

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE INGENIERÍA MEXICALI

MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA



“Extracción y evaluación de extractos de la hoja de higuerilla (*Ricinus communis*), para aplicación antioxidante”

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:

JOSÉ JORGE GONZÁLEZ ZÚÑIGA

DIRECTOR DE TESIS

DR. CONRADO GARCÍA GONZÁLEZ

CODIRECTOR DE TESIS

DR. MARCOS ALBERTO CORONADO ORTEGA

Mexicali, Baja California a jueves 26 de junio de 2019

ÍNDICE

LISTADO DE FIGURAS	6
LISTADO DE TABLAS.....	8
LISTADO DE ECUACIONES	8
RESUMEN.....	9
ABSTRACT	10
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
JUSTIFICACIÓN.....	13
OBJETIVO GENERAL	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
HIPÓTESIS	15
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO.....	16
ANTECEDENTES.....	16
HIGUERILLA EN MÉXICO Y EL MUNDO	21
EXTRACTOS VEGETALES.....	23
CLASIFICACIÓN	23
EXTRACTOS BLANDOS	23
EXTRACTOS EN POLVO	24
EXTRACTOS FLUIDOS	24
CARACTERÍSTICAS	25
CONSERVACIÓN DE LOS EXTRACTOS	26
MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	26
METABOLITOS SECUNDARIOS	28
TERPENOS	29
FENOLES.....	30
SAPONINAS	30
ALCALOIDES	31
FLAVONOIDES.....	31
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	32
CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
TOMA DE MUESTRAS	35
PREPARACIÓN DE EXTRACTOS	35
CONCENTRACIÓN DE EXTRACTOS.....	38
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	40
DISEÑO DE EXPERIMENTOS.....	47

SIMULACIÓN EN ASPEN PLUS®	48
ANÁLISIS ELEMENTAL	48
COMPONENTES PRESENTES EN LA SIMULACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL Y DEL EXTRACTO	50
UNIDADES DE SIMULACIÓN	51
MÉTODO TERMODINÁMICO	53
DIAGRAMA DE SIMULACIÓN	57
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO Y ANÁLISIS DE ESPECTROSCOPIA DE DISPERSIÓN DE ENERGÍA DE RAYOS X	58
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	58
RESULTADOS UV/VIS RESPECTO AL TIEMPO	58
TABLAS DE PORCENTAJES DE INHIBICIÓN E IC50 A 515 NM DE LOS DISTINTOS EXTRACTOS Y DEL ÁCIDO ASCÓRBICO	62
PORCENTAJE DE INHIBICIÓN CONTRA CONCENTRACIÓN DE LOS DISTINTOS EXTRACTOS Y ÁCIDO ASCÓRBICO	66
CLASIFICACIÓN ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	69
RESULTADOS ANÁLISIS ELEMENTAL	70
RESULTADOS DE LA SIMULACIÓN	71
RESULTADOS DE LA CORRIDA PARA EL DISEÑO DE EXPERIMENTOS.	72
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL DISEÑO DE EXPERIMENTOS.	73
RESULTADOS MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO	75
RESULTADOS ESPECTROMETRÍA DE DISPERSIÓN DE ENERGÍA DE RAYOS X (EDS)	81
CONCLUSIONES	88
RECOMENDACIONES	89
REFERENCIAS	89
ANEXOS	95

Agradecimientos

He de agradecer en primer lugar a Dios por haberme permitido llegar hasta este momento y culminar mi posgrado.

A mi familia por su invaluable e incondicional apoyo, a mis padres José Jorge y María de Jesús y a mis hermanas Gissel y Jessica, también mi hermosa e inteligente novia Luz Bibiana por sus consejos y apoyo durante todo este tiempo.

A mis directores de tesis el Dr. Conrado García y el Dr. Marcos Coronado por ser los guías en este viaje que emprendí hace 2 años, que sin su experiencia esto no hubiera sido posible.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo financiero a través de la beca de manutención que se me fue otorgada durante el periodo del posgrado.

Al Instituto de Ingeniería y la Universidad Autónoma de Baja California por permitirme el uso de sus instalaciones para mi proyecto de investigación, que han sido como mi segundo hogar.

A mis compañeros de posgrado por hacer más amena mi estadía durante el posgrado: Carlos Sagaste, Ramón Ayala, Laura Pérez, Ricardo Torres Mary Beseño, y Ángel León.

A los docentes que ayudaron a mi formación: Dra. Gisela Montero, Dr. Héctor Campbell, Dr. Carlos Pérez, Dr. Alejandro Lambert, Dr. Moisés Galindo, un agradecimiento muy especial a la Dra. Mónica Garrillo por su gran apoyo y sus consejos que me permitieron poder culminar mi investigación y al Dr. Mario Turiel por su ayuda con la microscopía electrónica de barrido y el análisis EDS.

Listado de figuras

Figura 1. Arbusto de higuera (<i>Ricinus communis</i>).	17
Figura 2. Representación gráfica del desarrollo de los racimos en la planta de higuera (<i>Ricinus communis</i>) [10].	17
Figura 3. Poda a 50 cm del borde del suelo, después del primer ciclo de producción [10].	18
Figura 4. Compuestos responsables de la actividad antioxidante de las hojas de higuera (<i>Ricinus Communis</i>). a) Ácido gálico; b) Rutina; c) Quercetina; d) Ácido gentísico; e) Epicatequina.	20
Figura 5. Toneladas de higuera producidas al año en México periodo de 1994 al 2017. Fuente: (elaboración propia con datos de FAOSFAT [15]).	21
Figura 6. Extracción de hoja de higuera en Soxhlet.	27
Figura 7. Maceración en frío.	28
Figura 8. Clasificación de los terpenos según su número de carbonos [22].	29
Figura 9. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante [29]. ..	34
Figura 10. Secado de hojas de higuera.	36
Figura 11. Molienda de hojas de higuera.	36
Figura 12. Adición de 20 g de hoja de higuera a matraz para preparación de extractos.	37
Figura 13. Extracto hoja de higuera.	38
Figura 14. Concentración de extracto en rotaevaporador.	39
Figura 15. Concentración en vaso de precipitado.	40
Figura 16. Diluciones de extractos y solución stock.	41
Figura 17. Espectrofotómetro UV/VIS Perkin Elmer Lambda 25.	42
Figura 18. Cambio de coloración DPPH + ácido ascórbico diferentes concentraciones. ...	44
Figura 19. Cambio de coloración DPPH + extracto metanol diferentes concentraciones.	44
Figura 20. Cambio de coloración DPPH + extracto metanol/agua diferentes concentraciones.	45
Figura 21. Cambio de coloración DPPH + extracto agua diferentes concentraciones.	45
Figura 22. Cambio de coloración DPPH + extracto etanol diferentes concentraciones. ...	46
Figura 23. Cambio de coloración DPPH + extracto etanol diferentes concentraciones. ...	46
Figura 24. El primer paso de seleccionar un método termodinámico [37].	55
Figura 25. Procedimiento para componentes polares y no polares [37].	56
Figura 26. Diagrama de la simulación del aceite esencial.	57
Figura 27. Diagrama de la simulación del extracto.	57
Figura 28. Lectura respecto al tiempo ácido ascórbico + DPPH en UV/VIS.	59
Figura 29. Lectura respecto al tiempo extracto metanol + DPPH en UV/VIS.	59
Figura 30. Lectura respecto al tiempo extracto metanol/agua + DPPH en UV/VIS.	60
Figura 31. Lectura respecto al tiempo extracto agua + DPPH en UV/VIS.	60
Figura 32. Lectura respecto al tiempo extracto etanol+ DPPH en UV/VIS.	61
Figura 33. Lectura respecto al tiempo extracto etanol/agua + DPPH en UV/VIS.	61
Figura 34. Porcentaje de inhibición contra concentración del ácido ascórbico y ecuación de regresión.	66

Figura 35. Porcentaje de inhibición contra concentración de extracto metanol y ecuación de regresión.....	67
Figura 36. Porcentaje de inhibición contra concentración de extracto metanol/agua y ecuación de regresión.....	67
Figura 37. Porcentaje de inhibición contra concentración de extracto agua y ecuación de regresión.....	68
Figura 38. Porcentaje de inhibición contra concentración de extracto etanol y ecuación de regresión.....	68
Figura 39. Porcentaje de inhibición contra concentración de extracto etanol/agua y ecuación de regresión.....	69
Figura 40. Micrografía de hoja de higuierilla sin procesar a 80x.	75
Figura 41. Micrografía de hoja de higuierilla sin procesar a 1000x.....	76
Figura 42. Micrografía de hoja de higuierilla procesada con metanol a 80x.	76
Figura 43. Micrografía de hoja de higuierilla procesada con metanol a 1000x.	77
Figura 44. Micrografía de hoja de higuierilla procesada con metanol/agua a 80x.	77
Figura 45. Micrografía de hoja de higuierilla procesada con metanol/agua a 1000x.	78
Figura 46. Micrografía de hoja de higuierilla procesada con agua a 80x.	78
Figura 47. Micrografía de hoja de higuierilla procesada con agua a 1000x.	79
Figura 48. Micrografía de hoja de higuierilla procesada con etanol a 80x.	79
Figura 49. Micrografía de hoja de higuierilla procesada con etanol a 1000x.	80
Figura 50. Micrografía de hoja de higuierilla procesada con etanol/agua a 80x.	80
Figura 51. Micrografía de hoja de higuierilla procesada con etanol/agua a 1000x.	81
Figura 52. Hoja de higuierilla sin procesar (EDS).	82
Figura 53. Hoja de higuierilla procesada con metanol (EDS)	83
Figura 54. Hoja de higuierilla procesada con metanol/agua (EDS).	82
Figura 55. Hoja de higuierilla procesada con agua (EDS).....	83
Figura 56. Hoja de higuierilla procesada con etanol (EDS).....	84
Figura 57. Hoja de higuierilla procesada con etanol/agua (EDS)..	85

Listado de tablas

Tabla 1. Principales productores de higuera en el mundo periodo de 1994 al 2017. Fuente: (elaboración propia con datos de FAOSFAT [15]).	22
Tabla 2. Condiciones para recuperación de solventes rotaevaporador.	39
Tabla 3. Arreglo de factores para el diseño de experimentos.	48
Tabla 4. Componentes de Aspen Plus® en la simulación del aceite esencial	50
Tabla 5. Componentes de Aspen Plus® en la simulación del extracto.	50
Tabla 6. Aspen Plus® unidad usada en la simulación de aceite esencial	51
Tabla 7. Aspen Plus® unidad usada en la simulación de extracto.	51
Tabla 8. Aspen Plus® unidades de operación y bloques en la simulación	52
Tabla 9. Aplicaciones de métodos termodinámicos [37].	54
Tabla 10. Porcentaje de inhibición e IC50 ácido ascórbico.	62
Tabla 11. Porcentaje de inhibición e IC50 metanol.	62
Tabla 12. Porcentaje de inhibición e IC50 metanol/agua	62
Tabla 13. Porcentaje de inhibición e IC50 agua.	62
Tabla 14. Porcentaje de inhibición e IC50 etanol.	62
Tabla 15. Porcentaje de inhibición e IC50 etanol/agua.	62
Tabla 16. Clasificación de los extractos por su actividad antioxidante	62
Tabla 17. Actividad antioxidante relativa, IC50 y clasificación de la actividad antioxidante de los extractos de la hoja de higuera...	62
Tabla 18. Resultados análisis elemental.	70
Tabla 19. Entradas y salidas de la simulación del aceite esencial.	71
Tabla 20. Entradas y salidas de la simulación del extracto	71
Tabla 21. Resultados corrida experimental.	72
Tabla 22. Resultados del análisis estadístico del diseño de experimentos.	73

Listado de ecuaciones

Ecuación 1. Porcentaje de inhibición.	43
Ecuación 2. Actividad antioxidante relativa	43
Ecuación 3. Determinación de oxígeno.	49

Resumen

El objetivo principal del presente trabajo de investigación consistió en la utilización de las hojas de *Ricinus communis* para la obtención de extractos, y la evaluación de su capacidad antioxidante, mediante la utilización del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y utilizando ácido ascórbico como estándar, aprovechando de esta manera las hojas residuales, producto de las podas durante el cultivo de la planta, evitando así problemáticas ambientales como es la quema *in situ* de residuos.

Los extractos vegetales se consideran como mezclas concentradas de principios activos y sustancias inertes de plantas o parte de ellas, los cuales son de importancia en la industria, alimentos, farmacéutica, entre otras y son obtenidos a través del uso frecuentemente de solventes orgánicos de bajo punto de ebullición como etanol, metanol, hexano, entre otros. La técnica utilizada para la obtención de extractos debido a su ahorro de energía, sencillez y eficacia fue la maceración en frío con diferentes solventes orgánicos obteniéndose así: extracto metanólico, extracto etanólico, extracto metanol/agua y extracto etanol/agua.

Las moléculas con mayor presencia en estos extractos son la quercetina y rutina, las cuales fueron utilizadas en la simulación de una planta piloto en el software Aspen Plus®.

Se realizó un diseño de experimentos para determinar los factores más significativos para lograr el mayor rendimiento en la obtención de los extractos.

Por último, las hojas procesadas y sin procesar fueron analizadas en un microscopio electrónico de barrido y por espectrometría de rayos x, con el fin de identificar los cambios morfológicos que ocurrieron en sus superficies antes y después del contacto con los distintos solventes.

Abstract

The main objective of this research work is to use the leaves of *Ricinus communis* to obtain extracts, and evaluate their antioxidant capacity, using the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and using ascorbic acid as a standard, taking advantage of the residual leaves, product of the pruning during the cultivation of the plant and avoiding environmental problems such as in situ burning of waste.

Plant extracts are considered as concentrated mixtures of active principles and inert substances of plants or part of them, which are important to the industry, food, pharmaceutical, and others and are obtained through the frequent use of low-boiling point organic solvents. as ethanol, methanol, hexane etc. The technique used to obtain extracts due to energy savings, simplicity and efficiency was cold maceration with different organic solvents, obtaining: methanolic extract, ethanolic extract, methanol/water extract and ethanol/water extract.

