



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA Y MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE
ANTOCIANINAS DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*, Kunt), PARA
APLICACIONES AGROINDUSTRIALES

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Ingeniero Agroindustrial y de Alimentos

Profesor Guía

Msc. Pablo Santiago Moncayo Moncayo

Autor

Fernando Ernesto Sarrade Gastelú

Año

2016

DECLARACIÓN DE PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

Pablo Santiago Moncayo Moncayo

Master en Dirección de Operaciones y Seguridad Industrial

CI: 1712367505

DECLARACIÓN DE AUTORIA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos del autor vigentes”

Fernando Ernesto Sarrade Gastelú

CI: 1719180562

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres quienes me brindaron su apoyo para culminar un logro más de mi vida. A mi novia María Belén Encalada quien siempre me apoyo y a mi profesor guía Pablo Moncayo

DEDICATORIA

A mi familia por su apoyo incondicional, por impulsarme a seguir adelante y lograr culminar una etapa más en mi vida.

RESUMEN

La presente investigación fue realizada en los laboratorios de la Universidad de las Américas. Este estudio evalúa el método de extracción, el tiempo de maceración, la temperatura de maceración, la solución de maceración y la cantidad de antocianinas obtenidos en el mortíño. Se determinó el ambiente más efectivo. Para realizar la experimentación se utilizó mortíño proveniente de la provincia de Cañar, el mortíño utilizado tenía 30 días de maduración lo que favorece la extracción de antocianinas. Las variables que se utilizaron fueron temperatura 2 C, 25 C y 62 C, tiempo 4, 14 y 24 horas, solución de maceración alcohol metílico, alcohol etílico y éter, acidificación con ácido cítrico 0.02% y soluciones buffer de pH 1 y pH 4.5.

Tras el análisis se pudo detectar que la experimentación realizada con alcohol etílico fue la más adecuada dando como resultado que la prueba más exacta Shapiro-Wilk con una probabilidad de 0.184822 la cual no rechaza la idea de que proviene de una distribución normal del 95% de confianza, el R cuadrado obtenido es del 39.2715 % pero ya que la experimentación define un diseño experimental 23 no se puede establecer una confiabilidad del 95% solo con observar los resultado del R cuadrado, lo que no sucedió en la experimentación con alcohol metílico ya que la prueba de Shapiro-Wilk se rechaza pero se aprueba la prueba del Chi cuadrado y a su vez la prueba de Durbin-Watson y para finalizar la experimentación con la solución de éter no fue la adecuada ya que rechaza todas las pruebas lo que nos indica que la solución de éter no es la adecuada para la obtención de antocianinas debido a su alto grado de volatilizarse.

Finalmente se determinó que las mejores condiciones para la obtención de antocianinas deben ser con una solución de alcohol etílico a una temperatura de 2 C a un tiempo de maduración de 24 horas así obteniendo un máximo promedio de 4.53503 mg / l.

ABSTRACT

This research was performed at the laboratories of the *Universidad de las Americas UDLA* (Quito-Ecuador). This study evaluates: the extraction method, the maceration time, the temperature of maceration, the maceration solution and the amount of anthocyanins obtained from the Andean blueberry. The most effective environment was determined. For this experimentation, the variety of Andean blueberry used, was the one endemic of the Cañar province in Ecuador. The Andean blueberry used had 30 days of ripening, which favors the extraction of anthocyanins. The variables used were: Temperature: 2 C, 25 C and 62 C. Time: 4 hours, 14 hours and 24 hours. Maceration Solution: Methyl alcohol, ethyl alcohol and ether. Acidification: citric acid 0.02%. And Buffer solutions: pH 1 and pH 4.5.

After analysis it was detected that the experimentation with Ethyl alcohol was the most appropriate, resulting in the most accurate test Shapiro-Wilk with probability 0.184822; which does not discard the idea that it proceeds from a normal distribution of 95% reliability, the R-squared obtained is 39.2715%. But since this experimentation defines an experimental design 23, there cannot be established a reliability of 95% only by the R-squared result. This did not happen when experimenting with Methyl alcohol because Shapiro-Wilk test was rejected, but Chi square test was approved as well as Durbin-Watson test. Then, the experiment with the ether solution was inadequate because all tests were rejected; which indicates that the ether solution is not appropriated for obtaining anthocyanins, due to its high degree of volatility.

Finally, it was determined that the best conditions for obtaining anthocyanins must be with a solution of ethyl alcohol at temperature of 2 C to a maturation time of 24 hours. Thereby obtaining a maximum average of 4.53503 mg / l.

INDICE

Introducción.....	1
1 Marco Teórico	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Base teórica	4
1.2.1 El mortño	4
1.2.2 Clasificación taxonómica.....	4
1.2.3 Composición Química.....	5
1.3 Glosario.....	6
1.4 Marco conceptual	8
1.4.1 Descripción de marco conceptual.....	8
2 Metodología.....	9
2.1 Descripción de metodología.....	9
2.1.1 Preparación de la muestra.....	9
2.1.2 Preparación soluciones buffer de pH.....	9
2.2 Descripción de metodología para obtener compuestos bioactivos.....	10
2.2.1 Modelo estadístico.....	14
2.3 Hipótesis General.....	14
2.4 Hipótesis Específica	15
2.5 Variables	15
2.6 Diseño de operacionalizador	17
2.7 Matriz de consistencia.....	18
2.8 Tipos de diseño	19
2.9 Unidad de análisis	19
2.10 Población de estudio	19
2.11 Tamaño de muestra	20
2.12 Selección de muestra.....	20
2.13 Técnicas.....	21
2.14 Recolección de datos	21

2.14.1	Recolección de datos alcohol metílico.....	21
2.14.2	Recolección de datos alcohol etílico.....	24
2.14.3	Recolección de datos éter	28
3	Análisis, Resultados e interpretación de datos	31
3.1	Resultados y análisis e interpretación de datos alcohol metílico	31
3.1.1	Alcohol metílico a las 4 horas de maceración.....	42
3.1.2	Alcohol metílico a las 14 horas de maceración.....	44
3.1.3	Alcohol metílico a las 24 horas de maceración.....	45
3.2	Análisis e interpretación de datos alcohol etílico	49
3.2.1	Alcohol etílico a las 4 horas de maceración.....	59
3.2.2	Alcohol etílico a las 14 horas de maceración.....	60
3.2.3	Alcohol etílico a las 24 horas de maceración.....	62
3.3	Análisis e interpretación de datos éter.....	66
3.3.1	Éter a las 4 horas de maceración.	76
3.3.2	Éter a las 14 horas de maceración.	78
3.3.3	Éter a las 24 horas de maceración.	79
4	Presupuesto	86
5	Conclusiones y recomendaciones.....	88
5.1	Conclusiones.....	88
5.2	Recomendaciones.....	89
6	Referencias	90

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Enfoque botánico	4
Tabla 2. Aporte de mortiño.....	5
Tabla 3. Aporte vitamínico mortiño	5
Tabla 4. Descripción método	13
Tabla 5. Diseño operacionizador.....	17
Tabla 6. Matriz de consistencia	18
Tabla 7. Selección de muestra	21
Tabla 8. Inicio maceración	22
Tabla 9. Muestra después de macerar.....	22
Tabla 10. Muestra después de filtrar	23
Tabla 11. Muestra después de rotavapor	24
Tabla 12. Muestra peso de filtro whatman.....	24
Tabla 13. Inicio maceración	25
Tabla 14. Muestra después de macerar	26
Tabla 15. Muestra después de filtrar	26
Tabla 16. Muestra después de rotavapor	27
Tabla 17. Muestra peso de filtro whatman.....	27
Tabla 18. Inicio maceración	28
Tabla 19. Muestra después de macerar	29
Tabla 20. Muestra después de filtrar	29
Tabla 21. Muestra después de rotavapor	30
Tabla 22. Muestra peso de filtro whatman.....	31
Tabla 23. Efectos estimados para antocianinas	31
Tabla 24. Análisis de varianza para antocianinas muestra alcohol metílico	32
Tabla 25. Pruebas de normalidad para residuos.....	34
Tabla 26. Pruebas de bondad-de-ajuste para residuos	35
Tabla 27. Coeficiente de regresión para antocianinas muestra alcohol metílico	36

Tabla 28. Matriz de correlación para los efectos estimados muestra alcohol metílico	37
Tabla 29. Resultados estimados para antocianinas muestra alcohol metílico	39
Tabla 30. Camino de máximo ascenso para antocianinas muestra alcohol metílico	40
Tabla 31. Optimizar respuesta muestra alcohol metílico	41
Tabla 32. Alcohol metílico a las 4 horas de maceración a 2°C.....	42
Tabla 33. Alcohol metílico a las 4 horas de maceración a 25°C.....	43
Tabla 34. Alcohol metílico a las 4 horas de maceración a 62°C.....	43
Tabla 35. Alcohol metílico a las 14 horas de maceración a 2°C.....	44
Tabla 36. Alcohol metílico a las 14 horas de maceración a 25°C	44
Tabla 37. Alcohol metílico a las 14 horas de maceración a 62°C	45
Tabla 38. Alcohol metílico a las 24 horas de maceración a 2°C.....	45
Tabla 39. Alcohol metílico a las 24 horas de maceración a 25°C	46
Tabla 40. Alcohol metílico a las 24 horas de maceración a 62°C	46
Tabla 41. Efectos estimados para antocianinas muestra alcohol etílico	49
Tabla 42. Análisis de varianza para antocianinas muestra alcohol etílico	50
Tabla 43. Pruebas de normalidad para residuos.....	51
Tabla 44. Pruebas de bondad-de-ajuste para residuos	52
Tabla 45. Coeficiente de regresión para antocianinas muestra alcohol etílico	53
Tabla 46. Matriz de correlación para los efectos estimados muestra alcohol etílico	54
Tabla 47. Resultados estimados para antocianinas muestra alcohol etílico	56
Tabla 48. Camino de máximo ascenso para antocianinas muestra alcohol etílico	57
Tabla 49. Optimizar respuesta.....	58
Tabla 50. Alcohol etílico a las 4 horas de maceración a 2°C	59
Tabla 51. Alcohol etílico a las 4 horas de maceración a 25°C	60
Tabla 52. Alcohol etílico a las 4 horas de maceración a 62°C	60

Tabla 53. Alcohol etílico a las 14 horas de maceración a 2°C.....	61
Tabla 54. Alcohol etílico a las 14 horas de maceración a 25°C.....	61
Tabla 55. Alcohol etílico a las 14 horas de maceración a 62°C.....	62
Tabla 56. Alcohol etílico a las 24 horas de maceración a 2°C.....	62
Tabla 57. Alcohol etílico a las 24 horas de maceración a 25°C.....	63
Tabla 58. Alcohol etílico a las 24 horas de maceración a 62°C.....	63
Tabla 59. Efectos estimados para antocianinas muestra éter	66
Tabla 60. Análisis de varianza para antocianinas muestra éter.....	67
Tabla 61. Pruebas de normalidad para residuos.....	69
Tabla 62. Pruebas de bondad-de-ajuste para residuos	69
Tabla 63. Coeficiente de regresión para antocianinas muestra éter.....	70
Tabla 64. Matriz de correlación para los efectos estimados muestra éter	71
Tabla 65. Resultados estimados para antocianinas muestra éter.....	73
Tabla 66. Camino de máximo ascenso para antocianinas muestra éter.....	74
Tabla 67. Optimizar respuesta muestra éter	75
Tabla 68. Éter a las 4 horas de maceración a 2°C.....	76
Tabla 69. Éter a las 4 horas de maceración a 25°C	77
Tabla 70. Éter a las 4 horas de maceración a 62°C	77
Tabla 71. Éter a las 14 horas de maceración a 2°C	78
Tabla 72. Éter a las 14 horas de maceración a 25°C	78
Tabla 73. Éter a las 14 horas de maceración a 62°C	79
Tabla 74. Éter a las 24 horas de maceración a 2°C	79
Tabla 75. Éter a las 24 horas de maceración a 25°C	80
Tabla 76. Éter a las 24 horas de maceración a 62°C	80
Tabla 77. Presupuesto	87

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Marco conceptual del mortíño (Coba et al., 2012).....	8
Figura 2. Flujograma previsto para la investigación tomado de (Menéndez, 2008).....	12
Figura 3. Diagrama de pareto muestra alcohol metílico	32
Figura 4. Traza de densidad para residuos alcohol metílico	34
Figura 5. Histograma residuos alcohol metílico.....	35
Figura 6. Grafica de efectos muestra alcohol metílico.....	36
Figura 7. Grafica de interacción muestra alcohol metílico.....	37
Figura 8. Grafica de probabilidad muestra alcohol metílico.....	38
Figura 9. Superficie de respuesta muestra alcohol metílico	40
Figura 10. Superficie de respuesta estimada muestra alcohol metílico.....	41
Figura 11. Grafica de residuos muestra alcohol metílico.....	42
Figura 12. Proceso de filtrado muestra alcohol metílico	47
Figura 13. Muestras antes de filtrar muestra alcohol metílico	48
Figura 14. Filtros whatman después de filtrar muestra alcohol metílico	48
Figura 15. Diagrama de pareto muestra alcohol etílico	49
Figura 16. Traza de densidad para residuos alcohol etílico	51
Figura 17. Histograma residuos alcohol etílico.....	52
Figura 18. Gráfica de efectos muestra alcohol etílico.....	53
Figura 19. Gráfica de interacción muestra alcohol etílico.....	54
Figura 20. Gráfica de probabilidad muestra alcohol etílico.....	55
Figura 21. Superficie de respuesta muestra alcohol etílico	57
Figura 22. Superficie de respuesta estimada muestra alcohol etílico.....	58
Figura 23. Grafica de residuos muestra alcohol etílico.....	59
Figura 24. Muestras antocianinas alcohol etílico.....	64
Figura 25. Proceso de filtrado con filtros whatman muestra alcohol etílico	65
Figura 26. Uso de rota vapor muestra alcohol etílico	65
Figura 27. Diagrama de pareto muestra éter.....	67
Figura 28. Traza de densidad para residuos éter.....	68
Figura 29. Histograma residuos éter	69
Figura 30. Gráfica de efectos muestra éter	70

Figura 31. Gráfica de interacción muestra éter	71
Figura 32. Gráfica de probabilidad muestra éter	72
Figura 33. Superficie de respuesta muestra éter.....	74
Figura 34. Superficie de respuesta estimada muestra éter	75
Figura 35. Grafica de residuos muestra éter	76
Figura 36. Muestra éter 25°C	81
Figura 37. Muestra éter 2°C	82
Figura 38. Muestra éter 62°C	83
Figura 39. Uso de rota vapor muestra éter.....	84
Figura 40. Cubeta espectrofotómetro muestra éter.....	85

INTRODUCCIÓN

Problemática

Se ha desarrollado procesos para optimizar las técnicas y métodos de extracción de antocianina del mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt), para mantener su actividad biológica específica.

Justificación

El mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt) es una especie vegetal silvestre domesticada muy apetecida en el mercado europeo y norte américa como alimento. Se usa mayormente en repostería y se lo conoce como andean blueberry. El mortiño es un cultivo que no se lo encuentra disponible todo el año por lo que la mejora está enfocado en producir resistencia a enfermedades, a aumentar el vigor y mejorar el hábito de la planta (Chaparro, 1999, pp.47-48).

El interés de consumo de mortiño se debe a que es una fruta rica en antocianinas que ejercen efectos positivos sobre la salud humana y la disminución de enfermedades como trastornos biliares, escorbuto y desordenes cardiovasculares (Cobo, 2014, pp.13-14).

El mortiño tiene cualidades medicinales y se han identificados vitaminas, pectina, celulosa y antocianinas, estas últimas son compuestos que han demostrado tener propiedades antioxidantes, antitumorales, anti ulcerales y antiinflamatorios. (Trujillo, 2008, pp.1-4).

Con estos antecedentes la conducción de estudios para la extracción y concentración de antocianinas es importante mediante técnicas y métodos que puedan ser desarrolladas a nivel agroindustrial y de alimentos.

Hipótesis

Existe alguna técnica para optimizar los métodos de extracción de antocianinas del mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt), para aplicaciones agroindustriales.

Objetivo General

Optimizar las técnicas y métodos de extracción de antocianina del mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt), para mantener su estabilidad química.

Objetivos específicos

- Seleccionar el método térmico de extracción de antocianinas del mortiño que conserve las principales características de compuesto químicos.
- Evaluar los métodos de concentración de antocianinas del mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt).
- Optimizar mediante el método de superficie de respuesta la concentración de la antocianina de mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt).

Alcance

La presente investigación tiene la finalidad de determinar los compuestos fenólicos correspondientes a antocianinas del mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt). Esta investigación se la realizará en los laboratorios de la Universidad de las Américas. Se determinará un método de extracción de antocianinas del mortiño. La evaluación correspondiente a cada método de concentración de extractos de los compuestos fenólicos del mortiño y optimización serán desarrolladas mediante el método de superficie de respuesta considerando un factor de gran importancia a la concentración de la antocianina de mortiño.

El métodos de extracción de antocianinas a utilizar es la maceración tomando en cuenta 3 parámetros distintos de temperaturas (62°C, 25°C y 2°C) y tres reactivos distintos para la maceración y una constante acidificante de 0.02% de ácido cítrico (Cano, 2011, pp.35-36).

Los métodos de concentración de antocianinas se los realizará por medio de diferencial de pH, tomando en cuenta el uso de varios equipos como rotavapor y espectrofotómetro (Menéndez, 2008, p.1).

1 MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

El mortiño es una planta perteneciente a la familia Ericácea, género *Vaccinium* originario del norte de los Andes. Dentro de este género se han identificado más de 400 especies entre las cuales se encuentran genotipos de interés de agronómico, alrededor del mundo debido a la cantidad de compuestos bioactivos. El mortiño es una fruta pequeña y se desarrollada de forma silvestre en un rango de 1600 a 3800 msnm en el Ecuador (Mayorga, 2012, pp.1-2), se lo puede localizar en Ángel provincia del Carchi y en el Tambo provincia de Cañar (Muñoz, 2004, pp.2-3).

El mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt) se desarrolla mejor en suelos con un pH ácido, además tiene mayor adaptabilidad en suelos arenosos o francos generalmente húmedos, tomando en cuenta factores como temperatura, exposición al sol, humedad relativa y la zona de plantación es necesario conocer que los suelos deben tener un buen drenaje ya que el mortiño no tolera los encharcamientos (Pérez, 2013).

El mortiño es comercializado en mercado locales como fruta fresca. Para el Ecuador, se considera disponible debido a que crece de forma silvestre, sin embargo un bajo índice de consumo de mortiño cuando está fresco normalmente es adquirida para la preparación de la colada morada en el mes de noviembre (Tupuna, 2012, pp.1-5).

El mortiño tiene dos colectas al año las cuales se las realiza la primera entre julio y agosto y la segunda colecta entre octubre y noviembre debido a los requerimiento climáticos (Arias, 2013,p. 30).

1.2 Base teórica

1.2.1 El mortiño

El mortiño es considerado una planta arbustiva ramificada cuya altura promedio es de 2.5 m, sus hojas son de tamaño pequeño con márgenes aserrados, contiene flores de menos de 1 cm las cuales se las puede encontrar solitarias o en racimos, constituido por un tubo de cáliz articulado, 5 lóbulos lanceolados, 5 lóbulos reflexos: corola urceolada, hipango globuloso, filamentos libres, ovarios inferiores, anteras con túbulos cortos y frutos esféricos de 5 a 8 mm de diámetros de color azul oscuro y lila. El mortiño tiene una extensa lista de nombre vulgares con los cuales se lo conoce: uva de los Andes, raspadura quemada, manzanilla de cerro, uva de monte en el Ecuador mientras que en Colombia se los conoce como agraz y Perú como pushgay, macha y congama. (Coba et al., 2012, p. 8)

1.2.2 Clasificación taxonómica.

Tabla 1. Enfoque botánico

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Ericácea
Nombre Científico	<i>Vaccinium floribundum</i> <i>Kunt</i>

El fruto fresco es consumido por aves y animales autóctonos quienes se encargan de dispersar las semillas. En el Ecuador se adquiere el mortiño en postres, jugos, mermeladas, harinas, bebidas dando como punto fuerte la elaboración de productos y subproductos así incrementado el área agroindustrial del país. (Coba et al., 2012, p. 9)

1.2.3 Composición Química.

El mortiño fresco aporta:

Tabla 2. Aporte de mortiño

	%
Agua	80,00
Proteína	0,70
Grasa	1,00
Carbohidratos	16,9 a 18,10
Cenizas	0,40
Fibra	7,6 a 2,9
Calorías	84 kcal/100g

Mediante estudios realizados se encontró evidencia que esta fruta contiene gran cantidad de vitaminas que aportan al bienestar humano.

Tabla 3. Aporte vitamínico mortiño

Ácido ascórbico	14g/100g FF
B-carotenos	106,10mg/100g FF
Tiamina	0,05mg/100g FF
Riboflavina	0,05mg/100g FF
Niacina	0,18mg/100g FF
Ácido patotenico	0,09mg/100g FF

Tomando en consideración sus propiedades nutricionales el mortiño es una baya que es consumida cada vez más a nivel nacional e internacional lo que podría favorecer al mercado tomando en consideración su exportación.

Según estándares de la FDA (Food and Drug Administration) el mortiño es considerado un arbusto con bayas como frutos bajos en contenido graso y sodio, ricos en vitaminas, fibra, antioxidantes y libre de colesterol. (USDA, 2010)

Al ser el fruto de color oscuro se puede evidenciar una alta concentración de antocianidinas como polifenoles en donde se adquiere ácido gálico, derivados de ácido vainillínico, proantocianidinas, quercetina, miricetina derivado de del ácido clorogénico e hidroxicinámico y antocianinas que demuestran una capacidad antioxidante de 1200 mg trolox/100g FF. (Vasco, 2006, pp.21-48)

El consumo de mortiño crudo tiende a regularizar los niveles de azúcar en la sangre, mientras que el consumo del fruto cocido trata problemas de hipoglicemia, gripe, diabetes, problemas digestivos, vasculares, cardíacos entre otros. (Aguilar, 2009, p.43)

Tomando como dato su aplicación funcional el mortiño se recomienda en caso de varices, flebitis y hemorroides, ya que se encarga de fortificar las paredes de ciertos vasos capilares, las hojas secas ayudan a reducir la glucosa en la sangre y su ingesta artesanal para prevenir enfermedades es tres vasos de 250 mL con jugo de mortiño (Quingalombo, 2010, pp.22-41)

Estudios realizados al fruto del mortiño demostraron que cumple con una ventaja la cual favorece su congelación sin alteraciones de sus características organolépticas y nutricionales manteniendo así el fruto intacto. (Cartilla, 2009)

1.3 Glosario

Compuestos Fenólicos: Son grandes grupos de micronutrientes, importantes en la dieta humana y animal. Sustancias metabólicas secundarias de las plantas con diversa actividad y estructura química (Línea y salud, 2013)

Antocianinas: Pigmentos que se encuentran en el citoplasma de las células y los cuales mantienen colores de las corolas de flores azules y violadas así como también se la puede encontrar en el epicarpio de muchos frutos.

Trolox: Antioxidante análogo hidrosoluble, es universalmente utilizado en curvas de comparación. (Pronutrient, 2015)

Diferencial de pH: Método espectrofotométrico que tiene como objetivo la transformación estructural de antocianinas con los cambios de pH.

