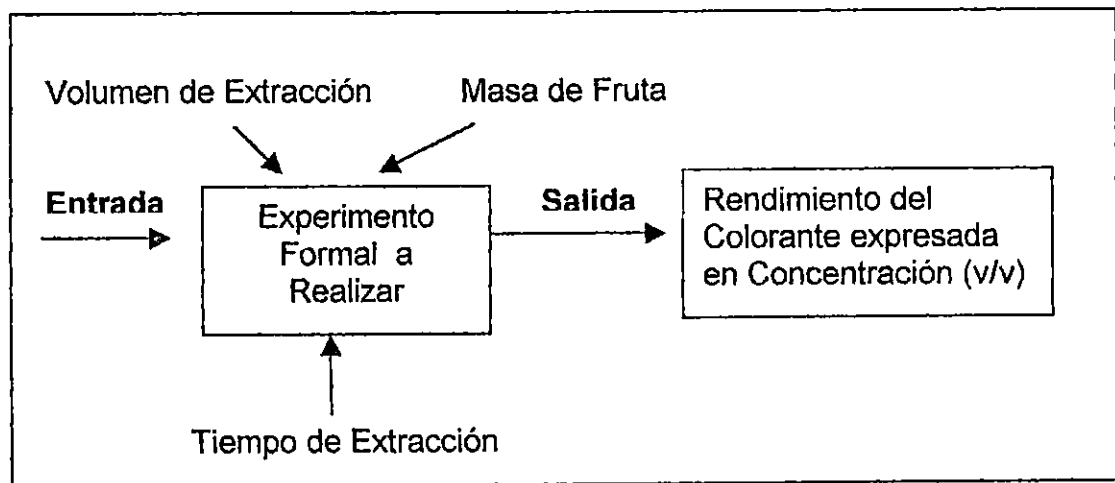


FIGURA 5.2 DIAGRAMA DE REALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO FORMAL DE EXTRACCIÓN DE COLORANTE A PARTIR DEL CEREZO

#### 5.4 PRESENTACION DE DATOS Y CALCULOS DEL ANALISIS ESTADISTICO.

El resultado de los tratamientos individuales, es la lectura de absorbancia en un espectrofotómetro visible, para soluciones preparadas de manera que los valores obtenidos se encuentran resumidos en el Cuadro 5.3.

Al aplicar la ecuación 5.1 a los valores de % de absorbancia del Cuadro 5.2 se obtienen los resultados de concentración que se presentan en el Cuadro 5.3.

**CUADRO 5.2: VALORES CALCULADOS DE ABSORBANCIA DEL EXPERIMENTO REALIZADO**

		100gr		200gr	
		50ml	100ml	50ml	100ml
1 Día	sin fermentar	42.6	36.15	58.34	47.11
		33.07	24.41	57.68	59.35
		35.36	21.25	48.81	56.07
6 Días	fermentado	54.52	28.23	59.69	37.78
		48.81	19.04	61.98	44.0
		52.29	18.71	61.08	25.18

El Cuadro 5.2 provee los valores de % de Absorbancia de cada uno de los tratamientos con tres replicas. Debido a que los valores que se pueden cuantificar no son de interés inmediato, se tiene que expresar estos en términos de concentración (ver sección 5.2.1.1).

**CUADRO 5.3: DATOS CALCULADOS DE CONCENTRACION  
EN v / v DE LAS PRUEBAS REALIZADAS**

		100gr		200gr	
Tiempo		50ml	100ml	50ml	100ml
1 Día	sin fermentar	<b>0.1468</b>	<b>0.1232</b>	<b>0.2052</b>	<b>0.1628</b>
		<b>0.1128</b>	<b>0.0845</b>	<b>0.2028</b>	<b>0.2090</b>
		<b>0.1205</b>	<b>0.0739</b>	<b>0.1692</b>	<b>0.1967</b>
6 Días	fermentado	<b>0.1909</b>	<b>0.0979</b>	<b>0.2102</b>	<b>0.1289</b>
		<b>0.1692</b>	<b>0.0663</b>	<b>0.2185</b>	<b>0.1512</b>
		<b>0.1824</b>	<b>0.0651</b>	<b>0.2152</b>	<b>0.0870</b>

**Respuesta : Concentración de pigmento (v/v)**

En el Cuadro 5.4 se presenta el análisis de varianza realizado para los datos obtenidos de rendimiento de colorante expresado en fracción de volumen total de mezcla jugo-agua por volumen de solvente (agua).

**CUADRO 5.4: RESUMEN DE ANALISIS DE VARIANZA REALIZADO AL  
EXPERIMENTO**

<b>Fuente de variación</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de Libertad</b>	<b>Media de Cuadrados</b>	<b>F<sub>o</sub></b>	<b>F calc. F<sub>(a,v1,v2)</sub>*</b>
Tiempo	0.03929	1.0	0.03929	<b>0.092</b>	
Masa de Fruta	20.463	1.0	20.463	<b>47.934</b>	
Volumen de Extracción	19.33	1.0	19.33	<b>45.28</b>	
Tiempo-Masa	8.93	1.0	8.93	<b>20.92</b>	
Tiempo-Volumen	2.1979	1.0	2.1979	<b>5.149</b>	
Masa-Volumen	0.8295	1.0	0.8295	<b>1.943</b>	
Tiempo-Masa-Volumen	0.085	1.0	0.085	<b>0.199</b>	
Subtotales	51.879	1.0	51.879		
Error	6.8302	16	0.4269		
Total	58.7089	23	2.553		<b>3.05 (95%)</b>

\*Significado:

a= Significancia; v<sub>1</sub>= Numerador (Grados de libertad de la variable); v<sub>2</sub>= Denominador

El valor extraído de 3.05 es el valor correspondiente del Anexo I-1 para un valor de confianza del 95% y para los valores de grado de libertad y error que se necesita para efectuar la lectura.

## **5.5 CONCLUSIONES SOBRE EL EFECTO DE LAS VARIABLES EN EL RENDIMIENTO EN LA EXTRACCIÓN**

De las variables seleccionadas para el estudio del efecto sobre el rendimiento en la extracción del colorante y de sus interacciones se tienen las siguientes conclusiones:

### **a) Tiempo.**

Al comparar el  $F_t$  de tablas para el 95% de confianza se tiene que es mayor que el  $F$  calculado indicando que se acepta la hipótesis nula y por tanto la variable tiempo de maceración no afecta significativamente el rendimiento del colorante. Por tanto, al definir esta variable con un valor óptimo en una producción particular le será asignado un día como el valor mínimo significativo ya que un aumento de este valor solo traería como consecuencia una producción del extracto más tardado.

### **b) Masa de la fruta y Volumen de solvente.**

Al comparar  $F_t$  para un valor de confianza del 95% se tiene que es menor que el valor calculado para la masa de la fruta y el volumen del extracto, indicando que la hipótesis nula se rechaza para estas dos variables y por tanto la variable masa de la fruta y el volumen de solvente afectan significativamente el rendimiento en la extracción del colorante para el 95% de confianza.

Los valores óptimos de estas variables deben ser calculados para definirlos.



**c) Interacción Tiempo-Masa.**

Al comparar  $F_t$  de tablas se encuentra que es menor que el  $F$  calculado y por tanto existe efecto significativo de la interacción tiempo masa sobre el rendimiento del colorante, rechazando la hipótesis nula. Se observa que la interacción tiempo-masa es mayormente afectada por la masa produciendo efectos significativos. Por tanto para un análisis práctico esta interacción que se produce puede ser no considerada.

**d) Interacción Tiempo - Volumen.**

Aunque esta interacción sea significativa al 95%, no es posible considerarla porque de la misma manera en que se observó la variable volumen de extracción, afecta la interacción haciéndola significativa.

**e) Interacción Masa-Volumen.**

Al compara  $F_t$  de tabla se observa mayor que el  $F$  calculado, aceptando la hipótesis nula que indica que esta interacción no es significativa en el experimento realizado.

**f) Interacción Tiempo-Masa-Volumen.**

Raras veces esta interacción posee valor significativo en experimentos factoriales como en este caso donde el  $F_t$  es mayor que el  $F_c$ .

Habitualmente en análisis de experimentos factoriales solamente se observa el comportamiento de las variables y de la primera de las interacciones.

## **5.6 DETERMINACION DEL COMPORTAMIENTO CON EL TIEMPO, DE LAS VARIABLES SOLIDOS SOLUBLES TOTALES Y PH**

La determinación del comportamiento con el tiempo de variables como pH y grados Brix obtenido del extracto de la "cereza", tiene el objetivo de proporcionar información que pueda servir para fines de conservación o bien de procesamiento del mismo.

### **5.6.1 Comportamiento con el Tiempo, de los Grados Brix**

El extracto de Cerezo presenta en su composición química una cantidad de azúcares propios de los jugos de fruta, como por ejemplo, la fructosa (ver sección 4.8), que con el transcurso del tiempo se transforman por reacción de reducción en etanol y otros compuestos, esto implica una reducción progresiva de los azúcares presentes.

En el Cuadro 5.5 se presentan las lecturas de Grados Brix registradas durante 7 días en el jugo de "cereza", fruto del árbol de Cerezo y en la Figura 5.3 se plotean dichos datos.

**CUADRO 5.5: DESCENSO DE LA CANTIDAD DE SOLIDOS SOLUBLES  
TOTALES DURANTE EL TIEMPO**

<b>Tiempo (Días)</b>	<b>Sólidos ( Brix )</b>	<b>Tiempo (Días)</b>	<b>Sólidos ( Brix )</b>
0	12.5	4	5.0
1	10	5	4.0
2	8	6	3.5
3	6.5	7	3.5

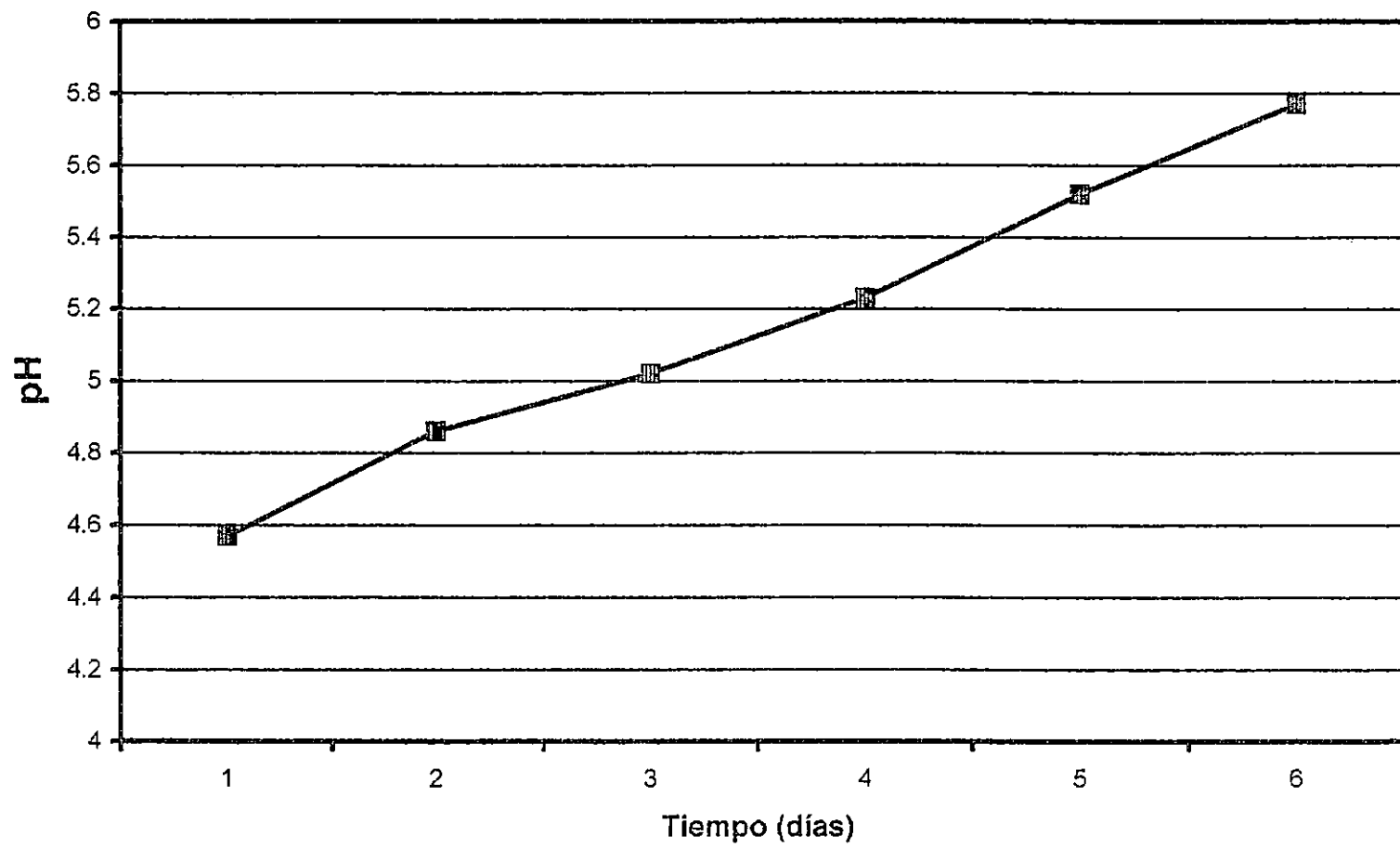


FIGURA 5.4: GRAFICA DE LOS VALORES DE pH CONTRA EL TIEMPO  
 $r^2 = 1.0$   $y = 3.82 + 1.127 x - 0.4637 x^2 + 0.0925 x^3$

La gráfica de grados Brix contra tiempo se describe mediante una correlación exponencial del tipo :

$$\text{Brix} = e^{-Bt}$$

sugiriéndose la siguiente ecuación para describir el comportamiento de los datos:

$$\text{Brix} = 12.5^{-Bt} \text{ donde:}$$

$$B = +0.22314 ; r^2 = 0.999867$$

También con esta ecuación se puede calcular la variación de los grados Brix con respecto al tiempo mediante la aplicación de la derivada a la ecuación y se tiene por tanto:

$$\text{Brix} = 12.5 e^{-Bt} \text{ donde } B = 0.2231$$

$$d(\text{Brix}) / dt = 12.5(B)e^{-Bt} = 12.5(0.2231)(-1)e^{-Bt}$$

$$d(\text{Brix}) / dt = -2.789e^{-Bt}$$

**CUADRO 5.6: VELOCIDAD DE VARIACION DE LOS GRADOS BRIX RESPECTO AL TIEMPO**

Tiempo (días)	-d(brix)/dt (Brix / día)
0	2.78
6	0.73
10	0.29
100	<0.0001

De lo anterior se puede concluir que la variación de la cantidad de sólidos totales durante los primeros diez días es lo suficientemente uniforme y la variación de cambio es tal que se puede afirmar que la solución no sigue fermentándose de manera significativa que pueda alterar los datos al calcular mediante la ecuación un cambio mínimo con pendiente variable de 0.73 a 0.29 entre los días correspondientes de 6 a 10 y por tanto se puede usar la variable tiempo con un valor de 6 días (tiempo mínimo) y afirmar que en la solución la mayor cantidad de azúcares reductores se han fermentado.