The major molecules present in these extracts are quercetin and rutin, which were used in the simulation of a pilot plant in the Aspen Plus® software.

An experimental design was carried out to determine which factors were the most significant to obtain a better yield in obtaining the extracts.

Finally, the processed and unprocessed leaves were analyzed in a scanning electron microscope and by x-ray spectrometry in order to identify the morphological changes that occurred on their surfaces before and after being in contact with the different solvent.

Capítulo 1: Introducción

Planteamiento del problema

Debido a que la energía fósil es finita, los precios, inevitablemente, alcanzarán valores elevados, lo que limitará este recurso como una alternativa industrial, energética y económica. Por otro lado, el uso de fuentes fósiles implica un incremento neto de dióxido de carbono en la atmósfera, el cual, sumado a otros gases de efecto invernadero, generan aumentos en la temperatura media, tanto en la tierra, como en los océanos, lo cual afecta en gran magnitud el equilibrio energético del planeta.

Es por ello la creciente preocupación por reducir la dependencia hacia los combustibles fósiles. Esto ha ocasionado el auge de los cultivos con fines bioenergéticos, destacando a los aceites vegetales que pueden tener un sustancial impacto al corto plazo, sustituyendo el petróleo como materia prima industrial; en lugar de reemplazarlo como fuente energética. No obstante, es evidente, que uno de los más importantes fines para el que se ha destinado gran parte de la producción mundial de aceites vegetales (canola, soya y palma, principalmente), es su uso en la generación de biodiesel, como combustible alternativo al diesel fósil. Este incremento en la producción de biodiesel ha creado una competencia entre el uso de aceites para la alimentación, la industria y aplicaciones energéticas, lo que ha contribuido al alza de los precios de los alimentos, representando una amenaza directa para la seguridad alimentaria de la población urbana y rural; así como un incremento de los costos de la materia prima, para un gran número de procesos industriales [1].

Por lo anterior, es necesario identificar fuentes alternativas para la producción de aceites vegetales como materia prima para aplicaciones industriales y energéticas, dándoles un aprovechamiento total a estas fuentes de ser posible, las cuales, idealmente, deben ser a partir de especies que produzcan aceites no comestibles, que no compitan directamente con el suministro de aquellos para la alimentación y, que puedan ser cultivadas en tierras marginales, requerir mínimas áreas y presentar bajos costos de producción.

La higuera (*Ricinus communis* L.) es considerada como una alternativa para la producción de aceites vegetales, ya que su aceite al ser no comestible y por sus características químicas, es una materia prima estratégica, utilizada en el sector industrial y energético para la elaboración de pinturas, plásticos, cosméticos, lubricantes, fluidos aeronáuticos y biodiesel [1].

Esto ha ocasionado el potencial auge del cultivo de la higuera en la región agrícola del Valle de Mexicali, Baja California, ya que productores cultivarán higuera de manera comercial, con la finalidad de producir aceites vegetales para su transformación en biodiesel y sus derivados; así lo dio a conocer el delegado de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) en Baja California, Ing. Guillermo Aldrete Haas [2].

Es por esto que se busca el aprovechamiento a las podas de higuera (*Ricinus communis* L.) y aprovechar sus hojas, las cuales conforman una gran parte de la planta y obteniendo extractos a través de diferentes solventes para futuras aplicaciones como antioxidante.

Justificación

Durante los últimos años, se ha estudiado la influencia que tienen los radicales libres (RL) como promotores de un gran número de enfermedades y del deterioro de los alimentos grasos, así como del biodiesel. El biodiesel producido a partir de soya y muchas otras materias primas es menos resistente a la oxidación que un diesel de petróleo típico, a menos que se modifique o se trate con aditivos. A las empresas que transportan y almacenan biodiesel les preocupa que el biodiesel pueda formar sedimentos durante el almacenamiento. Los operadores de vehículos y equipos necesitan garantías de que el sedimento y la goma no se formarán durante el uso. Además, Terry *et al.* [3] han demostrado que, a niveles muy altos de oxidación, las mezclas de biodiesel se pueden separar en dos fases causando problemas operativos en la bomba de combustible e inyector [4].

La oxidación de los componentes lipídicos (regularmente ácidos grasos y triglicéridos) es conocida como rancidez oxidativa o peroxidación lipídica [5].

Los radicales libres se sintetizan *in vivo* a partir de varias reacciones bioquímicas y tienden a formar una cadena en el sistema, la cual es iniciada por RL del oxígeno o por el ataque del oxígeno molecular a los RL preformados en los ácidos grasos poliinsaturados que forman parte de las grasas y aceites. La peroxidación lipídica iniciada por los RL causa muchos daños a nivel biológico. Los peróxidos lipídicos y sus productos secundarios conocidos como “compuestos carbonílicos reactivos”, también causan daños biológicos significativos, entre ellos se destacan los aldehídos como el formaldehído, acetaldehído, malonaldehído (MA) y el 4-hidroxinonenal, debido a que son reconocidos como mutagénicos y carcinogénicos.

La peroxidación puede ser prevenida o retrasada por los antioxidantes, los cuales son sustancias orgánicas de origen sintético o natural que actúan como atrapadores de los RL del oxígeno involucrado en la oxidación de los ácidos grasos, sin embargo, existe mucha preocupación respecto a sus efectos nocivos para la salud tanto humana como animal, debido a su potencial acción carcinogénica y a problemas relacionados con toxicidad [6].

Los antioxidantes se producen de forma natural, por ejemplo, la vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles; existen cuatro especies de cada uno, α , β , γ), o se agregan materiales sintéticos de forma deliberada, como hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), terc-butilhidroquinona (TBHQ) o galato de propilo (PG). El nivel de antioxidantes naturales en los aceites vegetales se ve afectado por el proceso de refinación. Los pirimidinoles, están entre los antioxidantes sintéticos más fuertes conocidos, aunque los piridinoles pueden ser incluso más efectivos [7]. Los antioxidantes como los fenoles y las aminas tienen un átomo de hidrógeno que puede ser "donado" para interrumpir la reacción en cadena, por lo que, por ejemplo, los fenoles se convierten en quinonas, o pueden reaccionar con un radical de forma aditiva [8].

Varios centros de investigación entre ellos el Laboratorio de Cromatografía de la Universidad Industrial de Santander, vinculado al Centro de Investigación en Biomoléculas (Cibimol), están buscando en las fuentes naturales, nuevas sustancias con propiedades antioxidantes que puedan reemplazar a los antioxidantes sintéticos comúnmente utilizados [9].

Objetivo general

Obtener extracto de hoja de higuera (*Ricinus communis*) con diferentes solventes y evaluar la capacidad antioxidante de sus extractos.

Objetivos específicos

- Obtener extractos de hoja de higuera (*Ricinus communis*), a partir de metanol, etanol, agua, mezclas 80:20 de metanol/agua y etanol/agua
- Evaluar la capacidad antioxidante de los distintos extractos de la hoja de higuera (*Ricinus communis*).
- Analizar el rendimiento de extracción del extracto con los diferentes solventes empleados por medio de un diseño de experimentos.
- Obtener el análisis elemental de la hoja de higuera (*Ricinus communis*).
- Simular en Aspen Plus® del extracto de higuera (*Ricinus communis*).
- Analizar por microscopía electrónica la hoja de higuera sin procesar y procesada con diferentes solventes (*Ricinus communis*),

Hipótesis

Se obtendrán extractos de la hoja de higuera (*Ricinus communis*) a partir de diferentes solventes, los cuales tendrán capacidad antioxidante.

Capítulo 2: Marco Teórico

Antecedentes

La higuierilla (*Ricinus communis*) pertenece a la familia *Euphorbiaceae* y es conocida como ricino, tártago, mamoneira, mamona, palma christi, higuiereta, castor, castor bean y castor oil plant. El género *Ricinus* es considerado monotípico, y la especie *R. communis* es la única que incluye diversos tipos polimórficos [1].

La planta varía en el color del follaje y del tallo, tamaño de la semilla, color y contenido de aceite y en sus hábitos de crecimiento, siendo algunas veces desde perenne, que a menudo se desarrollan como árboles (>7 m), hasta plantas enanas, anuales y de ciclo corto. En relación con el porte, las plantas de higuierilla se clasifican en enanas (2.5 m), las cuales pueden llegar hasta los 10 m de altura y lograr ciclos de hasta 10 años, cuando las condiciones ambientales, especialmente, temperatura y disponibilidad de agua lo permitan para siembras comerciales y a gran escala, y por razones climáticas, como déficit hídrico y elevadas temperaturas. El proceso de selección se ha enfocado a la identificación de plantas de ciclo corto, erectas, de porte bajo y que usualmente se comporten como plantas anuales, se puede apreciar un arbusto de higuierilla en la figura 1.



Figura 1. Arbusto de higuera (Ricinus comunnis).

Es una planta bien foliada y las hojas se distribuyen de forma alterna, con filotaxia 2/5; son palmadas, con 5 a 11 lóbulos acuminados, las márgenes son cerradas, con o sin cera y varían en longitud y coloración, desde el verde, rojo, hasta el morado (ver figura 2) [1].

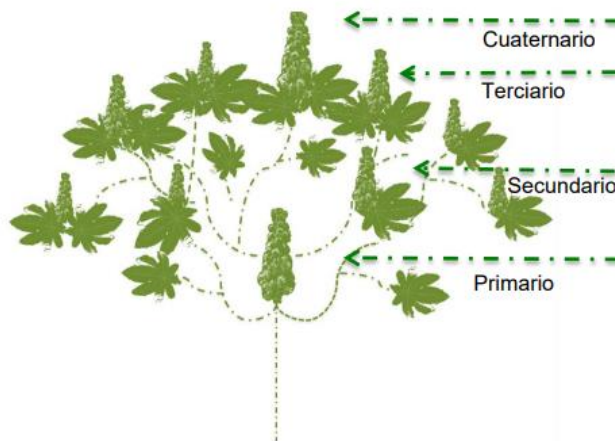


Figura 2. Representación gráfica del desarrollo de los racimos en la planta de higuera (Ricinus communis) [10].

La planta posee efectos beneficiosos tales como antioxidantes, antihistamínicos, anti-asmáticos, antiulcerosos, inmunomoduladores, anti-inflamatorio, insecticida, larvicidas y antivirales [11].

Tipos de poda: El ricino de porte medio, cuando se siembra en tierras fértiles, presenta un desarrollo vegetativo exuberante, pudiendo alcanzar una altura superior a 3 m, lo que dificulta el proceso de recolección y el control de plagas. La poda, es una operación recomendada para cultivos de portes medio y alto, pero nunca para los tipos enanos.

Poda verde o apical: La cual consiste en eliminar las yemas terminales para inducir el rebrote lateral, recomendada para cultivos de porte alto, cuando alcancen 1 m de altura.

Poda seca: Se realiza cuando se pretende explotar un segundo ciclo, se efectúa tras la última recolección, cinco o seis meses después de la fructificación. La poda se realiza a una altura de 30 a 50 cm del suelo (ver figura 3) [12].



Figura 3. Poda a 50 cm del borde del suelo, después del primer ciclo de producción [10].

Los antioxidantes son sustancias que pueden impedir, retrasar o inhibir las oxidaciones catalíticas y los procesos que inducen la formación de radicales libres en los alimentos y bebidas. Actualmente, existe un gran interés en los aditivos naturales que posean propiedades antioxidantes, y en los últimos años se han estudiado muchas especies vegetales como fuentes potenciales de antioxidantes, entre ellas se destacan varias plantas aromáticas y especias.

Comúnmente, se determina la capacidad para retardar el proceso de peroxidación de los lípidos presentes en los aceites y alimentos grasos, donde además se considera la tendencia de los consumidores la cual se inclina hacia el consumo de alimentos libres de productos y aditivos alimentarios provenientes de la síntesis química: neutralizantes, preservantes, antioxidantes, colorantes y saborizantes [6].

Estudio in vitro revela que los principales compuestos responsables de la actividad antioxidante de las hojas secas de higuera (*Ricinus communis*) se muestran en la figura 4 [13]:

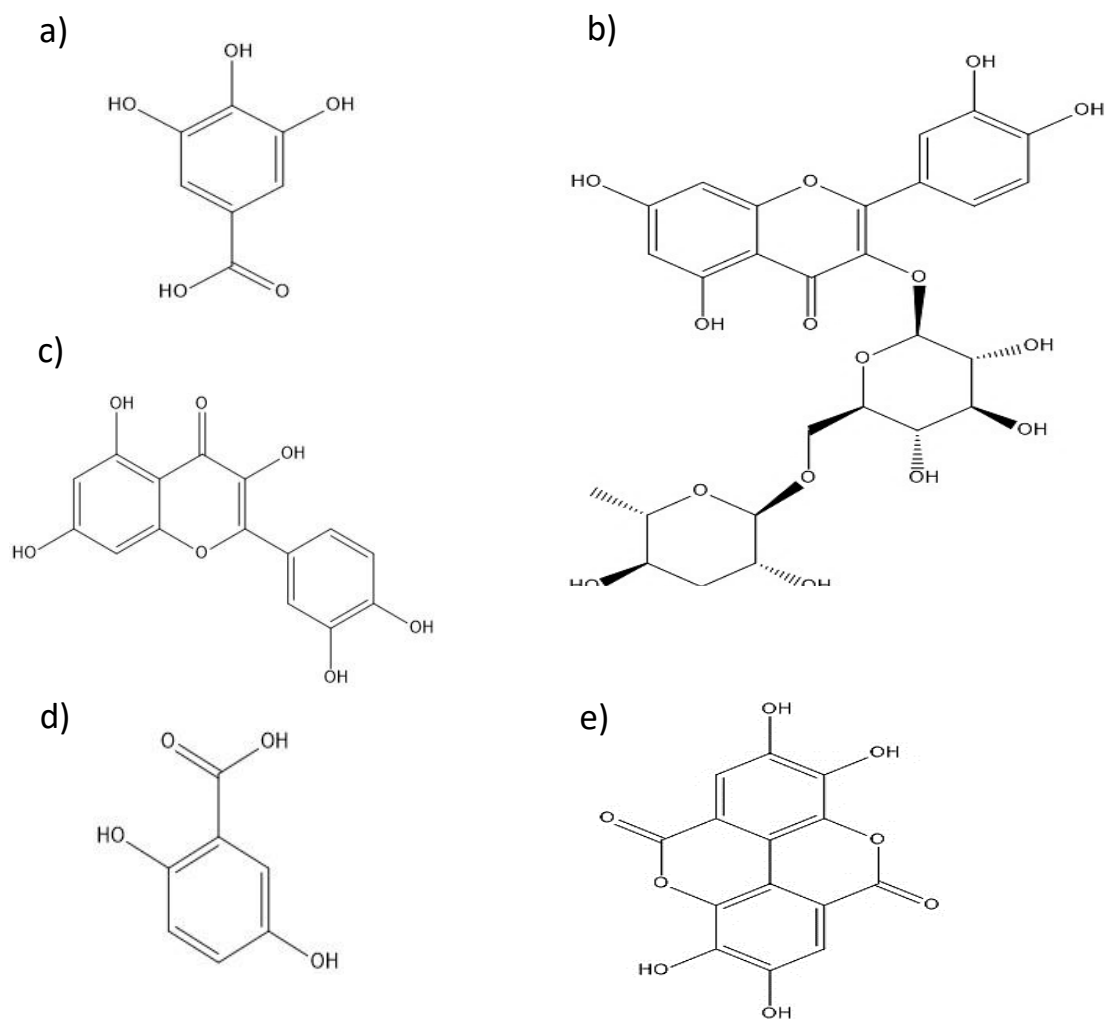


Figura 4. Compuestos responsables de la actividad antioxidante de las hojas de higuera (*Ricinus Communis*). a) Ácido gálico; b) Rutina; c) Quercetina; d) Ácido gentístico; e) Epicatequina.