Éter: Es un líquido transparente, inflamable y volátil, tiene un olor penetrante y sabor dulce, se lo obtiene al calentar alcohol etílico y ácido sulfúrico a temperaturas alta, compuesto químico que producto de la unión de moléculas de alcohol y con pérdida de moléculas de agua.

Metanol: alcohol cuya molécula tiene un átomo de carbono, liquido toxico e incoloro, semejante a propiedades de alcohol etílico.

Etanol: Liquido soluble en agua, incoloro e inflamable, es obtenido mediante fermentación de productos naturales ricos en hidratos de carbonos.

1.4 Marco conceptual

1.4.1 Descripción de marco conceptual

Para la elaboración de marco conceptual se tomó como base el marco conceptual superior, que ubica las prioridades en la parte superior de la investigación:

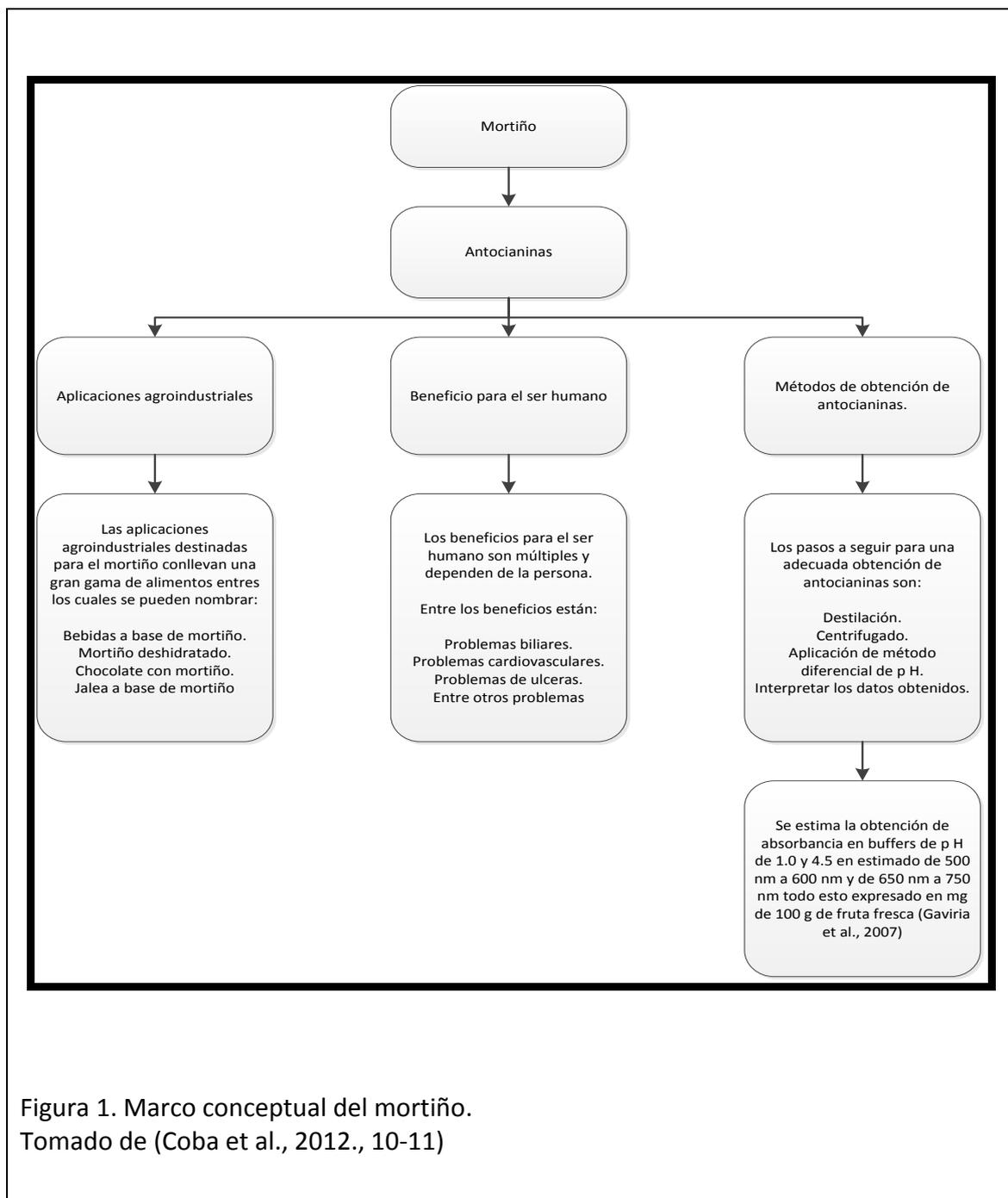


Figura 1. Marco conceptual del mortiño.
Tomado de (Coba et al., 2012., 10-11)

2 METODOLOGÍA

2.1 Descripción de metodología.

La metodología a utilizar en el trabajo de titulación son: exploratorio la cual considerando los escasos estudios que el mortiño (*Vaccinium floribundum kunt*) sobre sus estabilidad química en antocianinas y método experimental el cual es necesario tomar en cuenta las variables dependientes e independientes que la investigación considere.

2.1.1 Preparación de la muestra.

El mortiño a utilizar debe mantener 30 días de maduración, encontrarse en óptimas condiciones, el fruto debe estar totalmente libre de impurezas, mantener una forma y tamaño proporcional para así proceder al primer paso que es la maceración.

2.1.2 Preparación soluciones buffer de pH.

2.1.2.1 Solución buffer pH 1

Para la elaboración de solución buffer de pH 1 fueron necesarios pesar 1.864 g de cloruro de potasio y se realizar una mezcla en 980 mL de agua destilada utilizando un agitador magnético.

Se debe ajustar el pH a 1 con la ayuda de HCl concentrado y se afora a 1 L con agua destilada.

2.1.2.2 Solución buffer pH 4.5

Para la elaboración de solución buffer de pH 4.5 fue necesario pesar 32.812 g de acetato de sodio y se realiza una mezcla en 980 mL de agua destilada.

Se debe ajustar el pH 4.5 con HCl concentrada y se debe aforar a 1L con agua destilada.

2.2 Descripción de metodología para obtener compuestos bioactivos.

Los métodos para la obtención de compuestos bioactivos son factores térmicos de maceración, dosificación de acidificantes y la utilización de diferentes reactivos (Menéndez, 2008, pp.2-3).

El método de extracción con factores térmico consiste llevar a temperatura de maceración de 62°C, 25°C y 2°C jugo de mortiño para la obtención de compuestos fenólicos (Cano. 2011, pp. 35-36).

La acidificación para la extracción de los compuestos bioactivos maneja rangos de 0.01% a 0.03% ácido cítrico propuesto por Menéndez (2008) así dejando de lado el HCL reactivo regulado por instituciones gubernamentales, sacando así una media de 0.02% de ácido cítrico.

Los reactivos a utilizar para la extracción son (éter, alcohol etílico grado P.A) (Vasco, 2006, pp.21-48) y la aplicación de alcohol metílico con 0.02% ácido cítrico (Cano, 2011, pp. 35-36)

Métodos para evaluar la concentración de antocianinas:

Obtenido el proceso de maceración es necesario la filtración por medio de un filtro whatman N°1 (Menéndez, 2008, pp.2-3).

Posterior al filtrado el uso de un rotavapor al vacío a 50°C a una velocidad de 150 rpm (Menéndez, 2008, pp.2-3).

Finalizado el proceso de rotavapor aforar la muestra en una solución al 15% con pH 1 y pH 4.5 y proceder al uso de espectrofotómetro (Menéndez, 2008, p.3).

Métodos de superficie de respuesta (optimización):

La optimización se la llevara a cabo controlando las variables de tiempo, temperatura y pH considerando la utilización de los siguientes métodos de superficie (RSM, DCC y DBIB) ya que son diseños utilizados para diseños factoriales 2 k (Centro, 2010, pp.1-10).

El flujograma para la obtención de antocianinas también toma como base un marco conceptual superior, las temperaturas de maceración son 62°C, 25°C y 2°C para la obtención de antocianinas y los diferentes reactivos que deben ser utilizados.

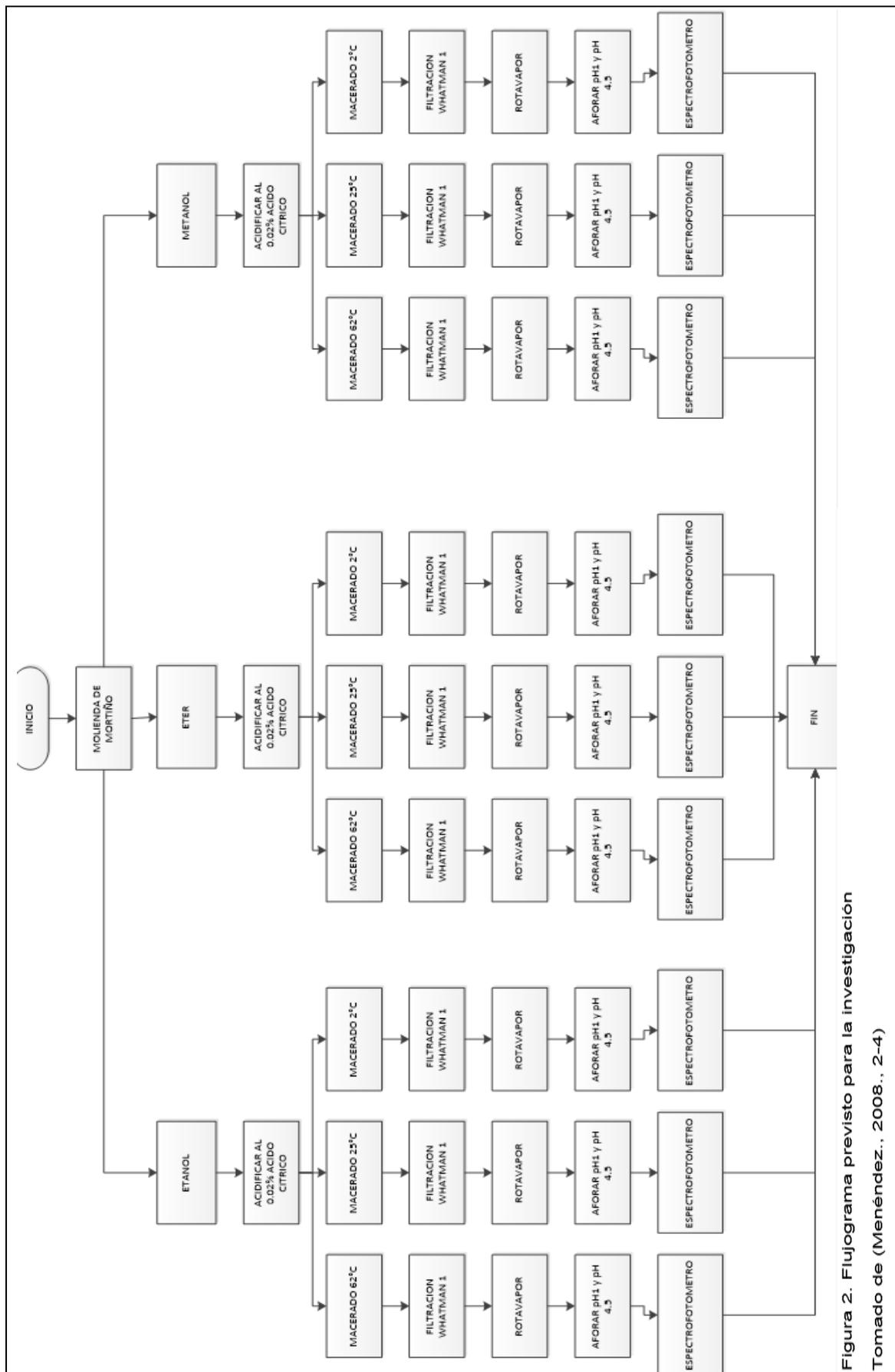


Figura 2. Flujograma previsto para la investigación Tomado de (Menéndez., 2008., 2-4)

El diseño experimental planteado constara por 3 tratamientos con 3 repeticiones respectivamente a 3 diferentes temperaturas y 3 distintos medios para determinar las antocianinas en el mortiño. Los parámetros para el diseño están planteados con tres temperaturas de maceración que son 62°C, 25°C y 2°C, cada uno con su medio característico c que son: etanol, éter (Vasco, 2006, pp.21-48) y metanol (Menéndez, 2008, p.4).

Tabla 4. Descripción método

Etanol	X1	Reactivos
Metanol	X2	
Éter	X3	

0,02%	Ácido cítrico	Y1	Acidificantes
-------	---------------	----	---------------

65 °C	Z1	Temperatura de maceración del mortiño
2 °C	Z2	
25 °C	Z3	

Extracción de antocianinas			Obtención de antocianinas			
Reactivos	Acidificantes	Maceración				
X1	Y1	Z1	Filtrar con filtros whatman	Uso de rota vapor	Aforar a p H 1 y p H 4,5	Uso de espectrofotómetro
		Z2				
		Z3				
X2	Y1	Z1				
		Z2				
		Z3				
X2	Y1	Z1				
		Z2				
		Z3				

El estudio será realizado mediante maceración en estufas a diferentes temperaturas y medios, seguida por la utilización de rotavapor y finalmente la utilización de espectrofotómetro para concluir con el método de diferencial de pH para así lograr con la obtención de antocianinas en el mortiño.

Diseño factorial de combinación de factores en estudio lo que relaciona los efectos de los factores y sus respectivas interacciones.

Tratamientos:

Factor X1+ Factor Y1+Factor Z1= Interacción X1Y1Z1

Factor X1+ Factor Y1+Factor Z2= Interacción X1Y1Z2

Factor X1+ Factor Y1+Factor Z3= Interacción X1Y1Z3

Factor X2+ Factor Y1+Factor Z1= Interacción X2Y1Z1

Factor X2+ Factor Y1+Factor Z2= Interacción X2Y1Z2

Factor X2+ Factor Y1+Factor Z3= Interacción X2Y1Z3

Factor X3+ Factor Y1+Factor Z1= Interacción X3Y1Z1

Factor X3+ Factor Y1+Factor Z2= Interacción X3Y1Z2

Factor X3+ Factor Y1+Factor Z3= Interacción X3Y1Z3

2.2.1 Modelo estadístico

En la investigación se tomara como modelo estadístico el efecto fijo, quiere decir que los tratamientos y factores que intervienen son fijos. Este efecto tiene como característica especial que sus conclusiones de análisis solamente son válidos para los tratamientos planteados.

2.3 Hipótesis General

Existe alguna técnica para optimizar los métodos de extracción de antocianinas del mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt), para mantener su actividad biológica específica.

2.4 Hipótesis Específica

Las hipótesis específicas están directamente relacionadas con los objetivos específicos por lo tanto existen tres hipótesis específicas presentadas continuación.

- Los métodos de extracción de antocianinas a utilizar son diferencial de pH complementados con tratamientos térmicos de 62°C, 25°C y 2°C y así facilitan una mayor obtención de antocianinas en el mortiño.
- Los métodos de concentración de antocianinas del mortiño, evidencian de mejor manera los compuestos fenólicos del mortiño, el método a utilizar es mediante diferencial de pH.
- El método de superficie de respuesta en concentración de antocianinas en el mortiño, identificara el nivel óptimo pH y la escala de temperatura adecuada para su mayor obtención.

2.5 Variables

Variables dependientes

- Concentración de compuestos fenólicos.
- Concentración de extractos
- Determinación de antocianinas
- Concentración de antocianinas
- Temperatura
- Tiempo

Variables independientes:

- Métodos de extracción
- Grado de madurez
- Herramientas informáticas

2.6 Diseño de operacionalizador

Tabla 5. Diseño operacionalizador

VARIABLES DEPENDIENTES	VARIABLES INDEPENDIENTES	OPERACIONALIZACIÓN	CATEGORIZACIÓN O DIMENSIONES	DEFINICIÓN INDICADOR NIVEL DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA	INDICE VALOR
Concentración de compuestos fenólicos.	métodos de extracción grado de madurez	El método de extracción de compuestos fenólicos va ligado al grado de madurez del morrón y es determinado mediante la extracción con los distintos reactivos usados.	Extracción por método de diferencial de pH, tratamientos térmicos y diferentes reactivos.	Compuestos fenólicos	Unidades arbitrarias (a.u). mg/g Días ha cuajado de fruto 20, 30, 40	Concentración
Concentración de extractos Determinación de antocianinas	métodos de extracción grado de madurez	El método de extracción de antocianinas se da mediante el uso de espectrofotómetro y el uso de buffer de pH.	Extracción por método de diferencial de pH, tratamientos térmicos, diferentes reactivos y uso de buffer de pH 1 y 4.5	Antocianinas	Unidades arbitrarias (a.u). mg/g Días ha cuajado de fruto 20, 30, 40	Concentración
Concentración de antocianinas Efectos terapéuticos	Herramientas informáticas Herramientas informáticas	Uso de programa statgraphic para determinar condiciones óptimas de extracción de antocianinas.	Accesorios informáticos.	Herramientas informáticas Herramientas informáticas	Herramientas informáticas Herramientas informáticas	Concentración

2.7 Matriz de consistencia

Tabla 6. Matriz de consistencia

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES		INDICADORES
			Objetivo General	Hipótesis General	
<p>Se ha desarrollado procesos para optimizar las técnicas y métodos de extracción de antocianina del morriño (<i>Vaccinium floribundum</i>, Kunt), para mantener su actividad biológica específica.</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Optimizar las técnicas y métodos de extracción de antocianina del morriño (<i>Vaccinium floribundum</i>, Kunt), para mantener su estabilidad química.</p>	<p>Hipótesis General</p> <p>Existe algún técnica para optimizar los métodos de extracción de antocianinas del morriño (<i>Vaccinium floribundum</i>, Kunt), para mantener su actividad biológica específica.</p>			
<p>Problemas Secundarios</p> <p>Existen métodos de extracción de antocianinas en el morriño con las principales características de compuestos bioactivos.</p>	<p>Objetivos Específicos</p> <p>Seleccionar el método térmico de extracción de antocianinas del morriño que conserve las principales características de compuesto químicos.</p>	<p>Hipótesis Secundarias</p> <p>Los métodos de extracción de antocianinas a utilizar son diferencial de pH con complementados de entre tratamientos térmicos de entre 62°C y 2°C y así facilitan una mayor obtención de antocianinas en el morriño.</p>	<p>Variabes dependientes</p> <p>Concentración de extractos</p> <p>Determinación de antocianinas</p>	<p>Variabes independientes</p> <p>métodos de extracción</p> <p>grado de madurez</p>	<p>Indicadores</p> <p>Concentración de antocianinas.</p>
<p>Se conocen los métodos de concentración de extractos de las antocianinas que son compuestos fenólicos del morriño (<i>Vaccinium floribundum</i>).</p>	<p>Evaluar los métodos de concentración de antocianinas del morriño (<i>Vaccinium floribundum</i>, Kunt).</p>	<p>Los métodos de concentración de antocianinas del morriño, evidencian de mejor manera los compuestos fenólicos del morriño, los métodos a utilizar son mediante destilación, centrifuga.</p>	<p>Concentración de compuestos fenólicos.</p>	<p>métodos de extracción</p> <p>grado de madurez</p>	<p>Concentración de antocianinas como compuestos fenólicos</p>
<p>Se conocen los métodos de optimización para antocianinas en el morriño.</p>	<p>Optimizar mediante el método de superficie de respuesta la concentración de la antocianina de morriño (<i>Vaccinium floribundum</i>, Kunt).</p>	<p>El método de superficie de respuesta en concentración de antocianinas en el morriño, identificara el nivel óptimo pH y la escala de temperatura adecuada para su mayor obtención.</p>	<p>Concentración de antocianinas</p>	<p>Temperatura, tiempos y pH.</p>	<p>Concentración de antocianinas</p>

2.8 Tipos de diseño

En la presente investigación se decidió utilizar un diseño de campo cuantitativo correlacional y experimental post factorial. En el diseño seleccionado se puede identificar una lista de factores lo cuales son: la identificación de variables del objeto de estudio y traslado de los datos, utilización de técnicas para la experimentación, el uso de tablas estadísticas y representaciones gráficas, resultados con datos concisos y verificables y por ultimo interpretación de dichos datos para obtener conclusiones claras.

El propósito de la investigación es aplicar un proyecto especial.

- Indicar objetivo de estudio.
- Formular problemas y elaborar hipótesis.
- Establecer el propósito y soluciones al problema formulado.
- Buscar soluciones al problema.

2.9 Unidad de análisis

En la presente investigación, la unidad de análisis a presentar incluye los factores que afectan la concentración de antocianinas en el mortiño, las cuales deben ser medidas a través de las variables dependientes e independientes presentadas con anterioridad.

2.10 Población de estudio

En la presente investigación, la población de estudio viene relacionado directamente con la obtención de mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt), la muestra adquirida es proveniente de la provincia de Carchi específicamente de la zona norte del Ángel, todas las muestras fueron adquiridas de el mismo lote de producción manejando una preselección de materia prima adquirida tomando en cuenta la coloración, el tamaño, el estado físico, que se encuentren libres de plagas, la recolección se debe hacer en época que el mortiño se encuentre en auge de producción por ende las pruebas fueron realizadas en los meses de agosto hasta diciembre.

Los criterios para la selección:

- Estado de la materia prima.
- Ubicación de la recolección. (provincia Carchi ubicado kilómetro 8 ½ vía el Ángel)
- Coloración de la materia prima. (morado oscuro)
- Tamaño de la materia prima. (diámetro de 0.5 a 1.2 cm)
- Peso de la materia prima. (1.55 g a 2.65g por unidad)
- Uniformidad de la materia prima. (circular homogénea)
- Libre de plagas.
- Tiempo de recolección. (30 días de maduración)

2.11 Tamaño de muestra

En la presente investigación, se realizaron 36 experimentaciones en total, de las cuales 12 se realizaron con metanol, 12 con etanol y las restantes 12 con éter. Considerando un tamaño del universo de 36 un margen de error de 5% una heterogeneidad del 50% y un nivel de confianza del 95% los resultados detallan que las muestras recomendadas son 33 muestras en donde se pudo encontrar el 95% de confianza entre cada muestra y con un rango del $\pm 5\%$ de margen de error en la experimentación.

En las gráficas planteadas a continuación se puede corroborar las similitudes que muestra el tamaño de la muestra.

2.12 Selección de muestra

La unidad de análisis seleccionada de nuestra investigación es la relación antocianinas – mortiño tomando en cuenta su grado de maduración. El mortiño seleccionado proviene de la provincial de cañar específicamente del Ángel.

Tabla 7. Selección de muestra

Pregunta del investigador	Unidad de análisis errónea.	Unidad de análisis correcta.
¿Con que método y técnica es la adecuada para una mayor obtención antocianina del mortiño?	Identificar el momento que el mortiño tenga mayor coloración para extraer las antocianinas del mortiño mediante proceso de prensado.	La mayor concentración de antocianinas del mortiño se da considerando tiempo de maduración de 30 días y temperaturas de maceración de 65 grados centígrados.

La muestra de estudio comprende mortiño de 30 días de maduración, en óptimas condiciones, libres de plagas, manteniendo un diámetro de aproximadamente 0.5 a 1.2 cm.

Para la selección se usó una muestra probabilística, esto debido a que toda la población puede ser escogida.

2.13 Técnicas

2.14 Recolección de datos

2.14.1 Recolección de datos alcohol metílico

La recolección de datos se lo realizó utilizando una solución de alcohol metílico y los valores óptimos para la obtención de antocianinas. Se siguieron los procedimientos detallados a continuación.

