

Universidad San Francisco de Quito USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

**Extracción y conversión de ácido salicílico a partir de Sauce (*Salix humboldtiana*) para la
fabricación de estándares químicos analíticos.**

Proyecto Integrador

Camila del Sol Gómez Álvarez

Arianne Carolina Vásconez Sánchez

Ingeniería Química

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito para la obtención del título de

INGENIERA QUÍMICA

Quito, 10 de diciembre de 2024

Universidad San Francisco de Quito USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN

**Extracción, síntesis y purificación de ácido salicílico a partir de Sauce (*Salix humboldtiana*)
para la fabricación de estándares químicos analíticos.**

Camila del Sol Gómez Álvarez

Arianne Carolina Vásconez Sánchez

Calificación:

Nombre del profesor, título académico

David Egas Proaño, PhD

Firma del profesor

Quito, 10 de diciembre de 2024

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos:	Camila del Sol Gómez Álvarez
	Arianne Carolina Vásconez Sánchez
Códigos:	00321700
	00320683
Cédula de identidad:	1804867354
	1722817846
Lugar y fecha:	10 de diciembre de 2024

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETheses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project - in whole or in part - should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around these publishing available on <http://bit.ly/COPETheses>.

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo la validación de la metodología para la producción de estándares de tipo analítico de ácido salicílico en sauce (*Salix humboldtiana*) a partir de la conversión de salicina. Esta propuesta se plantea debido a que, en Ecuador, no se fabrican estándares analíticos y además se han identificado fuentes de salicina como el *Salix babylonica* (sauce llorón) y el *Salix humboldtiana* (sauce criollo). Primero, se realizó la extracción de la salicina por medio del uso de metanol como solvente y posterior obtención de ácido salicílico por medio de hidrólisis ácida de solución acuosa a partir de ramas y corteza. Al cabo de esta se realizó un análisis cualitativo con FTIR y de cuantificación en HPLC, empleando como fase móvil metanol y ácido acético (1.5%) en proporción 55:45, en donde se determinó la muestra con la mayor cantidad de ácido salicílico. Además, se realizó un análisis tecnoeconómico para evaluar la factibilidad de una planta de estándares analíticos de ácido salicílico. De acuerdo con los resultados obtenidos y lo reportado en la literatura se observó que la muestra de corteza es una mayor fuente de salicina y por lo tanto ácido salicílico, resultando en la mejor opción para la extracción. En conclusión, los análisis cromatográficos confirmaron la presencia ácido salicílico (58 ppm) en *Salix humboldtiana*, aunque con un rendimiento limitado en comparación con otras especies. Desde una perspectiva económica, la producción de estándares analíticos resulta competitiva en contraste con las importaciones y menores tiempos de espera.

Palabras clave: *Ácido salicílico, HPLC, estándar, Salix humboldtiana., hidrólisis ácida*

ABSTRACT

The present study aims to validate the methodology for producing analytical standards of salicylic acid from willow (*Salix humboldtiana*) through the conversion of salicin. This proposal arises from the fact that analytical standards are not manufactured in Ecuador, and sources of salicin, such as *Salix babylonica* (weeping willow) and *Salix humboldtiana* (native willow), have been identified. Initially, salicin was extracted using methanol as a solvent, followed by the production of salicylic acid through acid hydrolysis of an aqueous solution derived from branches and bark. A qualitative analysis was then performed using FTIR, and quantification was carried out using HPLC, employing methanol and acetic acid (1.5%) as the mobile phase in a 55:45 ratio. The sample with the highest concentration of salicylic acid was identified. Additionally, a techno-economic analysis was conducted to assess the feasibility of establishing a plant for producing salicylic acid analytical standards. According to the results obtained and reported in the literature, the bark sample proved to be the richest source of salicin and, consequently, salicylic acid, making it the best option for extraction. In conclusion, chromatographic analyses confirmed the presence of salicylic acid (58 ppm) in *Salix humboldtiana*, although with limited yield compared to other species. From an economic perspective, the production of analytical standards is competitive compared to imports, offering shorter waiting times.

Key words: *Salicylic acid, HPLC, standard, Salix humboldtiana, acid hydrolysis*

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN	10
2. MATERIALES Y MÉTODOS	12
2.1. Materiales.....	12
2.1.1. Materia prima.....	12
2.1.2. Equipos	12
2.1.3. Reactivos.....	13
2.2. Métodos.....	13
2.2.1. Extracción de salicina a partir de sauce (<i>Salix humboldtiana</i>)	13
2.2.2. Hidrólisis ácida de salicina	14
2.2.3. Oxidación de saligenina para la obtención de ácido salicílico	14
2.2.4. Análisis de ácido salicílico en HPLC.....	14
3. RESULTADOS.....	17
3.1. Curva de calibración de estándar de ácido salicílico	17
3.2. Concentraciones de ácido salicílico en rama y corteza.....	17
3.3. Cromatograma de ácido salicílico en rama y corteza	18
3.4. FTIR de la muestra hidrolizada.....	19
3.5. Contenido de ácido salicílico en muestras de rama y corteza.....	20
3.6. Diagrama de Flujo del proceso para la obtención de ácido salicílico	20
4. DISCUSIONES.....	21
4.1. Métodos de extracción	21
4.2. Influencia del pH y tiempo en la hidrólisis.....	22
4.3. Identificación de picos en cromatogramas.....	23
4.4. Análisis FTIR.....	24
4.5. Comparación de concentración y contenido obtenido de las diferentes muestras	24
4.6. Análisis de factibilidad de producción de estándares analítico	25
5. CONCLUSIONES	26
6. RECOMENDACIONES.....	27
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	28
8. ANEXOS	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentraciones obtenidas a pH 1.0.....	17
Tabla 2. Concentraciones obtenidas a pH 2.0.....	18
Anexos	
Tabla 1. Estimación de costos de la planta de producción de ácido salicílico a pequeña escala.	32
Tabla 2. Estimación de costos de equipos principales utilizando el método de factores de Hand.	34
Tabla 3. Estimación de precio unitario de comercialización.	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Diagrama de la transformación de salicina en ácido salicílico.	10
Fig. 2. Ubicación geográfica del sitio de recolección de materia prima.	12
Fig. 3. Curva de calibración del estándar de ácido salicílico	17
Fig. 4. Cromatograma de estándar de ácido salicílico y muestra de corteza de <i>Salix humboldtiana</i>	18
Fig. 5. Cromatograma de estándar de ácido salicílico y muestra de rama de <i>Salix humboldtiana</i>	19
Fig. 6. FTIR ácido salicílico en solución acuosa proveniente de corteza de <i>Salix humboldtiana</i>	19
Fig. 7. Diagrama de barras contenido de ácido salicílico Diagrama de flujo de planta de estándares.	20
Fig. 8. Diagrama de flujo planta a pequeña escala.	20
Anexos	
Fig. 1. Espectro de ácido salicílico en solución acuosa proveniente de corteza de <i>Salix humboldtiana</i> obtenido por el equipo de Agilent Technologies.	36

1. INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, la falta de priorización en la industria hacia la creación de estándares analíticos ha generado un vacío significativo en la investigación y comprensión de sus procesos de fabricación, por lo que el costo que esto representa en su importación es alto. Esta es la razón por la que el presente trabajo se centra en el análisis de factibilidad para la realización de estándares de tipo analítico de ácido salicílico a partir de árboles de sauce. Se ha comprobado que las diferentes familias de sauces tienen alto contenido de salicina que puede ser convertida a ácido salicílico. La corteza de *Salix* es rica en taninos (3-12%), flavonoides, glucósidos de fenoles y ácidos fenólicos, como: salicina 0,5-1% (glucósido de alcohol salicílico) y sus ésteres: salicortina, tremulacina, populina (Toiu & Vlase, 2011). Como se muestra en la *Fig. 1.*, la obtención de ácido salicílico atraviesa una transformación a partir de salicina. Se inicia con una hidrólisis química o enzimática en donde la salicina (I) forma alcohol salicílico o saligenina (II), para posteriormente, mediante oxidación, pasar a aldehído salicílico o salicilaldehído (III), el cual se oxida una vez más, para finalmente obtener ácido salicílico (IV) (Nekhoroshev et al., 2020).

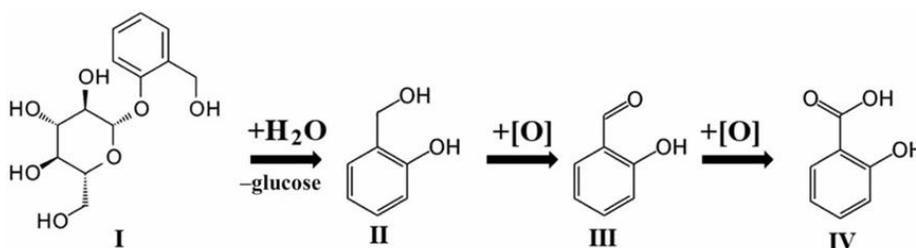


Fig. 1. Diagrama de la transformación de salicina en ácido salicílico.

El sauce puede encontrarse en la mayoría de las provincias del Ecuador, siendo accesible en disponibilidad y costo para aplicarse en este proyecto. En el país, se han identificado en mayor cantidad el *Salix babylonica* (sauce llorón) y el *Salix humboldtiana* (sauce criollo), y su presencia es notable en las provincias de Azuay, Cañar y Loja (Verdes, 2024). El extracto

obtenido a partir de ramas de sauce se utilizaba ya en la antigüedad por sus principios analgésicos y antipiréticos. Sin embargo, fue en el siglo XIX, en el que se descubrió que estas propiedades se asociaban a su principio activo que es el ácido ortohidroxibenzoico, o mejor conocido como ácido salicílico (UPO, s. f.). El sauce es una gran fuente de compuestos fenólicos (PCs) producidos en diferentes especies de plantas, que ofrecen propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y antioxidantes para el cuerpo (Mahdi, 2010). Entre la clasificación de los PCs, se encuentran los ácidos fenólicos, que son aquellos fenoles simples que comparten un solo grupo fenol y un grupo carboxílico, y en el que se encuentra el ácido salicílico, metabolito derivado de la salicina, la cual es un compuesto principal dentro del sauce (Curtasu & Nørskov, 2023).

Los estándares, por otro lado, son materiales que contienen una concentración específica y conocida de un químico o analito particular (Lister, 2005). Estos estándares tienen múltiples aplicaciones, pero todas comparten un objetivo común: garantizar la exactitud y precisión de un método de prueba. Un material estándar primario debe ser un químico con una pureza mayor al 99% (Dutton et al., 2022). Al momento de realizar estándares referenciales analíticos se debe tener en cuenta la regulación de normas como son, la ISO 17034 e ISO 17025, que aseguran la competencia y calidad en la producción de materiales de referencia. Además, se debe contar con Buenas Prácticas de Manufactura (GMP), que exigen entornos controlados y documentación estricta para mantener pureza y evitar contaminación. Dado su amplio uso, un estándar analítico del ácido salicílico, permitiría garantizar la pureza y calidad de los productos que lo contienen, asegurando que las concentraciones sean las adecuadas para el consumo humano y que cumplan con las regulaciones de calidad.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

2.1.1. Materia prima.

Las ramas y corteza de sauce (*Salix humboldtiana*.) fueron recolectadas en la ciudad de Píllaro, Tungurahua, a temperaturas entre 8 - 19°C, a una altitud aproximada de 2855 m.s.n.m.



Fig. 2. Ubicación geográfica del sitio de recolección de materia prima.

2.1.2. Equipos.

Para el secado de muestras se usó un horno de secado al vacío DZF-6010 de marca Lanphan. En la extracción del material vegetal, se utilizó un Soxhlet semi automático Ser 148 Series de marca Velp Científica. Las muestras fueron tratadas con el ultrasonido 97043-972 VWR. En la centrifugación se usó el equipo CL10 Thermo Scientific. La medición de pH se logró con un potenciómetro Mettler Toledo™ Medidores de pH/mV FiveEasy™ F20. Los análisis del contenido de ácido salicílico fueron realizados en el sistema HPLC Dionex UltiMate 3000 de la marca Thermo Fisher Scientific. Este está compuesto de una bomba LPG-3400SD con un degasificador en línea integrado (4 canales), auto muestreador WPS-3000, compartimiento para columna TCC-3000 y un detector de arreglo de diodos DAD-

3000. La adquisición y procesamiento de datos se realizó utilizando el software Chromeleon 7.2.10, de Thermo Scientific. Todos los análisis se realizaron utilizando una columna Zorbax SB-Aq C18, 5 μm , 150 x 4.6 mm, de Agilent.

2.1.3. Reactivos.

El estándar de ácido salicílico (69-72-7) de pureza $\geq 99.5\%$ se obtuvo de Panreac Química S.A. Los reactivos usados fueron metanol grado reactivo, carbonato de sodio grado reactivo, ácido clorhídrico al 37%, hidróxido de sodio, ácido nítrico 69%, acetato de etilo al 100%, ácido acético glacial y agua ASTM de tipo I (ultrapura).