#### **5.6.2 COMPORTAMIENTO DEL PH CON EL TIEMPO DEL JUGO DE CEREZA**

En el Cuadro 5.7 se presentan las lecturas de pH del jugo extraído de la "cereza", registrada durante 6 días. En la Figura 5.4 se plotean los datos obtenidos.

**CUADRO 5.7: DATOS DEL COMPORTAMIENTO DEL PH DEL JUGO DE LA CEREZA CON EL TIEMPO**

<b>Tiempo (días)</b>	<b>pH</b>
1	4.57
2	4.86
3	5.02
4	5.23
5	5.52
6	5.77

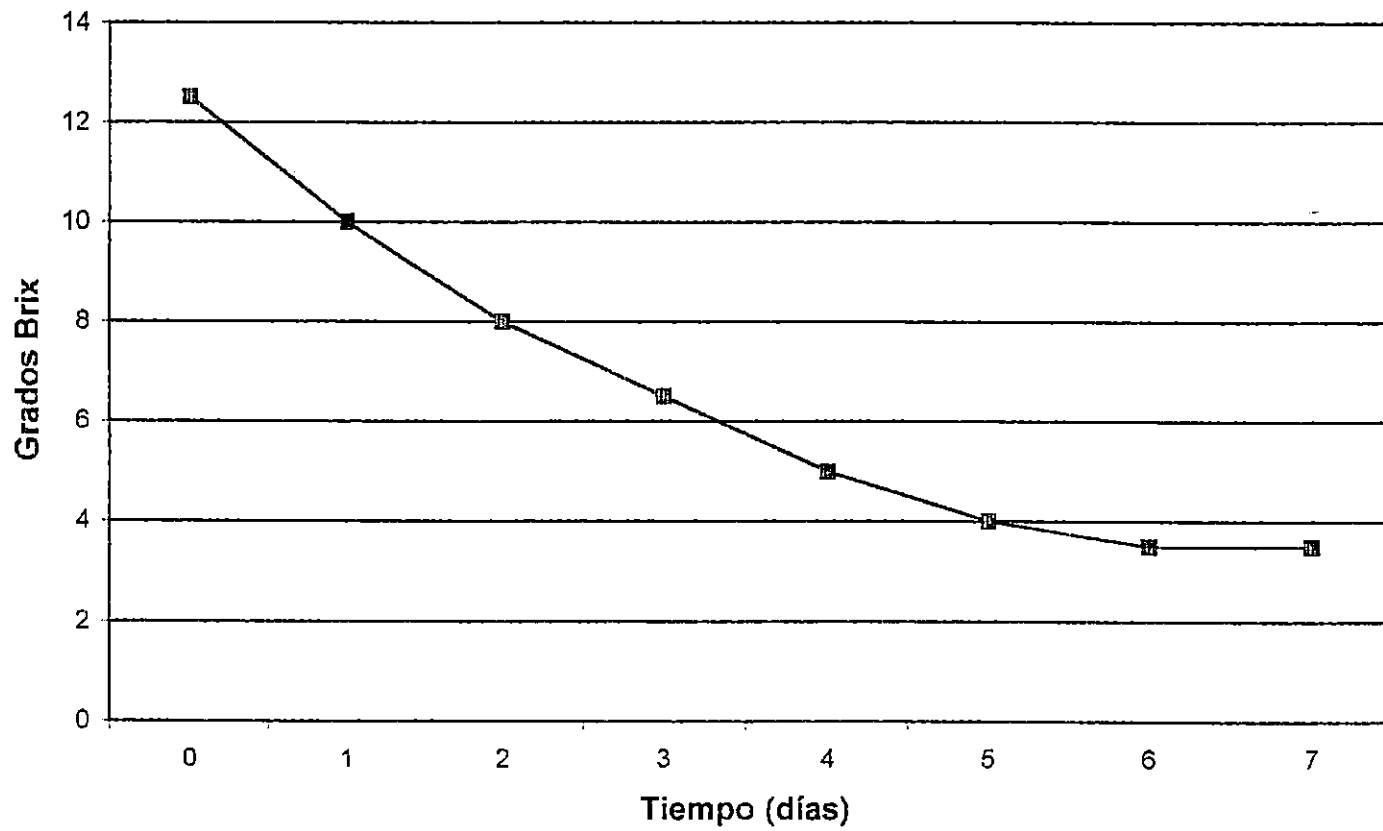


FIGURA 5.3: CURVA DE SOLIDOS TOTALES CON EL TIEMPO

$r^2 = 0.999905$      $y = 0.0000235 + 12.5 \exp(0.22314)$

### 5.6.2.1 Análisis de Variancia de la Curva de Calibración Construida

La ecuación obtenida por regresión para el ajuste de los datos obtenidos de pH del jugo de la cereza y tiempo, posee las siguientes características:

Tipo de ecuación: Polinomial

Ecuación matemática:

$$y = a + bx + cx^2 + dx^3 + ex^4$$

Con valores de las constantes:

$$a = 3.82$$

$$b = 1.1275$$

$$c = -0.46375$$

$$d = 0.0925$$

$$e = -0.00625$$

Con un valor  $r$  - ajustado de regresión que es de:

$$r^2 = 1.0$$

Debido a que es necesario validar la ecuación obtenida por regresión, se debe calcular los intervalos entre los cuales el valor que se obtuvo de la observación debe de estar dentro de dicho intervalo.

En el Anexo J, sección (a) se muestra el análisis estadístico aplicado a esta gráfica particular para los intervalos limites con un 95% de confianza.

Como se observa, los intervalos para esta gráfica para un 95% de confianza son:

a : 3.82 hasta 3.82 (No toma valor de cero)



- b : 1.1275 hasta 1.1275 (No toma valor de cero)
- c : -0.46375 hasta -0.46375 (No toma valor de cero)
- d : 0.0925 hasta 0.0925 (No toma valor de cero)
- e : -0.00625 hasta -0.00625 (No toma valor de cero)

Debido a que para estas constantes, en el modelo de regresión aplicado, en el intervalo de confianza, no existen valores que toman cero, indica la posibilidad de no poder reducir el modelo de la ecuación predeterminada, al momento de validar la ecuación.

El análisis de varianza permite concluir que los datos experimentales parecen sugerir la necesidad que dicho modelo tiene comportamiento no-lineal.

## **6.0 PROPUESTA PARA LA APLICACIÓN Y UTILIZACIÓN DEL COLORANTE EXTRAIDO DEL FRUTO DEL ARBOL DE CEREZO**

A continuación se presenta las posibles aplicaciones del extracto de Cerezo a la Industria de alimentos y la conservación sugerida para mantener el extracto de cerezo con condiciones estables permitiendo un producto listo para su uso en algún producto específico.

## **6.0 PROPUESTA PARA LA APLICACIÓN Y UTILIZACIÓN DEL COLORANTE EXTRAIDO DEL FRUTO DEL ARBOL DE CEREZO**

A continuación se presenta las posibles aplicaciones del extracto de Cerezo a la Industria de alimentos y la conservación sugerida para mantener el extracto de cerezo con condiciones estables permitiendo un producto listo para su uso en algún producto específico.

### **6.1 APLICACIONES DEL EXTRACTO DEL CEREZO DE BELICE EN ALIMENTOS**

Un proceso para obtener un producto no tiene sentido si no existen aplicaciones de este producto o exista una necesidad no cubierta de algún sector de la sociedad.

Por lo tanto el proceso mencionado como la obtención de colorante del Cerezo desde un principio tiene tendencias a ser usado en productos alimenticios y como es un fruto comestible se puede considerar que el extracto puede consumirse en los alimentos aunque dadas las limitaciones existentes en la investigación solamente se puede hacer una oferta de aplicaciones a distintos productos comestibles pero con la limitante necesaria de que mas estudios deben realizarse al respecto para conocer las demás sustancias constitutivas desconocidas presentes en el extracto que deben determinarse mediante análisis sistemáticos o mediante análisis toxicológicos.

Las aplicaciones que aparecen mencionadas se realizaron en Laboratorio obteniéndose buenos resultados de homogeneidad y textura en alimentos mostrando lo útil que puede ser dicho extracto en esta Industria en particular.

### **6.1.1 En Bebidas Alcohólicas**

Se verifica que es factible la producción de vinos y/o bebidas alcohólicas usando el extracto del cerezo como materia prima del cual puede obtenerse una solución de color atractivo, espirituosa y de sabor seco y no tóxico (se deben efectuar estudios a largo plazo).

Una vez preparada la bebida alcohólica se puede adicionar el colorante del cerezo como extracto para producir una solución coloreada en cantidades adecuadas para conseguir una mezcla con un color agradable a la vista.

Se han obtenido una serie de mezclas variando la cantidad adicionada de extracto a un volumen de destilado obteniéndose una serie de colores que se indican en el Cuadro 6.1 y se observa que la cantidad adecuada para brindar un color atractivo a una bebida alcohólica destilada transparente o preparada es de 10 ml de extracto en 100 ml de solución produciendo una mezcla de color rojo claro de apariencia agradable (esta mezcla produjo mejores resultados al momento de efectuar comparaciones aunque depende mayormente en el gusto particular de cada cual).

En el Anexo L se presenta el procedimiento que se realiza para la obtención de la bebida alcohólica particular que se experimentó en el Laboratorio como prueba piloto.

**CUADRO 6.1: MEZCLAS DEL COLOR RESULTANTE DE LA ADICION DE EXTRACTO A UNA SOLUCION DE ETANOL AL10%**

<b>Adición de extracto a 100 ml de solución destilada (ml)</b>	<b>Color observado</b>
0	Transparente
1	Rosado tenue
2	Rosado claro
5	Púrpura claro
7	Púrpura
10	Rojo claro
15	Rojo
25	Rojo oscuro
Mas de 50	Morado oscuro

### **6.1.2 En productos de confitería**

Se han encontrado buenos resultados en la aplicación del extracto de Cerezo como colorante para productos de confitería ya que le atribuyen al producto un color agradable a la vista y no altera la textura uniforme de la mezcla del caramelo ni tampoco produce retención de burbujas en el seno del caramelo líquido en cocción.

Para determinar las aplicaciones industriales de la cantidad requerida para su uso es necesario efectuar más pruebas, ya que estas aplicaciones están limitadas al uso del colorante en productos y aunque se conozca que el extracto como tal no tiene

efectos tóxicos en el organismo humano, no se conoce las reacciones que pueda tener este ante concentraciones elevadas de extracto del cerezo.

En la prueba realizada con mezclas de caramelo a partir de azúcar cruda y blanca se lograron obtener diversos colores que van del amarillo hasta el morado claro en el azúcar cruda hasta el morado intenso y rojo en el azúcar blanca para condiciones normal del extracto y para medio ácido.

### **6.1.3 Otras aplicaciones**

Dado la procedencia del extracto, que es fruta comestible, existen una amplia gama de productos que no se contemplaron sus pruebas en este documento pero cabe mencionar que dado la variedad de productos comestibles en el mercado que necesitan de colores atractivos, se puede afirmar que existen amplias aplicaciones para este producto.

Entre dichos ejemplos de aplicación se puede mencionar el uso del colorante para teñir harinas en la manufactura de pan dulce, también se puede utilizar para el coloreado de batidos y cremas, para productos refrigerados como sorbetes y helados y productos de consumo que necesiten de un color de cereza como refrescos y bebidas rápidas.

## 6.2 MATERIALES DE EMPAQUE PARA CONSERVAR EL EXTRACTO DE CEREZO

Los Extractos Concentrados de Cerezo presentan estabilidad frente a la luz solar y pueden ser almacenados por largo tiempo sin que su composición química se altere en materiales que tengan alguna resistencia a los líquidos ya que el colorante en cuestión posee una condición final de líquido concentrado y no fue aislado en forma sólida ya que las concentraciones de carotenoide puro en disolución son pequeñas y se necesitaría grandes cantidades de fruta para aislar mínimas cantidades de sustancia.

Puede ser almacenado en botes de vidrio transparente o traslúcido con tapadera de hule plástico, el extracto no reacciona con el vidrio y permite que conserve su viscosidad y apariencia homogénea evitando la contaminación del extracto con el aire ya que pueden existir cepas de hongos que contaminen el extracto.

También puede ser almacenada en bolsas plásticas de polietileno de alta densidad que permite conservar el concentrado en buen estado y que posee buena resistencia a productos que se encuentran en estado líquido.

No existe problema de reacción química entre el plástico y la solución extracto ya que aunque su pH oscila entre 3.0 y 5.5 existe una resistencia química del plástico hacia la solución de colorante.

### **6.3 ADICION DE PRESERVANTE AL EXTRACTO DE CEREZO PARA SU CONSERVACIÓN A LARGO PLAZO**

Como todos los productos destinados a consumo humano, que debido a su manejo a largo plazo necesitan que lleve disuelto algún compuesto químico para evitar su descomposición, el extracto de Cerezo necesita de la adición de preservante aunque esto con algunas limitantes que deben tomarse en cuenta al momento de investigar esta parte.

Entre los químicos preservantes para consumo humano tenemos el benzoato sódico que se ha reportado que en condiciones normales no es tóxico excepto en grandes cantidades (véase el Codex Alimentario 3:26:2.12).

Se observa que el extracto de cerezo no necesita adición de agua ya que su pH ácido lo previene de microorganismos excepto en los casos en que el volumen de agua de extracción sea demasiado grande y deje el pH superior a 6.0 aunque puede ser acidificado con ácido cítrico para permitir que su valor de acidez baje lo suficiente.

Se necesitan hacer mas estudios al respecto, ya que el colorante lleva fines de presentar los alimentos de forma estética y algún aditivo adicional tiene que ser investigado mas detalladamente para llegar a concluir que su adición al extracto no es toxico para el ser humano.