2.14.1.1 Muestra al inicio de la maceración.

Para el Inicio de la recolección de datos mediante la solución de alcohol metílico se empleó una media obteniendo así que era necesario utilizar 25 g de mortiño por cada 100 mL de solución así usando un total de 62.5 g en 250 mL alcohol metílico. Se empezó el proceso de acidificación al 0.02% con ácido cítrico.

Tabla 8. Inicio maceración

Alcohol metílico	Mortiño	Mortiño total	Ac. cítrico	Temperaturas de maceración
250 mL	25 g x cada 100 mL	62,5 g	0.02%	2°C
250 mL	25 g x cada 100 mL	62,5 g	0.02%	25°C
250 mL	25 g x cada 100 mL	62,5 g	0.02%	62°C

Materiales utilizados.

- Balanza analítica
- Mortero
- Pocillos de pesaje
- Vasos de precipitación

2.14.1.2 Muestra después de macerar.

Al finalizar la maceración se debe optimizar la recuperación de alcohol metílico eso quiere decir procesar el mortiño mediante un prensado el cual permita extraer todo el metanol que en el proceso de maceración pudo ser absorbido.

La coloración obtenida en las tres diferentes temperaturas de maceración fue morado característico del mortiño.

La maceraciones se las realizo a las temperaturas indicas por 14 horas.

Tabla 9. Muestra después de macerar

Alcohol metílico	Mortiño inicial	Mortiño total	Ac cítrico	Temperaturas de maceración	Color
205 mL	62,5 g	62.14	0.02%	2°C	Morado
217 mL	62,5 g	56.25	0.02%	25°C	Morado
275 mL	62,5 g	35.68	0.02%	62°C	Morado

Materiales utilizados.

- Tamiz
- Vaso de precipitación
- Mortero
- Balanza analítica

2.14.1.3 Muestra después de filtrar.

Las muestras fueron filtradas mediante filtros whatman N1 lo que impidió el paso de impurezas en la solución y así la obtención de resultados más exactos.

Tabla 10. Muestra después de filtrar

Alcohol metílico	Ac cítrico	Temperaturas de maceración
139 mL	0.02%	2°C
170 mL	0.02%	25°C
175 mL	0.02%	62°C

Materiales utilizados.

- Embudos de vidrio
- Erlenmeyer
- Filtros whatman
- Vasos de precipitación

2.14.1.4 Muestras después de usar rota vapor.

Las muestras fueron sometidas a rotavapor a una temperatura de 50 °C a 150 rpm para su óptima obtención. Se obtuvo una mayor concentración de antocianinas a mayor temperatura esto quiere decir que la relación concentración/temperatura es directamente proporcional esto quiere decir a mayor temperatura mayor antocianinas.

Tabla 11. Muestra después de rotavapor

Alcohol metílico	Ac cítrico	Temperaturas de macerar
8 mL	0.02%	2°C
11 mL	0.02%	25°C
12 mL	0.02%	62°C

Materiales utilizados.

- Vasos precipitación
- Rotavapor
- Balón de rotavapor
- Erlenmeyer

2.14.1.5 Peso de filtro whatman.

El peso del filtro en la investigación varía de la cantidad de residuos que se localizaron en el filtro. El peso inicial del filtro es de 1.08 g.

Tabla 12. Muestra peso de filtro whatman

Peso de filtro Inicial	Temperatura	Peso de filtro Final	Temperatura
1,08 g	2°C	3,540 g	2°C
1,08 g	25°C	2,778 g	25°C
1,08 g	62°C	2,740 g	62°C

Se utilizaron un total de 3 filtros 1 por cada maceración.

2.14.2 Recolección de datos alcohol etílico.

La recolección de datos se los realizo utilizando una solución de alcohol etílico y los valores óptimos para la obtención de antocianinas. Se siguieron los procedimientos detallados a continuación.

2.14.2.1 Muestra al inicio de la maceración.

Para el Inicio de la recolección de datos mediante la solución de alcohol etílico se empleó una media obteniendo así que era necesario utilizar 25 g de mortiño por cada 100 mL de solución así usando un total de 62.5 g en 250 mL alcohol etílico. Se empezó el proceso de acidificación al 0.02% con ácido cítrico.

Tabla 13. Inicio maceración

Alcohol etílico	Mortiño	Mortiño total	Ac cítrico	Temperaturas de macerar
250 mL	25 g x cada 100 mL	62,5 g	0.02%	2°C
250 mL	25 g x cada 100 mL	62,5 g	0.02%	25°C
250 mL	25 g x cada 100 mL	62,5 g	0.02%	62°C

Materiales utilizados.

- Balanza analítica
- Mortero
- Pocillos de pesaje
- Vasos de precipitación

2.14.2.2 Muestra después de macerar.

Al finalizar la maceración se debe optimizar la recuperación de alcohol etílico tal cual se realizó con la obtención en alcohol metílico. Quiere decir procesar el mortiño mediante un prensado el cual permita extraer todo el metanol que en el proceso de maceración pudo ser absorbido.

La coloración obtenida en las tres diferentes temperaturas de maceración fue morado característico del mortiño.

La maceraciones se las realizo a las temperaturas indicas por 24 horas.

Tabla 14. Muestra después de macerar

Alcohol etílico	Mortiño	Mortiño total	Ac cítrico	Temperaturas de macerar	Color
274 mL	62,5 g	46.46 g	0.02%	2°C	Morado
276 mL	62,5 g	47.98 g	0.02%	25°C	Morado
286 mL	62,5 g	41.74 g	0.02%	62°C	Morado

Materiales utilizados.

- Tamiz
- Vaso de precipitación
- Mortero
- Balanza analítica

2.14.2.3 Muestra después de filtrar.

Las muestras fueron filtradas como se realizaron anteriormente mediante filtros whatman N1, lo que impidió el paso de impurezas en la solución y así la obtención de resultados más exactos.

Tabla 15. Muestra después de filtrar

Alcohol etílico	Ac cítrico	Temperaturas de macerar
230 mL	0.02%	2°C
228 mL	0.02%	25°C
220 mL	0.02%	62°C

Materiales utilizados.

- Embudos de vidrio
- Erlenmeyer
- Filtros whatman
- Vasos de precipitación

2.14.2.4 Muestra después de usar rotavapor.

Tal como se realizó en la experimentación con alcohol Metílico las muestras fueron sometidas a rotavapor a una temperatura de 50 °C a 150 rpm para su óptima obtención. Se obtuvo una mayor concentración de antocianinas a mayor temperatura esto quiere decir que la relación concentración/temperatura es directamente proporcional esto quiere decir a mayor temperatura mayor antocianinas.

Tabla 16. Muestra después de rotavapor

Alcohol etílico	Ac cítrico	Temperaturas de macerar
6 mL	0.02%	2°C
7 mL	0.02%	25°C
7 mL	0.02%	62°C

Materiales utilizados.

- Vasos precipitación
- Rotavapor
- Balón de rotavapor
- Erlenmeyer

2.14.2.5 Peso de filtro whatman

El peso del filtro en la investigación varía de la cantidad de residuos que se localizaron en el filtro. El peso inicial del filtro es de 1.08 g.

Tabla 17. Muestra peso de filtro whatman

Peso de filtro Inicial	Temperatura	Peso de filtro Final	Temperatura
1,08 g	(2°C)	1,13 g	2°C
1,08 g	25°C	2,00 g	25°C
1,08 g	62°C	2,62 g	62°C

Se utilizaron un total de 3 filtros 1 por cada maceración.

2.14.3 Recolección de datos éter

La recolección de datos se los realizo utilizando una solución de éter y los valores óptimos para la obtención de antocianinas. Se siguieron los procedimientos detallados a continuación.

2.14.3.1 Muestra al inicio de la maceración.

Para el Inicio de la recolección de datos mediante la solución de éter se empleó una media obteniendo así que era necesario utilizar 25 r de mortíño por cada 100 mL de solución así usando un total de 62.5 g en 250 mL de éter. Se empezó el proceso de acidificación al 0.02% con ácido cítrico.

Tabla 18. Inicio maceración

Éter	Mortíño	Mortíño total	Ac cítrico	Temperaturas de macerar
250 mL	25 g x cada 100 mL	62,5 g	0.02%	2°C
250 mL	25 g x cada 100 mL	62,5 g	0.02%	25°C
250 mL	25 g x cada 100 mL	62,5 g	0.02%	62°C

Materiales utilizados.

- Balanza analítica
- Mortero
- Pocillos de pesaje
- Vasos de precipitación

2.14.3.2 Muestra después de macerar.

Al finalizar la maceración se debe optimizar la recuperación de éter tal cual se realizó en las anteriores experimentaciones. Quiere decir procesar el mortíño mediante un prensado el cual permita extraer todo el metanol que en el proceso de maceración pudo ser absorbido.

Las coloraciones obtenidas de antocianinas son totalmente diferentes ya que dependen de la temperatura de maceración.

Las maceraciones de 2 ° C y de 25 ° C se manejaron con total normalidad pero debido a que la temperatura de ebullición del éter es de 37°C solo se pudo exponer la muestra a 62°C por 6 horas así perdiendo un 8% de la muestra la cual era de 230 mL obtenida antes de macerar.

Tabla 19. Muestra después de macerar

Éter	Mortioño	Mortioño total	Ac cítrico	Temperaturas de macerar	Color
180 mL	62,5 g	53.74 g	0.02%	2°C	Amarillo
20 mL	62,5 g	52.10 g	0.02%	25°C	Azul
217 mL	62,5 g	51.45 g	0.02%	62°C	Amarillo

Materiales utilizados.

- Tamiz
- Vaso de precipitación
- Mortero
- Balanza analítica

2.14.3.3 Muestra después de filtrar

Las muestras fueron filtradas como se realizaron anteriormente mediante filtros whatman N1 lo que impidió el paso de impurezas en la solución y así la obtención de resultados más exactos.

Tabla 20. Muestra después de filtrar

Éter	Ac cítrico	Temperaturas de macerar
144 mL	0.02%	2°C
152 mL	0.02%	25°C
162 mL	0.02%	62°C

En la experimentación con éter se puede apreciar que la muestra obtenida es menor que las otras experimentaciones esto debido a que el éter es una solución fácilmente volátil y también impidió que se realice un filtrado exitoso ya que obstruyó los poros del filtro whatman.

Materiales utilizados.

- Embudos de vidrio
- Erlenmeyer
- Filtros whatman
- Vasos de precipitación

2.14.3.4 Muestra después de rotavapor.

Tal como se realizó en las experimentaciones nombradas las muestras fueron sometidas a rotavapor a una temperatura de 50 °C a 150 rpm para su óptima obtención. Se obtuvo una mayor concentración de antocianinas a mayor temperatura esto quiere decir que la relación concentración/temperatura es directamente proporcional esto quiere decir a mayor temperatura mayor antocianinas. Cabe recalcar que el uso de rotavapor consumió casi en su totalidad el éter lo que causó que el proceso no pueda concluirse y quede en un 90%.

Tabla 21. Muestra después de rotavapor

Éter	Ac cítrico	Temperaturas de macerar
3 mL	0.02%	2°C
3 mL	0.02%	25°C
4 mL	0.02%	62°C

Materiales utilizados.

- Vasos precipitación
- Rotavapor
- Balón de rotavapor
- Erlenmeyer

2.14.3.5 Peso filtro whatman.

El peso del filtro en la investigación varía de la cantidad de residuos que se localizaron en el filtro. El peso inicial del filtro es de 1.08 g.

En el caso de éter se obtuvo grandes cantidades de residuos comparando con las otras experimentaciones, se utilizaron en total 9 filtros el triple de las anteriores experimentaciones.

Tabla 22. Muestra peso de filtro whatman

Peso de filtro Inicial	Temperatura	Peso de filtro Final	Temperatura
1,08 g	2°C	12,6 g	2°C
1,08 g	25°C	9,16 g	25°C
1,08 g	62°C	8,22 g	62°C

3 ANÁLISIS, RESULTADOS E INTERPRETACIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos en la actual investigación difieren unos de otros considerando las diferentes variables que fueron aplicadas entre las cuales destacan las soluciones, las horas de maceración, la temperatura de maceración.

3.1 Resultados y análisis e interpretación de datos alcohol metílico

Efectos estimados para Antocianinas

Tabla 23. Efectos estimados para antocianinas

Efecto	Estimado	Int. Confianza	V.I.F.
Promedio	12.87	+/- 3.33838	
A:Temperatura	4.86	+/- 3.50222	1.02
B:Tiempo	-7.19	+/- 3.5178	1.01
AA	2.84	+/- 6.47326	1.02
AB	-4.17	+/- 4.25093	1.01
BB	-13.61	+/- 6.06603	1.00
Bloque	-1.75	+/- 4.95289	1.50
Bloque	-1.91	+/- 4.95289	1.50
Bloque	3.90	+/- 4.95289	1.50

Intervalos de confianza del 95.0 de confianza (intervalos) basados en el error total con 27 g.l. ($t = 2.05183$)

La tabla 23 muestra las estimaciones para cada uno de los efectos estimados y las interacciones. Igualmente se muestran los intervalos de confianza del 95.0% para los estimados. Note también que el factor de inflación de varianza (V.I.F.) más grande, es igual a 1.5

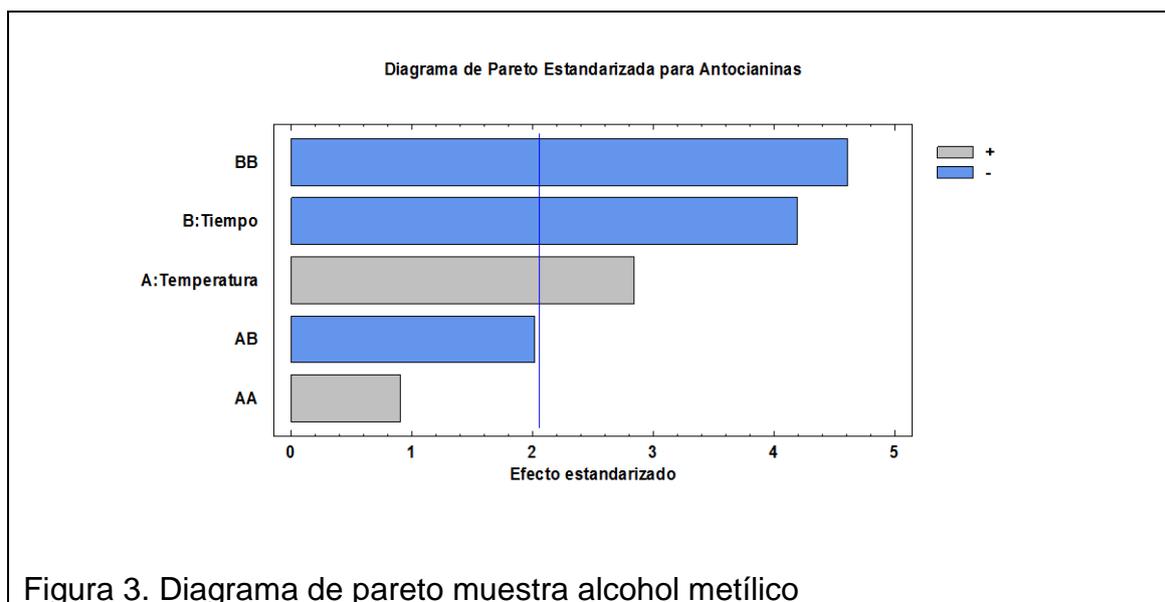


Tabla 24. Análisis de varianza para antocianinas muestra alcohol metílico

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	141.51	1	141.51	8.10	0.01
B:Tiempo	307.71	1	307.71	17.60	0.00
AA	14.17	1	14.17	0.81	0.38
AB	70.94	1	70.94	4.06	0.05
BB	370.62	1	370.62	21.20	0.00
Bloques	49.48	3	16.49	0.94	0.43
Error total	471.97	27	17.48		
Total (corr.)	1416.76	35			

R-cuadrada = 66.6863 por ciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 56.8156 por ciento

Error estándar del est. = 4.18097 por ciento

Error absoluto medio = 2.57634 por ciento

Estadístico Durbin-Watson = 1.77435 (P=0.0959)

Autocorrelación residual de Lag 1 = 0.100937

La tabla 24 ANOVA particiona la variabilidad de Antocianinas en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 3 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 66.6863% de la variabilidad en Antocianinas. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 56.8156%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 4.18097. El error medio absoluto (MAE) de 2.57634 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

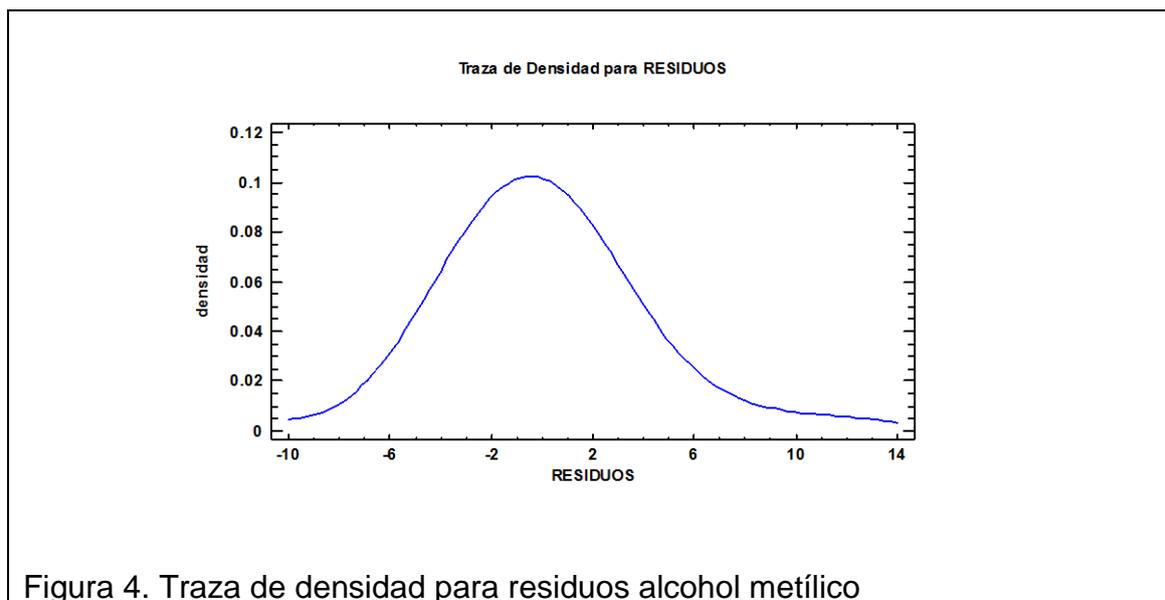


Tabla 25. Pruebas de normalidad para residuos

<i>Prueba</i>	<i>Estadístico</i>	<i>Valor-P</i>
Chi-Cuadrado	14.6667	0.3286220
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.926559	0.0240367

En la tabla 25 se muestra los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Residuos puede modelarse adecuadamente con una distribución normal. La prueba de chi-cuadrada divide el rango de Residuos en 16 clases igualmente probables y compara el número de observaciones en cada clase con el número esperado de observaciones. La prueba de Shapiro-Wilk está basada en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada a los datos.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es menor a 0.05, se puede rechazar la idea de que Residuos proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

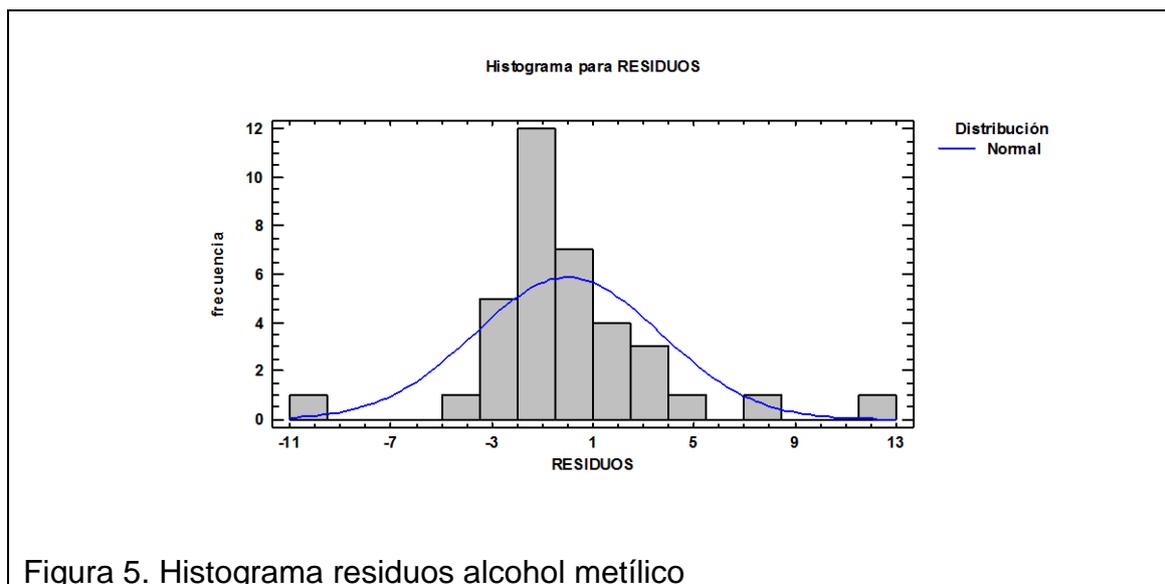


Tabla 26. Pruebas de bondad-de-ajuste para residuos

	<i>Normal</i>
DMAS	0.138601
DMENOS	0.117137
DN	0.138601
Valor-P	0.505533

En la tabla 26 se muestra los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Residuos puede modelarse adecuadamente con una distribución normal.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor ó igual a 0.05, no se puede rechazar la idea de que Residuos proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

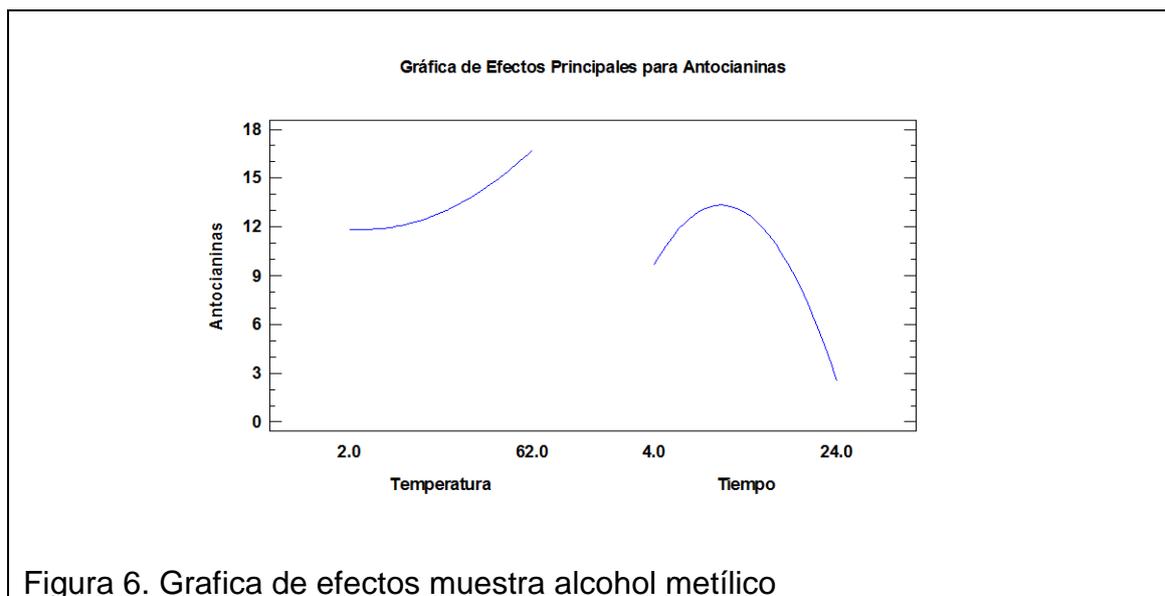


Tabla 27. Coeficiente de regresión para antocianinas muestra alcohol metílico

Coeficiente	Estimado
Constante	0.47
A:Temperatura	0.08
B:Tiempo	1.77
AA	0.00
AB	-0.01
BB	-0.07