Higuerilla en México y el Mundo

Según la FAOSFAT y los datos que proporciona el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), en 2017, hubo una producción de 3.5 mil toneladas, todas recolectadas bajo la modalidad de riego (Ver figura 5).

En nuestro país, sólo se produce en dos entidades: Sonora, quien aportó 65.6% del volumen total y Nayarit, con el 34.4% restante [14].

El principal municipio productor de Sonora es Hermosillo, quien contribuyó con 99.9% del volumen del estado; mientras que, en Nayarit, la totalidad se cosechó en el municipio de Santiago Ixcuintla [14].

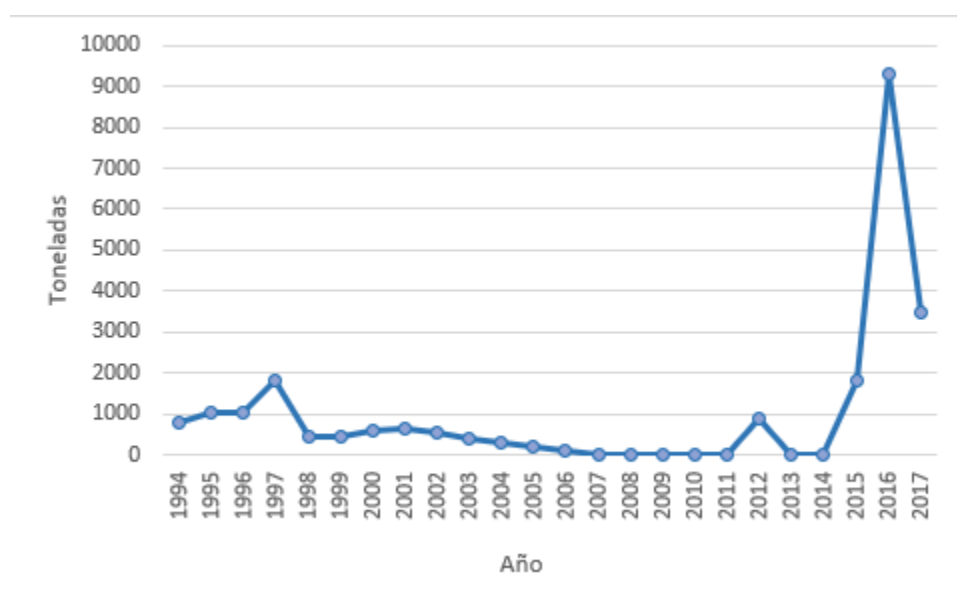


Figura 5. Producción de higuerilla en México periodo de 1994 al 2017. Fuente: (elaboración propia con datos de FAOSFAT [15]).

A nivel mundial, India ha sido el mayor productor de higuera, país en el cual se produjeron en promedio alrededor de 1,141,783.33 toneladas en el periodo de 1994 a 2017, el cual es seguido por China, Brasil, Mozambique y Paraguay como se muestra en la tabla 1 [16].

Tabla 1. Principales productores de higuera en el mundo periodo de 1994 al 2017. Fuente: (elaboración propia con datos de FAOSFAT [15]).

Principales productores de higuera en el Mundo	
País	Producción promedio (t)
India	1,141,783.33
China	175,750.00
Brasil	72,429.00
Mozambique	47,013.17
Paraguay	10,955.63
Myanmar	8,287.58
Tailandia	7,102.83
Etiopía	6,864.58
Vietnam	5,574.92
Sudáfrica	5,344.46

Extractos vegetales

Los extractos vegetales se han definido como un concentrado obtenido por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, tales como agua, etanol, metanol, éter, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca [17].

Clasificación

De acuerdo con la farmacopea, comúnmente los extractos se clasifican en tres grupos: blandos, fluidos y en polvo.

Extractos blandos

Los extractos semisólidos, también conocidos como extractos blandos o extractos de píldoras, son preparaciones que tienen consistencias entre los extractos fluidos y los de extractos en polvo, y se obtienen por evaporación parcial del disolvente, agua, alcohol o mezclas hidroalcohólicas que se utilizan como disolventes de extracción. Pueden contener antimicrobianos adecuados u otros conservantes. Un extracto semisólido y un extracto en polvo obtenido del mismo material son intercambiables como medicamentos o como suplementos, pero cada uno tiene sus propias ventajas [18].

Extractos en polvo

Los extractos en polvo son preparaciones sólidas que tienen una consistencia en polvo obtenida por evaporación del solvente usado para la extracción. Pueden contener sustancias añadidas adecuadas, como excipientes, estabilizantes y conservantes. Los extractos en polvo estandarizados se ajustan al contenido definido de los constituyentes, utilizando materiales inertes adecuados o un extracto en polvo de la materia vegetal utilizada para la preparación. Cuando sea aplicable, se especifica un límite para el solvente utilizado para la extracción en la monografía individual [18].

Extractos fluidos

Los extractos fluidos, también conocidos como extractos líquidos, son preparaciones de materia vegetal, que contienen alcohol como solvente o como conservante, o ambos, y están hechos de tal manera que cada ml contiene los constituyentes extraídos de 1 g del material crudo que representa, a menos que se especifique lo contrario en la monografía individual. Pueden prepararse a partir de extractos adecuados y pueden contener antimicrobianos u otros conservantes. Los extractos farmacéuticos de fluidos se realizan por percolación, a menudo después de un período de maceración. El solvente requerido se especifica en la monografía individual. El procedimiento de fabricación común incluye la concentración de la porción más diluida del percolado por evaporación o destilación al vacío a temperaturas inferiores a 60 °C. El tiempo de maceración y la tasa del flujo durante la percolación se puede variar para ajustar la cantidad y la naturaleza del material crudo bajo extracción, siempre que la composición de los constituyentes de interés extraídos no se vea afectada adversamente [18].

Características

Estudios realizados permitieron fundamentar las siguientes características específicas de los extractos [17]:

- Los extractos bien preparados son de color más o menos oscuros, cuando han sido preparados al vacío, son ligeramente más claros.
- Algunos son de color café amarillento, otros rojizos, los extractos provenientes de hojas son verdosos debido a la clorofila. Su aspecto debe ser liso, fino y homogéneo.
- Su olor y sabor son propiedades características de la materia prima que les ha dado su origen. Cuando son mal preparados, adquieren olor a caramelo o confitura poco conocida.
- La solubilidad de los extractos es variable y está en relación directa con el tipo de preparación al cual fueron sometidos.
- Los extractos acuosos son completamente solubles en agua y producen una solución transparente, algunas veces ligeramente, algunas veces ligeramente turbia, debido a que han sido preparados con mucha anterioridad.
- Los extractos alcohólicos son parcialmente solubles en agua y algunas veces son totalmente insolubles, especialmente los extractos que han sido preparados con alcohol fuerte tienen un excelente índice de disolución, en el mismo título alcohométrico del alcohol con el cual han sido preparados.
- Los extractos alcohólicos preparados con hojas dan soluciones coloreadas de verde, pues la eliminación de la clorofila no puede ser total.

Conservación de los extractos

Un extracto seco o de tipo pilular se conserva mejor que un extracto acuoso. Esto no es totalmente exacto, pues la naturaleza del producto interviene igualmente. Algunos extractos se descomponen al aire, otros absorben humedad atmosférica. La conservación de los extractos debe cumplir las siguientes condiciones [19]:

- a) Se deben conservar protegiéndolos de la luz
- b) Los envases deben estar bien tapados
- c) Deben estar en un medio seco

Métodos de extracción

Los métodos de extracción deben obedecer a la información de la naturaleza química de las sustancias, presentes en la planta y al propósito de la investigación. En el caso de búsqueda de sustancias para la comprobación de actividad biológica, la extracción del material vegetal debe hacerse en agua o con solución disotónica (0.9 % NaCl). Frecuentemente se usa la extracción con solventes orgánicos de bajo punto de ebullición (alcohol, acetato de etilo) y de baja reactividad. Algunas veces es conveniente desengrasar el material vegetal con éter de petróleo (extracto etéreo) o hexano. El alcohol es generalmente más eficaz para recuperar la mayoría de los metabolitos secundarios. Los extractos son evaporados bajo presión reducida o liofilizados, en el caso de extracción con agua [19].

Los métodos de extracción se basan en las diferentes solubilidades de los diversos compuestos encontrados en el material vegetal, así, para sustancias de baja polaridad (lípidos) se utilizan como solventes el éter de petróleo y cloroformo; para sustancias de mediana y alta polaridad el acetato de etilo, el etanol y la acetona [19].

Las extracciones pueden hacerse por “extracción continua en soxhlet”, en la cual el material seco se sitúa en una cámara central y el solvente se hace evaporar en caliente, en un recipiente inferior, el vapor del solvente asciende al condensador y gotea sobre el material vegetal (Ver figura 6). Por “reflujo”, el material vegetal y el solvente se colocan en un balón el cual tiene acoplado un refrigerante, se calienta, el solvente evaporado se condensa y vuelve a mezclarse con el material vegetal [19].



Figura 6. Extracción de hoja de higuera en Soxhlet.

En la “maceración en frío”, el material se mezcla con el solvente triturado continuamente en frío por un tiempo determinado (Ver figura 7) [19].



Figura 7. Maceración en frío.

Metabolitos Secundarios

Son sustancias que tienen una estructura compleja, que pueden presentarse en una especie o en especies afines. Estos metabolitos secundarios están presentes en concentraciones muy bajas, los que ejercen un efecto fisiológico y farmacológico sobre el hombre. También estos metabolitos son usados comercialmente como compuestos activos para la elaboración de productos farmacéuticos, sabores, fragancias y pesticidas [20].

Los constituyentes de la planta son responsables de la captación de radicales libres y de la actividad antiinflamatoria. Los metabolitos secundarios son responsables de las actividades biológicas de las plantas incluyendo terpenoides, compuestos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos, quinonas, cumarinas, ligninas, estilbenos, taninos), y compuestos de nitrógeno (alcaloides, aminas, betalainas) y carotenoides. Los informes reportados de investigaciones sugieren que los compuestos fenólicos son los potentes compuestos antioxidantes de las plantas medicinales [21].

Terpenos

Los terpenoides (terpenos) representan la clase más grande de metabolitos secundarios y ocurren en todas las plantas. Su estructura básica sigue un principio general: los residuos de 2-metilbutano, menos precisos, pero generalmente también denominados unidades de isopreno, (C_5)_n, forman la estructura carbonada de los terpenos. El terpenoide más simple, el isopreno de hidrocarburo (C_5H_8), es un gas volátil producido por las hojas en gran cantidad durante la fotosíntesis, que puede proteger las membranas celulares de daños debidos a altas temperaturas o luz. Los terpenoides se clasifican por el número de carbonos como se muestra en la figura 8 [5].

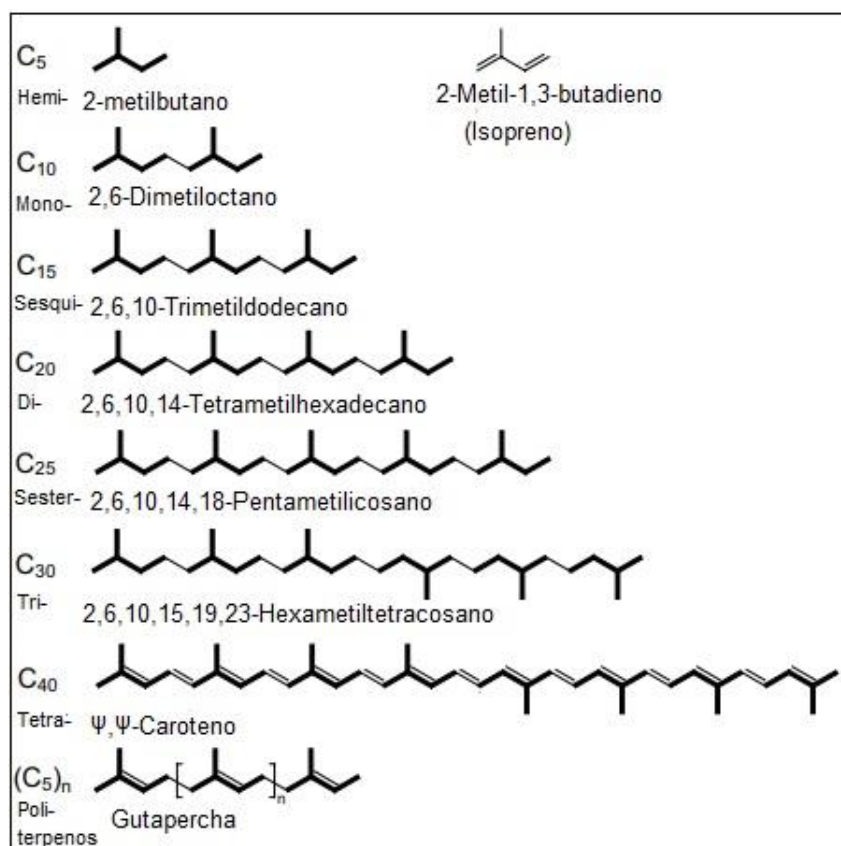


Figura 8. Clasificación de los terpenos según su número de carbonos [22].