## OBSERVACIONES

- 1) Existen problemas en la etapa de maceración de la fruta ya que después de esta etapa se requiere de periodos largos de sedimentación y filtración para obtener una solución de colorante libre de altos contenidos de materia orgánica en suspensión.
- 2) El colorante del cerezo se aisló en forma de concentrado líquido ya que su forma sólida particular necesita de grandes cantidades de fruta y la cantidad obtenida de colorante sólida sería en unidades de miligramos.
- 3) El colorante que se obtiene a partir del Cerezo presenta una buena estabilidad al aire permitiendo preservarse durante algún tiempo (aprox. 6 días) sin alterar su homogeneidad ni su color debido al pH que presenta la fruta (pH=4.2).
- 4) Se observa que al aplicar el colorante del cerezo en productos de la industria de alimentos, este produce tonalidades de colores atractivos, según el pH que se obtiene en su proceso de manufactura ya que ésta es una propiedad química de las antocianinas.
- 5) El proceso de obtención del colorante se lleva a cabo en un tiempo aproximado de tres días desde la etapa de maceración y posteriores filtraciones del extracto. Por tanto este es el tiempo de proceso de la fruta para obtener un extracto de buena calidad.



## CONCLUSIONES

- 1) Para la extracción del pigmento del cerezo en cantidades comerciales se requiere dimensionar equipo, según las necesidades de materia prima a procesar, este estudio no ha sido contemplado en esta investigación dadas las limitaciones, pero se da la base para un estudio posterior del escalamiento en la obtención de colorante.
- 2) Se puede indicar que el proceso de producción del colorante del cerezo es factible en función de equipos destinados a la producción de extracto, ya que lo único necesario para elaborarlo son tanques de almacenamiento y de agitación y que no se necesita evaporación adicional una vez se ha obtenido el extracto.
- 3) Debido a la composición química del extracto, en cuanto a la cantidad de azúcares reductores que presenta, fue necesario cuantificar mediante pruebas adicionales dado que estas producen interferencia al momento de obtener el colorante en forma sólida.
- 4) Se concluye que el proceso de obtención del colorante sólido no es factible debido a que es necesario aplicar procesos químicos para la remoción de azúcares y otras sustancias y luego evaporar la solución hasta sequedad consumiendo grandes cantidades de energía.

- 5) El tiempo estimado de maceración de la fruta en el proceso de extracción no deberá exceder de 2 días ya que en este momento comienza la descomposición de la cáscara y del endocarpio de la fruta que alteraría la composición del extracto que se busca obtener.
- 6) Las variables que afectan el rendimiento en la extracción de colorante son la masa de la fruta y el volumen de agua, y que son las variables que deben tomarse en cuenta al momento de hacer un escalamiento industrial para obtener el extracto de cerezo.
- 7) Entre los usos que posee el colorante, se concluye que dados los efectos que producen en los alimentos, es posible considerar el extracto de cerezo como una aplicación a la industria alimenticia ya que el extracto posee características buenas al momento de aplicarlo en productos que se destinan para consumo humano pero es necesario hacer estudios toxicológicos del mismo.
- 8) El material de empaque que permite contener el extracto con buenas propiedades tintóreas son los contenedores de vidrio y que permiten una conservación de sus propiedades físicas en largos periodos de tiempo aunque también se determinaron buenos resultados cuando se conservó en bolsas de polietileno de alta densidad.

## **RECOMENDACIONES**

- 1) Una vez cortada la fruta solamente se puede almacenar durante 4 días sin refrigeración y durante este tiempo todavía es apto para obtención de extracto. Ya que una vez pasado este tiempo la fruta se deteriora rápidamente degradando las sustancias internas en el endocarpio.
- 2) Para la preparación de extracto en medio básico que permite tonalidades verdes, se recomienda la adición de preservantes ácidos que eviten la degradación de las sustancias presentes en el extracto.
- 3) Por el tiempo necesario para la realización de pruebas toxicológicas en un producto nuevo para el área de alimentos, se recomienda establecer en trabajos posteriores el nivel de tolerancia, cantidades máximas en consumo humano y si presenta efectos dañinos a largo plazo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) Alvarado de Funes, S.; Carranza, A. M. y Hernández, M. D.(1985) **"Evaluación de alternativas para el desarrollo de la industria de colorantes naturales en E. S. y diseño del proceso seleccionado"**. Tesis de Graduación para optar a grado de Ing. Químico. Universidad Centro Americana "José S. Cañas". Facultad de Ingeniería. El Salvador.
- 2) Bentley, Kenneth Walter (1980) **"The Natural Pigments"**. Colorantes, pigmentos y química de tinta. Primera Edición. Editorial Prentice Hall.
- 3) Berganza Pimentel, J. L. (1985) **"Diseño Preliminar de una Planta de Obtención de Bixina a Partir del Achiote Utilizando el método de Extracción con Alkali"**. Tesis de Graduación para optar a grado de Ing. Químico. Universidad Centro Americana "José S. Cañas". Facultad de Ingeniería. El Salvador.
- 4) Coto Amaya, O. M. (1988) **"Aspectos Básicos sobre los Colorantes Naturales"**. División de Investigación Agrícola. Departamento de Fitotecnia. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. Ministerio de Agricultura y Ganadería. CENTA-MAG. El Salvador.
- 5) Cheng, H (1995). **"Manual del Azúcar"**, La Habana, Cuba

- 6) Chicas, A. M.; Pérez H.,A.; Soto V., B.(1999) **"Escalamiento del proceso artesanal para la extracción de Bixina a partir de semillas de Achiote"**. Tesis de Graduación para optar a grado de Ing. Químico. Universidad de El Salvador. Facultad de Ingeniería y Arquitectura.
- 6) Deborah W. Hairstone (1996). Artículo **"Pigmentos: Aspectos Actuales en Consideración con los Colorantes Naturales"**. Chemical Engineering (Junio). Estados Unidos.
- 7) Francis Accum (1920). **"Usos de compuestos Orgánicos e Inorgánicos para la Coloración de Alimentos de Consumo Humano"**. Primera Edición, Londres.
- 9) Fundación Natura. EDUNAT III. US-AID, **"Potencial Impacto Ambiental de las Industrias Químicas en el Ecuador"**, Julio 1991.
- 10) Galán, J; García Reyna, A.; Henriquez, J.(1997). **"Investigación del extracto de la Eugenia Myrtifolia y su posible uso como indicador ácido base"**. Tesis de Graduación para optar a grado de Lic. en Química y farmacia. U.E.S.
- 11) Internet, en la dirección <http://www.hmxglobal.com/Deal/Food> (27/Jul/99)
- 12) Internet, en la dirección <http://www.biocquim.com.mx/pig-nat.htm> (27/Jul/99)

- 13) Internet, en la dirección <http://www.geocities.net/worldbotanic.htm> (29/Jul/99)
- 14) Internet, en la dirección <http://www.geocities.com/botanics/plants.mx> (29/Jul/99)
- 15) Internet, en la dirección <http://www.bioquimexreka.com.mx/pig-nat.htm> (29/Jul/99)
- 16) Lesniewicz (1997). **"Estudio General de las Plantas del Genero Syzygium que crecen en las Regiones Templadas de Australia"**. Editorial Eire. Primera Edición, Australia.
- 17) Martínez, Manuel. (1989). **"Resultados Preliminares en la Investigación de Colorantes Naturales"**. CENTA
- 18) National Academy of Sciences. (1971). **"Food Colors"**. Washington, D. C.
- 19) Ralph Fessenden y Johan Fessenden(1988) **"Química Orgánica"**. Grupo Editorial Iberoamérica. 2da Edición. Junio. México D. F.
- 20) Search Result Investment. Boletín No7, Página 24, **"Considerando el Consumo de Pigmentos en el Mundo"**. (Enero 1995). Estados Unidos.

- 21) Serrano, José Ernesto (1983) **"Alternativas para el procesamiento en el desarrollo agroindustrial en El Salvador"**. Universidad de El Salvador. Facultad de Ingeniería y Arquitectura.

ANEXOS



# ANEXO A

## A.1 CURVAS DE ABSORCION DE LUZ PARA DIFERENTES LONGITUDES DE ONDA DE SOLUCIONES DE EXTRACTO DE CEREZO A DIFERENTES DILUCIONES USANDO UNA SOLUCION PATRON.

El método que se describe a continuación permite calcular los valores necesarios para construir la gráfica de absorbancia de una solución de extracto de Cerezo de Belice.

### PROCEDIMIENTO:

- a) Preparar las soluciones respectivas a la dilución deseada a partir del extracto.
- b) Calibrar el espectrofotómetro de absorción (Espectronic 20) a un valor de 100 de transmitancia con agua desmineralizada y a 0 con el botón de ajuste con la cubeta vacía.
- c) Introducir muestra de solución en cubeta de medición y medir el valor de transmitancia de 20 en 20 desde 400 nm hasta 720 nm.
- d) Anotar los resultados leídos en el aparato.
- e) Repetir calibración e introducir nueva muestra.

### CALCULOS:

La elaboración de gráficas de Longitud de onda contra Absorbancia se lleva a cabo mediante la lectura del % de transmitancia en el Espectronic 20 y luego efectuar el siguiente cálculo:

$$\text{Absorbancia} = - \text{Log.} ( \% \text{ de Transmitancia} / 100 )$$

Pero también se puede expresar como:

$$\% \text{ de Absorbancia} = \text{Absorbancia} * 100\%$$

Por motivos prácticos a veces es una mejor opción presentar los datos en términos de transmitancia. Se presentan en el Cuadro A.1, A.2, A.3 los resultados obtenidos en el espectrofotómetro, de la transmitancia de las soluciones diluidas a partir de una solución de extracto concentrada y su respectiva absorbancia calculada.

**CUADRO A.1: DATOS DE TRANSMITANCIA PARA UN EXTRACTO DILUIDO 1/10 A PARTIR DE UNA SOLUCION CONCENTRADA**

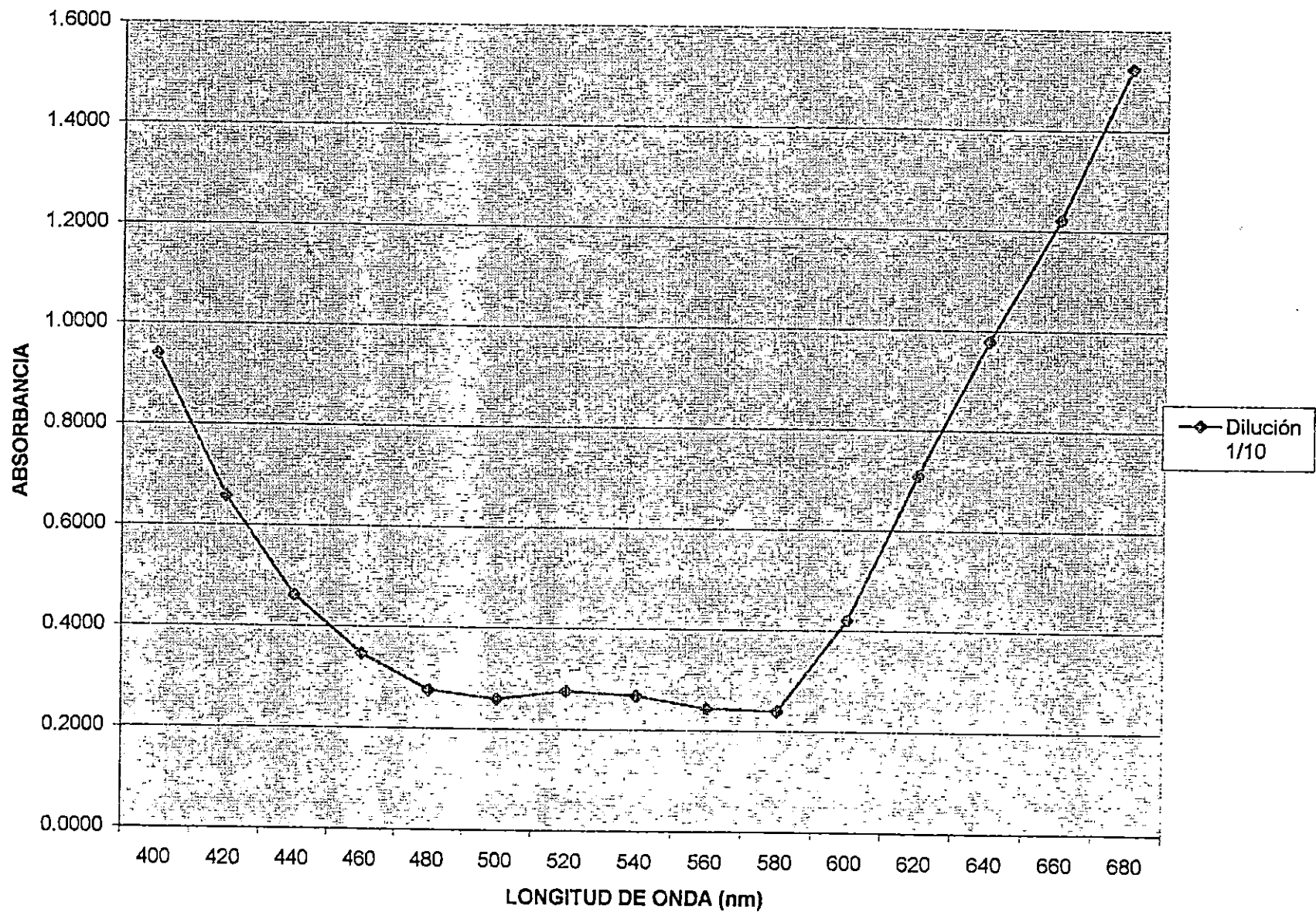
Longitud de Onda (nm)	% de Transmitancia		Absorbancia	
	Replica 1	Replica 2	Replica 1	Replica 2
400	11.5	10.5	0.9393	0.9788
420	22	21	0.6576	0.6778
440	34.5	32	0.4622	0.4949
460	45	44	0.3468	0.3565
480	53	51	0.2757	0.2924
500	55	52	0.2596	0.2840
520	53	51	0.2757	0.2924
540	54	52	0.2676	0.2840
560	57	55	0.2441	0.2596
580	57.5	55.5	0.2403	0.2557
600	38	37	0.4202	0.4318
620	19.5	18	0.7100	0.7447
640	10.5	10.5	0.9788	0.9788
660	6	6	1.2218	1.2218