La tabla 27 despliega la ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Antocianinas} = 0.473943 + 0.0773323 \cdot \text{Temperatura} + 1.76872 \cdot \text{Tiempo} + 0.00157796 \cdot \text{Temperatura}^2 - 0.00695578 \cdot \text{Temperatura} \cdot \text{Tiempo} - 0.0680641 \cdot \text{Tiempo}^2$$

En donde los valores de las variables están especificados en sus unidades originales

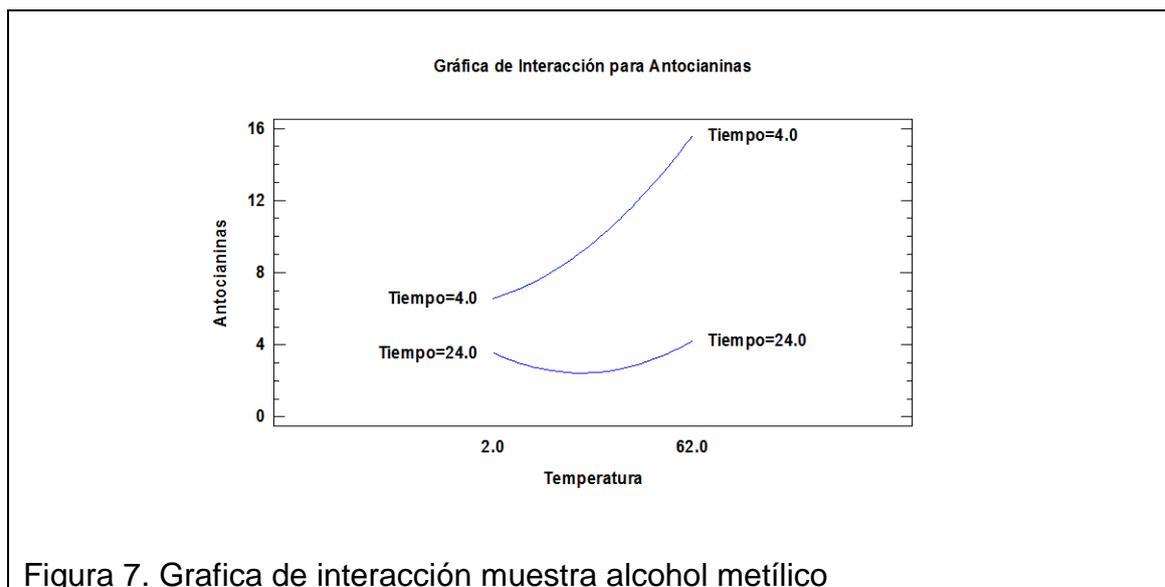


Tabla 28. Matriz de correlación para los efectos estimados muestra alcohol metílico

		(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
(1)	Promedio	1.00	0.13	0.00	-0.67	0.00	-0.61	0.00	0.00	0.00
(2)	A:Temperatura	0.13	1.00	0.00	-0.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(3)	B:Tiempo	0.00	0.00	1.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00
(4)	AA	-0.67	-0.13	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(5)	AB	0.00	0.00	0.09	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(6)	BB	-0.61	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
(7)	Bloque	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	-0.33	-0.33
(8)	Bloque	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.33	1.00	-0.33
(9)	Bloque	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.33	-0.33	1.00

La tabla 28 muestra el grado de confusión entre los efectos. Un diseño perfectamente ortogonal mostrará una matriz diagonal con 1's en la diagonal y 0's fuera de ella. Cualquier término distinto de cero implica que los estimados de los efectos correspondientes a esa fila y columna estarán correlacionados. En este caso, hay 5 pares de efectos con interacción distinta de cero. No obstante, como ninguna es mayor o igual que 0.5, probablemente será capaz de interpretar los resultados sin mucha dificultad.

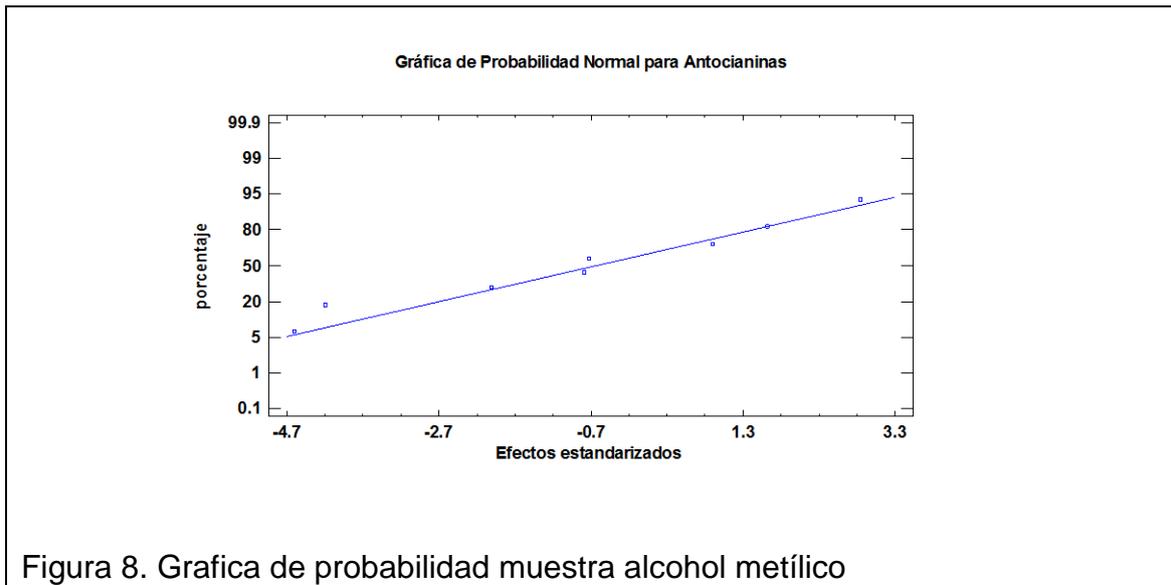


Tabla 29. Resultados estimados para antocianinas muestra alcohol metílico

	<i>Observados</i>	<i>Ajustados</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
<i>Fila</i>	<i>Valores</i>	<i>Valores</i>	<i>para Media</i>	<i>para Media</i>
1	6.94	6.44	1.95	10.94
2	9.40	8.56	4.50	12.62
3	12.42	15.47	10.82	20.12
4	13.94	11.74	7.70	15.78
5	11.17	12.26	8.21	16.30
6	19.71	16.60	12.55	20.64
7	1.60	3.42	-1.07	7.92
8	0.61	2.34	-1.72	6.40
9	5.15	4.11	-0.54	8.75
10	10.23	5.69	1.20	10.19
11	11.66	7.81	3.75	11.87
12	13.27	14.72	10.07	19.37
13	8.35	10.99	6.94	15.03
14	14.88	11.51	7.46	15.55
15	11.33	15.84	11.80	19.89
16	1.62	2.67	-1.82	7.17
17	0.92	1.59	-2.47	5.65
18	1.92	3.35	-1.29	8.00
19	8.07	5.61	1.12	10.10
20	5.78	7.73	3.67	11.79
21	13.21	14.64	9.99	19.29
22	9.06	10.91	6.86	14.95
23	12.15	11.43	7.38	15.47
24	17.34	15.76	11.72	19.81
25	1.92	2.59	-1.90	7.08
26	1.92	1.51	-2.55	5.57
27	3.99	3.27	-1.37	7.92
28	5.05	8.52	4.02	13.01
29	9.42	10.64	6.58	14.69
30	17.92	17.55	12.90	22.19
31	3.92	13.81	9.77	17.86
32	14.95	14.33	10.29	18.38
33	27.04	18.67	14.63	22.71
34	17.18	5.50	1.00	9.99
35	1.25	4.42	0.36	8.47
36	2.87	6.18	1.53	10.83

La tabla 29 contiene información acerca de los valores de Antocianinas generados usando el modelo ajustado. La tabla incluye:

- (1) los valores observados de Antocianinas (si alguno)
- (2) el valor predicho de Antocianinas usando el modelo ajustado
- (3) intervalos de confianza del 95.0% para la respuesta media

Cada ítem corresponde a los valores de los factores experimentales en una fila específica de su archivo de datos.

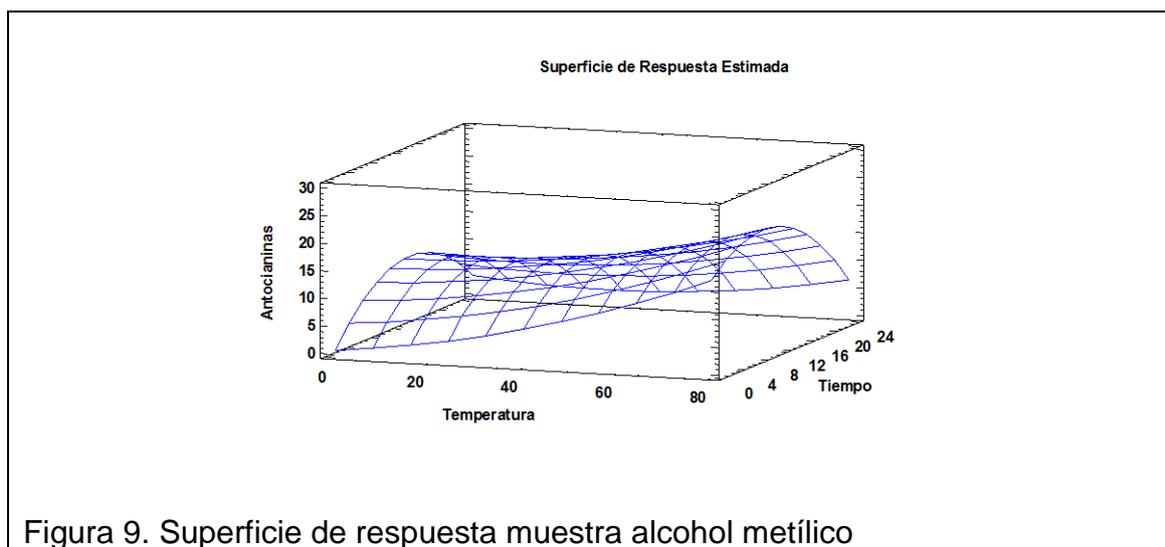
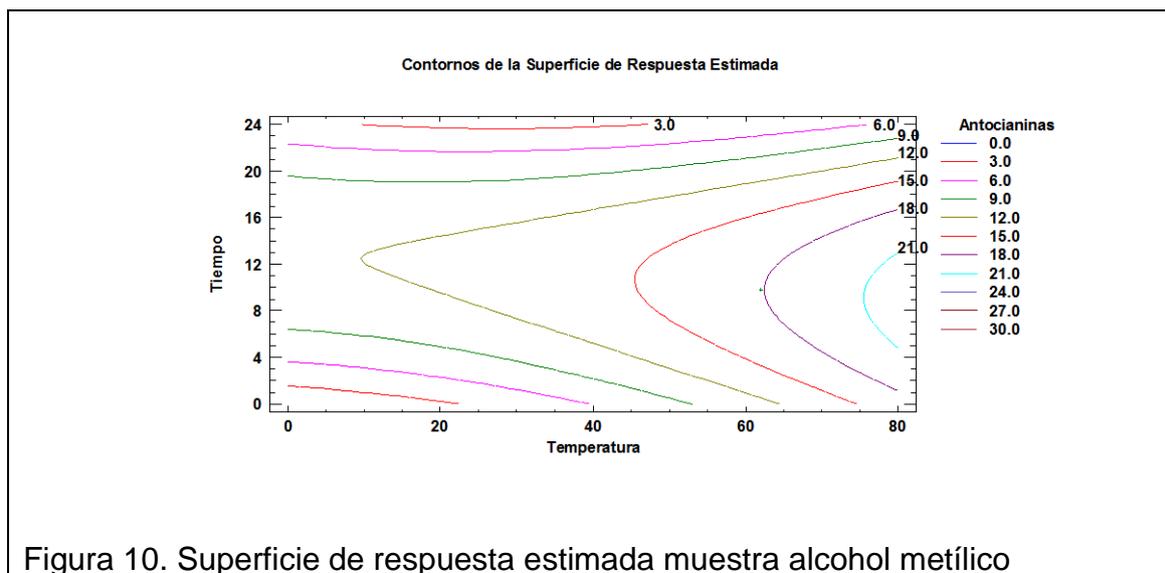


Figura 9. Superficie de respuesta muestra alcohol metílico

Tabla 30. Camino de máximo ascenso para antocianinas muestra alcohol metílico

		<i>Predicción para</i>
<i>Temperatura</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Antocianinas</i>
32.0	14.00	12.87
33.0	13.56	13.10
34.0	13.21	13.29
35.0	12.92	13.46
36.0	12.67	13.61
37.0	12.47	13.76

La tabla 30 despliega el trayecto de máximo ascenso (o descenso). Este es el trayecto, desde el centro de la región experimental actual, a través del cual la respuesta estimada cambia más rápidamente con un cambio menor en los factores experimentales. Indica buenas características para ejecutar experimentos adicionales si el objetivo es incrementar o decrementar Antocianinas. Actualmente, 6 puntos se han generado cambiando Temperatura en incrementos de 1.0. .



Optimizar Respuesta

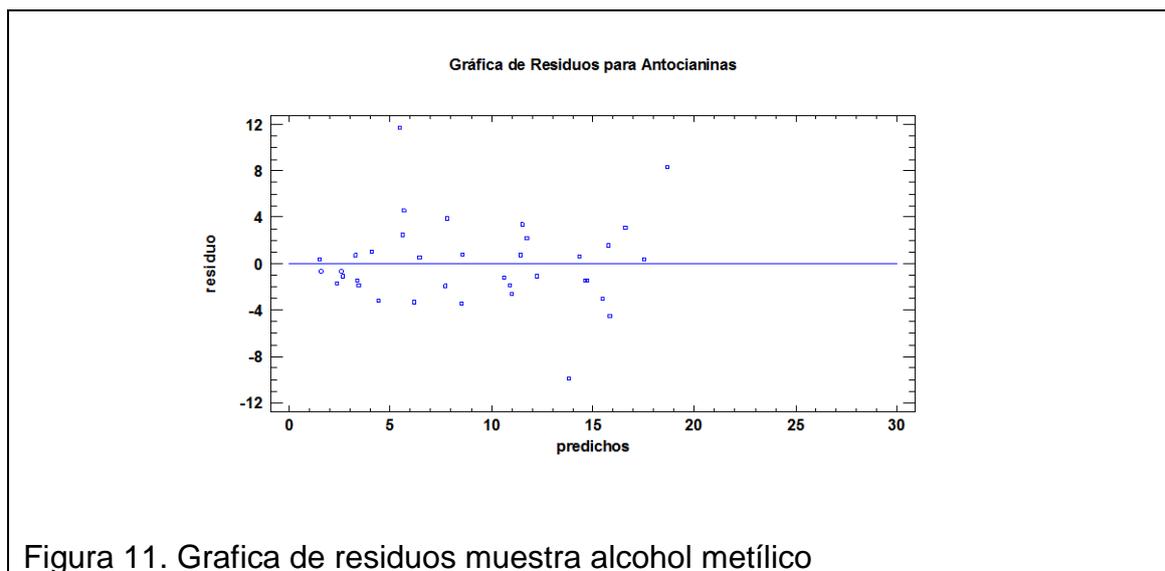
Meta: maximizar Antocianinas

Valor óptimo = 17.9045

Tabla 31. Optimizar respuesta muestra alcohol metílico

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	2.0	62.0	62.0
Tiempo	4.0	24.0	9.82

Esta tabla 31 muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza Antocianinas sobre la región indicada



3.1.1 Alcohol metílico a las 4 horas de maceración.

En la interpretación de datos del alcohol metílico a las 4 horas de maceración se incluyen las temperaturas de maceración a las cuales se realizó la investigación las cuales fueron a 2°C, 25°C y 62°C. Tomando en cuenta las prueba base y sus 3 repeticiones.

Tabla 32. Alcohol metílico a las 4 horas de maceración a 2°C

Muestra 2°C	Contenido de antocianina
	6.94
1	10.23
2	8.07
3	5.05

En la muestra a 2°C podemos ver que la primera repetición realiza es la que más antocianina contiene más que la prueba base realizada.

La primera repetición contiene un máximo de 10.23 mg/L superando casi en su doble a la prueba base con un contenido de 6.94 mg/L, seguido de la segunda repetición con 8.07 mg/L y finalizando con la tercera repetición con un total de 5.05 mg/L de antocianinas.

La investigación detallas que el pico máximo está en su primera repetición, seguido por la segunda repetición, en tercer lugar encontramos la prueba base y al final podemos encontrar la tercera repetición.

Tabla 33. Alcohol metílico a las 4 horas de maceración a 25°C

Muestra 25°C	Contenido de antocianina
	9.40
1	11.66
2	5.78
3	9.42

En la muestra a 25°C se puede visualizar que al igual que la muestra a 2°C el contenido máximo de antocianinas está ubicado en la primera repetición con un pico máximo de 11.66 mg/L superando no por mucho a la muestra base de 9.40 mg/L. En esta muestra podemos ver que la primera repetición se mantiene con el pico más alto, seguida de la prueba base, en tercer lugar tenemos a la tercera repetición y finalizando con la segunda repetición la cual tiene un total de 5.78 mg/L de antocianina.

Tabla 34. Alcohol metílico a las 4 horas de maceración a 62°C

Muestra 62°C	Contenido de antocianina
	12.42
1	13.27
2	13.21
3	17.92

En la muestra a 62°C se puede corroborar que se tienen los valores más altos de antocianinas con un pico de 17.92 mg/L esto debido a la temperatura a la cual se realizó esta experimentación ya que a mayor temperatura más cantidad de antocianina puede ser obtenida. El pico más alto obtenido fue en la tercera repetición donde se pudo obtener un máximo de 17.91 mg/L, seguido de la primera repetición con 13.27 mg/L, en tercer lugar la segunda repetición con 13.21 mg/L y al final la prueba base con 12.42 mg/L.

3.1.2 Alcohol metílico a las 14 horas de maceración.

En la interpretación de datos del alcohol metílico a las 14 horas de maceración se incluyen las temperaturas de maceración tal como se realizaron en la maceración a 4 horas las cuales fueron a 2°C, 25°C y 62°C. Tomando en cuenta las prueba base y sus 3 repeticiones.

Tabla 35. Alcohol metílico a las 14 horas de maceración a 2°C

Muestra 2°C	Contenido de antocianina
	13.94
1	8.35
2	9.06
3	3.92

En la muestra a 2°C se puede constatar que el pico más alto de antocianinas lo tiene la muestra base con 13.94 mg/L. Las repeticiones mantienen rangos similares una de otra pero se mantienen por debajo del valor de la muestra base.

La segunda repetición mantiene el segundo lugar con 9.06 mg/L seguida de la primera repetición con 8.35 mg/L y al final con la concentración más baja esta la tercera repetición con un total de 3.92 mg/L.

Tabla 36. Alcohol metílico a las 14 horas de maceración a 25°C

Muestra 25°C	Contenido de antocianina
	11.17
1	14.88
2	12.15
3	14.95

En la muestra a 25°C se pudo obtener valores en rangos similares tanto de la muestra base como de sus repeticiones.

El pico más alto encontrado fue de la tercera repetición con 14.95 mg/L, en segundo lugar esta la primera repetición con 14.88 mg/L, en tercer lugar tenemos la segunda repetición con 12.15 mg/L y al final con el menor valor esta la muestra base con 11.17 mg/L. Esto quiere decir que al realizar la tercera repetición las antocianinas se manifiestan de una mejor manera demostrando una mayor concentración.

Tabla 37. Alcohol metílico a las 14 horas de maceración a 62°C

Muestra 62°C	Contenido de antocianina
	19.71
1	11.33
2	17.34
3	27.04

En la muestra a 62°C los valores obtenidos varían en comparación a la muestra de 25°C pero manteniendo el pico en la tercera repetición.

Los valores siguen el siguiente orden el pico más alto está en la tercera repetición con 27.04 mg/L, seguido de la muestra base con 19.71 mg/L, a continuación la segunda repetición con 17.34 mg/L y al final la primera repetición con 11.33 mg/L.

3.1.3 Alcohol metílico a las 24 horas de maceración

En la interpretación de datos del alcohol metílico a las 24 horas de maceración se incluyen las temperaturas de maceración tal como se realizaron en la maceración a 4 horas y a 14 horas las cuales fueron a 2°C, 25°C y 62°C. Tomando en cuenta las prueba base y sus 3 repeticiones.

Tabla 38. Alcohol metílico a las 24 horas de maceración a 2°C

Muestra 2°C	Contenido de antocianina
	1.60
1	1.62
2	1.92
3	17.18

En la muestra a 2°C la muestra base y las repeticiones 1 y 2 mantienen valores similares a diferencia de la tercera repetición la cual mantiene el pico más alto con un valor de 17.18 mg/L, seguido por la segunda repetición con 1.92 mg/L, seguida de la primera repetición con 1.62 mg/L y finalizando con la muestra base que contiene una concentración de 1.60 mg/L.

Tabla 39. Alcohol metílico a las 24 horas de maceración a 25°C

Muestra 25°C	Contenido de antocianina
	0.61
1	0.92
2	0.52
3	1.25

En la muestra a 25°C la concentración de antocianinas se mantiene en rangos similares tanto la muestra base como las repeticiones. El pico más alto encontrado es la tercera repetición con una concentración de 1.52 mg/L, seguida de la primera repetición con una concentración de 0.92 mg/L, seguida de la muestra base con una concentración de 0.61 mg/L y al finalizar con la segunda repetición con 0.52 mg/L.

Tanto en la muestra a 2°C como a 25°C los picos más altos se encuentran en la tercera repetición, quiere decir que la mayor manifestación de antocianinas se da al realizar la tercera repetición.

Tabla 40. Alcohol metílico a las 24 horas de maceración a 62°C

Muestra 62°C	Contenido de antocianina
	5.15
1	1.92
2	3.99
3	2.87

En la muestra a 62°C se puede observar que los resultados no mantienen el orden que mantienen la muestra de 2 ° C y 25 ° C las cuales mantiene la tercera repetición como el pico más alto.

En la muestra a 62°C el pico más alto se lo puede encontrar en la muestra base con una concentración de antocianinas de 5.15 mg/L, seguida de la segunda repetición con 3.99 mg/L, seguido de la tercera repetición con 2.87 mg/L y finalizando con el pico más bajo la primera repetición con una concentración de 1.92 mg/L.