Fenoles

Los fenoles son otra clase grande de metabolitos secundarios producidos principalmente a través de las rutas del ácido shikímico y del ácido malónico en las plantas para defenderse del ataque de patógenos. Incluye una amplia variedad de compuestos relacionados con la defensa que incluyen flavonoides, antocianinas, fitoalexinas, taninos, lignina y furanocumarinas. Los taninos son flavonoides solubles en agua, son polímeros producidos por plantas y almacenados en vacuolas. Son tóxicos para insectos que se unen a proteínas salivales y enzimas digestivas (tripsina y quimotripsina) que dan como resultado la inactivación de proteínas [23].

Saponinas

Son heterósidas cuya genina (llamada sapogenina) puede ser triterpénica o esteroídica, las sapogeninas triterpénicas pueden tener una estructura pentacíclica. Los saponósidos en general son espumantes en soluciones acuosas y hemolíticos. Modifican la permeabilidad de la membrana celular, por lo que en ocasiones se suministran con otros fármacos para mejorar la entrada de estos en la célula. Algunas saponinas triterpénicas tienen actividad espermicida, citotóxica, expectorante y/o antitusiva, cicatrizantes, venoprotectoras, antifúngicas o antiinflamatorias [24].

Alcaloides

Desde tiempos inmemoriales se conocen ciertas plantas que producen efectos fisiológicos muy intensos sobre el sistema nervioso central de los animales (incluyendo el hombre), cuyos extractos se usaron para envenenar flechas o para obtener pociones que se utilizaban en ritos religiosos o para curar múltiples dolencias. Estas plantas contienen alcaloides que son bases orgánicas nitrogenadas, generalmente con un anillo heterocíclico de algún tipo y derivan biogénicamente de aminoácidos. Presentan estructuras muy diversas por lo que no constituyen un grupo homogéneo en términos de su estructura, propiedades y fuentes de obtención. Se han clasificado de acuerdo con las fuentes de donde se han aislado (por ejemplo, alcaloides de la Ipecacuana), de acuerdo con la actividad fisiológica (por ejemplo, alcaloides midriáticos) o con base en la estructura química (por ejemplo, alcaloides indólicos). Al utilizarse con propósitos taxonómicos debe considerarse su biogénesis o biosíntesis en las plantas que las producen [25].

Flavonoides

Los pigmentos flavonoides, son uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de constituyentes naturales. Se conocen como diez clases de flavonoides, todos contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico y están arreglados bajo un sistema $C_6-C_3-C_6$, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C.

Los flavonoides se encuentran generalmente en mezclas como agliconas y/o glicósidos, aun de las diferentes clases siendo este último más común, en muchos

casos debido a la complejidad de la mezcla es más frecuente el estudio de estos compuestos en forma de agliconas en extractos de plantas previamente hidrolizadas. Se hallan presentes en todas las partes de las plantas, algunas se encuentran más ampliamente distribuidas que otras, siendo más comunes las flavonas y flavonoles, y más restringidas en su ocurrencia las isoflavonas, las chalconas y auronas.

Los flavonoides se utilizan desde hace mucho tiempo como colorantes de lana, y actualmente se usan en la conservación de grasas o jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes de algunas polihidroxi flavonas. Entre otras aplicaciones mencionaremos la de los glucósidos de hidrochalconas como edulcorante, de la rotenona como insecticida, etc. [26].

Evaluación de la actividad antioxidante

En la actualidad se han desarrollado un gran número de métodos para evaluar la capacidad antioxidante total de alimentos, suplementos dietarios, extractos vegetales o compuestos puros. Sin embargo, pocos de ellos se utilizan con regularidad debido a limitaciones relacionadas con los requerimientos metodológicos y la selección de las fuentes de radicales libres.

Las evaluaciones fundamentadas en el uso de radicales como el DPPH y ABTS⁺ son considerados por la comunidad científica como los métodos espectrofotométricos más comunes utilizados para la determinación de la capacidad antioxidante de alimentos, bebidas y extractos vegetales, debido a que los procedimientos requeridos en estas metodologías son simples, rápidos, sensibles y reproducibles. Los antioxidantes pueden desactivar los radicales por dos mecanismos principalmente: transferencia de átomos de hidrógeno y transferencia de electrones. Los resultados finales son los mismos independientemente del mecanismo, pero la energía cinética y potencial de las reacciones difieren.

Métodos que miden la capacidad para secuestrar radicales: Existen algunos métodos que miden la capacidad para secuestrar los radicales formados en los procesos de peroxidación lipídica. Uno de ellos consiste en medir la concentración de antioxidante requerido para secuestrar el 50% de los radicales en un tiempo determinado. Los radicales comúnmente utilizados son el 2,2-difenil-1- picrilhidracilo (DPPH) y ácido 2,2'-azino-bis-(3- etiltiazolinabencenosulfónico- 6) (ABTS+) [26].

DPPH (Ensayo actividad antiradical): Recientemente, el ensayo DPPH se ha vuelto bastante popular en estudios de antioxidantes naturales. Una de las razones es que este método es simple y altamente sensible. Este ensayo se basa en la teoría de que un donante de hidrógeno es un antioxidante. La Figura 9 muestra el mecanismo mediante el cual DPPH acepta hidrógeno de un antioxidante, DPPH es uno de los pocos estables y comercialmente disponibles radicales de nitrógeno orgánico, el efecto antioxidante es proporcional a la desaparición de DPPH en las muestras de prueba.

La monitorización del DPPH con un espectrómetro UV se ha convertido en el método más utilizado y extendido recientemente debido a su simplicidad. Y la exactitud. DPPH muestra un fuerte máximo de absorción a 515 nm (púrpura). El color cambia de púrpura a amarillo seguido de la formación de DPPH tras la absorción de hidrógeno de un antioxidante. Esta reacción es estequiométrica con respecto al número de átomos de hidrógeno absorbidos. Por lo tanto, el efecto antioxidante se puede evaluar fácilmente siguiendo la disminución de la absorción de UV/VIS a 515 nm. Los resultados se reportan como IC₅₀, que es la cantidad de antioxidante necesaria para disminuir la concentración de DPPH inicial en un 50% [28].

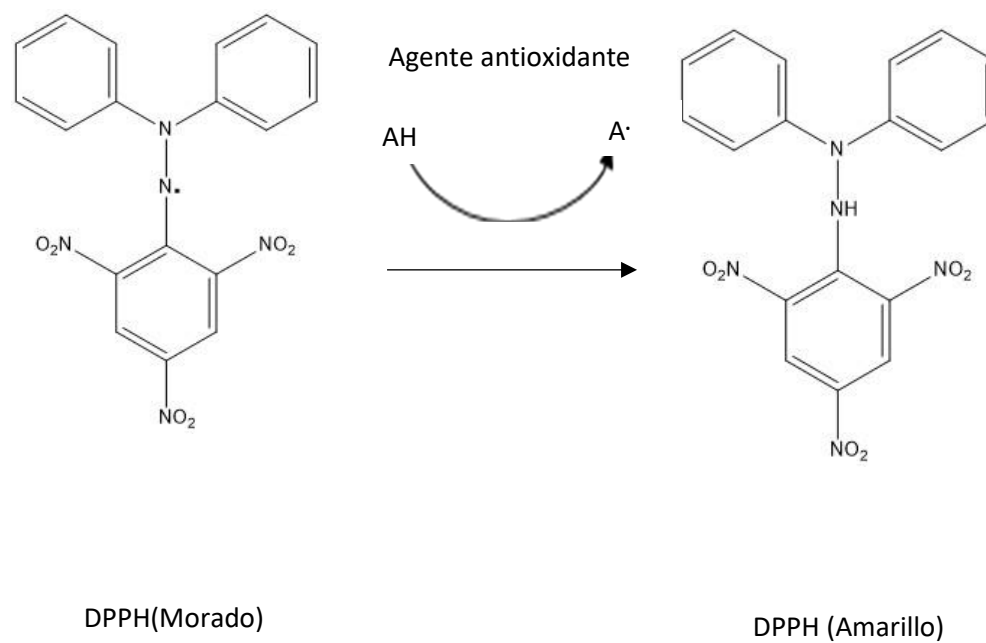


Figura 9. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante [29].

Capítulo 3: Materiales y métodos

Toma de muestras

La obtención de las hojas de higuera fue realizada en el puente “Las Bramonas” ubicado en el kilómetro 223 de la carretera transpeninsular Ciudad Constitución-Ciudad Insurgentes en el municipio de Comondú, Baja California Sur, las cuales fueron enviadas a la ciudad de Mexicali, Baja California para su uso en la experimentación.

Preparación de los extractos

Una vez obtenidas las hojas, se procedió a secarlas a temperatura ambiente durante 48 h (Ver figura 10), las hojas fueron pesadas antes y después para determinar el porcentaje de humedad contenida en la hoja.



Figura 10. Secado de hojas de higuera.

Realizado el secado de las hojas, estas fueron colocadas en un molino manual, para su molienda y obtención de un tamaño menor de partículas (Ver figura 11).



Figura 11. Molienda de hojas de higuera.

Con las hojas ya molidas y secas, se procedió a la preparación de los extractos por medio de la técnica de maceración en frío, basada en el método de Jeyaseelan, *et al.* [30] , el cual consiste en pesar 20 g de la hoja previamente molida y secada, colocarla en un matraz, adicionar 100 ml del solvente a utilizar y dejarlo reposar por 24 h. Los solventes utilizados fueron metanol, etanol, agua y las mezclas de 80:20 v/v de metanol/agua y etanol/agua (Ver figura 12 y 13).

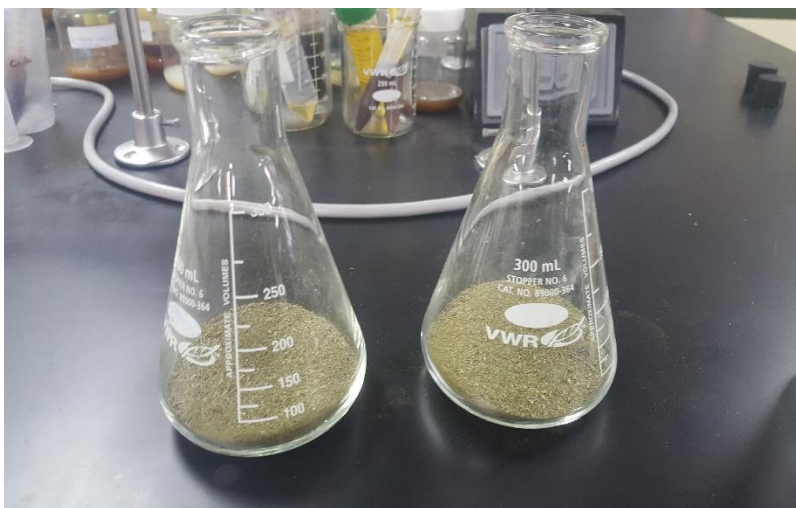


Figura 12. Adición de 20 g de hoja de higuera a matraz para preparación de extractos.

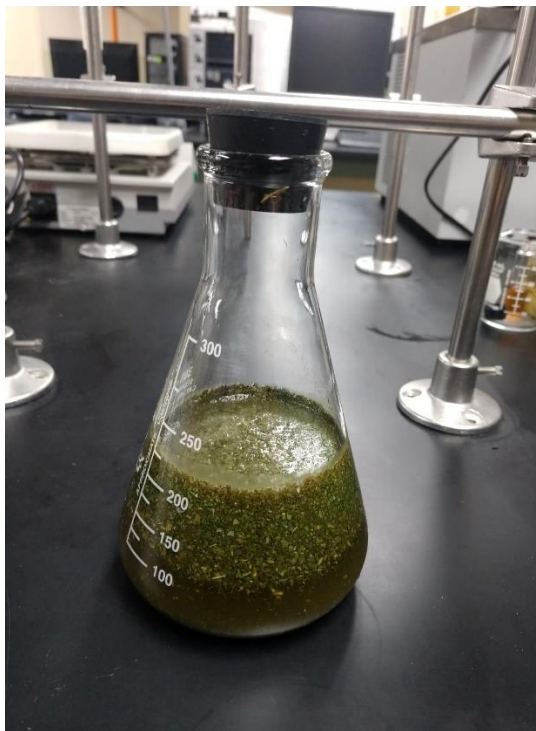


Figura 13. Extracto hoja de higuera.

Concentración de extractos

Para la concentración de los extractos preparados, una vez transcurrido el tiempo de reposo definido fueron filtrados mediante un filtro Whatmann no. 2 y se depositaron en un matraz bola previamente pesado, y posteriormente se colocaron en un rotaevaporador para ser concentrados a presión reducida con ayuda de una bomba de vacío (Ver figura 14), dependiendo del solvente las condiciones fueron diferentes (Ver tabla 2).



Figura 14. Concentración de extracto en rotaevaporador.

Tabla 2. Condiciones para recuperación de solventes rotaevaporador.