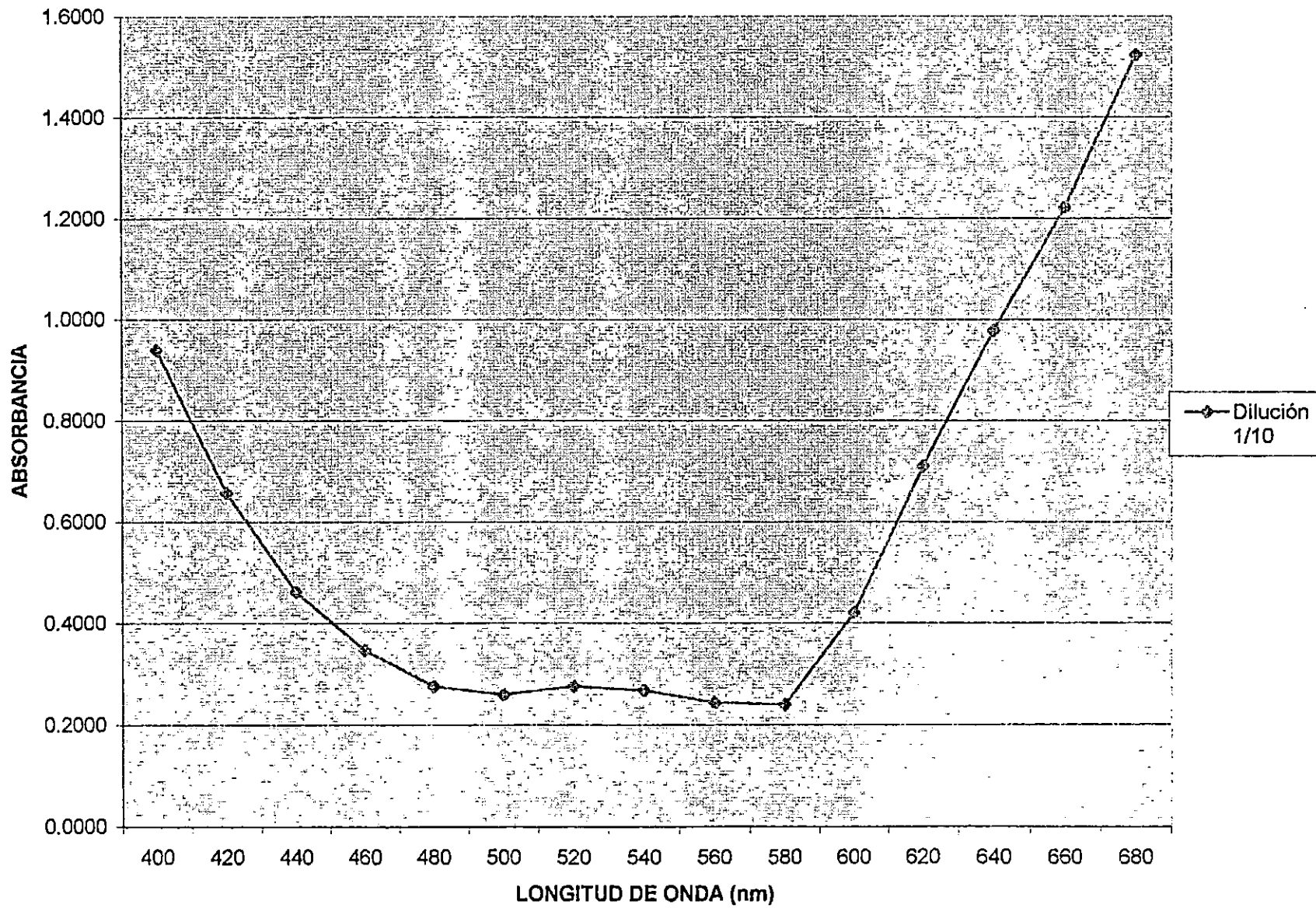
**CUADRO A.2: DATOS DE TRANSMITANCIA PARA UN EXTRACTO DILUIDO  
2/10 A PARTIR DE UNA SOLUCION CONCENTRADA**

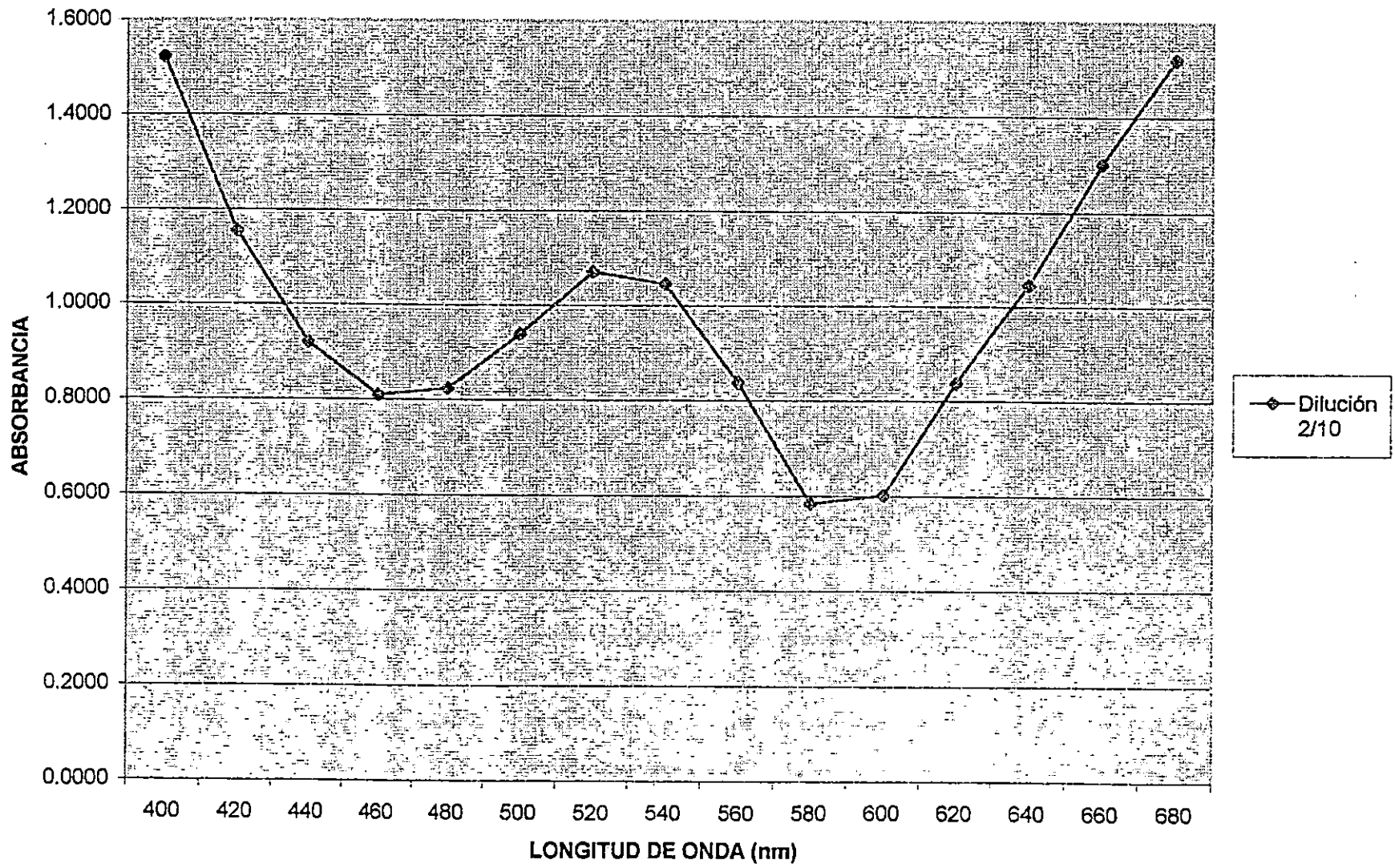
Longitud de Onda (nm)	% de Transmitancia		Absorbancia	
	Replica 1	Replica 2	Replica 1	Replica 2
420	7	6	1.1549	1.2218
440	12	10	0.9208	1.0000
460	15.5	13.5	0.8097	0.8697
480	15	14	0.8239	0.8539
500	11.5	11	0.9393	0.9586
520	8.5	8	1.0706	1.0969
540	9	8.5	1.0458	1.0706
560	14.5	14	0.8386	0.8539
580	26	24	0.5850	0.6198
600	25	24	0.6021	0.6198
620	14.5	14.5	0.8386	0.8386

**CUADRO A.3: DATOS DE TRANSMITANCIA PARA UN EXTRACTO DILUIDO  
3/10 A PARTIR DE UNA SOLUCION CONCENTRADA**

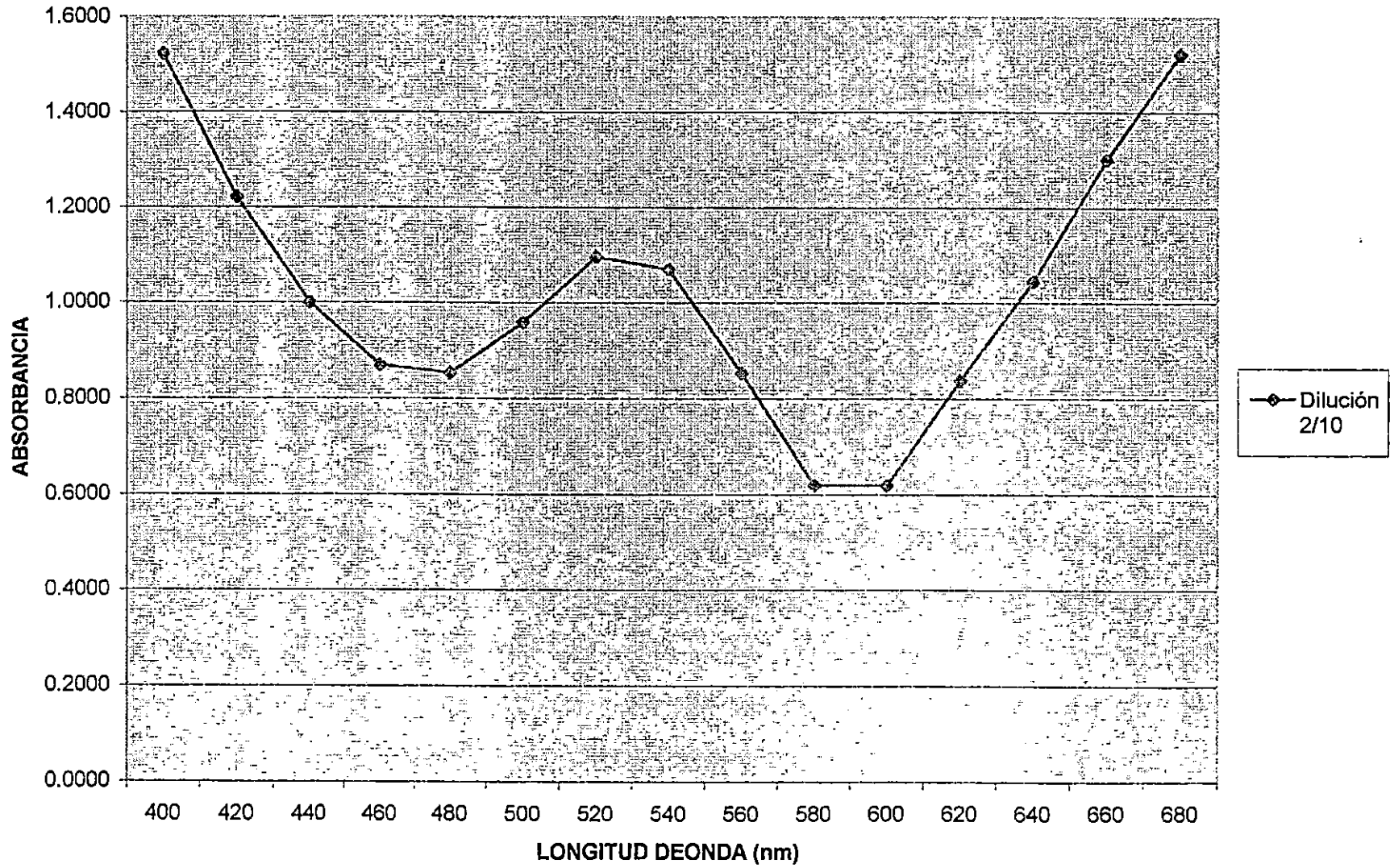
Longitud de Onda (nm)	% de Transmitancia		Absorbancia	
	Replica 1	Replica 2	Replica 1	Replica 2
420	2	2	1.6990	1.6990
440	3.5	3	1.4559	1.5229
460	4.5	4	1.3468	1.3979
480	4	4	1.3979	1.3979
500	2	2.5	1.6990	1.6021
520	1	2	2.0000	1.6990
540	1	2	2.0000	1.6990
560	3	4	1.5229	1.3979
580	10.5	10	0.9788	1.0000
600	15.5	14.5	0.8097	0.8386
620	11	10.5	0.9586	0.9788