Figura 12. Proceso de filtrado muestra alcohol metílico

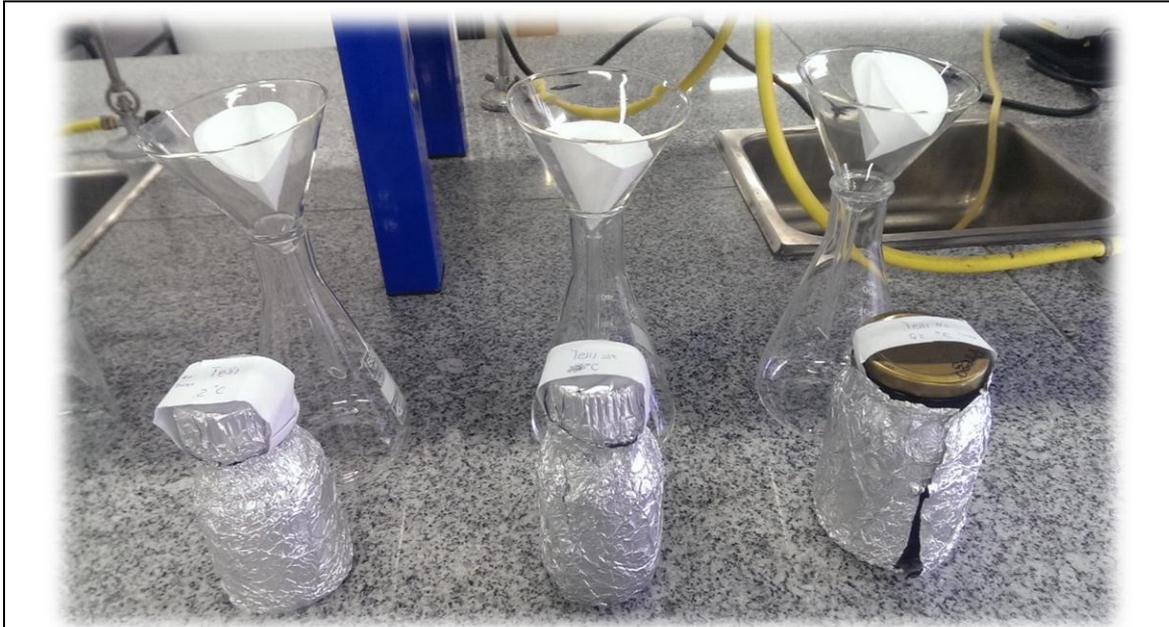


Figura 13. Muestras antes de filtrar muestra alcohol metílico



Figura 14. Filtros whatman después de filtrar muestra alcohol metílico

3.2 Análisis e interpretación de datos alcohol etílico

Tabla 41. Efectos estimados para antocianinas muestra alcohol etílico

Efecto	Estimado	Error Estd.	V.I.F.
Promedio	1.28	0.75	
A:Temperatura	-0.80	0.79	1.02
B:Tiempo	2.13	0.79	1.01
AA	-0.59	1.46	1.02
AB	-2.01	0.96	1.01
BB	2.16	1.37	1.00
Bloque	-0.29	1.12	1.50
Bloque	0.91	1.12	1.50
Bloque	-0.74	1.12	1.50

Errores estándar basados en el error total con 27 g.l.

En la tabla 41 muestra las estimaciones para cada uno de los efectos estimados y las interacciones. También se muestra el error estándar de cada uno de estos efectos, el cual mide su error de muestreo. Note también que el factor de inflación de varianza (V.I.F.) más grande, es igual a 1.5

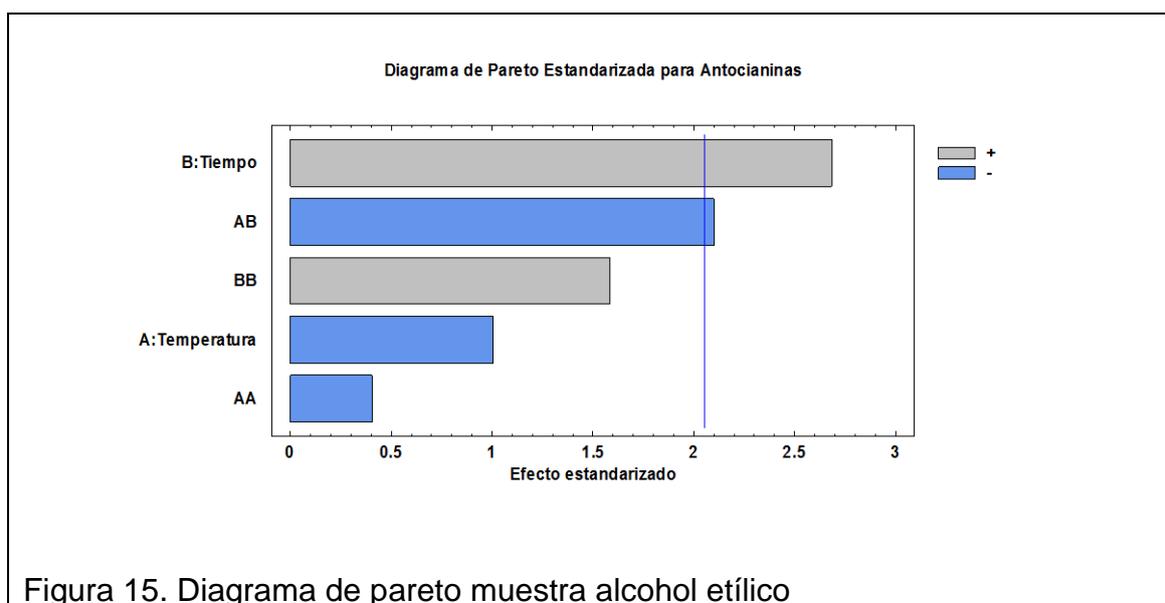


Figura 15. Diagrama de pareto muestra alcohol etílico

Tabla 42. Análisis de varianza para antocianinas muestra alcohol étílico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	3.79	1.00	3.79	1.01	0.32
B:Tiempo	26.93	1.00	26.93	7.19	0.01
AA	0.61	1.00	0.61	0.16	0.69
AB	16.47	1.00	16.47	4.40	0.05
BB	9.36	1.00	9.36	2.50	0.13
Bloques	3.32	3.00	1.11	0.30	0.83
Error total	101.07	27.00	3.74		
Total (corr.)	166.43	35.00			

R-cuadrada = 39.2715 porciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 21.2779 porciento

Error estándar del est. = 1.93476

Error absoluto medio = 1.20994

Estadístico Durbin-Watson = 2.53204 (P=0.8096)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.276098

La tabla 42 ANOVA particiona la variabilidad de Antocianinas en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 2 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 39.2715% de la variabilidad en Antocianinas. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 21.2779%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 1.93476. El error medio absoluto (MAE) de 1.20994 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

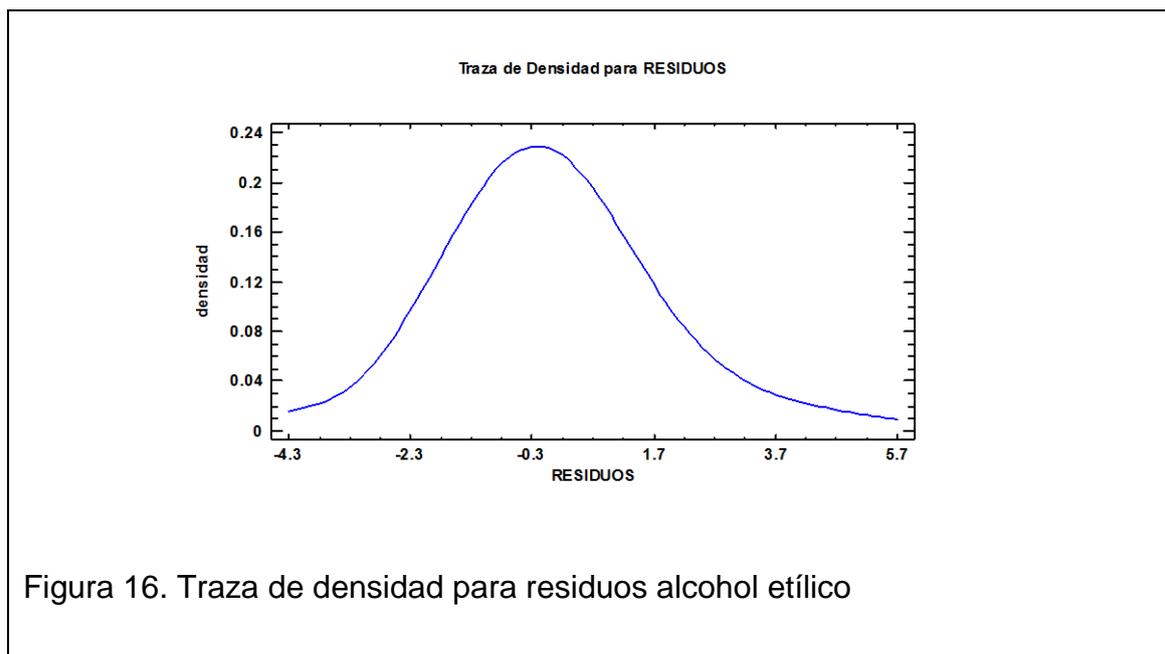


Figura 16. Traza de densidad para residuos alcohol etílico

Tabla 43. Pruebas de normalidad para residuos

<i>Prueba</i>	<i>Estadístico</i>	<i>Valor-P</i>
Chi-Cuadrado	10.2222	0.675669
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.954074	0.184822

En la tabla 43 se muestra los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Residuos puede modelarse adecuadamente con una distribución normal. La prueba de chi-cuadrada divide el rango de Residuos en 16 clases igualmente probables y compara el número de observaciones en cada clase con el número esperado de observaciones. La prueba de Shapiro-Wilk está basada en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada a los datos.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor ó igual a 0.05, no se puede rechazar la idea de que Residuos proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

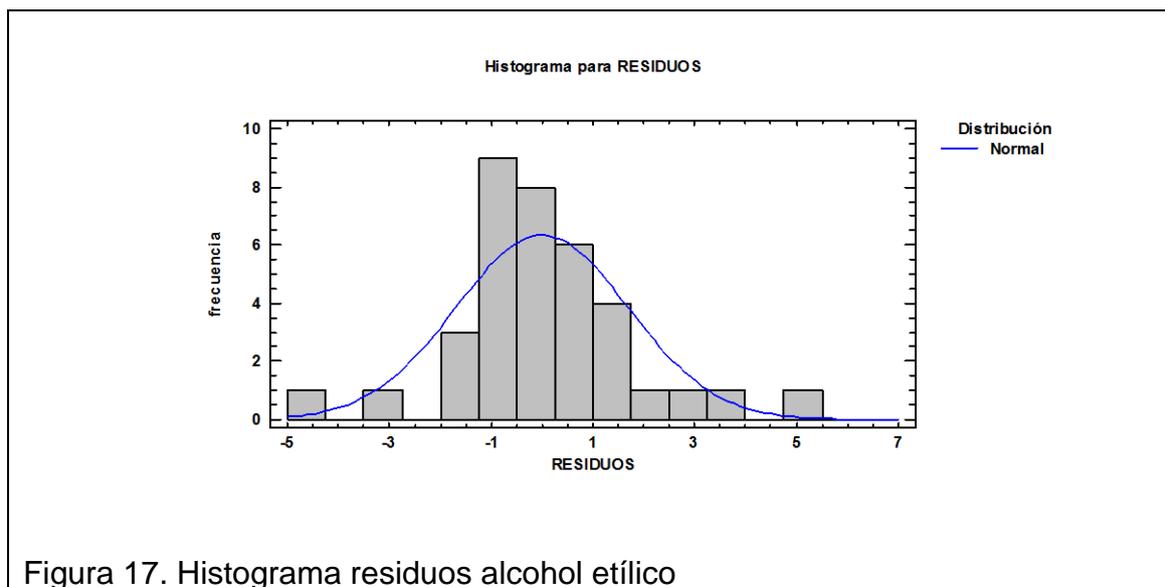


Tabla 44. Pruebas de bondad-de-ajuste para residuos

	<i>Normal</i>
DMAS	0.107889
DMENOS	0.104256
DN	0.107889
Valor-P	0.796129

En la tabla 44 muestra los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Residuos puede modelarse adecuadamente con una distribución normal.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor ó igual a 0.05, no se puede rechazar la idea de que Residuos proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

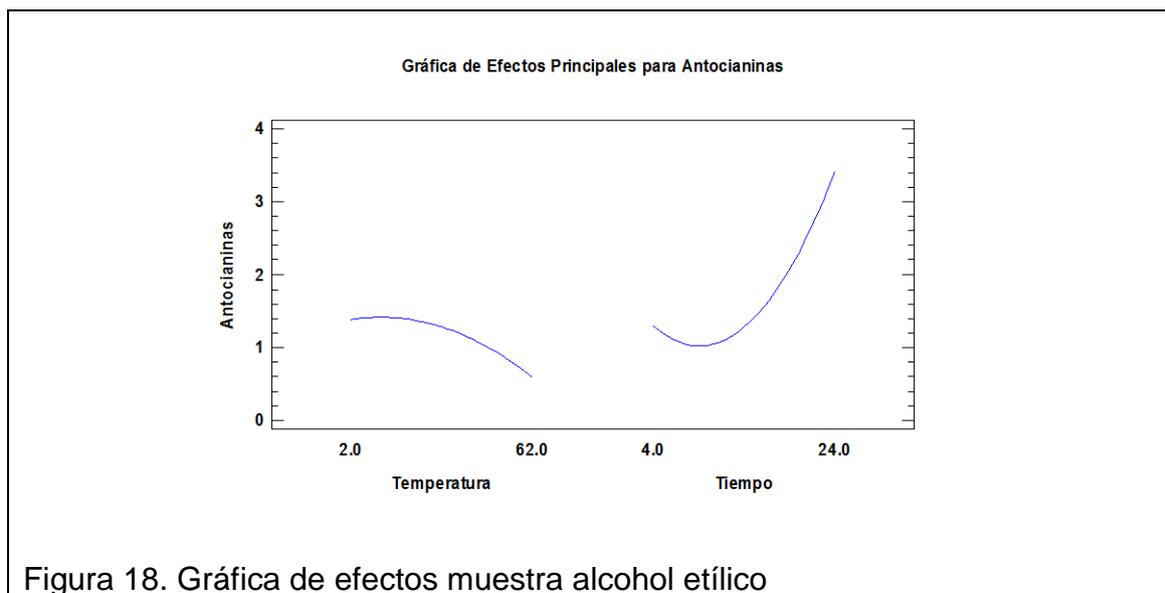


Tabla 45. Coeficiente de regresión para antocianinas muestra alcohol etílico

Coeficiente	Estimado
Constante	0.50
A: Temperatura	0.05
B: Tiempo	-0.09
AA	0.00
AB	0.00
BB	0.01

La tabla 45 se despliega la ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Antocianinas} = 0.499245 + 0.0546772 \cdot \text{Temperatura} - 0.0892842 \cdot \text{Tiempo} - 0.000328354 \cdot \text{Temperatura}^2 - 0.00335122 \cdot \text{Temperatura} \cdot \text{Tiempo} + 0.0108184 \cdot \text{Tiempo}^2$$

En donde los valores de las variables están especificados en sus unidades originales.

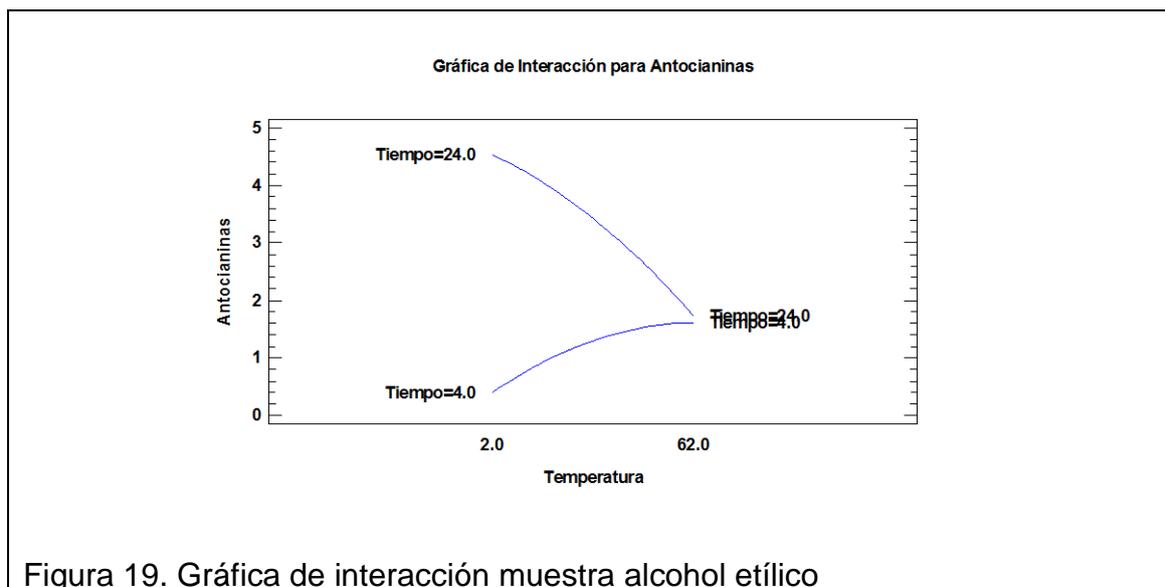


Tabla 46. Matriz de correlación para los efectos estimados muestra alcohol etílico

		(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
(1)	Promedio	1.00	0.13	0.00	-0.67	0.00	-0.61	0.00	0.00	0.00
(2)	A:Temperatura	0.13	1.00	0.00	-0.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(3)	B:Tiempo	0.00	0.00	1.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00
(4)	AA	-0.67	-0.13	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(5)	AB	0.00	0.00	0.09	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(6)	BB	-0.61	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
(7)	Bloque	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	-0.33	-0.33
(8)	Bloque	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.33	1.00	-0.33
(9)	Bloque	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.33	-0.33	1.00

La matriz de correlación La tabla 46 muestra el grado de confusión entre los efectos. Un diseño perfectamente ortogonal mostrará una matriz diagonal con 1's en la diagonal y 0's fuera de ella. Cualquier término distinto de cero implica que los estimados de los efectos correspondientes a esa fila y columna estarán correlacionados. En este caso, hay 5 pares de efectos con interacción distinta de cero. No obstante, como ninguna es mayor o igual que 0.5, probablemente será capaz de interpretar los resultados sin mucha dificultad.

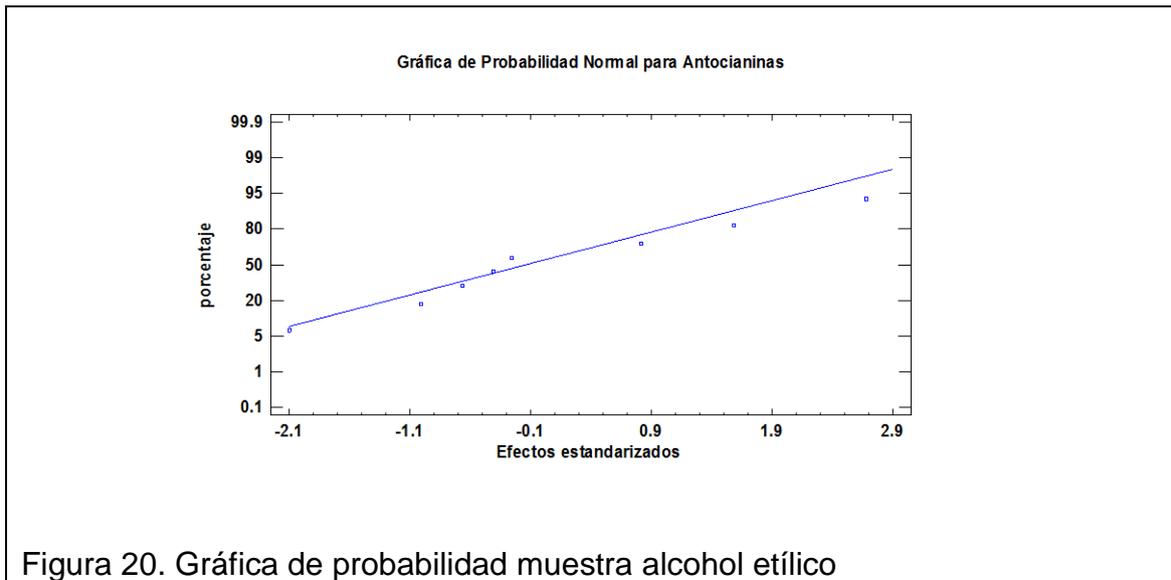


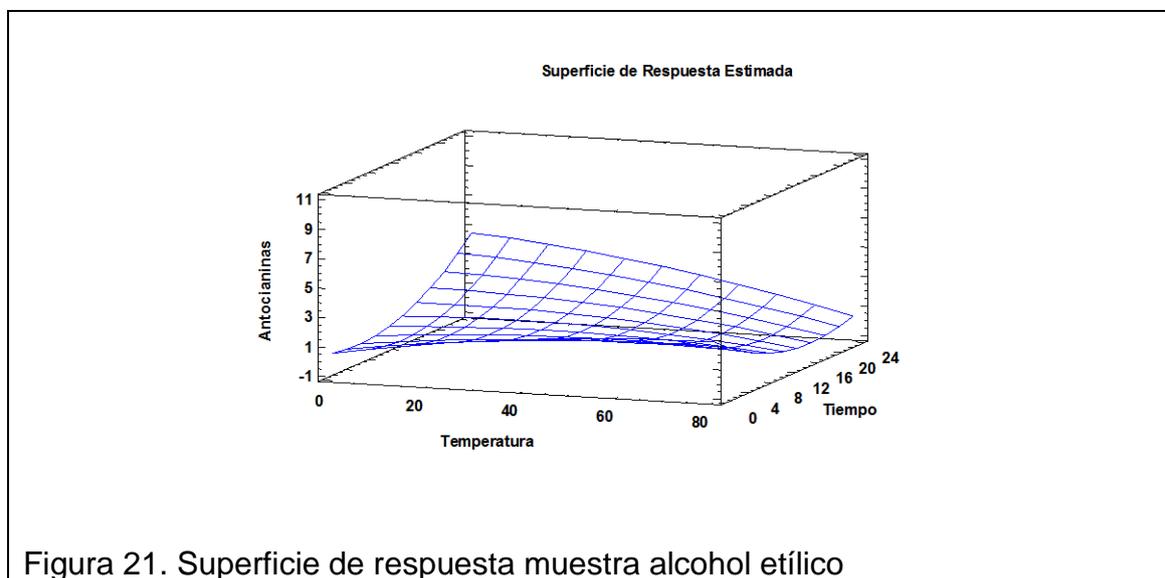
Tabla 47. Resultados estimados para antocianinas muestra alcohol etílico

	Observados	Ajustados	Inferior 95.0%	Superior 95.0%
Fila	Valores	Valores	para Media	para Media
1	0.02	0.45	-1.63	2.53
2	0.17	1.20	-0.68	3.08
3	0.68	1.67	-0.48	3.82
4	4.18	1.44	-0.43	3.31
5	0.38	1.42	-0.45	3.29
6	0.50	0.65	-1.22	2.52
7	4.00	4.59	2.51	6.67
8	6.07	3.80	1.92	5.67
9	1.02	1.79	-0.36	3.94
10	0.56	0.25	-1.83	2.33
11	0.37	1.00	-0.88	2.88
12	2.84	1.47	-0.68	3.62
13	0.45	1.24	-0.63	3.11
14	0.81	1.22	-0.66	3.09
15	1.56	0.45	-1.43	2.32
16	0.14	4.39	2.31	6.47
17	6.90	3.60	1.72	5.47
18	1.58	1.59	-0.56	3.74
19	0.59	0.85	-1.23	2.93
20	2.42	1.60	-0.28	3.48
21	0.45	2.07	-0.08	4.22
22	0.63	1.84	-0.03	3.71
23	0.97	1.81	-0.06	3.69
24	1.06	1.04	-0.83	2.92
25	10.12	4.99	2.91	7.07
26	3.92	4.19	2.32	6.07
27	0.42	2.18	0.03	4.34
28	0.54	0.03	-2.05	2.11
29	1.91	0.77	-1.11	2.65
30	2.06	1.24	-0.91	3.39
31	1.28	1.01	-0.86	2.88
32	0.68	0.99	-0.88	2.86
33	0.84	0.22	-1.65	2.09
34	2.78	4.16	2.08	6.24
35	0.35	3.37	1.49	5.25
36	2.72	1.36	-0.79	3.51

La tabla 47 contiene información acerca de los valores de Antocianinas generados usando el modelo ajustado. La tabla incluye:

- (1) los valores observados de Antocianinas (si alguno)
- (2) el valor predicho de Antocianinas usando el modelo ajustado
- (3) intervalos de confianza del 95.0% para la respuesta media

Cada ítem corresponde a los valores de los factores experimentales en una fila específica de su archivo de datos.