2.2. Métodos

2.2.1. Extracción de salicina a partir de sauce (*Salix humboldtiana*).

2.2.1.1. Secado del material.

Las ramas y corteza se las coloca en fundas de papel durante un día para ser transportadas a la ciudad de Quito, a los laboratorios de la Universidad San Francisco de Quito. Se inicia con el lavado del material, para lo que se usa únicamente agua. A continuación, se corta en trozos pequeños tanto las ramas como la corteza y se las coloca en morteros. Para el secado, se usa un horno con secado al vacío, durante 20 horas a 102 °C. Una vez transcurrido el tiempo, se almacena el material seco en fundas de plástico herméticas.

2.2.1.2. Extracción de salicina.

Para la extracción, se usa el extractor semi automático. Se pesa 2.0 g del material seco y se añade 60 mL de metanol en los recipientes usados en el

extractor. Se fija la temperatura a 210°C y se inicia el proceso de extracción. Tras aproximadamente tres horas, el solvente se ha evaporado totalmente y se deja enfriar las muestras.

2.2.1.3. Redisolución de la muestra.

A las muestras anteriores, se les añade 5 mL de metanol y 0.5 mL de una solución de carbonato de sodio (50 g/L).

2.2.2. Hidrólisis ácida de salicina.

Se coloca en el ultrasonido por 20 min. Se pesa 3 g de la muestra obtenida tras la extracción y se las coloca en tubos Falcon, se procede a centrifugarlos a 5000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante, se retira en balones y se añade una solución de HCl (0.5 M) hasta alcanzar un Ph de 1.0, 2.0 y 3.0, para esto se utiliza un potenciómetro. Posteriormente, se coloca a baño María a 70 °C durante 6 horas, regulando que la temperatura no sobrepase la establecida.

2.2.2.1. Neutralización de muestras.

Se prepara una solución de hidróxido de sodio 1.0 M que se añade a las muestras hasta alcanzar pH de 7.

2.2.3. Oxidación de saligenina para la obtención de ácido salicílico.

Las muestras fueron expuestas al ambiente para favorecer los procesos de oxidación inducidos por la presencia de oxígeno atmosférico.

2.2.4. Análisis de ácido salicílico en HPLC.

2.2.4.1. Fase móvil.

La fase móvil está compuesta por volumen de metanol:1.5% de ácido acético glacial (55:45).

2.2.4.2. Curva de calibración.

Se preparan soluciones estándar de ácido salicílico con concentraciones 2, 6, 10, 20 y 30 ppm.

2.2.4.3. Análisis en HPLC.

Se preparó una solución de ácido acético 1.5% v/v (solvente A) para la fase móvil, utilizando agua ASTM tipo I provista por un equipo de ultrapurificación Smart2Pure UF/UV 6 de la marca Thermo Scientific, mientras que el solvente B fue metanol grado HPLC de la marca Merck. El HPLC se calibra a un flujo de 1.0 mL/min con un volumen de inyección de 20 μ L. El tiempo de corrida para las soluciones de calibración es de 5 minutos mientras que para las muestras es de 8-15 minutos.

2.2.4.4. Condiciones cromatográficas.

Se utilizó el método aprobado por la FDA (Filipinas) para el análisis de ácido salicílico en muestras acuosas. Los solventes de la fase móvil fueron filtrados a través de una membrana de nylon 0.22 μ m antes de colocar los reservorios al equipo. Se desgasificó mediante sonicación y el desgasificador en línea del equipo HPLC. El análisis se realizó a una temperatura de 25 °C. La corrida se realizó en condiciones isocráticas, durante un tiempo de 10 minutos, y flujo de 1 mL/min. La detección del

ácido salicílico fue tomado a 302 nm, ancho de banda de 1 nm y razón de recolección de datos de 5 Hz. Se inyectaron 20 μL de muestra, previamente filtrada (0.45 μm), lavando la aguja de inyección antes y después de cada análisis.

3. RESULTADOS

3.1. Curva de calibración de estándar de ácido salicílico

Se presenta la curva de calibración del estándar de ácido salicílico, la cual se realizó por triplicado, obteniendo un valor de $R^2 = 0.9999$, lo que demuestra que tanto la gráfica se ajusta a la ecuación de la recta.

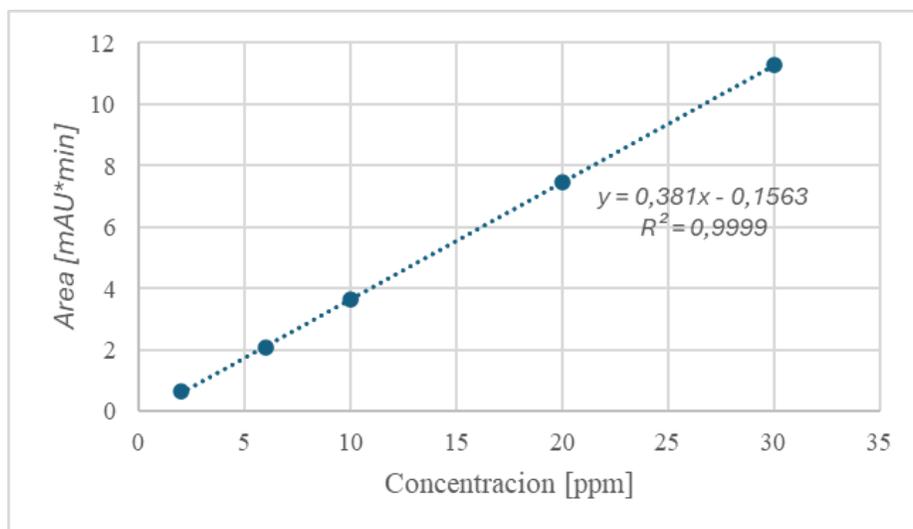


Fig. 3. Curva de calibración del estándar de ácido salicílico

3.2. Concentraciones de ácido salicílico en rama y corteza

A continuación, se muestran las concentraciones de ácido salicílico presentes en las distintas muestras a pH 1.0 y 2.0; hay que tener en cuenta que se presentan en relación con la forma ionizada del ácido.

Tabla 1. Concentraciones obtenidas a pH 1.0.

Muestras	Área del pico [mAU*min]	Concentración [ppm]	Prom de concentración [ppm]
C1	1.2806	37.7139	37.6938
C2	1.0525	31.7270	
C3	1.2762	37.5984	

R1	1.4186	41.3360	35.6798
R2	1.2927	38.0315	
R3	1.1282	33.7139	

Tabla 2. Concentraciones obtenidas a pH 2.0.