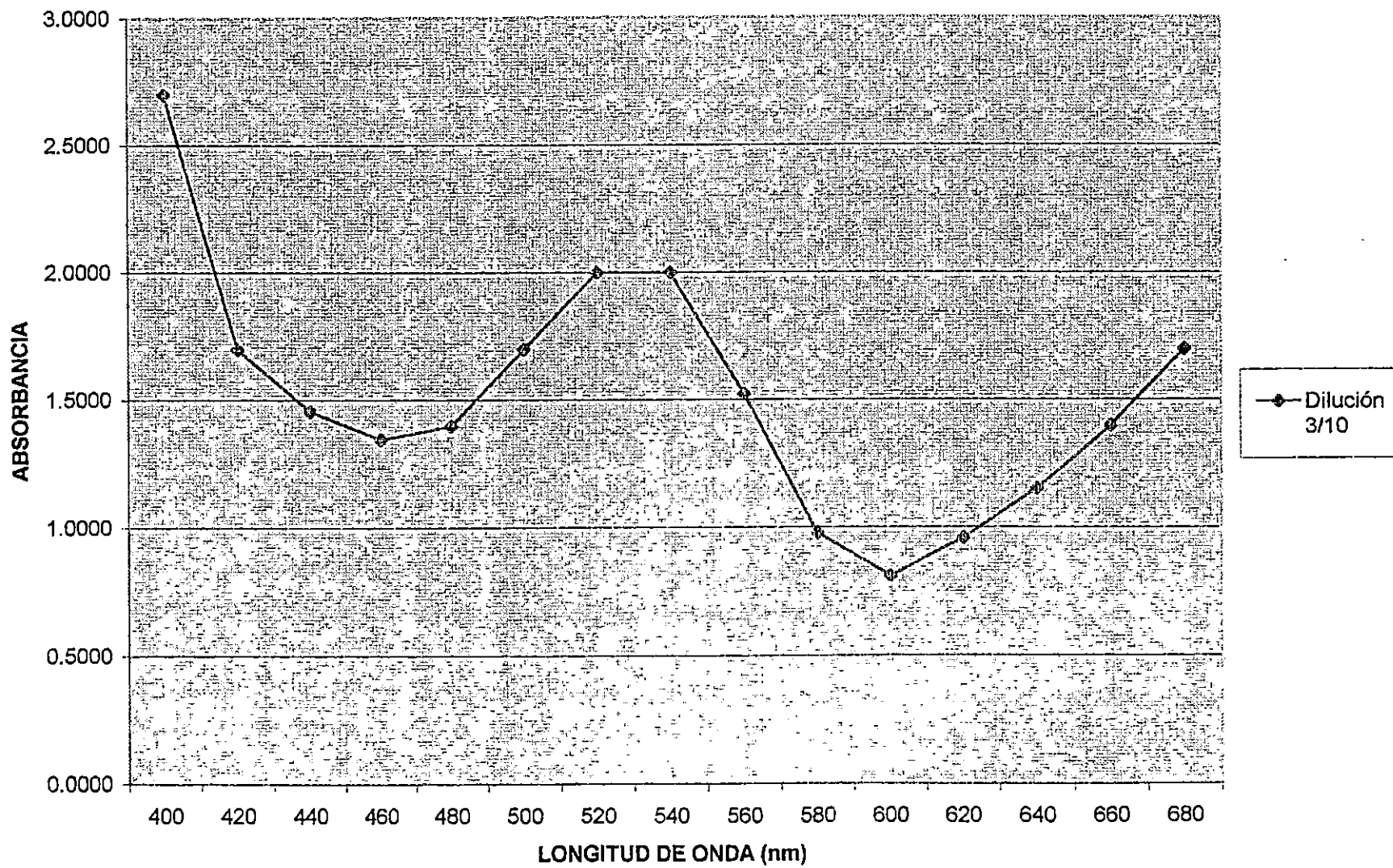




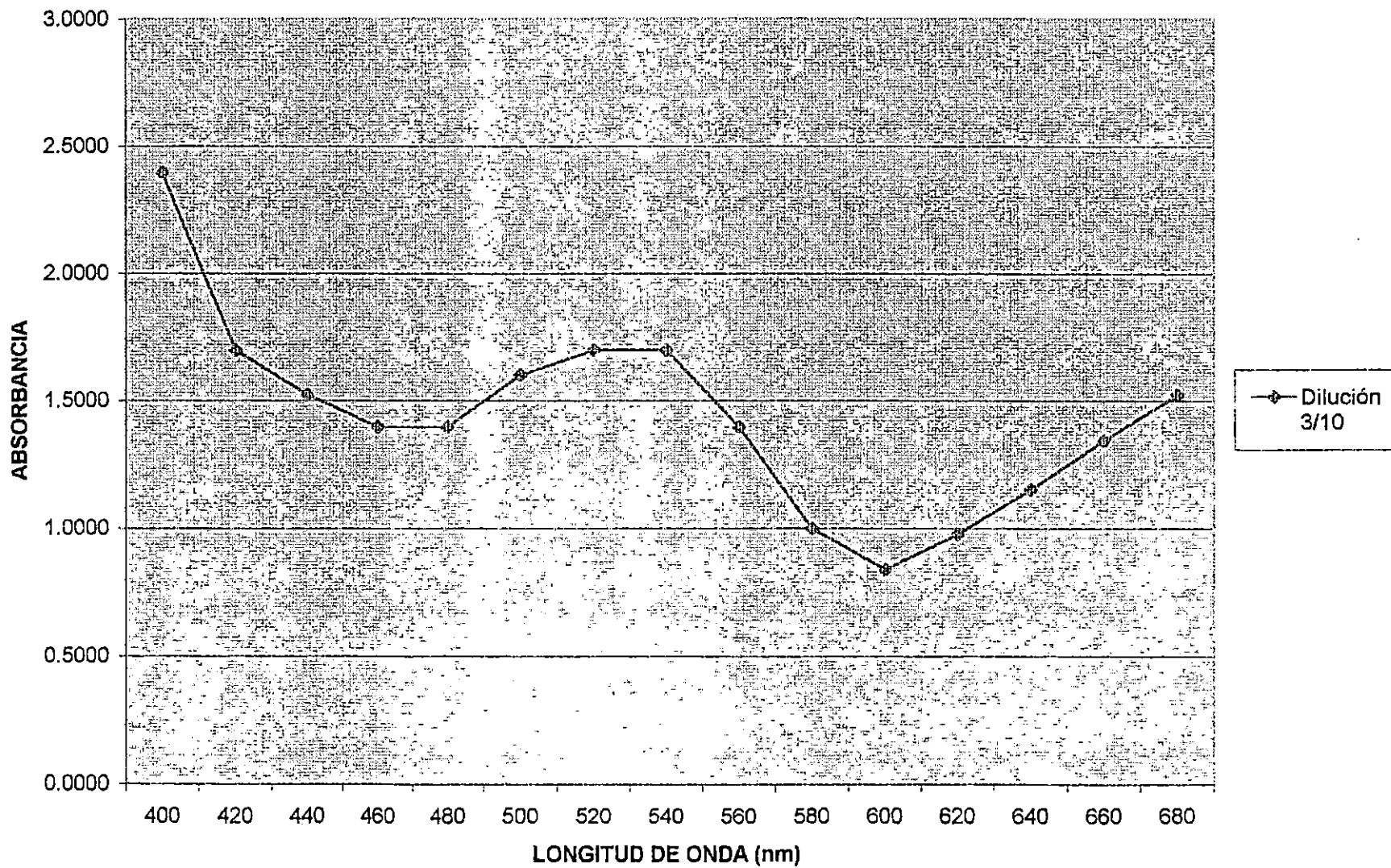
Dilución 2/10











# ANEXO B

## B.1 DISEÑO DE EXPERIMENTOS FACTORIALES.

De acuerdo a los métodos clásicos de diseño de experimentos, solamente un factor experimental puede ser variado a un solo tiempo. R. A. Fisher ha creado en un solo evento el desarrollo del análisis de varianza y los diseños aleatorios mejorando la aplicación de la investigación de todas las posibles combinaciones de los factores experimentales en el mismo experimento.

Un experimento el cual ha sido diseñado de manera que pueda producir mas información que se apoya sobre una base sólida que un experimento del mismo tipo o tamaño pero diseñado sobre los principios clásicos dado que las posibles interacciones entre los factores experimentales están explorados.

Imaginemos un experimento el cual intenta el examen de la influencia de la variación de dos factores A y B en cierto proceso de producción, los factores pueden ser temperatura, viscosidad, tiempo de reacción, velocidad o ajuste de maquinarias, la calidad o cantidad de materia prima, etc.

Y el efecto (las observaciones) pueden por ejemplo ser leídas del rendimiento del proceso o la calidad del producto. Suponiendo que los valores "normales" de los dos factores experimentales sean  $A_1$  y  $B_1$  que la ayuda del experimento sea examinar el efecto del cambio de A desde  $A_1$  hasta  $A_2$  y el cambio de B sea de  $B_1$  hasta  $B_2$ . De acuerdo al diseño clásico de experimentos el procedimiento seria probablemente como se muestra a continuación:

- 1- m "experimentos de control", donde la combinación de los factores  $A_1$  y  $B_1$  producirían los m experimentos.
- 2- El efecto de variar A es dilucidado haciendo "m" experimentos en el cual A ha cambiado desde  $A_1$  hasta  $A_2$  mientras B retiene el valor de  $B_1$ , dado que m experimentos se realicen manteniendo la combinación de factores  $A \times B_1$ .
- 3- El efecto de B es dilucidado por "m" experimentos en la cual la combinación de factores es  $A_1 B_2$ .

Los efectos de los cambios de factores A y B respectivamente, pueden entonces ser estimados desde sus diferencias.

$$D_A = X_{21} - X_{11}$$

$$Y \quad D_B = X_{12} - X_{11}$$

Ambos teniendo la variancia

$$v\{D_A\} = v\{D_B\} = 2\sigma^2/m$$

De acuerdo a los principios de Fisher los experimentos están hechos con todas las combinaciones de los factores, mostrando entonces las combinaciones mencionadas  $A_1 B_1$ ,  $A_2 B_1$  y  $A_1 B_2$  como también las combinaciones  $A_2 B_2$ . Los experimentos de este tipo son llamados experimentos factoriales o experimentos de múltiple factor en contraste con el clásico experimento con factor simple. Efectuando n replicas para cada uno de los cuatro tratamientos combinatorios hallamos que las medias son  $X_{11}$ ,  $X_{21}$ ,  $X_{12}$ , y  $X_{22}$ . El efecto de variación del factor A puede ahora ser calculado para  $B=B_1$  dando:

$$d_{A/B1} = X_{21} - X_{11}$$

En parte para  $B=B_2$  el cual nos conduce a

$$D_{A/B2} = X_{22} - X_{12}$$

Esta cantidad ultima no puede ser calculada de acuerdo al diseño clásico de manera que implica un cambio en ambos factores.

El efecto principal del cambio de factor A es encontrado como la media de los dos efectos condicionales.

$$d_A = 1/2(d_{A/B1} + d_{A/B2}) = 1/2((X_{21} - X_{11}) + (X_{22} - X_{12})) = X_{2.} - X_{1.}$$

Correspondientemente el efecto principal de B es calculado de la siguiente formula.

$$dB = 1/2(d_{B/A1} + d_{B/A2}) = 1/2((X_{12} - X_{11}) + (X_{22} - X_{21})) = X_{.2} - X_{.1}$$

Se ve así que en el experimento factorial todos los resultados del experimento son utilizados para la estimación de cada efecto principal, mientras que en el experimento clásico solo 2/3 del numero total de observaciones son usadas para calcular cada uno de estos efectos.

$$v\{d_A\} = v\{d_B\} = \sigma^2/\eta$$

Además, el experimento factorial producen un estimado de la interacción de los factores los cuales son excluido por el diseño clásico. Si los dos efectos condicionales  $d_{A/B1}$  y  $d_{A/B2}$  difieren significativamente, el efecto A debe presumiblemente ser dependiente sobre B ya que existe interacción entre los efectos de los dos factores. Esta interacción esta indicada por las diferencias:

$$d_{AB} = \frac{1}{2} ( d_{A/B2} - d_{A/B1} ) = \frac{1}{2} ( d_{B/A2} - d_{B/A1} ) = \frac{1}{2} ( X_{22} - X_{12} - X_{21} + X_{11} )$$

Donde el factor convencional  $\frac{1}{2}$  es usado para obtener una expresión análoga si, Esta cantidad no difiere de significativamente de cero, podemos aceptar la hipótesis que el efecto de un cambio en A será independiente del valor de B.

En el caso de no interacción  $d_A$  y  $D_A$  son ambas estimadas de una cantidad igual con varianza  $\sigma^2/n$  y  $2\sigma^2/m$  respectivamente. Si el numero total de experimentos se hacen de acuerdo para los dos diseños es el mismo, Así como  $3m = 4n$  encontramos que en el experimento factorial los efectos de los dos factores han sido determinados con una varianza la cual es solo  $2/3$  de la varianza del experimento clásico. O en otras palabras, de acuerdo al diseño experimental de Fisher, el numero total de experimentos necesarios para ser solo  $2/3$  del necesario de acuerdo al modelo clásico en orden para obtener la misma precisión en la estimación de los efectos principales.

Si la interacción existe, podría ser estimada desde los resultados de un experimento factorial, mientras el diseño experimental clásico incluye las posibles interacción que están siendo investigadas.

El análisis siguiente del experimento factorial puede ser dispuesto en el cuadro correspondiente para el análisis de varianza como se muestra en el Cuadro B.1.

**CUADRO B.1: MEDIAS DE ABSORBANCIA EN UN EXPERIMENTO FACTORIAL 2X2**

FACTOR	B1	B2	MEDIA
A <sub>1</sub>	X <sub>11</sub>	X <sub>12</sub>	X <sub>1.</sub>
A <sub>2</sub>	X <sub>21</sub>	X <sub>22</sub>	X <sub>2.</sub>
MEDIA	X <sub>.1</sub>	X <sub>.2</sub>	X <sub>..</sub>

Para cada una de las cuatro combinaciones del tratamiento tenemos n replicas para lo cual un SSD puede ser calculado. calculando los cuatro SSD y los correspondientes grados de libertad obtenemos:

$$S_1^2 = 1 / (4 (n-1)) \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 \sum_{v=1}^n (x_{ijv} - x_{ij})^2, f = 4 (n-1)$$

El análisis completo es resumido el siguiente Cuadro B.2 que muestra el análisis de varianza total para un experimento factorial del tipo 2x2 con n replicas.

**CUADRO B.2: ANALISIS DE VARIANZA PARA UN EXPERIMENTO**

**FACTORIAL 2X2**

VARIACION	SSD	F	S <sup>2</sup>
	$nd^2_A = n(x_{1.} - x_{2.})^2$	1	S <sup>2</sup> <sub>4</sub>
	$nd^2_B = n(x_{.1} - x_{.2})^2$	1	S <sup>2</sup> <sub>3</sub>
	$nd^2_{AB} = \frac{1}{4} n(x_{22} - x_{12} - x_{21} + x_{11})^2$	1	S <sup>2</sup> <sub>2</sub>
	$\sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 \sum_{p=1}^n (x_{ijv} - x_{ij})^2$	4 (n-1)	S <sup>2</sup> <sub>1</sub>
Total	$\sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 \sum_{v=1}^n (x_{ijv} - x_{..})^2$	4n - 1	

Las particiones del SSD para los cuatro medios de tratamiento en los tres términos del Cuadro B.3 donde cada término representan un grado de libertad que puede ser mostrados por las siguiente tabla de coeficientes, produciendo las tres funciones ortogonales empleadas.

**CUADRO B.3: COEFICIENTES DE LA COMBINACION DE TRATAMIENTOS PARA UN EXPERIMENTO 2X2**

Efectos	Combinación de tratamientos			
	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> x <sub>22</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> x <sub>21</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> x <sub>12</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> x <sub>11</sub>
d <sub>A</sub>	+1	+1	-1	-1
d <sub>B</sub>	+1	-1	+1	-1
d <sub>AB</sub>	+1	-1	-1	+1

Los coeficientes para el efecto A es +1 para todas las combinaciones de tratamiento incluyendo A2 y -1 para todas las combinaciones incluyendo A1 y similarmente para el efecto B (véase Cuadro B.3). Los coeficientes para la interacción puede ser encontrado formalmente multiplicando las 2 correspondientes filas de coeficiente para A y B todos los coeficientes tienen que ser dividido por 2.

Se vera que las observaciones del experimento factorial con dos factores los cuales toman valores desde +1 hasta -1 respectivamente puede ser analizadas de acuerdo a reglas estadísticas.