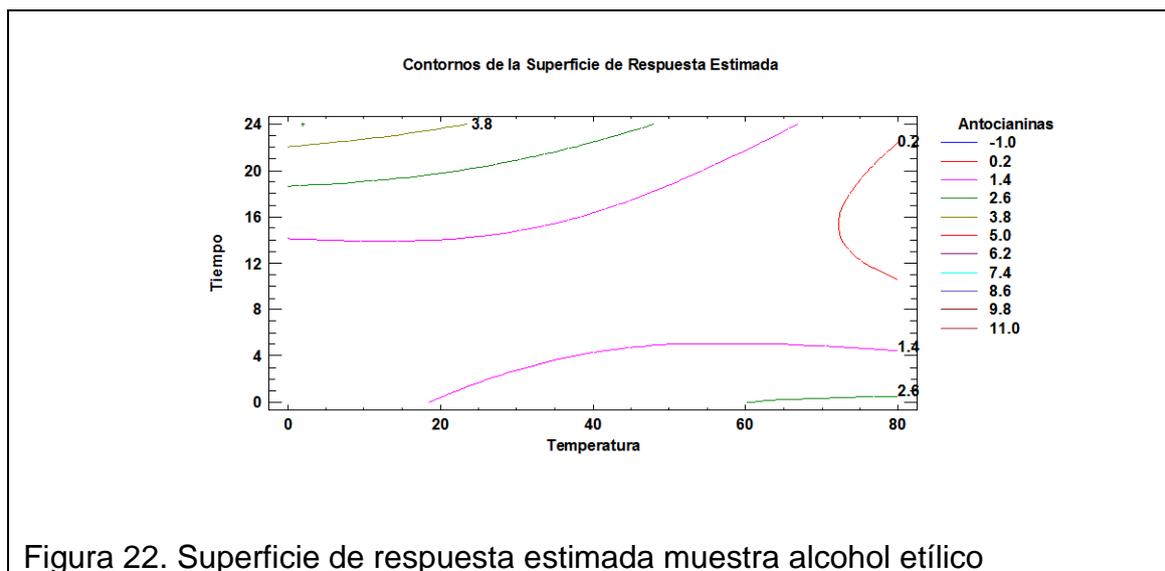


Camino de Máximo Ascenso para Antocianinas

Tabla 48. Camino de máximo ascenso para antocianinas muestra alcohol etílico

		<i>Predicción para</i>
<i>Temperatura</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Antocianinas</i>
32.0	14.00	1.28
33.0	13.13	1.19
34.0	12.30	1.12
35.0	11.56	1.07
36.0	10.95	1.04
37.0	10.52	1.03

La tabla 48 despliega el trayecto de máximo ascenso (o descenso). Este es el trayecto, desde el centro de la región experimental actual, a través del cual la respuesta estimada cambia más rápidamente con un cambio menor en los factores experimentales. Indica buenas características para ejecutar experimentos adicionales si el objetivo es incrementar o decrementar Antocianinas. Actualmente, 6 puntos se han generado cambiando Temperatura en incrementos de 1.0.



Optimizar Respuesta

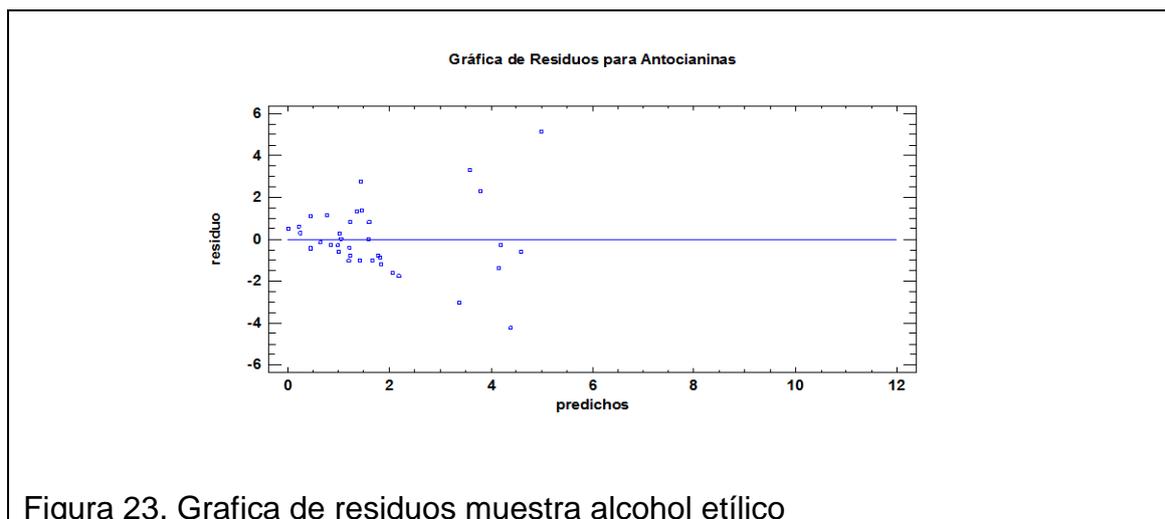
Meta: maximizar Antocianinas

Valor óptimo = 4.53503

Tabla 49. Optimizar respuesta

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	2.0	62.0	2.0
Tiempo	4.0	24.0	24.0

Esta tabla 49 muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza Antocianinas sobre la región indicada.



3.2.1 Alcohol etílico a las 4 horas de maceración.

En la interpretación de datos del alcohol etílico a las 4 horas de maceración se incluyen las temperaturas de maceración a las cuales se realizó la investigación las cuales fueron a 2°C, 25°C y 62°C. Tomando en cuenta las prueba base y sus 3 repeticiones, al igual que se realizaron en la investigación con alcohol metílico.

Tabla 50. Alcohol etílico a las 4 horas de maceración a 2°C

Muestra 2°C	Contenido de antocianinas
	0.02
1	0.56
2	0.59
3	0.54

En la muestra a 2°C podemos visualizar que las tres repeticiones realizadas mantienen rangos similares con máximos de 0.59 y mínimos de 0.54 mg/L de antocianinas. La muestra base tiene un total de 0.02 mg/L de antocianinas cantidad muy por debajo del pico mínimo de las repeticiones. El pico máximo encontrado es la segunda repetición con 0.59 mg/L, seguida de la primera repetición con 0.56 mg/L de antocianinas, seguida de la tercera repetición con 0.54 mg/L de antocianinas y finalizando con el valor más bajo el cual corresponde a la muestra base con un total de 0.02 mg/L de antocianinas.

Tabla 51. Alcohol etílico a las 4 horas de maceración a 25°C

Muestra 25°C	Contenido de antocianinas
	0.17
1	0.37
2	2.42
3	1.91

En la muestra a 25°C se puede visualizar que el pico más alto lo mantiene la segunda repetición con un valor de 2.42 mg/L de antocianina, seguida de la tercera repetición con 1.91 mg/L, seguida de la primera repetición con 0.37 mg/L y manteniendo el pico más bajo con 0.17 mg/L de antocianinas.

Tabla 52. Alcohol etílico a las 4 horas de maceración a 62°C

Muestra 62°C	Contenido de antocianinas
	0.68
1	2.84
2	0.45
3	2.06

En la muestra a 62°C se corrobora que tanto la primera y la tercera repetición mantienen valores simétricos, lo mismo tiende a suceder con la muestra base y la segunda repetición. Se puede observar que el pico más alto lo mantiene la primera repetición con 2.84 mg/L de antocianinas, seguida de la tercera repetición con 2.06 mg/L, seguida de la muestra base con 0.68 mg/L y finalizando con la segunda repetición con un total de 0.45 mg/L.

3.2.2 Alcohol etílico a las 14 horas de maceración.

En la interpretación de datos del alcohol etílico a las 14 horas de maceración se incluyen las temperaturas de maceración tal como se realizaron en la maceración a 4 horas las cuales fueron a 2°C, 25°C y 62°C. Tomando en cuenta las prueba base y sus 3 repeticiones.

Tabla 53. Alcohol etílico a las 14 horas de maceración a 2°C

Muestra 2°C	Contenido de antocianinas
	4.18
1	0.45
2	0.63
3	1.28

En la muestra a 2°C se puede corroborar que el pico máximo obtenido fue la muestra base con 4.18 mg/L de antocianinas. Las repeticiones mantienen rangos inferiores tomando en cuenta la muestra base.

La muestra base mantiene el pico máximo, seguida de la tercera repetición que tiene un total de 1.28 mg/L de antocianinas, seguida de la segunda repetición con 0.63 mg/L y finalizando con el pico más bajo esta la primera muestra con un total de 0.45 mg/L de antocianinas.

Tabla 54. Alcohol etílico a las 14 horas de maceración a 25°C

Muestra 25°C	Contenido de antocianinas
	0.38
1	0.81
2	0.97
3	0.68

En la muestra a 25°C se puede visualizar el pico máximo obtenido en la segunda repetición con un total de 0.97 mg/L, seguida de la primera repetición con un valor de 0.68 mg/L, seguida de la tercera repetición con 0.68 mg/L y finalizando con el pico más bajo de la muestra base con un total de 0.38 mg/L.

Tabla 55. Alcohol etílico a las 14 horas de maceración a 62°C

Muestra 62°C	Contenido de antocianinas
	0.50
1	1.56
2	1.06
3	0.84

En la muestra a 62°C se puede visualizar que la cantidad de antocianinas obtenida es baja. El pico más alto obtenido se encuentra en la primera repetición con un total de 1.56 mg/L, seguida de la segunda repetición con un total de 1.06 mg/L, seguida de la tercera repetición con 0.84 mg/L y finalizando con el pico más bajo la muestra base que tiene una cantidad de 0.50 mg/L.

3.2.3 Alcohol etílico a las 24 horas de maceración.

En la interpretación de datos del alcohol etílico a las 24 horas de maceración se incluyen las temperaturas de maceración tal como se realizaron en la maceración a 4 horas y a 14 horas las cuales fueron a 2°C, 25°C y 62°C. Tomando en cuenta las prueba base y sus 3 repeticiones.

Tabla 56. Alcohol etílico a las 24 horas de maceración a 2°C

Muestra 2°C	Contenido de antocianinas
	4.00
1	0.14
2	10.12
3	2.78

En la muestra a 2°C se puede visualizar que tantos los valores de las repeticiones como el de la muestra base no mantienen ninguna relación. Tanto así que existe un pico máximo de 10.12 mg/L y uno mínimo de 0.14 mg/L, esto debido a los datos obtenidos en el espectrofotómetro. El pico máximo obtenido lo tiene la segunda repetición con un máximo de 10.12 mg/L, seguida de la tercera repetición con un total de 2.78 mg/L, seguida de la muestra base que tiene 4.00 mg/L y finalizando con el pico más bajo obtenido con un total de 0.14 mg/L.

Tabla 57. Alcohol etílico a las 24 horas de maceración a 25°C

Muestra 25°C	Contenido de antocianinas
	6.07
1	6.90
2	3.92
3	0.35

En la muestra a 25°C la primera repetición y la muestra base mantienen valores similares lo que no se puede corroborar en la segunda y tercera repetición. Se mantienen picos máximos y mínimos en los que la primera repetición mantiene el pico máximo con una cantidad de 6.90 mg/L de antocianina, seguida de la muestra base con 60.7 mg/L de antocianina, seguida de la segunda repetición con 3.92 mg/L y finalizando con la tercera repetición con un mínimo de 0.35 mg/L.

Tabla 58. Alcohol etílico a las 24 horas de maceración a 62°C

Muestra 62°C	Contenido de antocianinas
	1.02
1	1.58
2	0.42
3	2.72

En la muestra a 62°C la muestra base y la primera repetición mantienen valores similares lo que no ocurre con la segunda y tercera repetición. La cantidad de antocianina obtenida consta de un pico máximo y un mínimo siendo la tercera repetición el pico máximo con 2.72 mg/L, seguida de la primera repetición 1.58 mg/L, seguida de la muestra base con 1.02 mg/L y finalmente con el pico mínimo la segunda repetición con un total de 0.42 mg/L de antocianinas.



Figura 24. Muestras antocianinas alcohol etílico

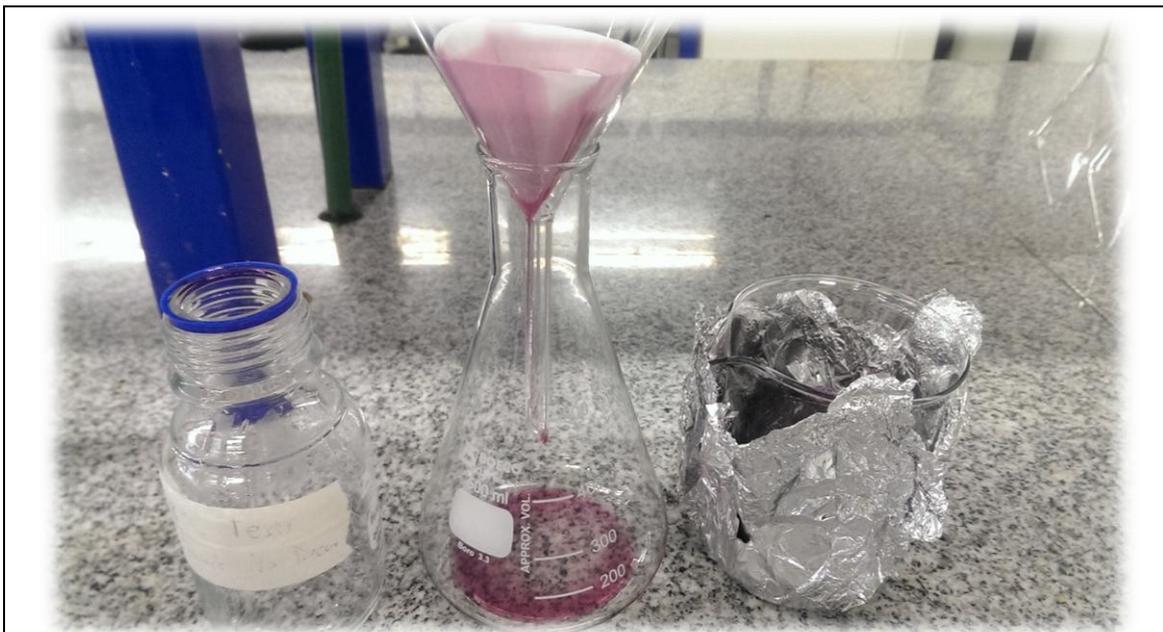


Figura 25. Proceso de filtrado con filtros whatman muestra alcohol etílico



Figura 26. Uso de rota vapor muestra alcohol etílico

3.3 Análisis e interpretación de datos éter

Efectos estimados para Antocianinas

Tabla 59. Efectos estimados para antocianinas muestra éter

Efecto	Estimado	Int. Confianza	V.I.F.
Promedio	2.71	+/- 5.28251	
A:Temperatura	-3.47	+/- 5.54177	1.02
B:Tiempo	-0.86	+/- 5.56641	1.01
AA	4.31	+/- 10.243	1.02
AB	0.86	+/- 6.72649	1.01
BB	-5.70	+/- 9.59863	1.00
Bloque	-0.77	+/- 7.83724	1.50
Bloque	5.67	+/- 7.83724	1.50
Bloque	-2.45	+/- 7.83724	1.50

Intervalos de confianza del 95.0 de confianza (intervalos) basados en el error total con 27 g.l. ($t = 2.05183$)

Esta tabla 59 muestra las estimaciones para cada uno de los efectos estimados y las interacciones. Igualmente se muestran los intervalos de confianza del 95.0% para los estimados. Note también que el factor de inflación de varianza (V.I.F.) más grande, es igual a 1.5. Para un diseño perfectamente ortogonal, todos los factores serían igual a 1. Factores de 10 o más normalmente se interpretan como indicativos de confusión seria entre los efectos.

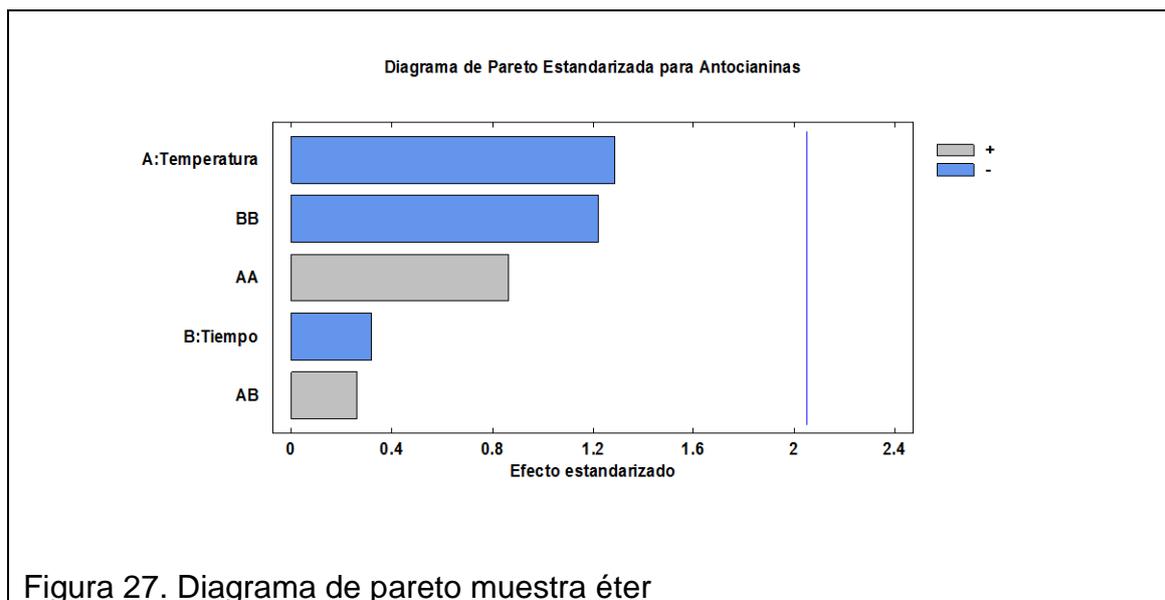


Figura 27. Diagrama de pareto muestra éter

Tabla 60. Análisis de varianza para antocianinas muestra éter

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Temperatura	72.41	1.00	72.41	1.65	0.21
B:Tiempo	4.39	1.00	4.39	0.10	0.75
AA	32.60	1.00	32.60	0.74	0.40
AB	3.04	1.00	3.04	0.07	0.79
BB	65.07	1.00	65.07	1.49	0.23
Bloques	100.80	3.00	33.60	0.77	0.52
Error total	1181.75	27.00	43.77		
Total (corr.)	1449.53	35.00			

R-cuadrada = 18.4735 porciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 0.0 porciento

Error estándar del est. = 6.61579

Error absoluto medio = 3.08036

Estadístico Durbin-Watson = 2.28414 (P=0.5598)

Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.14575

La tabla 60 ANOVA particiona la variabilidad de Antocianinas en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 0 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 18.4735% de la variabilidad en Antocianinas. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 0.0%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 6.61579. El error medio absoluto (MAE) de 3.08036 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si haya alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

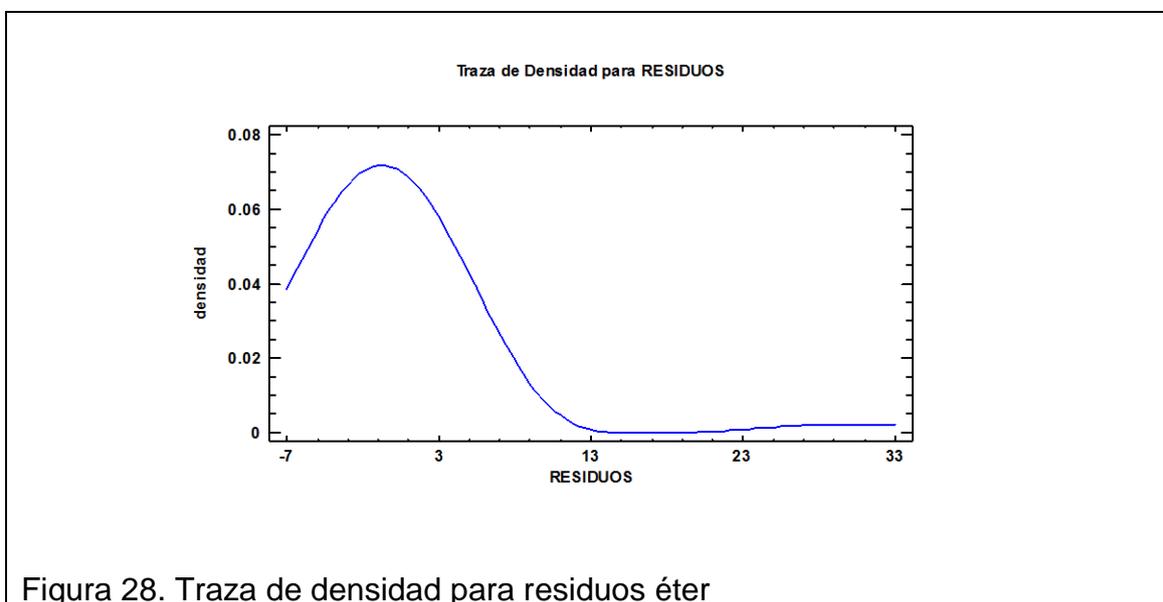


Tabla 61. Pruebas de normalidad para residuos

<i>Prueba</i>	<i>Estadístico</i>	<i>Valor-P</i>
Chi-Cuadrado	34.2222	0.00111345
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.611037	1.3022E-10

En la tabla 61 se muestra los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Residuos puede modelarse adecuadamente con una distribución normal. La prueba de chi-cuadrada divide el rango de Residuos en 16 clases igualmente probables y compara el número de observaciones en cada clase con el número esperado de observaciones. La prueba de Shapiro-Wilk está basada en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada a los datos.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es menor a 0.05, se puede rechazar la idea de que Residuos proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