Muestras	Area del pico [mAU*min]	Concentración [ppm]	Prom de concentración [ppm]
C4	2.0912	58.9895	50.3613
C5	1.3831	40.4042	
C6	1.8131	51.6903	
R4	1.1966	35.5092	41.8294
R5	1.6745	48.0525	
R6	1.4411	41.9265	

3.3.Cromatograma de ácido salicílico en rama y corteza

Se presentan dos cromatogramas de las muestras analizadas en el HPLC, tanto de rama como de corteza, que permiten apreciar los diferentes picos, además de contrastar con detalle aquel perteneciente al estándar de ácido salicílico con el ácido presente en las muestras y el cual se encuentra en un tiempo de retención de 3,76 *min*

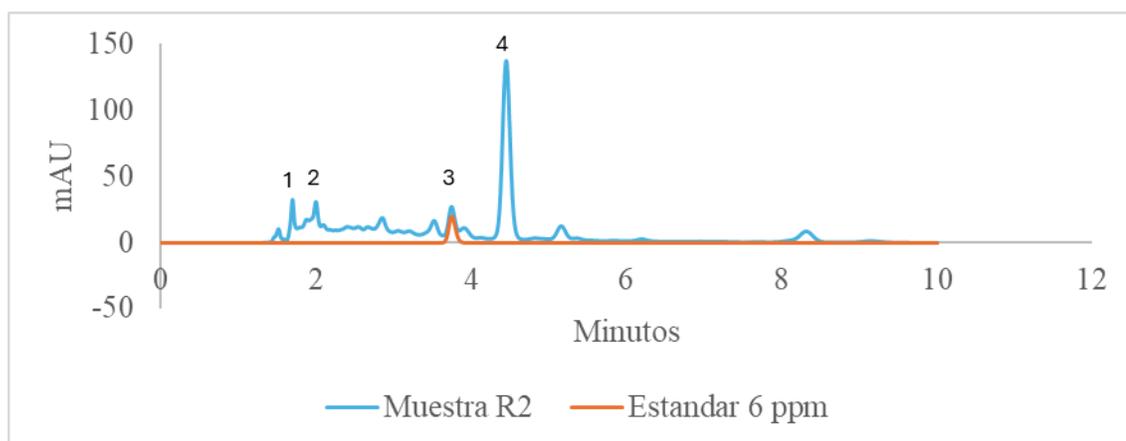


Fig. 4. Cromatograma de estándar de ácido salicílico y muestra de corteza de *Salix humboldtiana*.

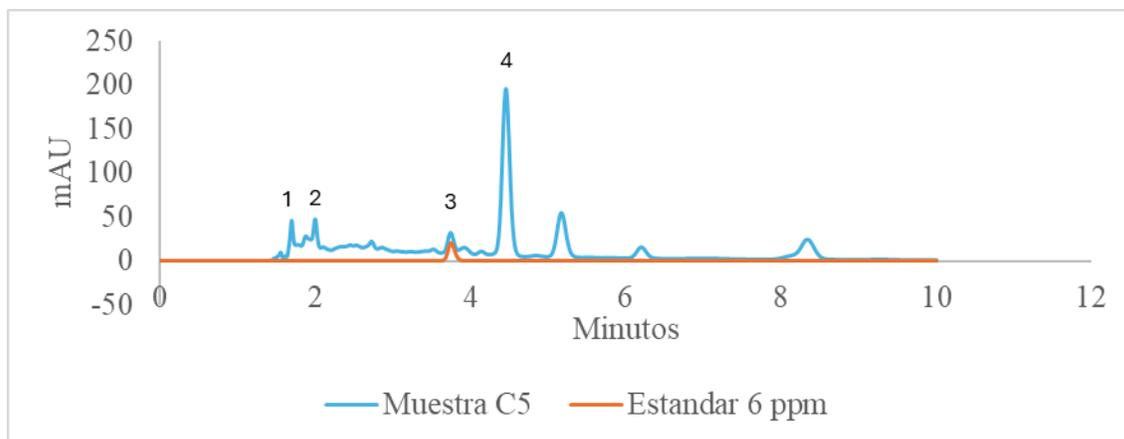


Fig. 5. Cromatograma de estándar de ácido salicílico y muestra de rama de *Salix humboldtiana*.

3.4. FTIR de la muestra hidrolizada

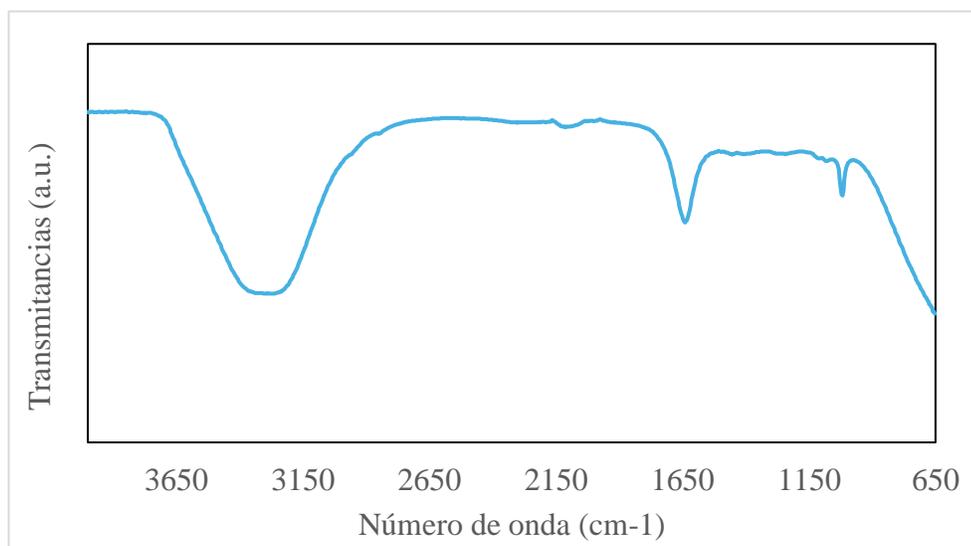


Fig. 6. FTIR ácido salicílico en solución acuosa proveniente de corteza de *Salix humboldtiana*.

3.5. Contenido de ácido salicílico en muestras de rama y corteza

En el gráfico de barras, se muestra la cantidad de mg/g de ácido salicílico que tiene la especie de sauce analizado. Se demuestra que para la corteza este es en efecto mayor sin importar el pH.