Las ventajas del experimento factorial sobre el clásico es que aumenta tanto como el numero de factores con 3 factores o mas debería ser actualizado mediante leyes estadísticas. Aquí simplemente aplicamos el procedimiento para 3 factores A,B,C con dos valores cada uno siendo las 8 posibles replicaciones  $A_1B_1C_1$   $A_1B_1C_2$   $A_1B_2C_1$   $A_1B_2C_2$   $A_2B_1C_1$   $A_2B_1C_2$   $A_2B_2C_1$  y  $A_2B_2C_2$ .

Haciendo n replicaciones para cada uno de las 8 combinaciones de tratamiento encontramos la media mostrada en el Cuadro B.4.



**CUADRO B.4: MEDIAS DE LAS OBSERVACIONES EN UN EXPERIMENTO FACTORIAL 2X2X2**

	A <sub>1</sub>		A <sub>2</sub>	
	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>
C <sub>1</sub>	X <sub>111</sub>	X <sub>121</sub>	X <sub>211</sub>	X <sub>221</sub>
C <sub>2</sub>	X <sub>112</sub>	X <sub>122</sub>	X <sub>212</sub>	X <sub>222</sub>

A<sub>1</sub> esta presente en 4 de las 8 combinaciones, juntos con las posibles combinaciones de los otros 2 factores y similarmente para A<sub>2</sub>. El efecto principal de A es de esta manera estimamos como la diferencia.

$$dA = x_{2..} - x_{1..}$$

Porque del arreglo simétrico del experimento el efecto de B y C presentes ellos mismos en la misma manera en las 2 medias x<sub>2..</sub> y x<sub>1..</sub>, Donde anteriormente el efecto de estos 2 factores es eliminando la diferencia.

Correspondientemente, Los efectos principales de B y C pueden ser calculados como:

$$dB = x_{.2.} - x_{.1.} \quad \text{y} \quad dC = x_{.2.} - x_{.1.}$$

Las diferencias d<sub>A</sub> puede ser derivada como la media de los cuatro efectos condicionales de A:

$$d_A = \frac{1}{4} (d_{A/B_1C_1} + d_{A/B_1C_2} + d_{A/B_2C_1} + d_{A/B_2C_2})$$

Donde:  $d_{A/B_1C_1} = x_{211} - x_{111}$

$$d_{A/B_1C_2} = x_{212} - x_{112}$$

$$d_{A/B_2C_1} = x_{221} - x_{121}$$

$$d_{A/B_2C_2} = x_{222} - x_{122}$$

Y:

$$\text{Dando: } d_A = \frac{1}{4} (x_{222} - x_{122} + x_{221} - x_{121} + x_{212} - x_{112} + x_{211} - x_{111}) = x_{2..} - x_{1..}$$

Los efectos de A condicionales muestran las interacciones de A y B; A y C. El calculo de las medias de los primeros dos y de los últimos dos diferencias genera:

$$d_{A/B_1C} = x_{21.} - x_{11.}$$

$$d_{A/B_2C} = x_{22.} - x_{12.}$$

Estas dos diferencias indican el efecto A para  $B = B_1$  y  $B = B_2$  respectivamente, El factor C entrando dentro de esta dos diferencias de la misma manera. La interacción entre A y B es con anterioridad probada por comparación  $d_{A/B_1C}$  y  $d_{A/B_2C}$ .

Por ejemplo para calcular la diferencia:

$$d_{AB} = \frac{1}{2} (x_{22.} - x_{12.} - x_{21.} + x_{11.})$$

Y haciendo una prueba t para esta diferencia, El valor teórico siendo cero.

Correspondientemente la interacción AC es dada por:

$$d_{AC} = \frac{1}{2} (x_{2..2} - x_{1..2} - x_{2..1} + x_{1..1})$$

La interacción  $d_{A_3}$  puede ser también encontrada como la media de las interacciones de A y B condicionado por  $C = C_1$  y  $C = C_2$  respectivamente. Por Ejemplo:

$$d_{AB} = \frac{1}{2} (d_{AB/C_1} + d_{AB/C_2})$$

Donde:

$$d_{AB/C1} = \frac{1}{2} ( X_{221} - X_{121} - X_{211} + X_{111} )$$

Y:

$$d_{AB/C2} = \frac{1}{2} ( X_{222} - X_{122} - X_{212} + X_{112} )$$

Generando:  $d_{AB} = \frac{1}{4} ( X_{222} - X_{122} - X_{212} + X_{112} + X_{221} - X_{121} - X_{211} + X_{111} )$

$$= \frac{1}{2} ( X_{22.} - X_{12.} - X_{21.} + X_{11.} )$$

La interacción entre A, B y C pueden de alguna manera ser medida por la comparación con las interacciones condicionales AB por calculo de su diferencia.

$$d_{ABC} = \frac{1}{2} ( d_{AB/C2} - d_{AB/C1} ) = \frac{1}{4}$$

Y haciendo una prueba t para esta diferencia.

Las expresiones mostradas anteriormente para efectos principales e interacciones pueden ser resumidas como se muestra el Cuadro B.5, la cual nos da los coeficientes de los ocho tratamientos.

**CUADRO B.5: COEFICIENTES DE LA COMBINACION DE TRATAMIENTOS Y SUS EFECTOS**

Effects	Treatment combination							
	$A_2B_2C_2$ $\bar{X}_{222}$	$A_2B_2C_1$ $\bar{X}_{221}$	$A_2B_1C_2$ $\bar{X}_{212}$	$A_2B_1C_1$ $\bar{X}_{211}$	$A_1B_2C_2$ $\bar{X}_{122}$	$A_1B_2C_1$ $\bar{X}_{121}$	$A_1B_1C_2$ $\bar{X}_{112}$	$A_1B_1C_1$ $\bar{X}_{111}$
$d_A$	+1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	-1
$d_B$	+1	+1	-1	-1	+1	+1	-1	-1
$d_C$	+1	-1	+1	-1	+1	-1	+1	-1
$d_{AB}$	+1	+1	-1	-1	-1	-1	+1	+1
$d_{AC}$	+1	-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1
$d_{BC}$	+1	-1	-1	+1	+1	-1	-1	+1
$d_{ABC}$	+1	-1	-1	+1	-1	+1	+1	-1

Los coeficientes de los efectos son +1 para todas las combinaciones incluyendo el mas alto nivel del factor y -1 para el nivel mas bajo. Todos los otros coeficientes pueden ser encontrados multiplicando los correspondientes coeficientes para los 2 o 3 efectos principales. Las división es igual a cuatro en todos los casos.

La prueba  $v^2$  es en el presente caso idéntica con la prueba t desde las variaciones:  $S_2^2, S_3^2, \dots, S_5^2$  y todos tienen un grado de libertad.

Se vera que los resultados de un experimento factorial con tres factores en K, M y G niveles, respectivamente, puede ser analizados de acuerdo a los principios estadísticos de probabilidades.

En el Cuadro B.6 se muestra un resumen del análisis factorial para un experimento que posea 3 factores mediante aplicación de principios estadísticos.

**CUADRO B.6: RESUMEN DEL ANALISIS FACTORIAL**

VARIACION	SSD	f	$s^2$
Entre $A_1$ y $A_2$	$2nd_A^2$	1	$s_6^2$
Entre $B_1$ y $B_2$	$2nd_B^2$	1	$s_7^2$
Entre $C_1$ y $C_2$	$2nd_C^2$	1	$s_8^2$
Interacción AB	$2nd_{AB}^2$	1	$s_9^2$
Interacción AC	$2nd_{AC}^2$	1	$s_4^2$
Interacción BC	$2nd_{BC}^2$	1	$s_3^2$
Interacción ABC	$2nd_{ABC}^2$	1	$s_2^2$
Entre grupos	$\sum_i \sum_j \sum_r \sum_v (x_{ijrv} - \bar{x}_{gr})^2$	$8(n - 1)$	$s_1^2$
Total	$\sum_i \sum_j \sum_r \sum_v (x_{ijrv} - \bar{x}_-)^2$	$8n - 1$	

Fisher ha enseñado la importancia de incluir tantos factores subsidiarios en el experimento para proveer conclusiones mas acertadas.

Los experimentos factoriales deben ser diseñados de acuerdo con los principios discutidos anteriormente. Las n replicaciones de un experimento factorial 2x2x2 puede ser arreglado en bloques aleatorios n, Cada bloque conteniendo las combinaciones de 8 tratamientos, Sin embargo. Si el numero de combinaciones de tratamientos es larga, Las unidades experimentales sin bloques puede presentar una variación considerable y causar un error en la varianza grande.

Fisher ha desarrollado sin embargo un artificio conocido como “confundimiento” donde por cada replicación cubre dos o más bloques. La consecuencia del diseño es que algunas comparaciones, Interacciones de alto nivel estarán unidas junto las diferencias de bloque, Siendo imposible estimar estos componentes separadamente.

# ANEXO C

A continuación se presentan los resultados de la aplicación del modelo factorial al experimento sobre el rendimiento de colorante de extractos del Cerezo de Belice.

La suma de los totales parciales en los datos observados en el experimento formal del cerezo se recopilan en el Cuadro C.1 y C.2 .

**CUADRO C.1: SUMA DE TOTALES PARCIALES APLICANDO EL MODELO FACTORIAL**

Tiempo	100 gr		200 gr		Y <sub>i...</sub>
	50 ml	100 ml	50 ml	100 ml	
1 Día	11.924	8.727	17.807	17.556	56.014
6 Día	16.8	6.997	19.767	11.479	55.043

**CUADRO C.2: SUMA DE TOTALES PARCIALES APLICANDO EL MODELO FACTORIAL**

Tiempo	100 gr	200 gr	50 ml	100 ml
1 Día	20.651	35.363	29.731	26.283
6 Día	23.797	31.246	36.567	18.476
<b>TOTAL</b>	44.448	66.609	66.298	44.759

Evaluando cada uno de los valores:

$$SS_T = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c \sum_{l=1}^n y_{ijkl}^2 - (y^2 \dots) / abc n$$

$$SS_T = 57261.12 - (111.057^2 / (2*2*2*3))$$

$$SS_T = 58.7089$$

Ahora calculando el SS de las variables:

$$SS_{\text{Tiempo}} = \sum_{i=1}^a [(y^2_{i\dots} / bc n) - (y^2 \dots / abc n)]$$

$$SS_{\text{Tiempo}} = [(56.014^2 + 55.043^2) / (2*2*3)] - [111.057^2 / (2*2*2*3)]$$

$$SS_{\text{Tiempo}} = 0.03929$$

$$SS_{\text{Fruta}} = \sum_{j=1}^b [(y^2_{.j\dots} / ac n) - (y^2 \dots / abc n)]$$

$$SS_{\text{Fruta}} = [(44.448^2 + 66.609^2) / (2*3*6)] - [111.057^2 / 24]$$

$$SS_{\text{Fruta}} = 20.463$$

$$SS_{\text{Volumen}} = \sum_{k=1}^c [(y^2_{\dots k} / ab n) - (y^2 \dots / abc n)]$$

$$SS_{\text{Volumen}} = (66.298^2 + 44.759^2) / (2*2*3) - [111.057^2 / 24]$$

$$SS_{\text{Volumen}} = 19.33$$

$$SS_{TV} = \sum_{i=1}^a \sum_{k=1}^c [(y^2_{ijk} / bn) - (y^2 \dots / abc n) - SS_A - SS_B]$$

$$SS_{TV} = [(20.651^2 + 23.797^2 + 35.363^2 + 31.246^2) / 6] - 111.057^2 / 24$$

$$SS_{TV} = -0.03929 - 20.463$$

$$SS_{TV} = 2.1979$$



$$SS_{TM} = \sum_{i=1}^a \sum_{k=1}^c [ (y^2_{i.k}/bn) - (y^2 \dots /abcn) - SS_A - SS_C ]$$

$$SS_{TM} = ( 29.731^2 + 36.567^2 + 26.283^2 + 18.476^2 ) / 6 - (111.057^2 / 24) - 0.03929 - 19.33$$

$$SS_{TM} = 8.9344$$

$$SS_{MV} = \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c [ (y^2_{.jk}/an) - (y^2 \dots /abcn) - SS_B - SS_C ]$$

$$SS_{MV} = ( 28.724^2 + 15.724^2 + 37.574^2 + 29.035^2 ) / 6 - (111.057^2 / 24) - 20.463 - 19.33$$

$$SS_{MV} = 0.8295$$

$$SS_{MVT} = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^c [ (y^2_{ijk}/n) - (y^2 \dots /abcn) - SS_A - SS_B - SS_C - SS_{AB} - SS_{BC} - SS_{AC} ]$$

$$SS_{MVT} = (11.924^2 + 16.8^2 + 8.727^2 + \dots + 11.479^2) / 6 - 111.057^2 / 24 - 0.03929 - 20.463 - 19.33 - 2.1979 - 8.9344 - 0.8295$$

$$SS_{MVT} = 0.085$$

$$SS_{SubtotalesMVT} = SS_A + SS_B + SS_C + SS_{AB} + SS_{BC} + SS_{AC} + SS_{ABC}$$

$$SS_{SubtotalesMVT} = 0.03929 + 20.463 + 19.33 + 2.1979 + 8.93 + 0.8295 + 0.085$$

$$SS_{SubtotalesMVT} = 51.879$$

Ahora calculando:

$$SS_E = SS_T - SS_{SubtotalesMVT}$$

$$SS_E = 58.7098 - 51.879$$

$$SS_E = 6.8302$$

# ANEXO D

## D.1 ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCIÓN

### TEORIA APLICADA

La energía radiante se define como la energía transmitida en forma de radiación electromagnética. Puede ser emitida por sustancias bajo condiciones de gran excitación, tales como las producidas por altas temperaturas o por descargas eléctricas.

Esta energía puede ser transmitida, absorbida, reflejada y refractada por muchas sustancias en diferentes estados de agregación si la radiación incidente tiene una longitud de onda apropiada.

El espectro electromagnético completo abarca más de 20 ordenes de magnitud de longitud de onda; su representación por tanto, se suele hacer a escala logarítmica. La longitud de onda es la distancia medida en línea recta a lo largo de la línea de propagación, entre dos puntos que están en dos ondas adyacentes. A causa de lo cortas que son las longitudes de onda importantes en espectrofotometría química, se expresan en unidades de dimensiones muy pequeñas, normalmente la micra ( $\mu$ ), la milimicra ( $m\mu$ ) o el ángstrom (A).

$$1 \text{ angstrom} = 10^{-4} \text{ milimicras}; 10^{-7} \text{ micra} = 10^{-8} \text{ cm.}$$

La frecuencia ( $f$ ) es el número de ondas que pasan por un punto fijo en la unidad de tiempo.