Metanol:	Etanol:
Temperatura: 45° C	Temperatura: 65° C
Duración: 40 min	Duración: 40 min
RPM: 120	RPM: 120
Vacío: 500 mmHg	Vacío: 500 mmHg

En el uso de agua y las mezclas 80/20, la concentración se realizó en un vaso de precipitado, el cual contenía el extracto previamente filtrado y se dejó concentrar a temperatura ambiente con aireación constante aproximadamente por 24 h (Ver figura 15).



Figura 15. Concentración en vaso de precipitado.

Capacidad antioxidante

La evaluación de la capacidad antioxidante se realizó por medio del método de Brand-Williams, W. *et al.* [31] con algunas modificaciones, el cual sirve para determinar la capacidad antioxidante con base en la disminución de color del radical libre 2,2, difenil-picril-hidracilo (DPPH), medida a UV/VIS 515 nm, por acción de un compuesto antioxidante. Se utilizó ácido ascórbico como referencia. Para iniciar con la evaluación de la capacidad antioxidante, se procedió primero a preparar las soluciones stock en un matraz volumétrico del ácido ascórbico y de los extractos realizados. Posteriormente de haber preparado las soluciones stock, se realizaron

distintas diluciones: 60, 45, 30, 15, 5 $\mu\text{g/ml}$ para los extractos de metanol, etanol y sus mezclas con agua de 80/20 v/v, para el ácido ascórbico se utilizaron las diluciones de: 12, 10, 7.5, 5, 2.5 $\mu\text{g/ml}$ y para los extractos de agua: 90, 75, 60, 45, 30, $\mu\text{g/ml}$, ver figura 16. Se preparó la solución de DPPH en metanol, a una concentración de $6 \times 10^{-5} \text{ M}$, la cual se mantuvo resguardada de la luz (Ver figura 16).

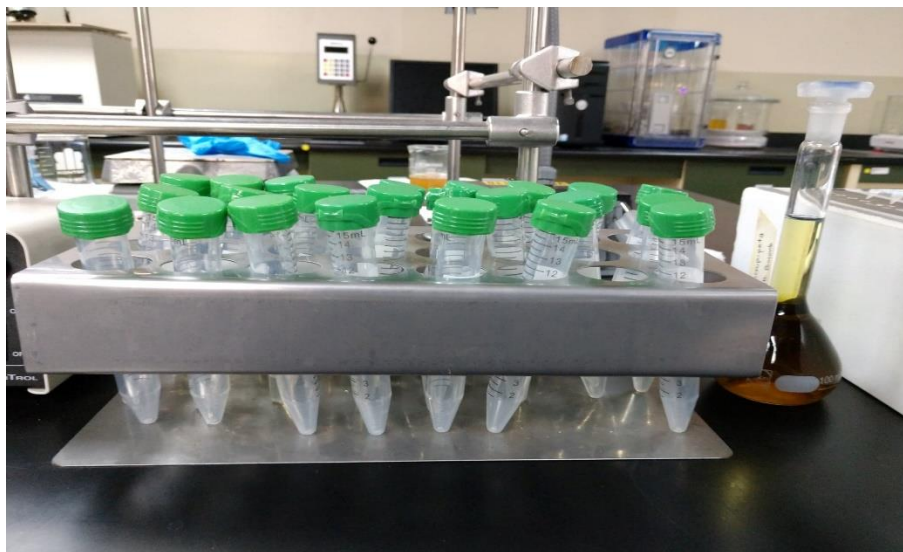


Figura 16. Diluciones de extractos y solución stock.

Una vez que las soluciones fueron preparadas, se realizó una lectura con respecto al tiempo con un espectrofotómetro UV/VIS Perkin Elmer Lambda 25 (Ver figura 17), por una hora y con una lectura cada 60 segundos a 515 nm, esto con el fin de determinar el tiempo en el que cada extracto alcanza la mayor reducción del DPPH.



Figura 17. Espectrofotómetro UV/VIS Perkin Elmer Lambda 25.

Una vez obtenido el tiempo de cada extracto y del ácido ascórbico, se procedió a realizar las lecturas de absorbancia para determinar su capacidad antioxidante. Se depositaron 2 ml de DPPH en una celda y 1 ml de la dilución a leer, se dejó reposar en ausencia de luz, el tiempo de reposo fue el que se determinó en las lecturas con respecto al tiempo, y se procedió a tomar la lectura de absorbancia, esto se realizó por triplicado el cambio de coloración de los distintos extractos se puede apreciar en las figuras 19 a la 24.

Una vez obtenidas las lecturas del ácido ascórbico y de cada extracto, se calculó el porcentaje de inhibición de cada una de ellas con la ecuación de porcentaje de inhibición (Ver ecuación 1).

$$\%I_{hn} = \frac{A_c - A_m}{A_c} \times 100$$

Ecuación 1. Porcentaje de inhibición.

Donde A_c es la absorbancia del radical DPPH + metanol; A_m es la absorbancia de DPPH + extracto de muestra / estándar.

Después de obtener el porcentaje de inhibición, se graficó contra la concentración y se obtuvo la ecuación de regresión lineal, con la cual posteriormente se igualó al 50% de porcentaje de inhibición y se calculó el IC₅₀, el cual es la cantidad necesaria para reducir al 50% la concentración inicial de DPPH. De la figura 18 a la 23 se muestra el cambio de coloración de los extractos y el ácido ascórbico al añadirse al DPPH.

Una vez obtenido el IC₅₀, se procedió a calcular el porcentaje de actividad antioxidante relativa (%AAR), el cual es la actividad antioxidante de una sustancia comparada con la de un patrón en las mismas condiciones, y se calcula con el coeficiente de inhibición (IC₅₀) del patrón utilizado (en este caso ácido ascórbico) entre el IC₅₀ de la sustancia analizada (Ver ecuación 2) [32].

$$\%AAR = \frac{IC_{50m}}{IC_{50p}} \times 100$$

Ecuación 2. Actividad antioxidante relativa

Donde IC_{50(p)} es el coeficiente de inhibición del patrón de referencia usado e IC_{50(m)} es el coeficiente de inhibición la muestra analizada.

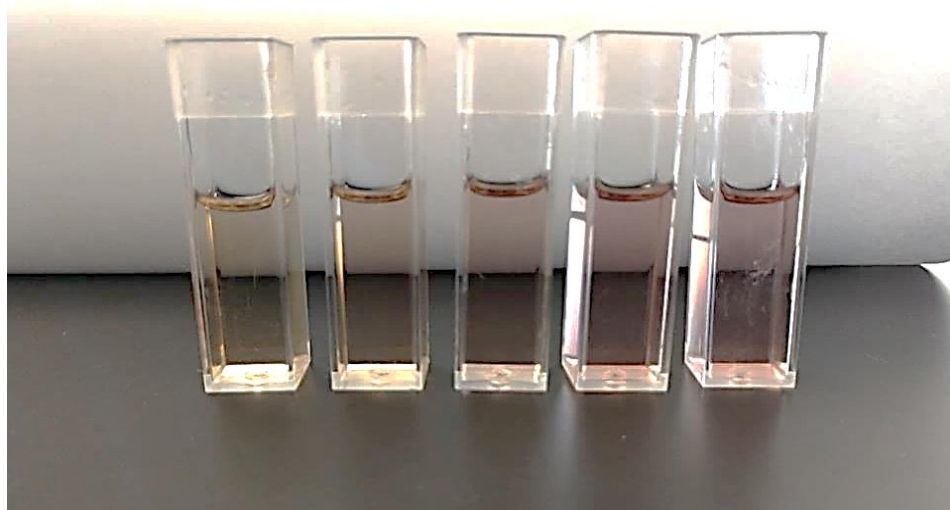


Figura 18. Cambio de coloración DPPH + ácido ascórbico a diferentes concentraciones.

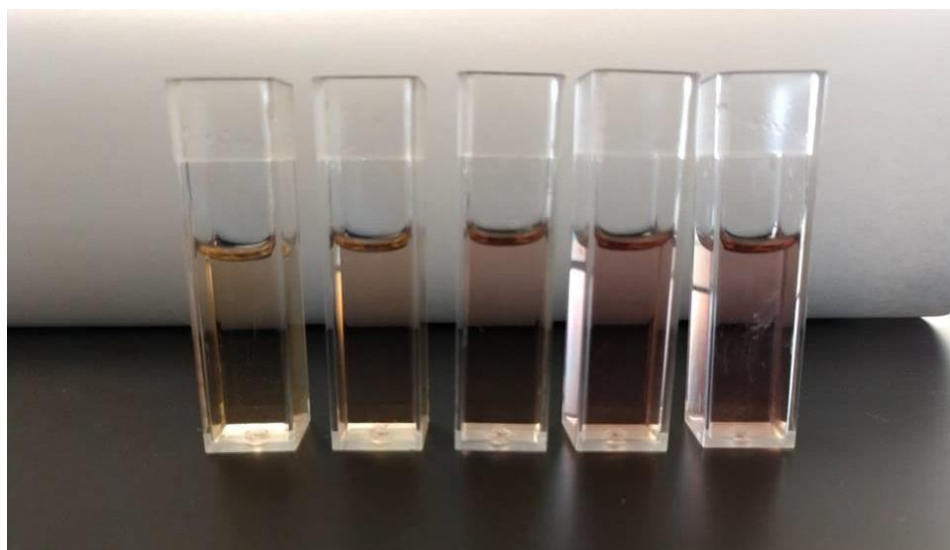


Figura 19. Cambio de coloración DPPH + extracto metanol a diferentes concentraciones.



Figura 20. Cambio de coloración DPPH + extracto metanol/agua a diferentes concentraciones.



Figura 21. Cambio de coloración DPPH + extracto agua a diferentes concentraciones.

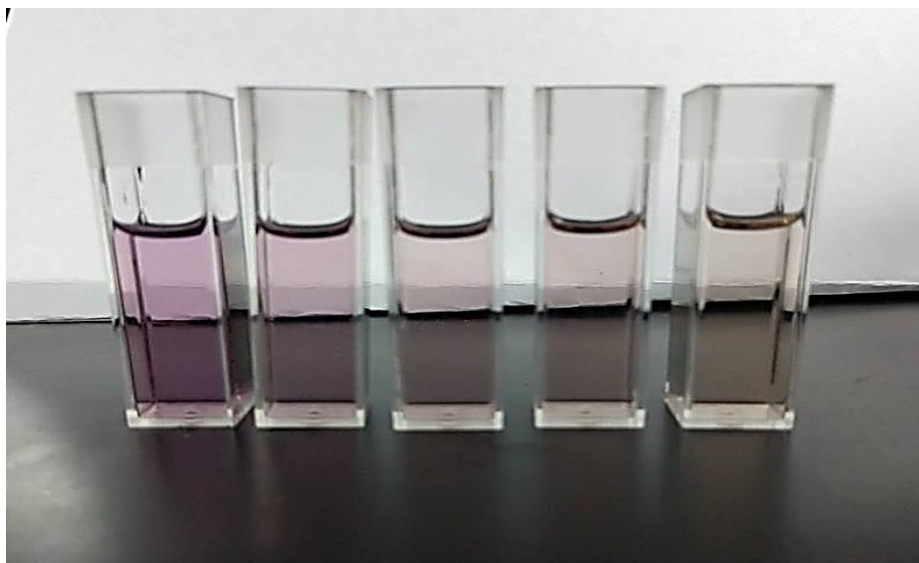


Figura 22. Cambio de coloración DPPH + extracto etanol a diferentes concentraciones.

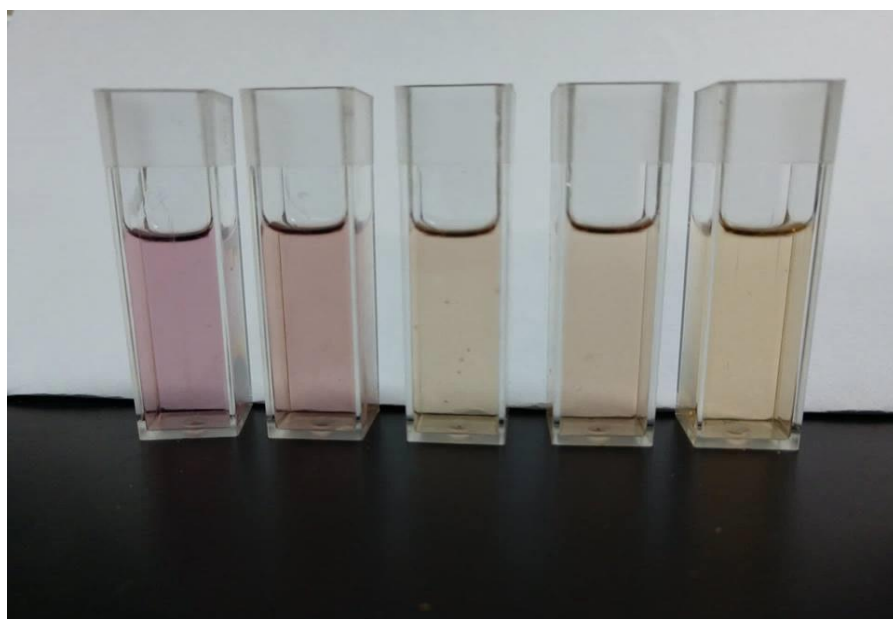


Figura 23. Cambio de coloración DPPH + extracto etanol a diferentes concentraciones.

Diseño de experimentos

Para el desarrollo del diseño de experimentos, se trabajó con hojas de higuera (*Ricinus communis*) recién cortadas las cuales fueron procesadas para obtener la mayor cantidad de extracto.

Los factores considerados para el diseño de experimentos fueron los siguientes:

- Tipo de solvente: A_1 = Metanol, A_2 = Etanol, A_3 =Agua, A_4 =Metanol/Agua y A_5 = Etanol/Agua.
- Tiempo de extracción: B_1 = 24h y B_2 = 48h.
- Relación masa: solvente: C_1 = 5:1 y C_2 =10:1

Como variable de respuesta se definió a la cantidad de extracto obtenido, en relación con la masa de hojas de higuera (*Ricinus communis*) procesadas. La significancia estadística fue del 95% ($\alpha=0.05$). El diseño factorial fue de $5 \times 2 \times 2$ con una sola réplica por cada uno de los tratamientos, resultando en un número total de observaciones de 20, como se muestra en la tabla 3.