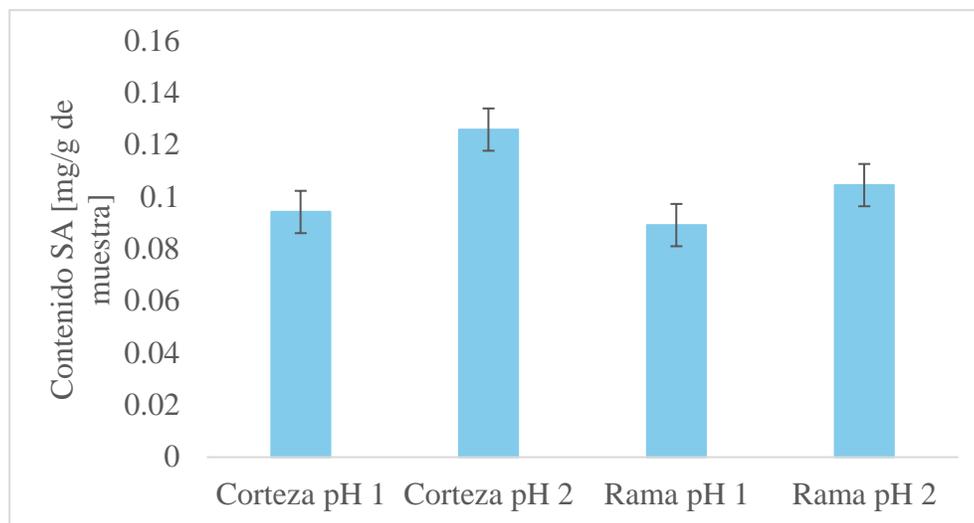


Fig. 7. Diagrama de barras del contenido de ácido salicílico

3.6. Diagrama de Flujo del proceso para la obtención de ácido salicílico

En la Fig. 8. se presenta un diagrama de flujo con la maquinaria necesaria para la producción a pequeña escala de ácido salicílico, la cual sirvió como base de diseño para el análisis teconoeconómico de la producción de ácido salicílico.

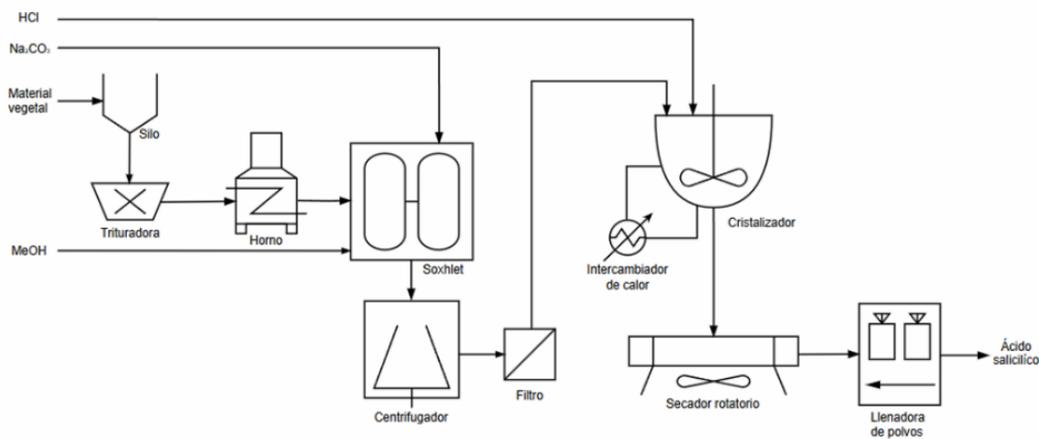


Fig. 8. Diagrama de flujo planta a pequeña escala.

4. DISCUSIONES

4.1. Métodos de extracción

Un método común para la extracción de salicina es la maceración con metanol, este consiste en sumergir el material vegetal en el disolvente durante un período prolongado, permitiendo que la salicina se disuelva lentamente. Este método es sencillo, económico y no requiere equipos complejos, aunque puede ser menos eficiente debido al tiempo prolongado necesario y la falta de recirculación del disolvente. Por otro lado, el uso del Soxhlet es un método más avanzado que mejora la eficiencia de la extracción mediante la recirculación continua del metanol. El sistema calienta el disolvente, lo evapora, y lo condensa repetidamente sobre el material vegetal, garantizando una extracción exhaustiva. Este procedimiento utiliza menos volumen de disolvente a largo plazo y es más rápido, pero requiere un equipo especializado y una fuente de calor constante, lo que puede aumentar los costos. Aunque el calor prolongado podría afectar otros compuestos, la salicina es estable en estas condiciones, lo que hace al Soxhlet altamente eficaz para este propósito.

Ambos métodos comparten la característica de utilizar metanol, un disolvente eficiente para la salicina. Sin embargo, es crucial eliminar cualquier residuo del disolvente antes de continuar con las etapas posteriores, como la hidrólisis, para garantizar la pureza del compuesto extraído. La elección entre estos métodos dependerá de los recursos disponibles y la escala del proceso.

El carbonato de sodio (Na_2CO_3) se utiliza en el solvente de extracción de salicina para ajustar el pH de la mezcla a un nivel alcalino. Este ajuste del pH es crucial, ya que

ayuda a romper enlaces entre la salicina y otros compuestos presentes en la matriz vegetal, aumentando así su solubilidad en el metanol.

4.2. Influencia del pH y tiempo en la hidrólisis

El pH es fundamental en la eficiencia de la hidrólisis de salicina para obtener ácido salicílico porque influye directamente en la tasa de reacción. En condiciones ácidas el proceso de hidrólisis se acelera debido a una mayor concentración de protones, que actúan como catalizadores al romper el enlace glucosídico en la salicina. Esto se puede comprobar con la cinética de la reacción expuesta en el estudio realizado por Nekhoroshev et al. (2020) donde se puede observar una mayor velocidad al encontrarse en un pH menor.

El ácido salicílico tiene un pKa de aproximadamente 2.97. Este valor representa la disociación del grupo carboxílico (-COOH), lo que indica que en un medio de pH superior a este valor, el ácido salicílico estará mayormente ionizado, como salicilato (Hessel et al., 2020). Es por esta razón que al analizar los resultados un pH de 2.0 muestra una mayor concentración. Sin embargo, lo que busca obtener no es la forma ionizada sino la forma protonada del ácido salicílico, por lo que para el proceso de cristalización se recomienda trabajar a un pH cercano a cero.

Por otro lado, pese a que el aumento de temperatura acelera el proceso de hidrólisis, se decidió priorizar el tiempo con el objetivo de no aplicar calor, ya que las muestras eran pequeñas dado que el equipo de extracción tiene una cantidad establecida de masa que puede ser ingresada al equipo (2 g) y al someterlas a temperaturas elevadas

hubiese evaporado al metanol que es un compuesto volátil, pero además importante para el proceso de hidrólisis que debe mantener una fase acuosa.