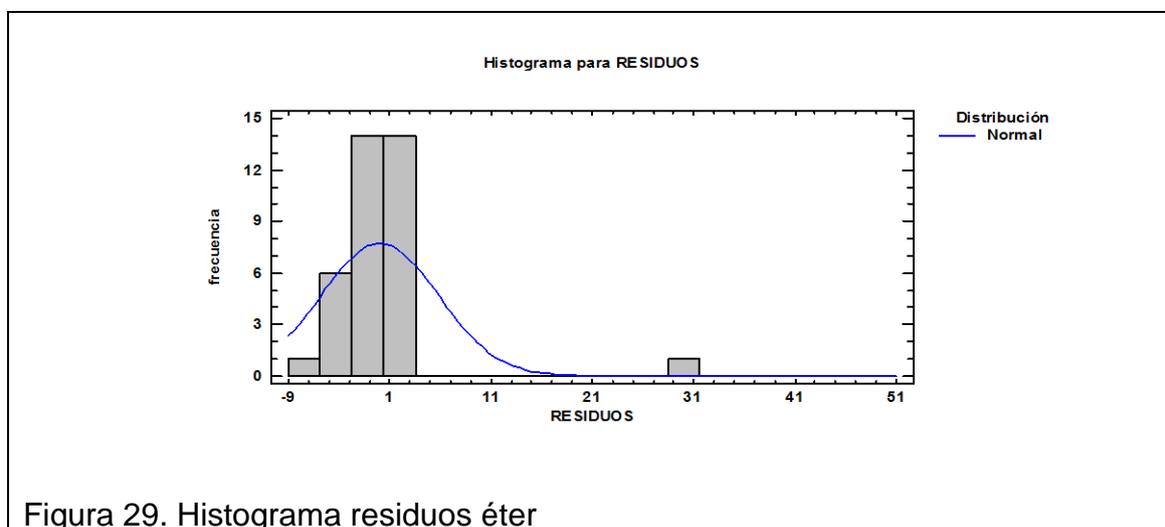


Tabla 62. Pruebas de bondad-de-ajuste para residuos

	<i>Normal</i>
DMAS	0.258186
DMENOS	0.14469
DN	0.258186
Valor-P	0.0164675

En la tabla 62 se muestra los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Residuos puede modelarse adecuadamente con una distribución normal.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es menor a 0.05, se puede rechazar la idea de que Residuos proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

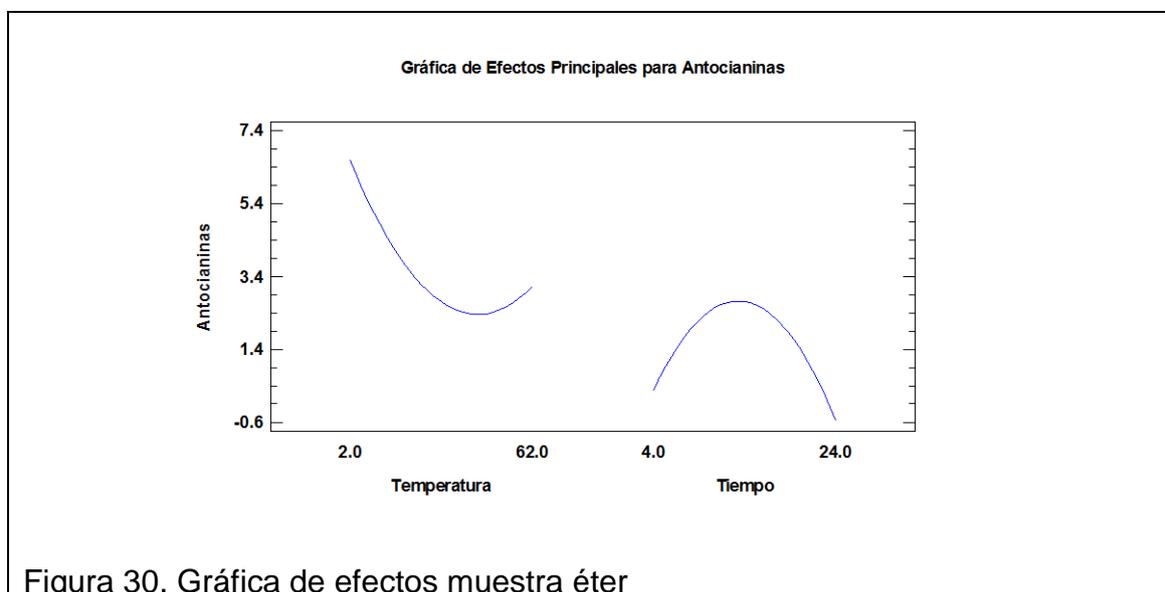


Tabla 63. Coeficiente de regresión para antocianinas muestra éter

Coeficiente	Estimado
Constante	2.67
A: Temperatura	-0.23
B: Tiempo	0.71
AA	0.00
AB	0.00
BB	-0.03

La tabla 63 despliega la ecuación de regresión que se ha ajustado a los datos. La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{Antocianinas} = 2.67483 - 0.231262 \cdot \text{Temperatura} + 0.709515 \cdot \text{Tiempo} + 0.0023937 \cdot \text{Temperatura}^2 + 0.00144035 \cdot \text{Temperatura} \cdot \text{Tiempo} - 0.0285204 \cdot \text{Tiempo}^2$$

En donde los valores de las variables están especificados en sus unidades originales

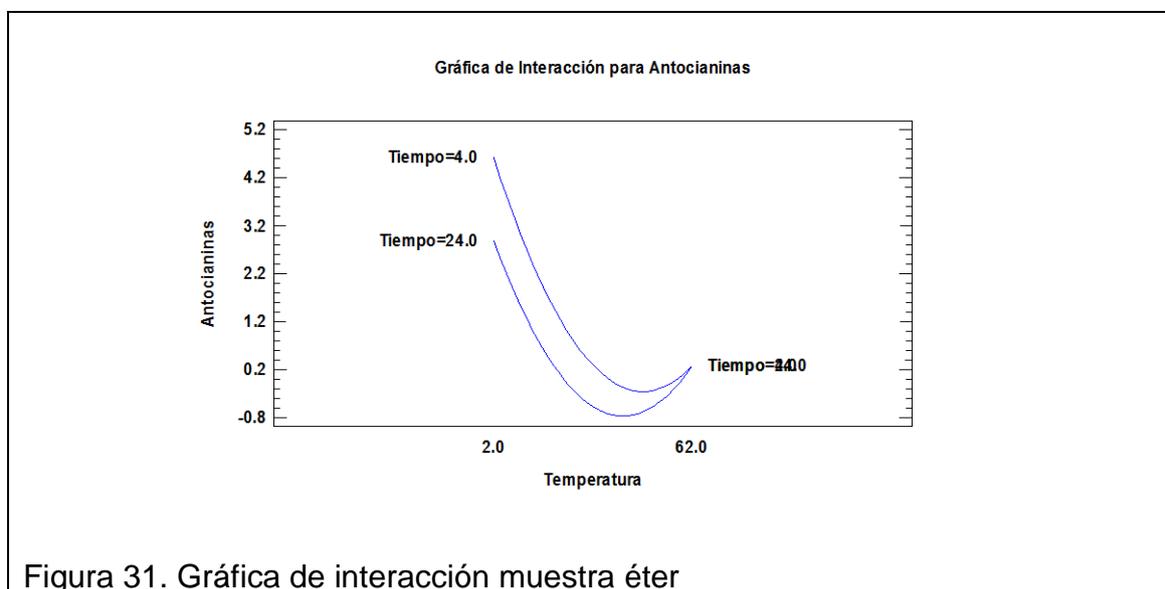


Figura 31. Gráfica de interacción muestra éter

Tabla 64. Matriz de correlación para los efectos estimados muestra éter

		(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
(1)	Promedio	1.00	0.13	0.00	-0.67	0.00	-0.61	0.00	0.00	0.00
(2)	A:Temperatura	0.13	1.00	0.00	-0.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(3)	B:Tiempo	0.00	0.00	1.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00
(4)	AA	-0.67	-0.13	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(5)	AB	0.00	0.00	0.09	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
(6)	BB	-0.61	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
(7)	Bloque	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	-0.33	-0.33
(8)	Bloque	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.33	1.00	-0.33
(9)	Bloque	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.33	-0.33	1.00

La matriz de correlación tabla 64 muestra el grado de confusión entre los efectos. Un diseño perfectamente ortogonal mostrará una matriz diagonal con 1's en la diagonal y 0's fuera de ella. Cualquier término distinto de cero implica que los estimados de los efectos correspondientes a esa fila y columna estarán correlacionados. En este caso, hay 5 pares de efectos con interacción distinta de cero. No obstante, como ninguna es mayor o igual que 0.5, probablemente será capaz de interpretar los resultados sin mucha dificultad.

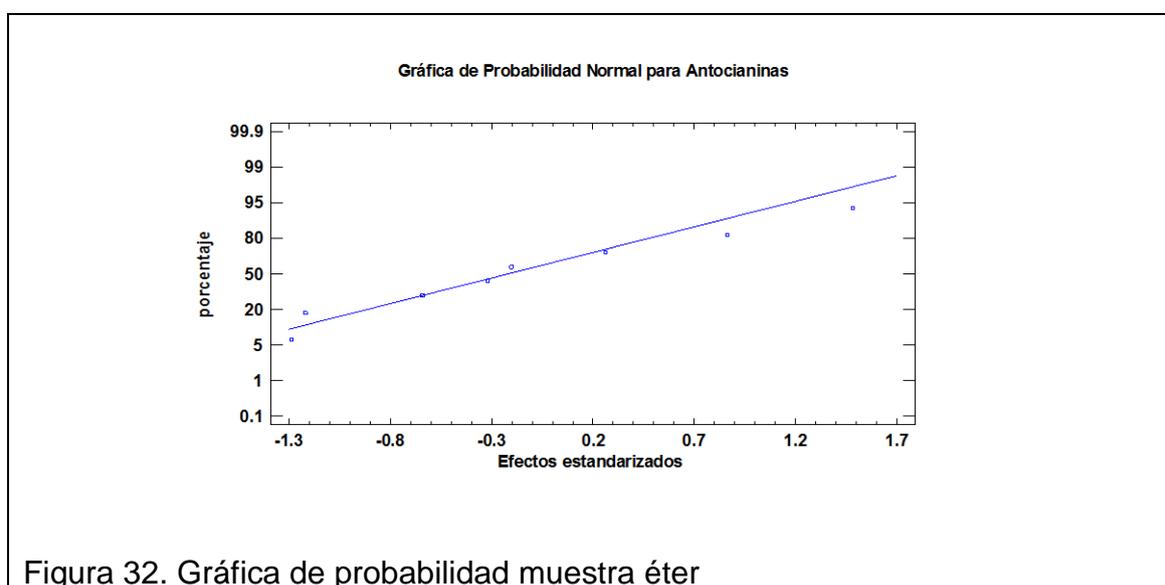


Tabla 65. Resultados estimados para antocianinas muestra éter

	<i>Observados</i>	<i>Ajustados</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
<i>Fila</i>	<i>Valores</i>	<i>Valores</i>	<i>para Media</i>	<i>para Media</i>
1	2.00	3.39	-3.72	10.50
2	2.97	-0.31	-6.73	6.11
3	0.75	-0.95	-8.31	6.40
4	1.71	5.38	-1.02	11.78
5	0.02	2.01	-4.39	8.41
6	1.98	1.90	-4.50	8.30
7	0.83	1.66	-5.45	8.77
8	0.30	-1.37	-7.79	5.05
9	0.20	-0.95	-8.30	6.41
10	5.22	4.23	-2.88	11.34
11	2.20	0.53	-5.89	6.95
12	1.48	-0.11	-7.46	7.25
13	1.43	6.22	-0.18	12.62
14	3.56	2.85	-3.55	9.25
15	0.75	2.75	-3.65	9.15
16	0.92	2.51	-4.60	9.62
17	0.70	-0.53	-6.95	5.89
18	2.09	-0.10	-7.46	7.25
19	1.03	7.45	0.34	14.56
20	2.67	3.75	-2.67	10.17
21	0.48	3.11	-4.24	10.47
22	39.43	9.44	3.04	15.84
23	0.63	6.07	-0.33	12.47
24	0.48	5.97	-0.43	12.37
25	0.44	5.73	-1.38	12.84
26	1.15	2.69	-3.73	9.11
27	1.03	3.12	-4.24	10.47
28	2.00	3.39	-3.72	10.50
29	0.24	-0.31	-6.73	6.11
30	2.19	-0.95	-8.30	6.41
31	0.21	5.38	-1.02	11.78
32	0.04	2.01	-4.39	8.41
33	1.67	1.91	-4.49	8.31
34	1.25	1.67	-5.44	8.78
35	1.55	-1.37	-7.79	5.05
36	1.66	-0.94	-8.30	6.41

Esta tabla 65 contiene información acerca de los valores de Antocianinas generados usando el modelo ajustado. La tabla incluye:

- (1) los valores observados de Antocianinas (si alguno)
- (2) el valor predicho de Antocianinas usando el modelo ajustado
- (3) intervalos de confianza del 95.0% para la respuesta media

Cada ítem corresponde a los valores de los factores experimentales en una fila específica de su archivo de datos.

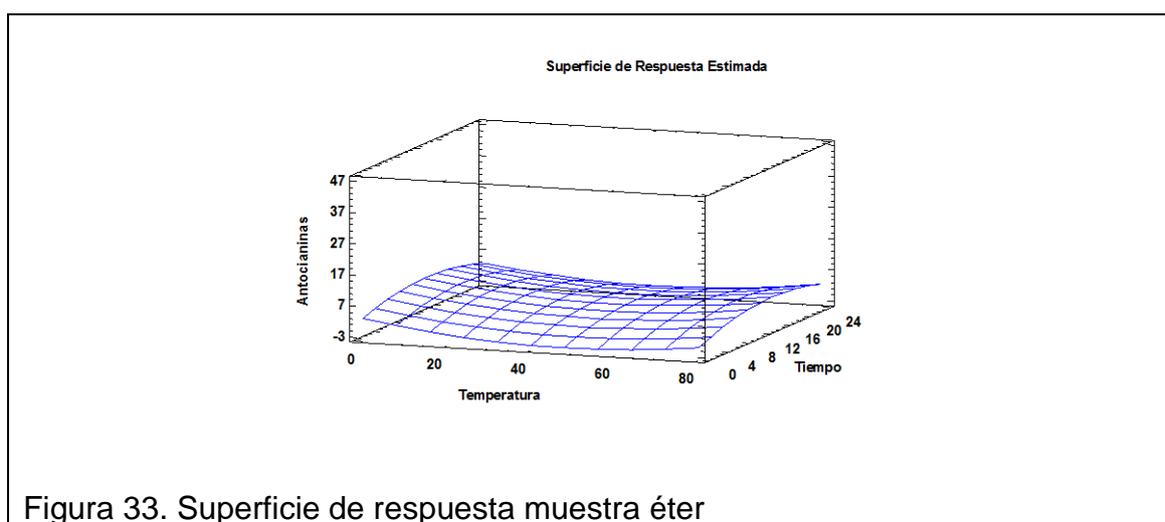
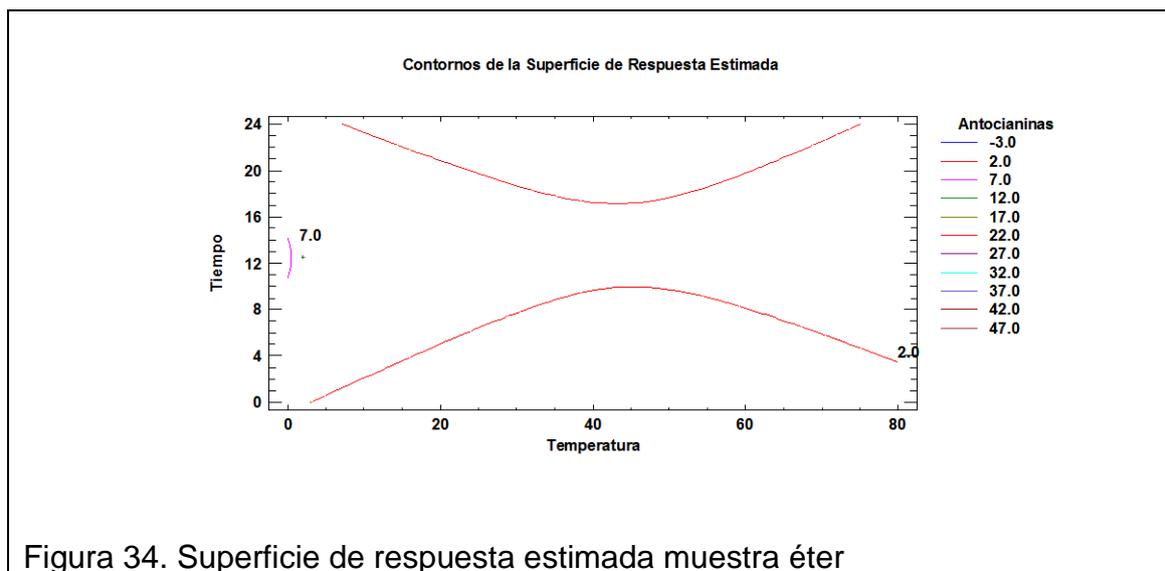


Figura 33. Superficie de respuesta muestra éter

Tabla 66. Camino de máximo ascenso para antocianinas muestra éter

		<i>Predicción para</i>
<i>Temperatura</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Antocianinas</i>
32.0	14.00	2.71
33.0	14.10	2.65
34.0	14.19	2.59
35.0	14.33	2.54
36.0	14.49	2.49
37.0	14.72	2.44

La tabla 66 despliega el trayecto de máximo ascenso (o descenso). Este es el trayecto, desde el centro de la región experimental actual, a través del cual la respuesta estimada cambia más rápidamente con un cambio menor en los factores experimentales. Indica buenas características para ejecutar experimentos adicionales si el objetivo es incrementar o decrementar Antocianinas. Actualmente, 6 puntos se han generado cambiando Temperatura en incrementos de 1.0



Optimizar Respuesta

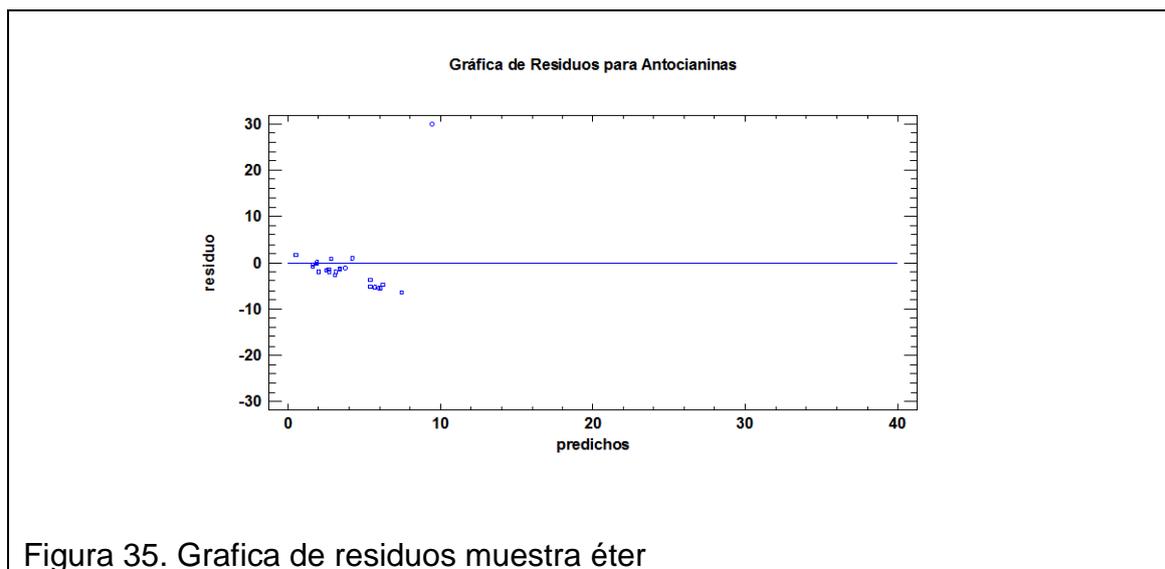
Meta: maximizar Antocianinas

Valor óptimo = 6.67052

Tabla 67. Optimizar respuesta muestra éter

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	2.0	62.0	2.0
Tiempo	4.0	24.0	12.5

La tabla 67 muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza Antocianinas sobre la región indicada



3.3.1 Éter a las 4 horas de maceración.

En la interpretación de datos de éter a las 4 horas de maceración se incluyen las temperaturas de maceración a las cuales se realizó la investigación las cuales fueron a 2°C, 25°C y 62°C. Tomando en cuenta las prueba base y sus 3 repeticiones, al igual que se realizaron en la investigación con el alcohol etílico y alcohol metílico.

Tabla 68. Éter a las 4 horas de maceración a 2°C

Muestra 2°C	Contenido de antocianinas
	2.00
1	5.22
2	1.03
3	2.00

En la muestra a 2°C se puede visualizar que existe similitud entre los datos obtenidos de la muestra base y la tercera repetición, estos tienen un valor de 2.00 mg/L cada uno.

La antocianina obtenida tiene un punto máximo y un punto medio. El punto máximo lo tiene la primera repetición con un total de 5.22 mg/L, seguida de la tercera repetición y la muestra base manteniendo un 2.00 mg/L cada una y finalizando con la segunda repetición con un total de 1.03 mg/L.

Tabla 69. Éter a las 4 horas de maceración a 25°C

Muestra 25°C	Contenido de antocianinas
	2.97
1	2.20
2	2.67
3	0.24

En la muestra a 25°C la primera, segunda y muestra base mantienen valores similares en comparación a la tercera repetición. Podemos ver un pico máximo y un pico mínimo. El pico máximo lo tiene la muestra base con un valor de 2.91 mg/L, seguida de la segunda repetición con 2.67 mg/L, seguida de la primera repetición con 2.20 mg/L y finalizando con la tercera repetición con 0.24 mg/L de antocianinas.

Tabla 70. Éter a las 4 horas de maceración a 62°C

Muestra 62°C	Contenido de antocianinas
	0.75
1	1.48
2	0.48
3	2.19

En la muestra a 62°C podemos encontrar antocianina con picos máximos y picos mínimos, entre los cuales tenemos a la tercera repetición con un total de 2.19 mg/L de antocianina, seguida de la primera repetición con un total de 1.48 mg/L de antocianinas, seguida de la muestra base con 0.75 mg/L de antocianinas y con un pico mínimo de 0.48 mg/L de antocianinas.

3.3.2 Éter a las 14 horas de maceración.

En la interpretación de datos éter a las 14 horas de maceración se incluyen las temperaturas de maceración tal como se realizaron en la maceración a 4 horas las cuales fueron a 2°C, 25°C y 62°C. Tomando en cuenta las prueba base y sus 3 repeticiones.

Tabla 71. Éter a las 14 horas de maceración a 2°C

Muestra 2°C	Contenido de antocianinas
	1.71
1	1.43
2	39.43
3	0.21

En la muestra a 2°C se puede observar que la segunda repetición tiene un valor excesivamente alto en comparación a la primera, tercera repetición y a la muestra base.