Bajo las siguientes hipótesis nulas (H_0) y alternativas (H_a):

H_0 : Efecto de Solvente (A) = 0

H_a : Efecto de Solvente (A) $\neq$ 0

H_0 : Efecto de Tiempo de extracción (B) = 0

H_a : Efecto de Tiempo de extracción (B) $\neq$ 0

H_0 : Efecto de Relación masa:solvente (C) = 0

H_a : Efecto de Relación masa:solvente (C) $\neq$ 0

En donde, si la condición es igual a cero, significa que ese factor no presenta efecto sobre la variable de respuesta. Y en caso contrario, significa que sí presenta una afectación.

Tabla 3. Arreglo de factores para el diseño de experimentos

	C1	C2	C1	C2
	B1	B2	B1	B2
A1	R1	R1	R1	R1
A2	R1	R1	R1	R1
A3	R1	R1	R1	R1
A4	R1	R1	R1	R1
A5	R1	R1	R1	R1

Simulación en Aspen Plus®

Análisis elemental

El análisis elemental es utilizado para determinar los porcentajes en peso de elementos químicos, carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno y azufre (C, H, N, O y S) de la biomasa. Este análisis se realiza mediante la utilización de un analizador elemental. El análisis final de las muestras de biomasa se realizó en un analizador elemental, modelo Thermo Flash 2000. Se analizaron C, H, N, S y se determinó su porcentaje de composiciones a excepción del oxígeno que se determinó por diferencia, según la Ecuación 2. Para la determinación de C, H, N y S, se utilizó reducción de óxido con cobre.

Las temperaturas del reactor y horno fueron 950 °C y 65 °C, respectivamente. La longitud de la columna fue de 2 m, utilizando helio (He) como gas transportador con un flujo de 140 ml/min [33].

$$\%O = 100 - (\%C + \%H + \%N + \%S + \text{cenizas})$$

Ecuación 3. Determinación de oxígeno.

A continuación, se muestra el proceso para la simulación de una extracción de aceite esencial y una solución de extracto, basada en la experimentación de laboratorio y el uso de hojas y datos de higuerilla (*Ricinus communis*) para aprovechar los residuos de las podas.

La simulación de aceite esencial y extracto incluye algunas de las siguientes partes:

- Mezcla del solvente y biomasa.
- Calentamiento de la mezcla.
- Destilación del aceite esencial y separación del extracto.
- Recuperación del solvente.

Componentes presentes en la simulación del aceite esencial y del extracto

Los componentes utilizados en la simulación para la representación de la biomasa y el solvente se presentan en la tabla 4 y 5.

Tabla 4. Componentes de Aspen Plus® en la simulación del aceite esencial.

ID	Tipo	Nombre del Componente	Fórmula
ETHANOL	Conventional	ETHANOL	C_2H_6O-2
DEXTROSE	Conventional	DEXTROSE	$C_6H_{12}O_6$
ACETIC	Conventional	ACETIC-ACID	$C_2H_4O_2-1$
LYSIN	Conventional	LYSINE	$C_6H_{14}N_2O_2$
THUJONE	Conventional	THUJONE	$C_{10}H_{16}O-N_6$
CAO	Conventional	CALCIUM-OXIDE	CAO

Tabla 5. Componentes de Aspen Plus® en la simulación del extracto.

ID	Tipo	Nombre del componente	Fórmula
ETHANOL	Conventional	ETHANOL	C_2H_6O-2
DEXTROSE	Conventional	DEXTROSE	$C_6H_{12}O_6$
ACETIC	Conventional	ACETIC-ACID	$C_2H_4O_2-1$
LYSIN	Conventional	LYSINE	$C_6H_{14}N_2O_2$
RUTIN	Conventional	RUTIN	$C_{27}H_{30}O_{16}$
CAO	Conventional	CALCIUM-OXIDE	CAO

Para la simulación se definió un modelo equivalente de hojas de higuera (*Ricinus communis*) de la mezcla de los siguientes compuestos: celulosa, hemicelulosa, lignina y pectinas se representan como moléculas de dextrosa con un porcentaje de 59.2 (w/w). Las cenizas como óxido de calcio con un porcentaje de 11.9 (w/w). Las grasas representadas como ácido ricinoleico con un porcentaje de 5.4 (w/w). Para las proteínas, se representan con lisina con un porcentaje de 22.5 (w/w) [34]. El 1 por ciento restante (w/w) es el aceite esencial. Los aceites esenciales fueron representados como thujone y el extracto como rutin [35].

Unidades de simulación

Las unidades utilizadas en la simulación, así como sus funciones se presentan en la tabla 6, 7 y 8.

Tabla 6. Unidades utilizadas en la simulación de aceite esencial.

Unidad	Propósito
PUMP	Bombea el solvente al mezclador
HEATER	Calienta la mezcla de las corrientes para generar vapor
SP2	Condensa y separa el aceite esencial

Tabla 7. Unidades utilizadas en la simulación de extracto.

Unidad	Propósito
PUMP	Bombea el solvente al mezclador
MIXER	Mezcla las corrientes de biomasa y solvente
SP2	Separa el extracto

Tabla 8. Unidades de operación y bloques en la simulación.

Unidad de Operación	Bloque	Especificaciones
PUMP	Pump	La bomba simula una bomba o turbina hidráulica. Este modelo calcula el requerimiento de potencia o la potencia producida, dada una especificación de presión de salida.
SP2	Sep	Los bloques separadores, Sep y Sep2, combinan flujos de alimentación y luego dividen flujo resultante, basado en sus especificaciones. Cuando los detalles de la separación son desconocidos o no importantes, puede usar Sep y Sep2 en lugar de rigurosos modelos de separación (como modelos de destilación o absorción) para ahorrar tiempo computacional.
MIXER	Mixer	El mezclador combina flujos de materiales (corrientes de calor o flujos de trabajo) en una

		corriente de salida. Si las corrientes de materiales se mezclan, puede usar una corriente opcional de agua de decantación opcional para decantar el agua libre de la salida. Se puede especificar una salida de presión o caída de presión para flujos de material
HEATER	Heater	El calentador produce una corriente de salida, con una corriente de decantación de agua opcional. La especificación del servicio térmico puede ser proporcionada por una corriente de calor desde otro bloque.

Método Termodinámico

El método de propiedad es un grupo de métodos y modelos, y Aspen Plus® los usa para calcular las propiedades termodinámicas y las propiedades de transferencia. La selección de un método de propiedad adecuado es muy importante para un proceso de simulación, y determina la precisión de los resultados de la simulación. La selección de métodos de propiedades depende del grado de no idealidad y las condiciones de funcionamiento del sistema, y la selección puede realizarse sobre la base de las características, la temperatura de operación y la presión del sistema. Dado que se estudia el sistema de destilación de alto vacío (extracción de aceite esencial), las bases principales para seleccionar son los datos binarios de equilibrio

vapor-líquido entre componentes y las condiciones de operación, y los métodos de propiedad que se pueden usar son BK10 e IDEAL, en la tabla 9 se presentan las aplicaciones de los métodos termodinámicos [36].

Tabla 9. Aplicaciones de métodos termodinámicos [37].

Refinería	
Aplicación	Métodos de propiedad recomendados
Aplicaciones de presión baja (Hasta varias atm)	BK10, CHAO-SEA, GRAYSON
Químicos	
Aplicación	Métodos de propiedad recomendados
Separaciones azeotrópicas, separación de alcoholes	WILSON, NRTL, UNIQUAC y sus variantes
Ácidos Carboxílicos, planta de ácido acético	WILS-HOC, NRTL-HOC, UNIQ-HOC
Planta de fenoles	WILSON, NRTL, UNIQUAC y sus variantes
Reacciones de fases líquidas, esterificación	WILSON, NRTL, UNIQUAC y sus variantes
Ambiental	
Aplicación	Métodos de propiedad recomendados
Recuperación de solventes	WILSON, NRTL, UNIQUAC y sus variantes
Extracción de hidrocarburos (substituidos)	WILSON, NRTL, UNIQUAC y sus variantes

Para facilitar la selección del método termodinámico correcto se usan los diagramas de flujo mostrados en la figura 24 y 25.

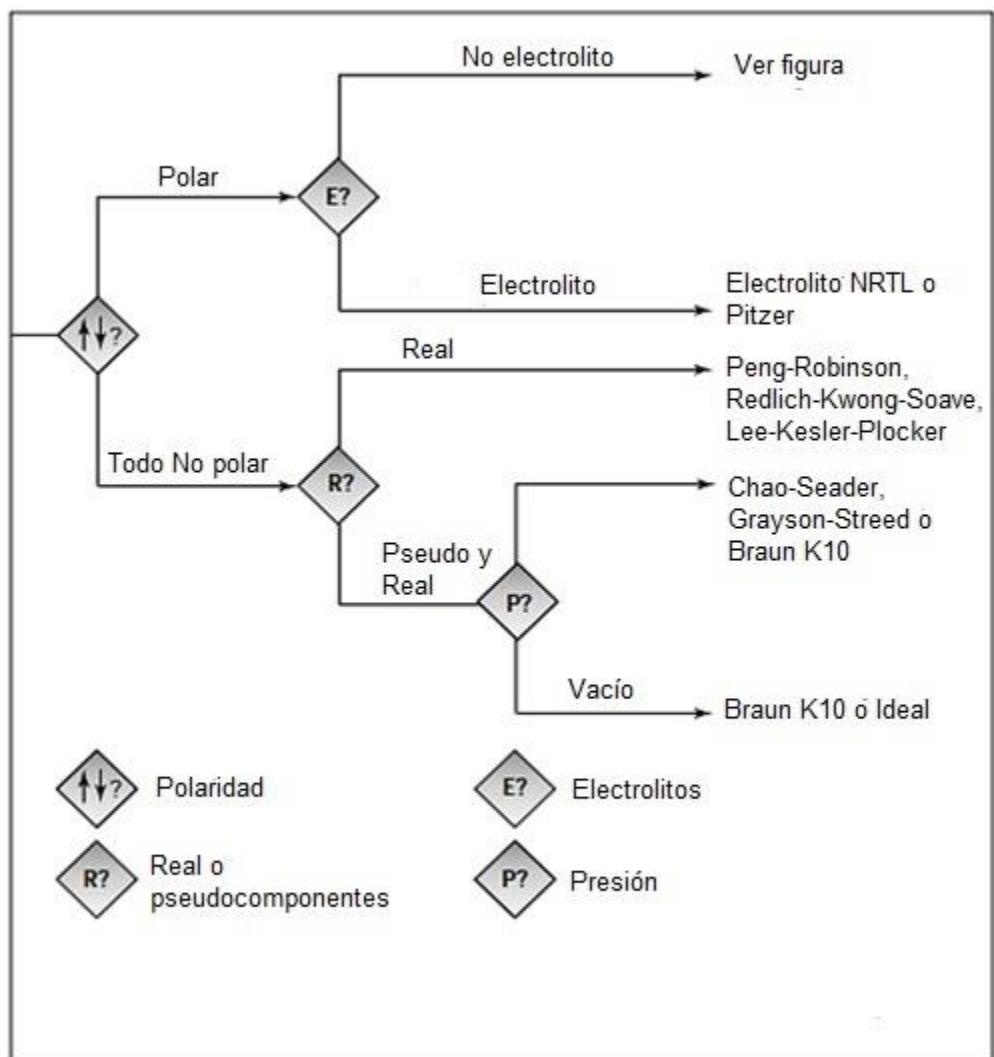


Figura 24. El primer paso para la selección del método termodinámico [38].

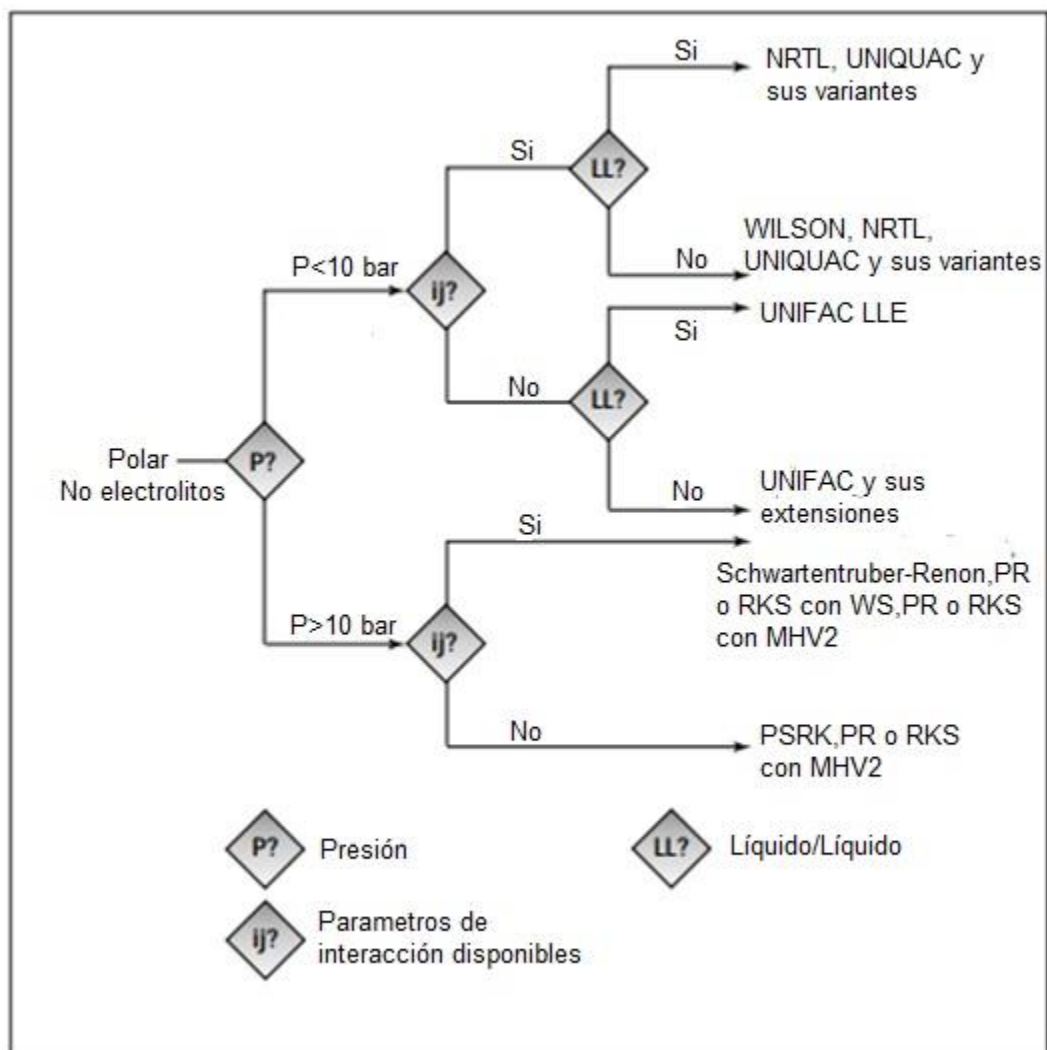


Figura 25. Procedimiento para componentes polares [38].