4.3. Identificación de picos en cromatogramas.

En las *Fig. 4 y 5* se analizaron extractos de *Salix humboldtiana* para identificar ácido salicílico y algunos compuestos que se encuentran en la planta mediante técnicas cromatográficas. Se observaron cuatro picos relevantes que corresponden a metabolitos secundarios que se encuentran dentro de esta especie, conocida por su contenido de polifenoles y glucósidos fenólicos. En el análisis cromatográfico de *Salix humboldtiana*, se identificaron cuatro picos relevantes. El primer pico se asignó a salicina ($rt = 1.71$), un glucósido fenólico característico de las especies del género *Salix* (Sulima et al., 2017). La salicina es conocida como precursor del ácido salicílico y destaca por sus propiedades antiinflamatorias. El segundo pico, se atribuye a un flavonoide ($rt = 2.00$) o derivado fenólico, galocatequina (Curtasu, 2023). Este tipo de compuesto que contribuye a las propiedades antioxidantes y actividades antiinflamatorias del extracto. El tercer pico fue identificado como ácido salicílico ($rt = 3,76$), confirmado mediante comparación con un estándar de referencia, utilizando el método propuesto por FDA (2021). Este compuesto presenta un índice de retención que coinciden perfectamente con los del estándar utilizado, lo que garantiza su identificación. El ácido salicílico es uno de los principales marcadores terapéuticos de los sauces, conocido por sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas. Finalmente, el cuarto pico se asignó a catequina ($rt = 4,46$), un flavonoide común en extractos de plantas y presente en muchas especies de *Salix*. Este compuesto, es abundante en la especie destaca por su potente actividad antioxidante y por sus beneficios antiinflamatorios (Muklada et al., 2020).

4.4. Análisis FTIR

Como se muestra en la *Fig. 6*, se presenta un pico a los 1657 cm^{-1} , el cual representa al ácido salicílico, esto se contrastó con dos artículos científicos. En el primero, el pico característico del espectro, correspondiente al ácido salicílico, se presenta exactamente en el mismo número de onda que aquel que fue obtenido por nosotros (Aljamal et al., 2018). Para mayor veracidad, se contrastó con el espectro de ácido salicílico que presenta NIST (National Institute of Standards and Technology) el cual igualmente presenta un pico prominente al número de onda deseado (Informatics, 2023).

4.5. Comparación de concentración y contenido obtenido de las diferentes muestras

Según el estudio realizado por NEAGU et al. (2021), el contenido de derivados de la salicina en la corteza de diferentes especies de sauce varía del 0,5 al 10%. La diferencia de concentración entre la corteza y las ramas es más evidente en pH 2, no obstante, la concentración de las dos fuentes en pH 1 es muy cercana. Esto puede deberse a que no todo el salicilato pasó a su forma protonada. Por otro lado, basándose en la literatura lo más recomendable es el uso de corteza como fuente, esto debido a que es en esta parte del árbol es en donde se genera la salicina, como una forma de protección contra patógenos (Steinberg et al., 2013). Además, tanto la experimentación mostrada anteriormente como los estudios realizados por Petrek et al. (2007) y NEAGU et al. (2021) muestran un mayor contenido de ácido salicílico en la corteza.

En cuanto al contenido y rendimiento se utilizó la fórmula detallada en el trabajo de Zhang et al., 2022, obteniendo así valores 0.14 mg/g de muestra, lo que refleja un rendimiento bajo, similar a los resultados obtenidos por Petrek et al. (2007) en las

especies como *S. viminalis*, *S. erythrotoflexuosa* y *S. clix cv. Aegma Brno*. Esto a su vez sugiere que la especie es un limitante, ya que no cuenta con alto contenido de salicina per se.

4.6. Análisis de factibilidad de producción de estándares analítico

Se realizó un análisis tecnoeconómico, enfocándose en los costos de la maquinaria descrita en el diagrama de flujo (*Fig. 8*). Teniendo en cuenta los precios de los equipos presentados en diferentes páginas digitales, se obtuvo que los costos de la maquinaria empleada son de \$41 090. Teniendo como base cálculo 700 kg junto con la maquinaria, además de costos estimados de producción, se calculó los costos ISBL (costos dentro de los límites de la planta) que fueron de \$129 580; y a partir de este se fueron desglosando costos, que se encuentran en el Anexo A, como OSBL, imprevistos, mantenimiento, materias primas, etc. Así mismo se estableció un valor de cero para el VAN (valor actual neto), ya que esto permite calcular el valor mínimo unitario que debería tener el producto comercializado para que no se presenten pérdidas económicas.

Por otro lado, tomando en cuenta 15 años vida útil de la planta, la cantidad de unidades estimadas para la venta, una tasa de retorno de un 20%, ya que no hay fabricantes de estándares analíticos en Ecuador, y un costo de producción tomando en cuenta impuestos. De esta forma se obtuvo un precio unitario de \$36.07 por gramo, frente a la competencia, quienes manejan un precio de \$103 (MERCK, 2024) sin incluir el costo de envío y el tiempo de importación, generalmente establecido entre dos y tres meses.

5. CONCLUSIONES

El proceso de extracción e hidrólisis de salicina para obtener ácido salicílico presenta ventajas y limitaciones según el método empleado. La maceración con metanol por un lado es más simple y bajo costo, aunque es menos eficiente debido al tiempo prolongado y mayor dificultad de extracción. Por otro lado, el método Soxhlet, aunque requiere un equipo especializado y mayor inversión inicial, garantiza una extracción más completa y rápida mediante la recirculación continua del disolvente. Durante la hidrólisis, el pH ácido es crucial para romper el enlace glucosídico y obtener ácido salicílico, cuya forma protonada se favorece a pH bajos cercanos a cero.

En cuanto a los análisis cromatográficos de extractos de *Salix humboldtiana* se logró identificar la presencia de compuestos bioactivos como salicina, ácido salicílico y catequina, compuestos que confieren a la especie su potencial terapéutico. Sin embargo, la baja concentración obtenida en comparación con otras especies limita su rendimiento, ya que con corteza. Finalmente, los estudios de factibilidad económica indican que la producción de estándares analíticos a nivel nacional puede ser competitiva frente a importaciones, ofreciendo precios significativamente más bajos y reduciendo tiempos de espera, lo que representa una ventaja en mercados locales.