Se puede verificar que existe un pico máximo y mínimo en la experimentación. El pico máximo obtenido tiene 39.43 mg/L, seguida de la muestra base con 1.71 mg/L, seguida de la primera repetición con 1.43 mg/L y finalizando con la tercera repetición con 0.21 mg/L.

Tabla 72. Éter a las 14 horas de maceración a 25°C

Muestra 25°C	Contenido de antocianinas
	0.02
1	3.56
2	0.63
3	0.87

En la muestra a 25°C se puede visualizar que los datos obtenidos son diferentes unos de otros. En la experimentación podemos ver valores máximos y mínimos.

El pico máximo obtenido lo tiene la primera repetición con 3.56 mg/L, seguida de la tercera repetición con 0.87 mg/L, seguida de la segunda repetición con 0.63 mg/L y finalizando la muestra base con una cantidad mínima de antocianinas 0.02 mg/L.

Tabla 73. Éter a las 14 horas de maceración a 62°C

Muestra 62°C	Contenido de antocianinas
	1.98
1	0.75
2	0.48
3	1.67

En la muestra a 62°C podemos visualizar que tanto los datos de la muestra base y la tercera repetición tienen valores similares, lo mismo sucede entre la primera y segunda repetición.

En la experimentación encontramos valores máximo y mínimos de antocianinas. El valor máximo lo tiene la muestra base con 1.98 mg/L, seguida de la tercera repetición con 1.67 mg/L, seguida de la primera muestra con 0.75 mg/L y finalizando con la segunda repetición y un total de 0.48 mg/L.

3.3.3 Éter a las 24 horas de maceración.

En la interpretación de datos éter a las 24 horas de maceración se incluyen las temperaturas de maceración tal como se realizaron en la maceración a 4 horas y 14 horas las cuales fueron a 2°C, 25°C y 62°C. Tomando en cuenta las prueba base y sus 3 repeticiones.

Tabla 74. Éter a las 24 horas de maceración a 2°C

Muestra 2°C	Contenido de antocianinas
	0.83
1	0.92
2	0.44
3	1.25

En la muestra a 2°C se puede visualizar que los datos obtenidos son diferentes y podemos encontrar valores máximos y valores mínimos. El valor máximo obtenido en la experimentación se encuentra en la tercera repetición con 1.25 mg/L, seguida de la primera repetición con 0.92 mg/L, seguida de la muestra base en 0.83 mg/L y finalizando con la segunda repetición 0.44 mg/L.

Tabla 75. Éter a las 24 horas de maceración a 25°C

Muestra 25°C	Contenido de antocianinas
	0.30
1	0.70
2	1.15
3	1.55

En la muestra a 25°C podemos ver que entre la muestra base y la primera repetición se obtiene un incremento de antocianinas y entre la segunda y tercera repetición se obtiene una disminución.

En esta experimentación se obtuvieron valores máximos y mínimos. El valor máximo se lo encuentra en la tercera repetición con 1.55 mg/L, seguida de la segunda repetición con 1.15 mg/L, seguida de la primera repetición con 0.7 mg/L y finalizando con 0.30 mg/L de la muestra base.

Tabla 76. Éter a las 24 horas de maceración a 62°C

Muestra 62°C	Contenido de antocianinas
	0.20
1	2.09
2	1.03
3	1.66

En la muestra a 62°C se puede observar que todos los valores obtenidos tienden a variar.

En la experimentación se obtuvieron valores máximos y mínimos en los cuales la primera repetición tiene el valor máximo obtenido con 2.09 mg/L, seguida de la tercera repetición con 1.66 mg/L, seguida de la segunda repetición con 1.03 mg/L y finalizando con la muestra base con 0.20 mg/L de antocianina.



Figura 36. Muestra éter 25°C



Figura 37. Muestra éter 2°C

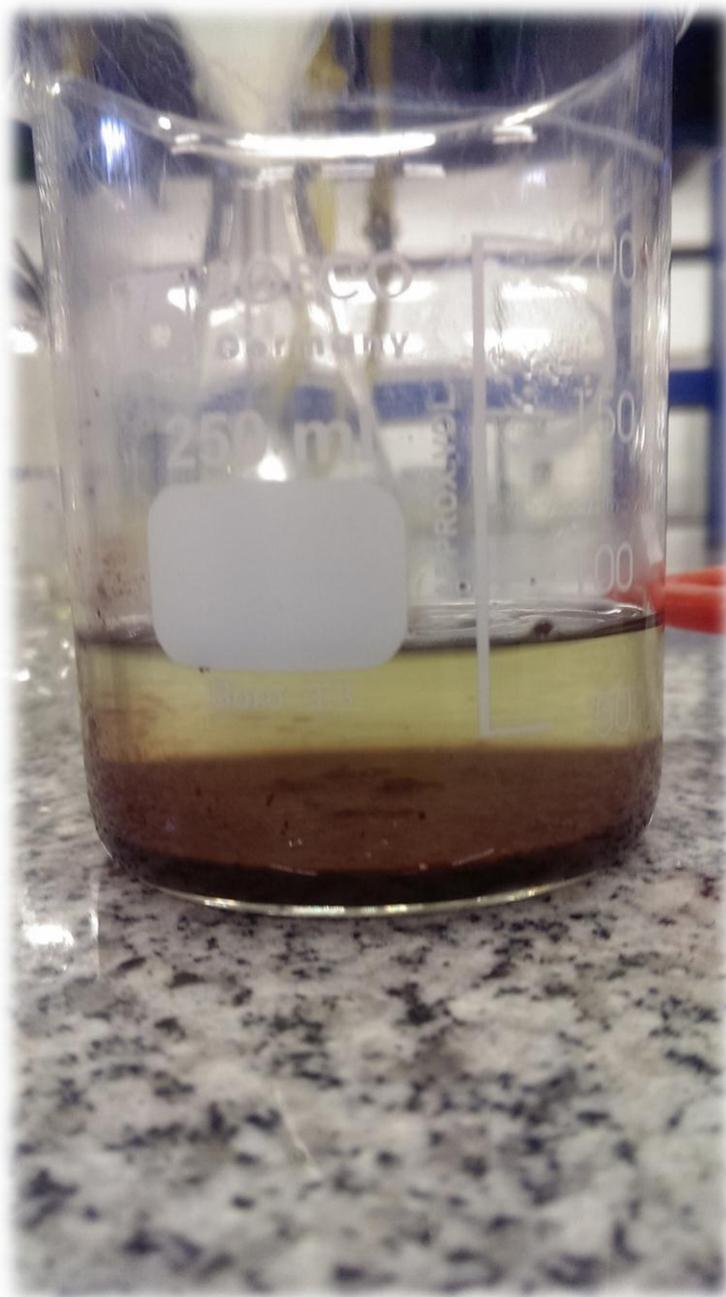


Figura 38. Muestra éter 62°C

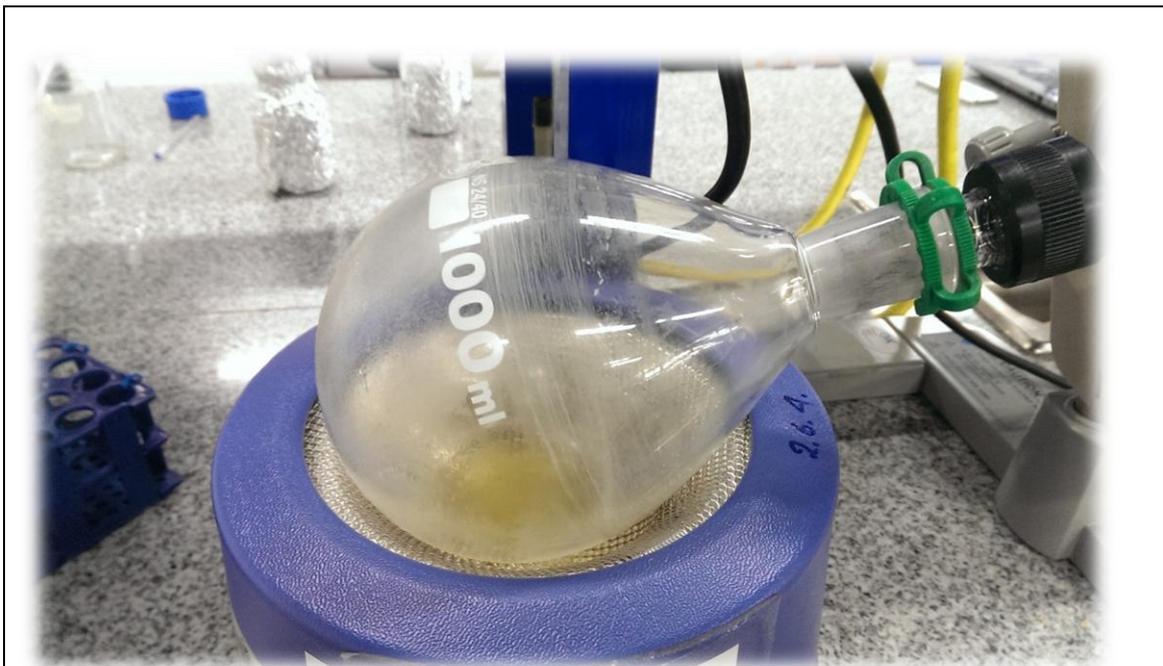


Figura 39. Uso de rota vapor muestra éter

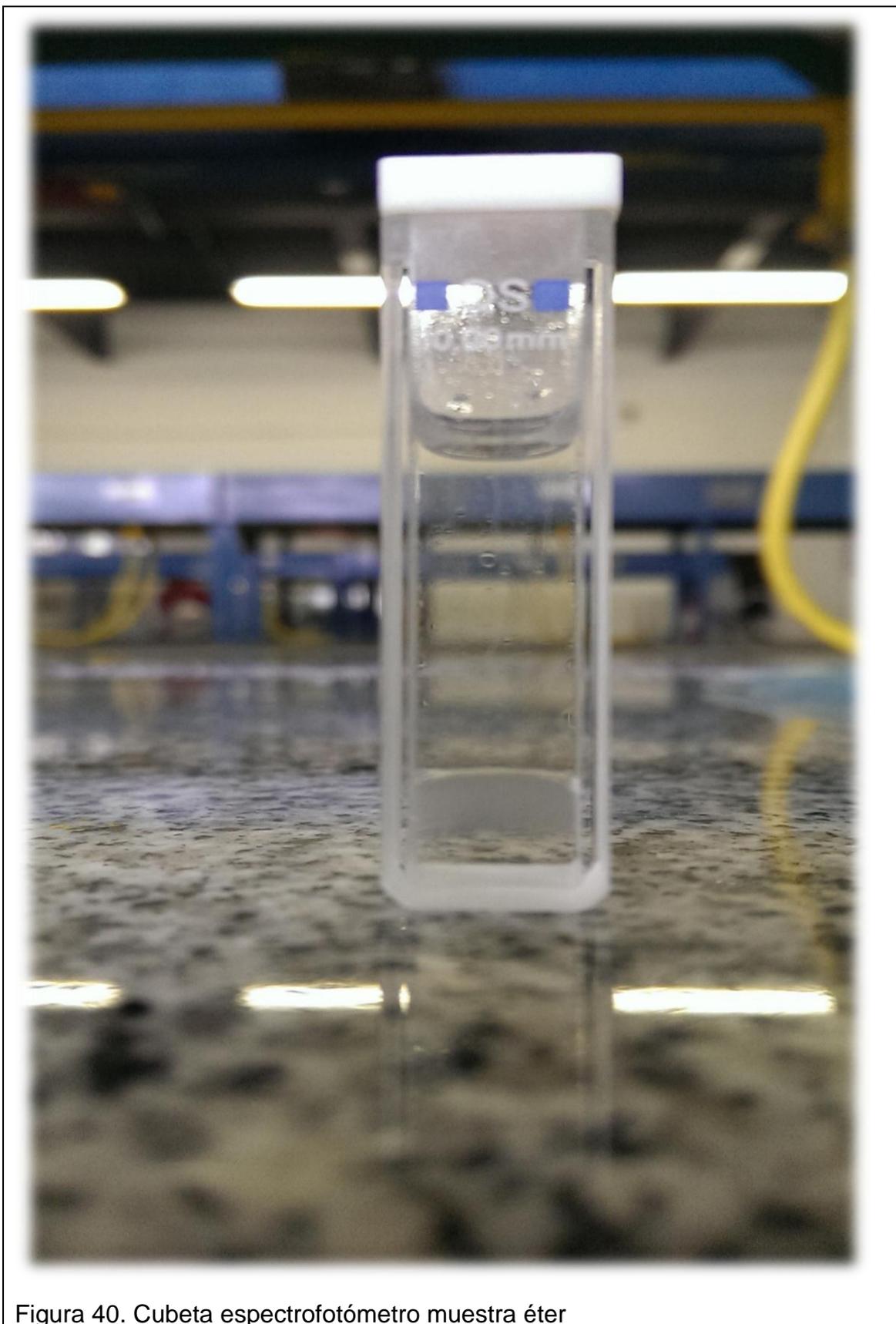


Figura 40. Cubeta espectrofotómetro muestra éter

4 PRESUPUESTO

El presupuesto presentado para el trabajo de investigación consta de varias partes donde se detallan los reactivos, materia prima y equipos que se utilizaron, los proveedores, cantidades, precios, números de equipos utilizados.

Tabla 77. Presupuesto

Ítem	Proveedor	Cantidad	Precio	Cantidad	Precio	Cantidad	Precio Final	Adquirido por:
Éter	Casa del Químico	1	\$ 5,00	1	\$ 5,00	Lt	\$ 5,00	Universidad de las Américas
Metanol grado P.A	Casa del Químico	1	\$ 6,75	1	\$ 6,75	Lt	\$ 6,75	Estudiante
Etanol grado P.A	Casa del Químico	1	\$ 17,25	1	\$ 17,25	Lt	\$ 17,25	Estudiante
Vaso de precipitación 250 mL	Casa del Químico	1	\$ 2,50	3	\$ 7,50	U	\$ 7,50	Estudiante
Mortijo		1	\$ 2,50	4	\$ 10,00	Kg	\$ 10,00	Estudiante
Filtros whatman		1	\$ 23,50	1	\$ 23,50	Kg	\$ 23,50	Estudiante
Agitadores		1	\$ 1,25	3	\$ 3,75	U	\$ 3,75	Universidad de las Américas
Mortero		1	\$ 3,50	3	\$ 10,50	U	\$ 10,50	Universidad de las Américas
Pocillos de pesaje		1	\$ 0,05	6	\$ 0,30	U	\$ 0,30	Universidad de las Américas
Vaso de precipitación 400 mL		1	\$ 5,00	9	\$ 45,00	U	\$ 45,00	Universidad de las Américas
Vaso de precipitación 25 mL		1	\$ 1,10	9	\$ 9,90	U	\$ 9,90	Universidad de las Américas
Espectrofotómetro		1	\$ 1.500,00	1	\$ 1.500,00	U	\$ 1.500,00	Universidad de las Américas
Rota vapor		1	\$ 800,00	1	\$ 800,00	U	\$ 800,00	Universidad de las Américas
Cubeta espectrofotómetro		1	\$ 0,45	15	\$ 6,75	U	\$ 6,75	Universidad de las Américas
Micro pipeta de 100-1000		1	\$ 18,00	1	\$ 18,00	U	\$ 18,00	Universidad de las Américas
Agitador magnético		1	\$ 21,00	1	\$ 21,00	U	\$ 21,00	Universidad de las Américas
Erlenmeyer		1	\$ 6,30	9	\$ 56,70	U	\$ 56,70	Universidad de las Américas
Embudos de vidrio		1	\$ 3,40	9	\$ 30,60	U	\$ 30,60	Universidad de las Américas
Bomba de vacío		1	\$ 160,00	1	\$ 160,00	U	\$ 160,00	Universidad de las Américas
Balones aforado		1	\$ 12,00	6	\$ 72,00	U	\$ 72,00	Universidad de las Américas
Balanza analítica		1	\$ 65,00	1	\$ 65,00	U	\$ 65,00	Universidad de las Américas
p H 4,5		1	\$ 8,50	1	\$ 8,50	Lt	\$ 8,50	Estudiante
p H 1		1	\$ 8,50	1	\$ 8,50	Lt	\$ 8,50	Estudiante
							\$ 2.886,50	

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

En la presente investigación alcohol etílico como reactivos principales para la obtención de antocianinas presento los mejores resultados, seguido de la experimentación con alcohol metílico.

Mediante el método de superficie de respuesta se logró confirmar que el ambiente óptimo para obtener antocianinas es a 2°C por un tiempo de 24 horas con una solución de alcohol etílico.

Tras realizar las experimentaciones con tres reactivos distintos alcohol metílico ,alcohol etílico y éter se pudo visualizar que según el ANOVA presente en a tabla 26 a experimentación con alcohol metílico fue a más exitosa a tener 3 efectos con valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%, mientras que a experimentación con ,alcohol etílico solo consta de 2 efectos con valor-P menor que 0.05 y a experimentación con éter el cual consta con 0 efectos con valor-P menor que 0.05, Pero ya que el diseño factorial es 2³ los datos obtenido en la tabla 26 no se los puede usar como resultado confiable por tal razón se procedió a realizar la prueba del Chi Cuadrado y de Shapiro-Wilk.

La experimentación con éter no tuvo los resultados esperados debido a que su densidad ya que le agua es más densa que le éter, El agua tiene una densidad de 1.000 kg/m³ mientras el éter tiene una densidad de 713 kg/m³.

El grado de maduración de fruto es fundamental para la obtención de antocianinas ya que si no lo está el experimento no será funcional.

Es fundamental en la experimentación tener el micra ge correcto al momento del filtrado ya que esto facilitara a pureza el momento de la extracción en el rotavapor.

La coloración obtenida de mortiño en la investigación alcanzo los estándares planteados y favoreció para la obtención de antocianinas.

5.2 Recomendaciones

Es recomendable el uso de alcohol metílico y alcohol etílico ya que los resultados obtenidos van a tener un mayor grado de confianza.

Es de suma importancia que la fruta se encuentre en buenas condiciones, que el proceso se lleve a cabo con mucha exigencia, las soluciones como los buffers de pH deben estar dosificados minuciosamente.

Es recomendable realizar dicha investigación utilizando un HPLC para poder obtener resultados más exactos.

Se puede sustituir el HCl por ácido cítrico para la acidificación el cual no compromete los resultados.

Es recomendable la elaboración de productos a base de mortiño ya que ofrece un producto interesante para el consumidor considerando como un alimento saludable y funcional.

6 REFERENCIAS

- Arias, J. (2013). Estudio del efecto pretratamiento en la deshidratación del mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt) sobre la velocidad de secado y el contenido de polifenoles solubles y antocianinas. Quito, Ecuador. Escuela Politécnica Nacional. Recuperado el 9 de Noviembre del 2015 de:
<http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/5525/1/CD-4623.pdf>
- Aguilar, Z., Hidalgo, P., Ulloa, C. (2009) Plantas útiles de los páramos de Zuleta Ecuador. Proyecto de Manejo y aprovechamiento sustentable de alpacas en los parámetros de Zuleta. Recuperado el 12 de Noviembre del 2015 de: http://www.ecociencia.org/archivos/guia_plantas-091128.pdf
- Cano, L. (2011). Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav). Mortiño (*Vaccinium myrtillus* L) y mora de castilla (*Rubus glaucus*) como alternativa colorante natural para alimentos. Quito, Ecuador. Escuela Politécnica del Ejército. Recuperado el 1 de Diciembre del 2015 de:
<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4929/1/T-ESPE-IASA%20I-004583.pdf>
- Cartilla. (2009). Conozcamos y usemos el mortiño. 3rd Edición. Medellín, Colombia. Corantioquia. Recuperado el 3 de Noviembre del 2015 de:
http://corantioquia.gov.co/sitios/ExtranetCorantioquia/SiteAssets/Lists/Administrar%20Contenidos/EditForm/cartilla_mortino.pdf
- Centro. (2010). Metodología de superficies de respuesta, gran alternativa para incrementar la productividad de sus procesos. Cali, Colombia.
- Chaparro, M. (1999). Anatomía del fruto de *Vaccinium floribundum*. Acta biológica colombiana. Recuperado el 17 de Abril del 2015 de:
<http://www.bdigital.unal.edu.co/27955/1/25867-100477-1-PB.pdf>
- Coba, P., Coronel, D., Verdugo, K., Paredes, M., Yugsi, E y Huachi, L. (2012). Estudio etnobotánica del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional. Quito, Ecuador. Universidad Politécnica Salesiana. Recuperado el 15 de Diciembre del 2015 de:
<http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/8831>
- Cobo, M. (2014). Estudio de diversidad genética de mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunt) en tres provincia de la Sierra Ecuatoriana: Imbabura, Pichincha y Cotopaxi. Quito, Ecuador. Universidad San Francisco. Recuperado el 3 Febrero del 2016 de:
<http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/3332/1/110856.pdf>

- Mayorga, M. (2012). Estudio del efecto de la deshidratación por aire sobre la capacidad antioxidante del mortiño (*Vaccinium floribundum Kunt*). Quito, Ecuador Universidad tecnológica equinoccial. Recuperado el 5 de Febrero del 2016 de: <http://repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/4988>
- Menéndez, W y Torres, F. (2008). Obtención de colorantes para uso en yogurt a partir de la Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y del mortiño (*Vaccinium mytilli L.*). Guayaquil, Ecuador. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Recuperado el 8 de Enero del 2015 de: <https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/950>
- Muñoz, V. (2004). Determinación de métodos para producción de mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*), con fines de propagación y producción comercial. Quito, Ecuador. Universidad San Francisco de Quito. Recuperado el 19 de Noviembre del 2015 de: <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/864>
- Pérez, M. (2013). *Vaccinium floribundum*. Recuperado el 17 de Abril del 2015 de: <http://www.botanicayjardines.com/vaccinium-floribundum/>
- Pronutrient. (2015). Que es le Trolox Recuperado el 9 de Mayo de 2015 de: <http://www.pronutrient.mx/que-es-trolox/>
- Quingalombo, B. (2010). Investigación de productos autóctonos del Cantón Mejía (uvilla, mortiño) para su utilización dentro de la repostería. Quito, Ecuador. Universidad Tecnológica Equinoccial. Recuperado el 2 de Junio del 2015 de: <http://repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/11552>
- Salud y línea. (2013). Compuestos fenólicos. Recuperado el 8 de Abril del 2015 de: <http://www.lineaysalud.com/nutricion/compuestos-fenolicos>
- Trujillo, D. (2008). Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum, Kunth*). Quito, Ecuador. Universidad San Francisco de Quito. Recuperado el 24 de Agosto del 2015 de: <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/794>
- Tupuna, D, (2012). Obtención de jugo clarificado concentrado de mortiño (*Vaccinium floribundum, Kunt*) mediante el uso de tecnología de membranas. Quito, Ecuador. Escuela Politécnica Nacional. Recuperado el 15 de Julio del 2015 de: <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/4947>
- USDA, (2016). Base de datos de la nutrición nacional estándar referencia 28. United Stated Department of Agriculture Agricultural Research Service. Recuperado el 5 de Mayo del 2015 de: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2166?fgcd=Fruits+and+Fruit+Juices&manu=&facet=&format=&count=&max=35&offset=35&sort=&qlookup>

Vasco, C. (2006). Compuestos fenólicos en frutas Ecuatorianas. Quito, Ecuador. Escuela Politécnica Nacional. Recuperado el 6 de Mayo del 2015 de: <http://biblioteca.epn.edu.ec/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=6199>