**Color.** La sensación de color es la respuesta a una serie de estímulos combinados físicos, químicos y biológicos de ciertas partes de la retina del ojo para la energía radiante de determinadas longitudes de onda o frecuencias. El ojo humano solo es sensible a una pequeña porción del espectro electromagnético total, es decir, desde unas 400 a 750 milimicras.

**La colorimetría**, en su significado usual, se emplea para designar la medida de la fracción de luz blanca de una lámpara incandescente que pasa a través de un medio líquido o en disolución.

**Absorbancia**, es el logaritmo en base diez del recíproco de la transmitancia  $tT$ , en que el disolvente puro es material de referencia, esto es,  $A = \log_{10} 1/T = -\log_{10} T$  esta propiedad se llamaba en la antigüedad densidad óptica, o algunas veces solo densidad.

### **5.01 Ley de Beer**

Expresa la misma relación entre transmitancia y concentración de material absorbente que la ley de Bouguer entre transmitancia y camino óptico, es decir, que para un camino óptico dado, la transmitancia disminuye en progresión geométrica cuando la concentración aumenta en progresión aritmética.

Por tanto:  $-\log T = ac$  donde

C = concentración; a = absortividad y también absorbancia por unidad de concentración

La ley de Beer se expresa mediante las siguientes relaciones:

$$A = ac = -\log T = -\log(P/P_0) = \log(P_0/P) = \log(1/T)$$

$$P = P_0 \cdot 10^{-ac} \quad \text{o} \quad P_0 = P \cdot 10^{ac}$$

Las leyes fundamentales de la espectrofotometría se obtienen por combinación de las leyes de Bouguer con la Beer, resultando las siguientes relaciones:

$$A = abc = -\log T = -\log(P/P_0) = \log(P_0/p) = \log(1/T)$$

$$P = P_0 \cdot 10^{-abc} \quad \text{y} \quad P_0 = P \cdot 10^{abc}$$

La forma de estas ecuaciones indica que la representación gráfica de la absorbancia, A (de una sustancia dada a camino óptico constante) en función de la concentración c es una línea recta de pendiente a, y la representación de logT contra c es otra línea recta de pendiente -a, en la cual a es absortividad de la sustancia, con dimensiones de unidades de concentración y camino óptico.

## 5.02 Desviaciones de la ley de Beer

Normalmente se emplea como comprobante de la conformidad con la ley de Beer o se comprueba de la desviación un gráfica de A o de log. T en función de la concentración, que sirve también como curva de calibración para el análisis de

disoluciones. En la literatura aparecen muchas citas acerca de las desviaciones de la ley de Beer, especialmente para disoluciones de concentración próxima al final del intervalo de aplicabilidad.

La mayor parte de estas desviaciones son mas aparentes que reales y son debidas a una de las siguientes causas.

1. Carencia de mono cromatismo de luz incidente. Aparecen con frecuencia desviaciones aparentes de la absorbancia cuando se mide con un fotómetro de filtro, en que la radiación incidente esta incluida en una banda de longitud de onda, sobre todo si el centro de la banda no coincide con la longitud de onda para la que se mide el sistema con máximo de absorbancia.
2. Cambios químicos en el sistema, de tal modo que las especies absorbentes no representan la totalidad de la concentración.

# ANEXO E

## PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE BEBIDA ALCOHOLICA USANDO COMO COLORANTE EL EXTRACTO DEL CEREZO DE BELICE

- 1) Cortar, seleccionar y lavar una cantidad de cerezo igual a 1000 gr.
- 2) Macerar con agua durante 24 horas con 200 ml de agua desmineralizada o destilada
- 3) Separa la pulpa del jugo de cerezo mediante colador
- 4) Verificar que la solución posea 10-12° Brix ó efectuar la adición de glucosa hasta obtener el valor indicado
- 5) Fermentar por un periodo de 6-8 días
- 6) Filtrar para eliminar los sólidos remanentes de la pulpa y luego destilar
- 7) Obtenida la solución destilada con el grado alcohólico deseado se procede a la adición del extracto del cerezo en la cantidad deseada respecto al color que se quiere obtener
- 8) Adicionar 1% de glucosa a la solución final para darle sabor mas suave y agradable
- 9) Almacenar en frasco de vidrio transparente para su conservación y posterior consumo
- 10) La adición del extracto del cerezo que se adiciona a la solución destilada o preparada debe ser preparada con un día de anterioridad para permitir una bebida de mejor calidad (No fermentado o sea extracto fresco).

# ANEXO F

## PROCEDIMIENTO DE ELABORACIÓN DE PRODUCTOS DE CONFITERIA USANDO COMO COLORANTE EL EXTRACTO DE CEREZO

- 1) Colocar en una bandeja o molde una cantidad de azúcar blanca o cruda igual a 200 gramos
- 2) Adicionar una cantidad de agua de 15-20 ml
- 3) Calentar a fuego lento sin revolver la mezcla
- 4) Una vez la solución comience a ebullición, permitir que se evaporen como mínimo 7 ml de agua
- 5) Revisar la composición de la meladura cada 15 minutos con una cuchara o espátula verificando un aumento en la viscosidad de la mezcla
- 6) Transcurrido el tiempo, verter la mezcla viscosa de caramelo en moldes pequeños y enfriar
- 7) Separar del molde con cuidado y empacarlos
- 8) El material de empaque podrá ser papel aluminio u otro tipo de papel encerado para evitar la humedad
- 9) Para un mejor desmoldeo se recomienda la adición de 1 gr. de grasa vegetal (mantequilla o margarina)
- 10) Una vez empacado en papel pueden ser contenidos en bolsas plásticas para su posterior consumo.

# ANEXO G

## DETERMINACION DE AZUCARES REDUCTORES Y SACAROSA REMANENTE POR EL METODO DE LANE Y EYNON.

El método es una modificación del método de Lane y Eynon, que consiste en reducir la modificación de soxhlet de la solución de Fehling titulándola, en punto de ebullición, con una solución de azúcares reductores, usando azul de metileno como indicador.

### **G.1 Reactivos.**

#### Modificación de soxhlet de la solución de fehling

##### **a) Solución A**

Disolver 34.64 gramos de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en agua destilada hasta obtener un litro de solución. Conservar durante un día antes de proceder a la titulación.

##### **b) Solución B**

Disolver 175 gramos de tartrato sódico-potásico y 50 gramos de  $\text{NaOH}$  en agua destilada hasta obtener un litro. Filtrar con un filtro preparado de asbesto.

##### **c) Solución de azul de Metileno**

Disolver 2 gramos en agua destilada y diluir hasta obtener un litro.

##### **d) Solución patrón de azúcar invertido.**

Pesar exactamente 4.75 gramos de sacarosa pura, añadir 5 ml de ácido clorhídrico ( $\text{HCl}$  puro al 36.5% P/P) y disolver en agua hasta obtener unos 100ml; la solución acidificada se coloca en un baño de agua a  $70^\circ\text{C}$ , se agita



por tres minutos, luego se mantiene en reposo durante cuatro minutos procurando que su temperatura no descienda de los 70 °C.

Enfriar la solución acidificada con agua helada hasta la temperatura ambiente.

Añadir unas tres gotas de solución al 1% de fenolftaleína y neutralizar con hidróxido de sodio; enfriar la solución y diluir hasta un litro.

La solución de azúcar invertido así preparada, tendrá una concentración tal que 10 ml de la misma contendrán 0.05gramos de azúcar invertido.

## **G.2 Valoración de la solución de Fehling "A".**

Transferir a un erlenmeyer de 250 ml, 5 ml de solución fehling "A" y 5 ml de solución fehling "B". Añadir 30 ml de agua destilada. Llenar la bureta con solución de azúcar invertida, y descargar de una sola vez 6 ml en el erlenmeyer que contiene la solución Fehling.

Poner el erlenmeyer de tal forma que comience a hervir a los 4 minutos aproximadamente. Tan pronto comience a hervir, mantener la ebullición por 2 minutos, procurando que la ebullición sea suave. Agregar 3 gotas de azul de metileno.

Comenzar a titular con la solución de azúcar invertido contenida en la bureta, gota a gota dentro del erlenmeyer, manteniendo la solución dentro del erlenmeyer hirviendo suavemente, hasta que el color azul cambie a rojo ladrillo, lo cual marca el fin de la titulación.

Nota : Nunca agite el erlenmeyer durante la titulación.

A notar los mililitros consumidos de la solución de azúcar invertido, incluyendo los que se añadieron al recipiente de una sola vez.

Valor de la solución fehling A:

$$\text{Valor} = \text{ml solución de azúcar invertido} * 0.005$$

Este valor debe fijarse en la etiqueta del frasco de solución de fehling "A" y será el que se utilizara para los cálculos de % de azúcares reductores y % de azúcares remanentes.

### **G.3 ANALISIS DE AZUCARES EN LAS SOLUCIONES FERMENTADAS**

a) Determinación de porcentaje de azúcares reductores.

Tomar 30ml de muestra fermentada, precipitar las dextranas con 45ml de etanol absoluto, transferir esta solución a una bureta y seguir el procedimiento utilizado en la valoración de la solución Fehling "A" anotar los mililitros consumidos de la muestra.

$$(R1) \quad \% \text{ Azúcar reductor} = \frac{\text{Valor de Fehling} * 100}{\text{ml consumidos de la muestra}}$$

b) Determinación de sacarosa remanente.

La muestra tomada anteriormente se lleva a un pH de 3 con HCL concentrado calentando por 1 hora a 50 °C, para asegurar una inversión completa de la sacarosa contenida en la muestra, transferir esta solución a una bureta y anotar los mililitros por el método de Lane y Eynon; este será el valor del total de azúcar invertido.

$$(R2) \text{ \% total de azúcar invertido} = \frac{\text{Valor de fehling} * 100}{\text{ml consumidos de la muestra}}$$

El porcentaje de sacarosa remanente se calcula con la siguiente formula:

$$\% \text{ Sacarosa remanente} = (R2-R1)*0.9$$

# ANEXO H

## EVALUACION DE LOS SOLIDOS TOTALES DEL EXTRACTO DEL CEREZO DE BELICE

El método siguiente presenta el procedimientos y cálculos necesarios para la determinación de sólidos totales en muestras de jugos de frutas frescos y fermentados.

### H.1 Preparación de la Muestra

Se seleccionan muestras elaboradas en recipientes abiertos (por ejemplo que no estén estériles ) y transvasar de recipientes plásticos a recipientes de vidrio y luego almacenar en un lugar fresco.

Para evitar efectos de fermentación, efectuar tan rápido como sea posible determinación de alcohol , ácidos volátiles y azúcares particularmente en el caso de jugos frutas y frutas frescas.

Las porciones para la determinación de sacarosa y azúcares reductores pueden ser pesados y almacenados varios días sin fermentación si el efecto mínimo de neutralizante  $Pb(OAc)_2$  en solución es requerido en la determinación. La preparación del producto para el análisis se muestra a continuación:

Nota:  $Pb(OAc)_2$  es tóxico.

- a) Jugos de fruta: Mezclar completamente mediante agitación para asegurar muestra uniforme, y filtrar mediante algodón absorbente o papel toalla. La preparación de jugos frescos se hace mediante maceración de la pulpa de la fruta y filtración.
- b) Gelatinas y conservas: Mezclar completamente para asegurar muestras uniformes preparar la solución mediante la adición de 300gr de gel completamente mezclado diluyendo en agua hasta un volumen de 2 litros, calentando en baño María si es necesario. Aplique poco calentamiento como sea posible para minimizar la inversión de la sacarosa mezclando por agitación y use alícuotas para la determinación. Si hay presencia de material insoluble, mezclar totalmente y filtrar primero.
- c) Frutas frescas, Frutas secas, preservadas y mermeladas: Producir pulpa mediante uso de procesador de frutas o usando equipo agitador o algún equipo particular de mezclado o agitación mecánico o también mediante reducción de tamaño por molino, mezclado uniformemente hay que efectuar una vez la operación mecánica tan pronto como sea posible para evitar pérdida de humedad. Con frutas secas, escoger muestras y pasarlas tres veces por equipo seleccionado de trituración, mezclando totalmente después de cada molida. Evitar que la molida incluya semilla estrujada, para frutas duras remover hueso de la fruta y determinar su proporción en la muestra pesada.

Preparar solución pesando 300gr de fruta fresca o su equivalente de fruta seca, preservada, mermeladas dentro de un beaker de 1.5 a 2 litros en forma de pulpa y mezclada en un mezclador u otro tipo de equipo de molienda. Adicionar 800ml de agua y hervir por una hora, reponiendo el agua perdida por evaporación transferir a un frasco volumétrico de 2 L, luego diluir hasta el volumen por aforo y filtrar. Con fruta simple (sin azúcar) las cenizas se facilitan por adición de azúcar antes de hervir por lo tanto hay que pesar 150 gr de fruta, adicionarles 150 gr de azúcar y 800 ml de agua y proceda como se describe anteriormente.

- d) Frutas enlatadas: Cuidadosamente voltear toda la fruta contenida en la lata si ellos caen sobre tamiz con un recipiente abajo. Las latas en productos blandos pueden escurrirse sobre un tamiz inclinado pero ningún otro manejo manual de estos productos mientras se escurre están permitidos. El examen del jugo en las cuales las frutas son preservadas es frecuentemente suficiente.

## **H.2 Métodos de Evaluación de Sólidos Totales**

Aplicado solo a soluciones puras de sacarosa, pero extensivamente usada para resultados aproximados con productos líquidos con azúcar que contienen azúcar invertida y otros sólidos no sacarosos.

- a) Método directo. Densidad de jugos, meladuras, etc. Es conveniente determinarlo con un hidrómetro Brix o Baumé, preferiblemente indicado con graduaciones en la escala como porcentaje de sólidos totales. La tabla de

b) comparación de grados Brix ( % peso de sacarosa pura en soluciones puras) y grados Baumé con gravedad específica en 20 Baumé/4 Baumé y 20 Baumé/20 Baumé.

c) Método de doble dilución: Si la muestra es demasiado densa para determinar directamente su densidad, diluir una porción pesada en una cantidad de agua pesada o diluir una muestra y aforar a un volumen conocido con agua. En primera instancia, el % de sólidos totales es calculada por la siguiente formula:

$$\% \text{ de sólidos en muestra no diluida} = WS/w$$

Donde:

S = % sólidos en material diluida.

W = peso del material diluido.

w = peso de la muestra tomada para la dilucion.

Cuando la muestra es tomada por aforo usar la formula siguiente:

$$\% \text{ de sólidos en muestra diluida} = VDS/w$$

donde:

V = volumen de la solución diluida a una temperatura.

D = gravedad específica de la solución a la misma temperatura.

S = % de sólidos en solución diluida a la misma temperatura.

w = peso de la muestra tomada para dilución.

i. Método de la evaporación lenta a 103-105 grados Celcius.