6. RECOMENDACIONES

Para posteriores investigaciones, se recomienda el uso de otras especies de sauce como el *Salix Babylonica* para evaluar si ofrece un mayor contenido de ácido salicílico por gramo de muestra. Además, para la fase de hidrólisis se puede realizar una de tipo enzimática, no necesariamente ácida, como la β -glucuronidasa mejorar el rendimiento de conversión. Por último, se sugiere contar con mayor acceso a reactivos como el metanol, ya que, al poder procesar mayor cantidad de muestra, la cristalización se vuelve un proceso con más apreciación visual.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aljamal, M., Abul Haj, M., & Kayali, I. (2018). Salicylic Acid and Lactic Acid Co-Crystal. ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/364829945_Salicylic_Acid_and_Lactic_Acid_Co-Crystal?enrichId=rgreq-56c9521bb7cd51cd1120f894f7126bfa-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzM2NDgyOTk0NTtBUzoxMTQzMTI4MTA5Mjg4MTY0MkAxNjY3MDI3OTczNTMx&el=1_x_3&_esc=publicationCoverPdf
- Curtasu, M. V., & Nørskov, N. P. (2023). Comprehensive quantification of flavonoids and salicylic acid representative of *Salix* spp. using microLiquid Chromatography-Triple Quadrupole Mass Spectrometry: the importance of drying procedures and extraction solvent when performing classical solid-liquid extraction. *Journal Of Chromatography A*, 1705, 464139. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464139>
- Dutton, J., Kuveke, R., Barwise, L., Van Ingen, Y., Roberts, N., Vashisth, K., Chitnis, S., Martin, C., & Melen, R. (2022). An International Study Evaluating Elemental Analysis. *ResearchGate*. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2022-k5xvx>
- Food and Drug Administration Philippines. (2021). DETERMINATION OF SALICYLIC ACID (BETA HYDROXY ACID) IN COSMETIC PRODUCTS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC). Document No. 009. <https://www.fda.gov.ph/wp-content/uploads/2021/03/ACM-009.pdf>
- Hessel, A. B., Fabbro, S. K., Marshall, D., & Ramón, J. C. C. (2020). Agents Used for Treatment of Hyperkeratosis. En Elsevier eBooks (pp. 607-616.e4). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-61211-1.00055-3>
- Lister, A. S. (2005). 7 Validation of HPLC methods in

- pharmaceutical analysis. En *Separation science and technology* (pp. 191-217).
[https://doi.org/10.1016/s0149-6395\(05\)80051-0](https://doi.org/10.1016/s0149-6395(05)80051-0)
- Informatics, N. o. o. D. A. (2023). Salicylic acid. NIST.
<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C69727&Type=IR-SPEC&Index=2>
- Mahdi, J. G. (2010). Medicinal potential of willow: A chemical perspective of aspirin discovery. *Journal Of Saudi Chemical Society*, 14(3), 317-322.
<https://doi.org/10.1016/j.jscs.2010.04.010>
- MERCK. (2024). Salicylic acid.
https://www.sigmaaldrich.com/EC/es/product/sial/phr1013?srsId=AfmBOoql171Qfs6rXKN0R_AOK39XWwv2PGv1NoebC62dGIVGov1VGnH_
- Muklada, H., Voet, H., Deutch, T., Zachut, M., Kra, G., Blum, S., Krifuks, O., Glasser, T., Klein, J., Davidovich-Rikanati, R., Lewinsohn, E., & Landau, S. (2020). The effect of willow fodder feeding on immune cell populations in the blood and milk of late-lactating dairy goats. *Animal*, 14(12), 2511-2522. <https://doi.org/10.1017/s1751731120001494>
- Neagu, M., Luntraru, C., Bira, A., Tomescu, J., N Ionescu, & Stan, R. (2021). *BIOACTIVE PHENOLIC COMPOUNDS FROM WHITE WILLOW (SALIX ALBA) BARK, LEAVES AND BRANCHES*. Research Gate.
https://www.researchgate.net/publication/357700775_Bioactive_Phenolic_Compounds_From_White_Willow_Salix_alba_Bark_Leaves_And_Branches
- Nekhoroshev, S. V., Nekhorosheva, A. V., Sabutova, A. B., Botirov, E. K., Drenin, A. A., Slepchenko, G. B., & Gornikov, N. V. (2020). Hydrolytic Stability of Aqueous Solutions of Salicin. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 54(8), 857-860.
<https://doi.org/10.1007/s11094-020-02287-8>

- Nordström, F. L., & Rasmuson, Å. C. (2006). Solubility and Melting Properties of Salicylic Acid. *Journal Of Chemical & Engineering Data*, 51(5), 1668-1671.
<https://doi.org/10.1021/je060134d>
- Petrek, J., Havel, L., Petrlova, J., Adam, V., Potesil, D., Babula, P., & Kizek, R. (2007). Analysis of salicylic acid in willow barks and branches by an electrochemical method. *Russian Journal Of Plant Physiology*, 54(4), 553-558.
<https://doi.org/10.1134/s1021443707040188>
- Steinberg, G. R., Dandapani, M., & Hardie, D. G. (2013). AMPK: mediating the metabolic effects of salicylate-based drugs? *Trends In Endocrinology And Metabolism*, 24(10), 481-487. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.06.002>
- Sulima, P., Krauze-Baranowska, M., & Przyborowski, J. A. (2017). Variations in the chemical composition and content of salicylic glycosides in the bark of *Salix purpurea* from natural locations and their significance for breeding. *Fitoterapia*, 118, 118-125.
<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.03.005>
- Toiu, A., & Vlase, L. (2011). HPLC ANALYSIS OF SALICYLIC DERIVATIVES FROM NATURAL PRODUCTS. *Farmacia*, 59.
<http://www.revistafarmacia.ro/20111/art12%20-%20toiu%20106-112.pdf>
- UPO. (s. f.). *FUNDAMENTOS DE QUÍMICA-PRÁCTICA 10*.
<https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/quimbiotec/FQpractica10.pdf>
- Verdes, C. (2024, 16 septiembre). *Salix humboldtiana* - Árboles para Ciudades. Ciudades Verdes. <https://ciudadesverdes.com/arboles/salix-humboldtiana/>
- Zhang, P., Song, Y., Wang, H., Fu, Y., Zhang, Y., & Pavlovna, K. I. (2022). Optimization of Flavonoid Extraction from *Salix babylonica* L. Buds, and the Antioxidant and

Antibacterial Activities of the Extract. *Molecules*, 27(17), 5695.

<https://doi.org/10.3390/molecules27175695>

8. ANEXOS

Anexo A

Tabla 1. Estimación de costos de la planta de producción de ácido salicílico a pequeña escala.