Diagrama de simulación

El diagrama final de las simulaciones se puede observar en las figuras 26 y 27.

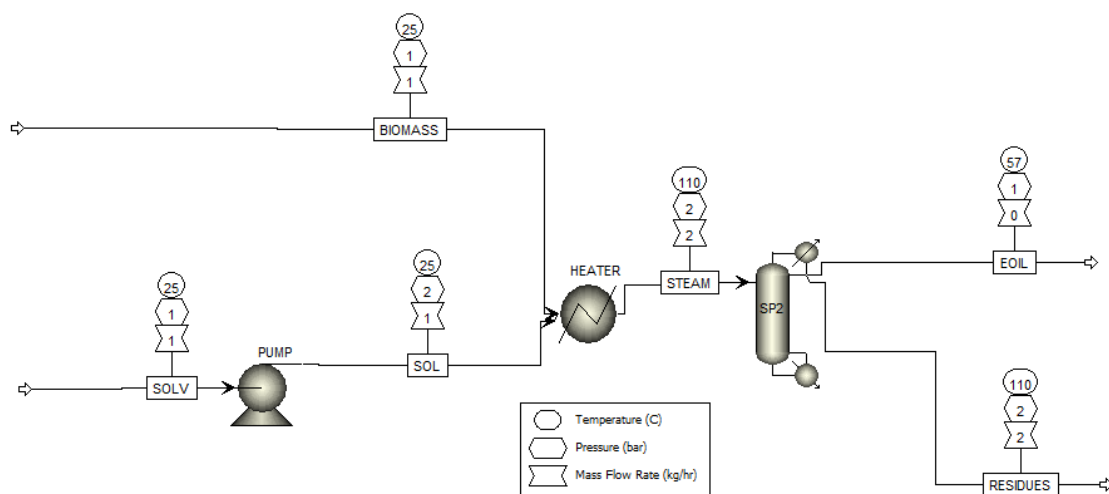


Figura 26. Diagrama de la simulación del aceite esencial.

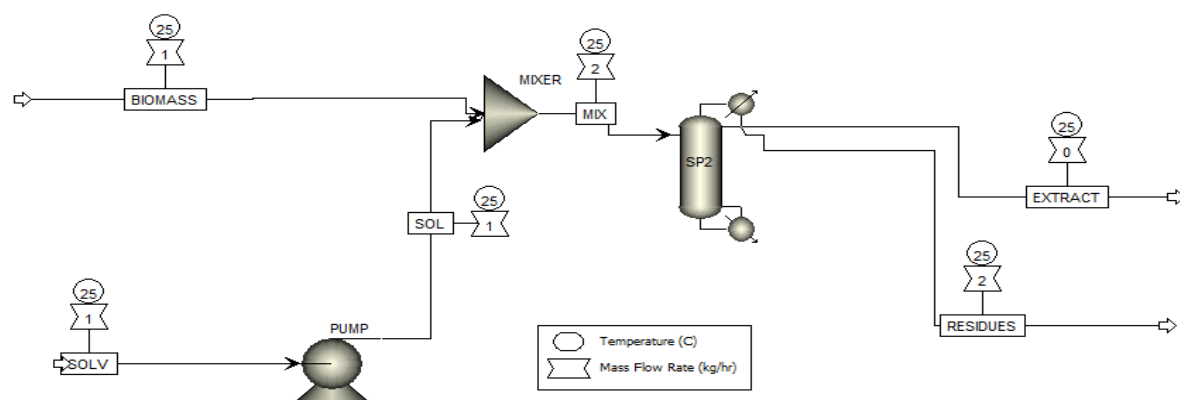


Figura 27. Diagrama de la simulación del extracto.

Microscopía electrónica de barrido y análisis de espectroscopía de dispersión de energía de rayos X

Las hojas de higuera fueron analizadas utilizando un microscopio electrónico de barrido (SEM) JEOL JSM- 6360, para identificar los cambios morfológicos que ocurrieron en sus superficies debido al efecto del contacto con los distintos solventes utilizados en la obtención de los extractos. Las condiciones fueron constantes en todas las imágenes, como el voltaje de aceleración de 15 kV y un vacío de 50 Pa. El resultado se comparó con un blanco. La espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (EDS) se realizó para la caracterización química [39].

Capítulo 4: Resultados y discusión

Resultados UV/VIS respecto al tiempo

A continuación, se muestran las gráficas resultantes de la lectura con respecto al tiempo en el UV/VIS: para el ácido ascórbico, metanol, metanol/agua y etanol la lectura fue a 60 min como se aprecia en las figuras 28, 29, 30 y 32 respectivamente. Para el etanol/agua y agua la lectura fue a 120 min debido a que en la primera lectura a 60 min seguían mostrando reducción del DPPH, esto debido posiblemente a un mecanismo de reacción más lento (Ver figura 31 y 33).

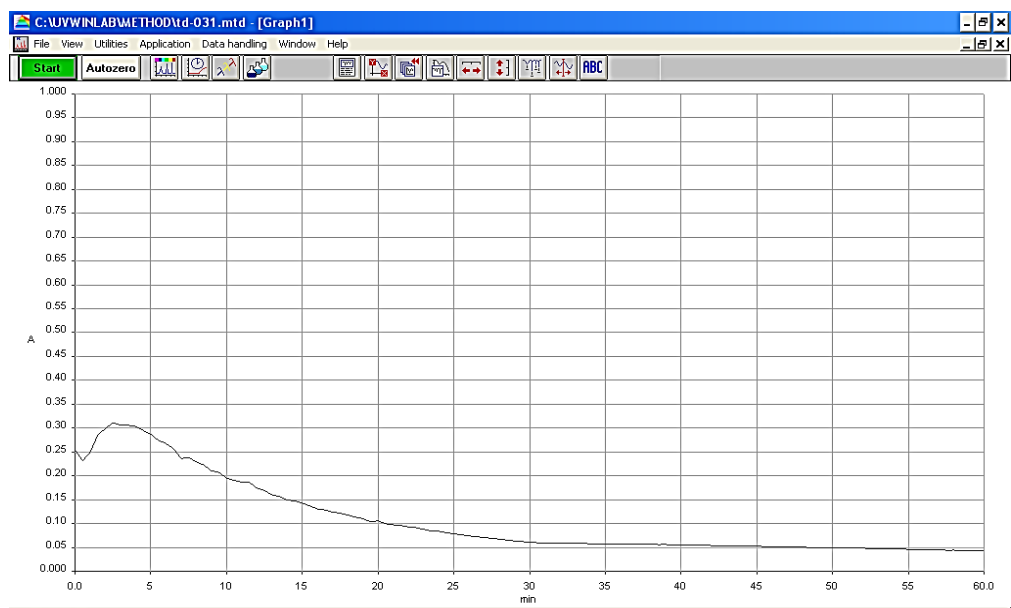


Figura 28. Lectura respecto al tiempo ácido ascórbico + DPPH en UV/VIS.

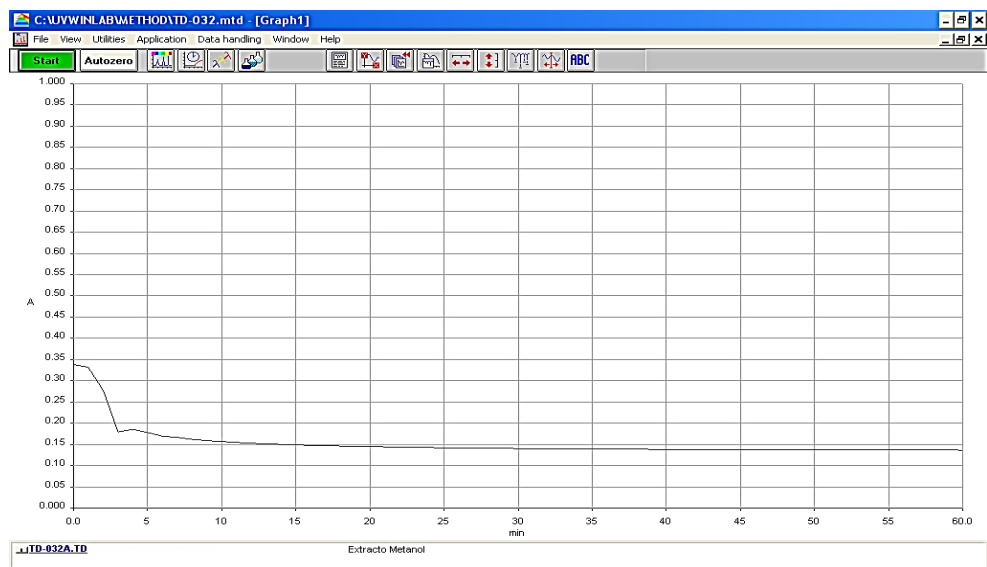


Figura 29. Lectura respecto al tiempo extracto metanol + DPPH en UV/VIS.

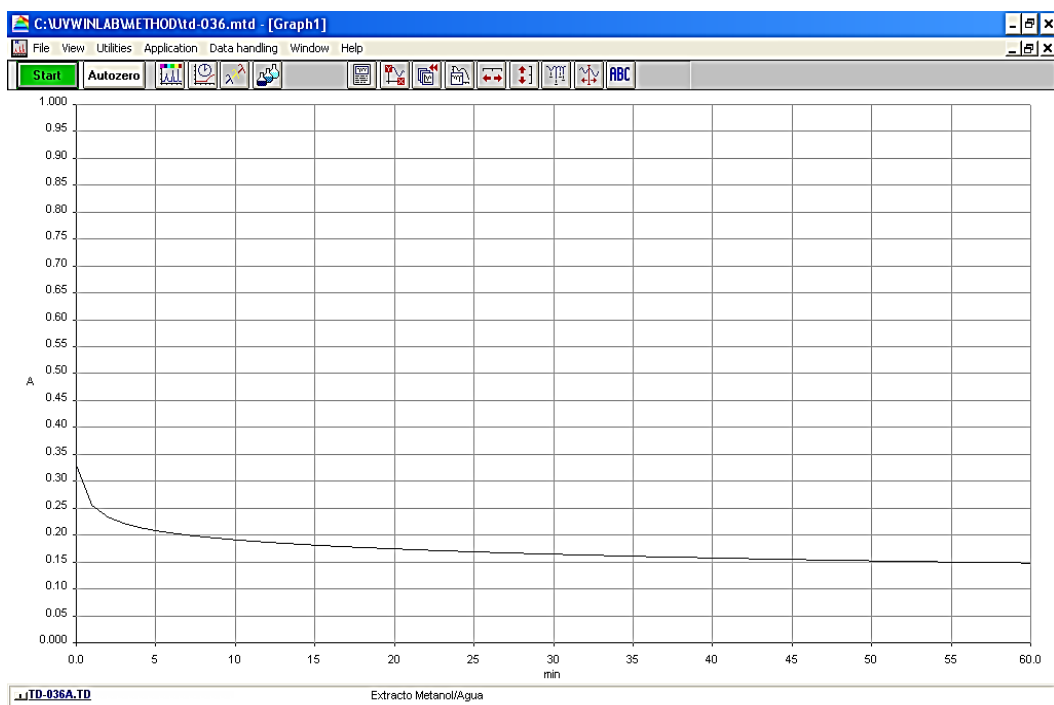


Figura 30. Lectura respecto al tiempo extracto metanol/agua + DPPH en UV/VIS.