Tomar una muestra de jugo o extracto de volumen conocido y colocar en cápsula de porcelana previamente lavada y secada en estufa a temperatura de 103-105 grados y pesada en una balanza analítica previo proceso de enfriamiento en un desecador con silica- gel por triplicado. Evaporar en la estufa durante 4 a 6 horas hasta evaporar todo el líquido y depositarse en la cápsula un sólido seco con una humedad menor a 0.001%. Colocar en un desecador hasta enfriar y luego pesar nuevamente calcular los sólidos totales como sigue:

$$\% \text{ sólidos en el material} = w_2 \cdot w_1 / A$$

donde:

$w_2$  = peso del crisol vacío.

$w_1$  = peso del crisol mas muestra seca al final de la prueba.

A = volumen tomado de muestra.

Los valores obtenidos usando cualquiera de los métodos no varían significativamente observándose un mínimo de error.

Las cantidades de las muestras en alguno de los casos deberán de ser mayor de 25 gramos o ml ya que un valor menor es suficientemente inexacto para la prueba que se realiza.



# ANEXO I

CUADRO I-1 PUNTOS PORCENTUALES DE LA DISTRIBUCIÓN F ( $F_{0.05, \nu_1, \nu_2}$ )

$\nu_1$	Grados de libertad para el numerador ( $\nu_1$ )																																							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	$\infty$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	$\infty$		
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0	249.1	250.1	251.1	252.2	253.3	254.3	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50		
2	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.04	6.00	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63			
3	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.36	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.94	3.87	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67			
4	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93		
5	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71	4.86	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.54	2.54		
6	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	
7	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.31	2.27	2.23	2.19	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.53	2.46	2.42	2.37	2.31	2.23	2.19	2.15	2.11		
8	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.12	2.08	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.22	2.16	2.11	2.04	1.99	1.94	1.84	
9	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.18	2.12	2.07	2.03	2.01	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92	1.88	
10	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	2.01	1.99	1.93	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84	1.76	
11	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81	1.78	
12	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76	1.73	
13	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73	1.65	1.64	
14	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71	1.62	1.62
15	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.33	2.27	2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.73	1.67	1.59	1.51
16	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.82	1.77	1.71	1.65	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.16	2.10	2.03	1.94	1.89	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64	1.56	1.48
17	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.16	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.26	2.20	2.14	2.08	2.01	1.94	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62	1.51	1.39
18	4.10	3.25	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.06	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.06	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51	1.39	1.25
19	3.92	3.07	2.66	2.43	2.27	2.17	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.51	1.43	1.35	1.25	3.92	3.07	2.66	2.43	2.27	2.17	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.51	1.43	1.35	1.25	1.00	1.00
20	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00	1.00	1.00

Grados de libertad para el denominador ( $\nu_2$ )

# ANEXO J

A continuación se presentan datos resultantes de los análisis aplicados a las gráficas que han necesitado de una validación del método por regresión estadística.

Dichos datos fueron obtenidos mediante la aplicación de un paquete computacional llamado TBL-Curve que permite ajustar datos experimentales mediante regresión.

Este Anexo se divide en 3 secciones:

Sección (a): Corresponden a los datos de análisis de varianza para la Curva de calibración del Jugo de Cerezo

Sección (b): Corresponden a los datos de análisis de varianza para la Gráfica de sólidos totales contra tiempo.

Sección (c): Corresponden a los datos de análisis de varianza para la Gráfica de pH contra tiempo.

TableCurve Numerical Summary

Jan 25,2000 12:53 PM

Description: Curva de Calibraci"n del Jugo de Cerezo

X-Y Table Size: 9 Active Points: 9

X Variable: Fracci"n Volumen

Y Variable: % de Absorbancia

File Source: CALIBRAC.PRN

Rank 19 Eqn 6102  $\ln y = a + bx + cx^2 + dx^3 + ex^4$

r2 Coef Det	DF Adj r2	Fit Std Err	F-value
0.9998513177	0.999603514	0.2984649653	6724.7516453

Parm	Value	Std Error	t-value	95% Confidence Limits	
a	1.462219344	0.199499101	7.329453315	0.907643144	2.016795544
b	31.10298523	6.046427377	5.144026925	14.29486575	47.91110471
c	-156.261959	64.06851598	-2.43898203	-334.362381	21.83846379
d	402.34316	283.3660865	1.419870546	-385.370103	1190.056423
e	-380.851083	444.6577773	-0.85650382	-1616.92994	855.2277751

Area Xmin-Xmax

8.426346461

Function min	X-Value	Function max	X-Value
17.9605238	0.0625001005	71.557802948	0.25
1st Deriv min	X-Value	1st Deriv max	X-Value
261.97073522	0.1806814892	329.74949186	0.25
2nd Deriv min	X-Value	2nd Deriv max	X-Value
-737.8328072	0.1334339834	1901.961946	0.249969043

Soln Vector	Covar Matrix	SVD Cond
SVDecomp	SVDecomp	5.37565e+10
r2 Coef Det	DF Adj r2	Fit Std Err
0.9998513177	0.999603514	0.2984649653

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F
Regr	2396.1994	4	599.04986	6724.75
Error	0.35632534	4	0.089081336	
Total	2396.5558	8		

X Variable: Fracci"n Volumen

Xmin: 0.0625	Xmax: 0.25	Xrange: 0.1875
Xmean: 0.1366181658	Xstd: 0.0609140808	Xmedian: 0.125
X@Ymin: 0.0625	X@Ymax: 0.25	X@Yrange: 0.1875

Y Variable: % de Absorbancia

Ymin: 17.88	Ymax: 71.55	Yrange: 53.67
Ymean: 39.472222222	Ystd: 17.308075267	Ymedian: 36.75
Y@Xmin: 17.88	Y@Xmax: 71.55	Y@Xrange: 53.67

Precision	Error @Xmin	Error @Xmean	Error @Xmax
16	0	-1.42211e-15	-4.36904e-15
15	4.351756e-15	9.243683e-15	2.482408e-14
14	3.164914e-15	-2.66645e-14	-5.42158e-14
13	2.015654e-13	5.795078e-13	1.500963e-12
12	-4.82452e-12	-3.1601e-12	5.62752e-12
11	-4.26832e-11	-7.15338e-11	-1.61092e-10
10	-1.52687e-12	7.559184e-10	2.593596e-09
9	-6.65778e-09	-1.10755e-08	-2.14064e-08
8	-6.30182e-08	-9.60186e-08	-1.62188e-07
7	-1.97308e-07	-3.64479e-07	-1.16531e-06
6	1.380391e-06	1.526557e-06	-3.99688e-07
5	-1.15242e-05	1.155429e-05	6.163346e-05
4	-0.000565643	-0.001463224	-0.004199837
3	-0.001467618	0.0013361426	0.0074911131
2	0.0163149402	-0.050420591	-0.224990937
Removing	Error @Xmin	Error @Xmean	Error @Xmax
a	-0.768278566	-0.768278566	-0.768278566
b	-0.85686064	-0.985724818	-0.999580206
c	0.8411645457	17.477521874	17436.396924
d	-0.09355807	-0.641540654	-0.998138945
e	0.0058282449	0.1418787924	3.426899903

TableCurve Numerical Summary

Jan 25,2000 1:02 PM

Description: Curva de Sólidos Totales con el Tiempo

X-Y Table Size: 8 Active Points: 8

X Variable: Tiempo (d/as)

Y Variable: Grados Brix

File Source: SOLIDOS.PRN

Rank 1 Eqn 6003  $y=a+bx+cx^2+dx^3+ex^4+fx^5+gx^6$

r2 Coef Det	DF Adj r2	Fit Std Err	F-value
0.9999052438	0.9993367066	0.0853485962	1758.7331927

Parm	Value	Std Error	t-value	95% Confidence Limits	
a	12.50145688	0.085336161	146.4965933	11.40113683	13.60177692
b	-2.68878205	0.637548567	-4.21737604	-10.9093003	5.5317362
c	0.020313714	1.013727243	0.020038639	-13.0506329	13.09126037
d	0.232881701	0.595636373	0.390979651	-7.44722289	7.912986298
e	-0.08867521	0.160911683	-0.55108002	-2.16346214	1.986111708
f	0.013301282	0.020263812	0.656405728	-0.24797926	0.274581822
g	-0.00069444	0.000963021	-0.72111023	-0.01311159	0.011722701

Area Xmin-Xmax

44.785011574

Function min	X-Value	Function max	X-Value
3.4985431235	7	12.501456876	1.48723e-10
1st Deriv min	X-Value	1st Deriv max	X-Value
-2.688782051	1.48723e-10	0.0563258297	6.5204220916
2nd Deriv min	X-Value	2nd Deriv max	X-Value
-1.093506238	6.9999882121	0.7334246589	5.4701938917

Soln Vector	Covar Matrix	SVD Cond		
SVDecomp	SVDecomp	4.082481e+12		
r2 Coef Det	DF Adj r2	Fit Std Err		
0.9999052438	0.9993367066	0.0853485962		
Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F
Regr	76.867716	6	12.811286	3517.47
Error	0.0072843829	2	0.0036421914	
Total	76.875	8		

X Variable: Tiempo (d/as)

Xmin: 0	Xmax: 7	Xrange: 7
Xmean: 3.5	Xstd: 2.4494897428	Xmedian: 3.5
X@Ymin: 7	X@Ymax: 0	X@Yrange: 7

Y Variable: Grados Brix

Ymin: 3.5	Ymax: 12.5	Yrange: 9
Ymean: 6.625	Ystd: 3.3139316313	Ymedian: 5.75
Y@Xmin: 12.5	Y@Xmax: 3.5	Y@Xrange: 9 182

Precision	Error @Xmin	Error @Xmean	Error @Xmax
16	-2.84184e-16	-7.75424e-16	4.696612e-15
15	-1.98929e-15	-9.92543e-15	-2.11982e-13
14	-1.79036e-14	-7.04085e-14	-1.05521e-12
13	3.020876e-13	6.543027e-13	1.947368e-11
12	-1.29773e-12	-6.43152e-12	-2.43747e-10
11	-3.3294e-11	-3.46797e-11	2.157213e-09
10	2.866686e-10	1.437071e-09	2.492713e-08
9	1.886482e-09	-1.91656e-09	-2.29122e-07
8	9.88555e-09	-3.23374e-08	-5.42825e-07
7	2.498576e-07	4.782819e-07	-5.059e-06
6	3.449485e-06	1.313406e-05	0.0001560422
5	-3.65459e-05	-0.000121713	-0.001388202
4	-0.000116537	-0.000487259	-0.007059717
3	-0.000116537	-0.0007668	0.0003289588
2	0.039878802	0.0232365999	-1.687660525

Removing	Error @Xmin	Error @Xmean	Error @Xmax
a	-1	-2.18287865	-3.573332223
b	0	1.6432082653	5.3798034482
c	0	-0.043450462	-0.284510428
d	0	-1.743445856	-22.83191054
e	0	2.3235037987	60.856528106
f	0	-1.219839494	-63.89935452
g	0	0.2229023976	23.352776149

TableCurve Numerical Summary

Jan 25,2000 12:45 PM

Description: Grafica de valores de pH con el tiempo

X-Y Table Size: 6 Active Points: 6

X Variable: tiempo (d/as)

Y Variable: pH

File Source: PH-TIEMPO.PRN

Rank 1 Eqn 6001  $y=a+bx+cx^2+dx^3+ex^4$

r2	Coef Det	DF	Adj r2	Fit Std Err	F-value
1		1		1e-15	2.410708e+29

Parm	Value	Std Error	t-value	95% Confidence Limits	
a	3.82	8.7178e-15	4.38184e+14	3.82	3.82
b	1.1275	1.42737e-14	7.89915e+13	1.1275	1.1275
c	-0.46375	7.47112e-15	-6.2072e+13	-0.46375	-0.46375
d	0.0925	1.54835e-15	5.97412e+13	0.0925	0.0925
e	-0.00625	1.1024e-16	-5.6695e+13	-0.00625	-0.00625

Area Xmin-Xmax

25.823958333

Function min	X-Value	Function max	X-Value
4.5700007516	1.0000016609	5.77	6
1st Deriv min	X-Value	1st Deriv max	X-Value
0.1525000002	6	0.3045156363	4.8503685831
2nd Deriv min	X-Value	2nd Deriv max	X-Value
-0.29748648	5.9999929642	0.0992628202	3.6934528518

Soln Vector	Covar Matrix	SVD Cond		
SVDecomp	SVDecomp	7.411134e+08		
r2 Coef Det	DF Adj r2	Fit Std Err		
1	1	1e-15		
Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F
Regr	0.96428333	4	0.24107083	4.82142e+29
Error	1e-30	2	5e-31	
Total	0.96428333	6		

X Variable: tiempo (d/as)

Xmin: 1	Xmax: 6	Xrange: 5
Xmean: 3.5	Xstd: 1.8708286934	Xmedian: 3.5
X@Ymin: 1	X@Ymax: 6	X@Yrange: 5

Y Variable: pH

Ymin: 4.57	Ymax: 5.77	Yrange: 1.2
Ymean: 5.1616666667	Ystd: 0.4391544907	Ymedian: 5.125
Y@Xmin: 4.57	Y@Xmax: 5.77	Y@Xrange: 1.2

Precision	Error @Xmin	Error @Xmean	Error @Xmax
16	1.943498e-16	5.210929e-16	9.235824e-16
15	3.886995e-16	0	-4.61791e-16
14	-1.59367e-14	-4.42929e-14	-7.26551e-14
13	6.763372e-14	2.416134e-13	3.357222e-13
12	-6.37856e-13	-3.55403e-12	-7.41252e-12
11	3.012033e-12	1.451365e-11	4.94132e-12
10	-3.35836e-13	-2.79827e-13	-5.03352e-14
9	-3.35836e-13	-2.79827e-13	-5.03352e-14
8	-3.35836e-13	-2.79827e-13	-5.03352e-14
7	-3.35836e-13	-2.79827e-13	-5.03352e-14
6	-3.35836e-13	-2.79827e-13	-5.03352e-14
5	-3.35836e-13	-2.79827e-13	-5.03352e-14
4	-9.84683e-05	-0.000222456	-0.000207972
3	0.0004923414	0.0011122825	0.0010398614
2	-0.009671772	-0.016475837	-0.016152513

Removing	Error @Xmin	Error @Xmean	Error @Xmax
a	-0.835886214	-0.747062688	-0.662045061
b	-0.246717724	-0.771752914	-1.172443674
c	0.1014770241	1.1109990679	2.8934142113
d	-0.0202407	-0.775603123	-3.462738301
e	0.0013676149	0.1834196574	1.4038128249