Costos	Fórmula	Costo
Ce	Σce_i	\$ 41.090,00
ISBL	Método de Hand	\$ 129.580,00
OSBL	$0.4 C_{ISBL}$	\$ 51.832,00
Ingeniería y Construcción	$0.15 C_{ISBL}$	\$ 19.437,00
Imprevistos	$(0.1)(1.4 C_{ISBL})$	\$ 18.141,20
Inversión de Capital Fijo	$1.59 C_{ISBL}$	\$ 206.032,20
Producción Variable (VCOP)	$C_{\text{materias primas}} + \text{otros}$	\$ 11.000,00
Producción Fijo (CSOP)	$\Sigma \text{suelos Trabajadores} + \text{otros}$	\$ 10.000,00
Supervisión	$0.25 C_{SOP}$	\$ 2.500,00
Salud y Seguro	$0.25 (0.4 C_{SOP})$	\$ 250,00
Mantenimiento	$0.03 C_{ISBL}$	\$ 3.887,40
Impuestos y permisos	$0.01 C_{ISBL}$	\$ 1.295,80
Alquiler de Tierra	$0.01 (C_{ISBL} + C_{OSBL})$	\$ 1.814,12
Gastos generales	$[(0.65)(1.25 C_{SOP})] + [0.03 C_{ISBL}]$	\$ 12.012,40
Medio Ambiente	$(0.1)(1.4 C_{ISBL})$	\$ 18.141,20
Producción Total (CCOP)	$VCOP + [2.56 C_{SOP} + 0.1 C_{ISBL}]$	\$ 49.558,00
Capital de Trabajo (CMP)	C_{MP} de 2 semanas	\$ 5.500,00
Inventario Productos y Subproductos	C_{COP} de 2 semanas	\$ 24.779,00
Efectivo en Caja	C_{COP} de 1 semana	\$ 12.389,50
Cuentas por Cobrar	C_{COP} de 4 semana	\$ 49.558,00
Créditos pendientes	$1.1 C_{MP}$ de 4 semanas	\$ 3.025,00
Inventario Repuestos (IR)	$(0.01)(1.4 C_{ISBL})$	\$ 1.814,12

Capital de Trabajo Total	$(C_{MP} \text{ 6 semanas}) + (C_{COP} \text{ 6 semanas}) + IR$	\$ 92.651,12
Total		\$ 766.288,06

Anexo B

Tabla 2. Estimación de costos de equipos principales utilizando el método de factores de Hand.

Equipos	Costo	Factor de Hand	Costo total
Horno	\$ 5.000,00	2	\$ 10.000,00
Triturador	\$ 2.000,00	2,5	\$ 5.000,00
Silo	\$ 800,00	2	\$ 1.600,00
Soxhlet	\$ 10.000,00	3,5	\$ 35.000,00
Cristalizador	\$ 13.500,00	4	\$ 54.000,00
Centrífuga	\$ 4.800,00	2,5	\$ 12.000,00
Secador rotatorio	\$ 4.000,00	2,5	\$ 10.000,00
Llenadora de polvo	\$ 990,00	2	\$ 1.980,00

Anexo C

Tabla 3. Estimación de precio unitario de comercialización.

		Año 1	Año 2	Año 3	Año 4	Año 5	Año 6	Año 7
Inversion	\$ 766.288,00							
Impuestos	\$ 540.000,00							
Costo producción	\$1.134.696,00							
Unidades vendidas	36000							
Tasa Retorno	0,2							
Años	15	1	2	3	4	5	6	7
$C/(1+r)^t$		945580,0	787983,3	656652,8	547210,6	456008,9	380007,4	316672,8
$Q/(1+r)^t$		30000,0	25000,0	20833,3	17361,1	14467,6	12056,3	10046,9
VAN	0							
Precio uni	\$ 36,07							

Año 8	Año 9	Año 10	Año 11	Año 12	Año 13	Año 14	Año 15	Total 15 años
8	9	10	11	12	13	14	15	
263894,0	219911,7	183259,7	152716,4	127263,7	106053,1	88377,6	73648,0	5305240,1
8372,4	6977,0	5814,2	4845,2	4037,6	3364,7	2803,9	2336,6	168317,0

Anexo D



Sample ID:Corteza_SA
Sample Scans:32
Background Scans:32
Resolution:8
System Status:Good
File Location:C:\Users\Public\Documents\Agilent\MicroLab\Results\Corteza_SA_2024-12-05T16-02-45.a2r

Method Name:analysis_usfq
User:Estudiantes
Date/Time:12/05/2024 4:02:45 PM
Range:4000 - 650
Apodization:Happ-Genzel

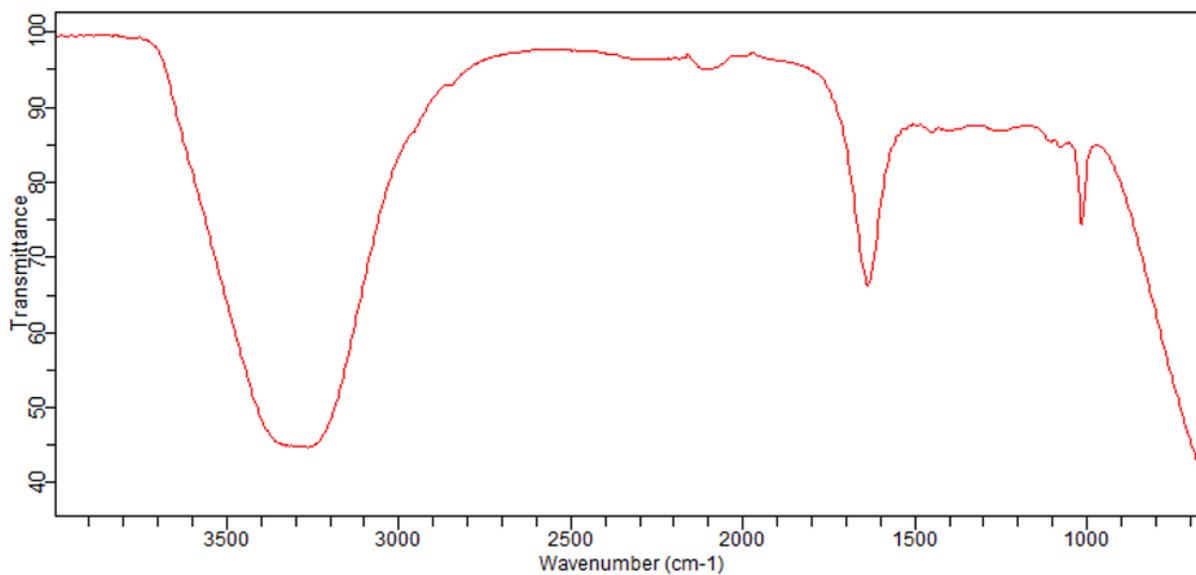


Fig. 1. Espectro de ácido salicílico en solución acuosa proveniente de corteza de *Salix humboldtiana* obtenido por el equipo de Agilent Technologies.