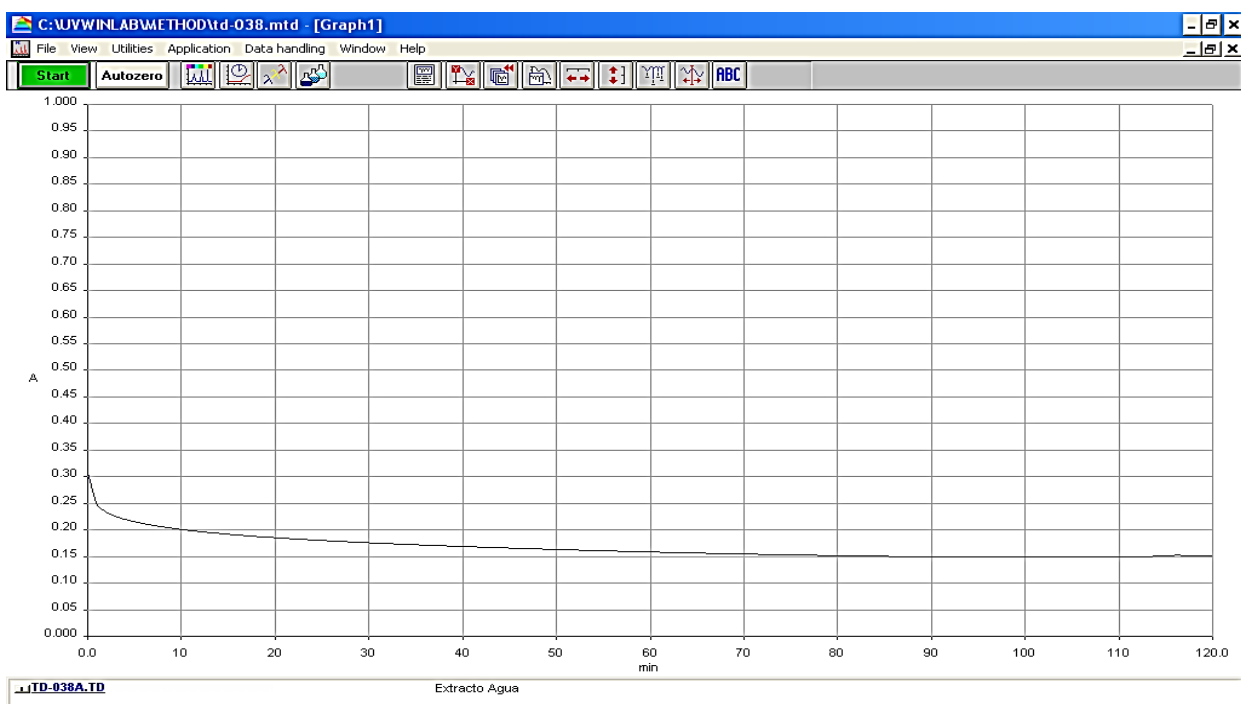


Figura 31. Lectura respecto al tiempo extracto agua + DPPH en UV/VIS.

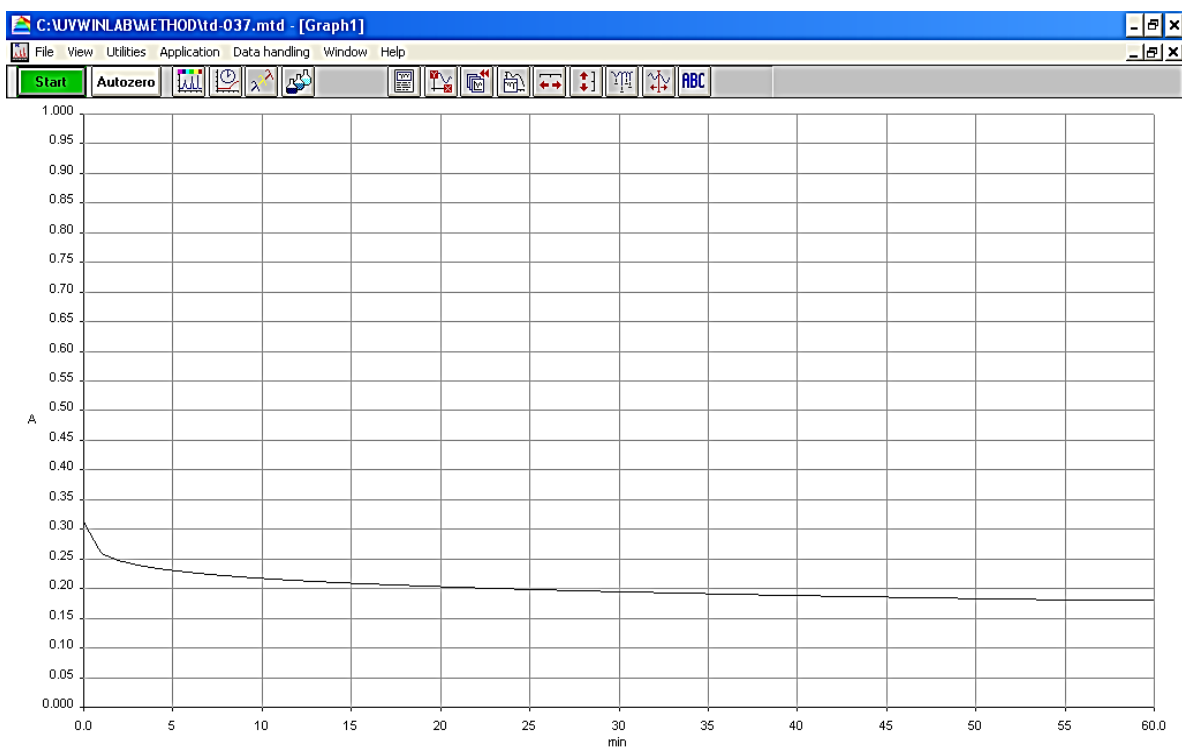


Figura 32. Lectura respecto al tiempo extracto etanol+ DPPH en UV/VIS.

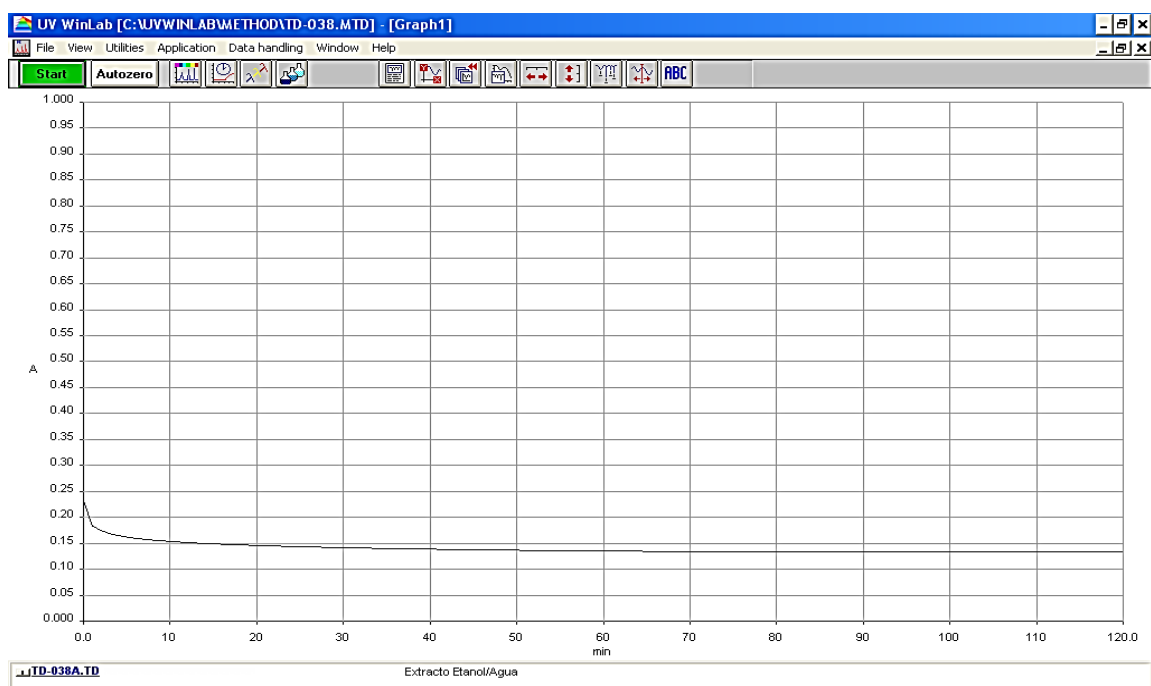


Figura 33. Lectura respecto al tiempo extracto etanol/agua + DPPH en UV/VIS.

Tablas de porcentajes de inhibición e IC50 a 515nm de los distintos extractos y del ácido ascórbico

Los resultados de absorbancia y porcentaje de inhibición de las distintas concentraciones utilizadas en los diferentes extractos y del ácido ascórbico, así como el IC50 obtenido, se pueden observar en las tablas de la 10 a la 15.

Tabla 10. Porcentaje de inhibición e IC50 ácido ascórbico.

Concentración (ug/ml)	Absorbancia	%Ihn	IC50
2.5	0.38	43.53	-
5	0.28	58.21	3.5
7.5	0.18	73.63	-
10	0.09	86.72	-
12.5	0.03	95.37	-

Tabla 11. Porcentaje de inhibición e IC50 metanol.

Concentración (ug/ml)	Absorbancia	%Ihn	IC50
5	0.36	46.77	-
15	0.31	54.23	9.6
30	0.24	63.68	-
45	0.19	71.14	-
60	0.11	84.08	-

Tabla 12. Porcentaje de inhibición e IC50 metanol/agua.

Concentración (ug/ml)	Absorbancia	%Ihn	IC50
5	0.38	42.46	-
15	0.33	50.68	13.67
30	0.24	63.69	-
45	0.16	75.64	-
60	0.11	83.31	-

Tabla 13. Porcentaje de inhibición e IC50 agua.

Concentración (ug/ml)	Absorbancia	%Ihn	IC50
30	0.34	44.07	-
45	0.30	50.55	43.41
60	0.27	56.32	-
75	0.22	64.07	-
90	0.16	73.41	-

Tabla 14. Porcentaje de inhibición e IC50 etanol.

Concentración (ug/ml)	Absorbancia	%Ihn	IC50
5	0.43	34.80	-
15	0.40	39.99	-
30	0.35	47.35	31.99
45	0.27	59.40	-
60	0.23	65.56	-

Tabla 15. Porcentaje de inhibición e IC50 etanol/agua.

Concentración (ug/ml)	Absorbancia	%Ihn	IC50
5	0.37	43.62	-
15	0.34	48.61	-
30	0.30	54.46	18
45	0.23	65.56	-
60	0.18	72.62	-

Porcentaje de inhibición contra concentración de los distintos extractos y ácido ascórbico

Las representaciones gráficas de la concentración contra el porcentaje de inhibición, la ecuación de correlación de cada uno de los extractos y del ácido ascórbico, así como sus R^2 se pueden apreciar en las figuras 34 a la 39.

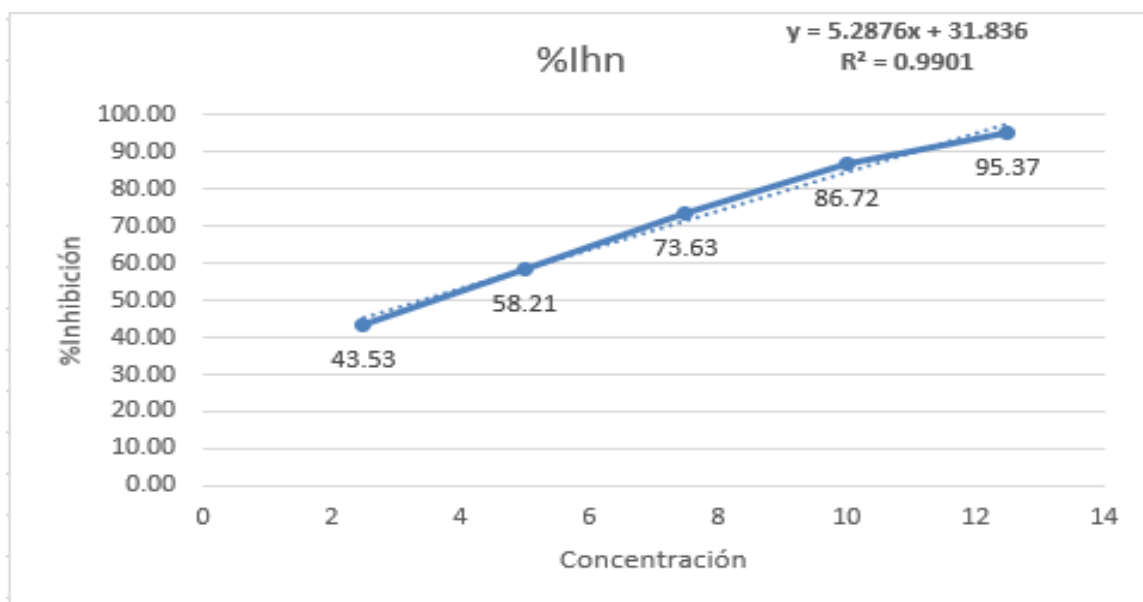


Figura 34. Porcentaje de inhibición contra concentración del ácido ascórbico y ecuación de regresión.

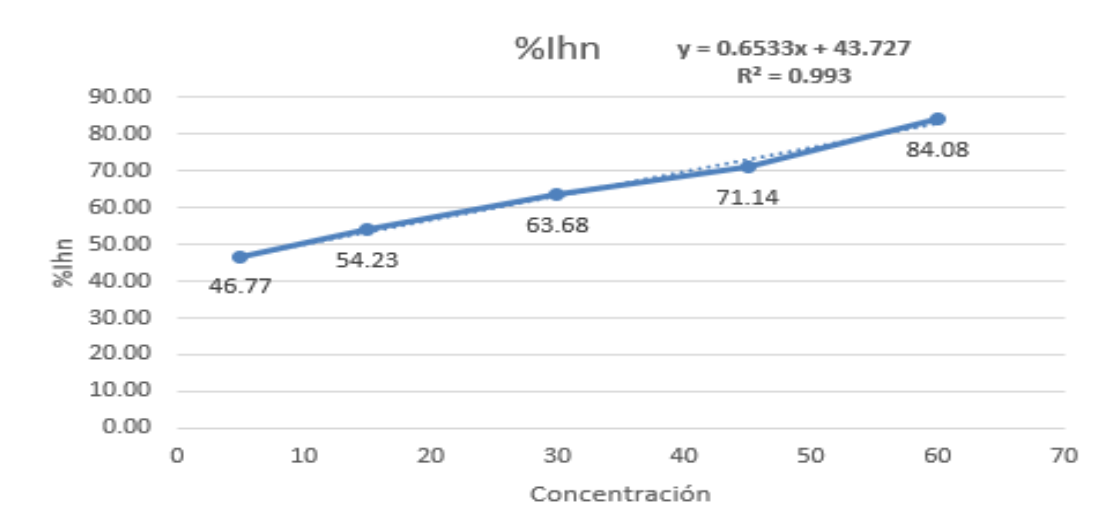


Figura 35. Porcentaje de inhibición contra concentración de extracto metanol y ecuación de regresión.

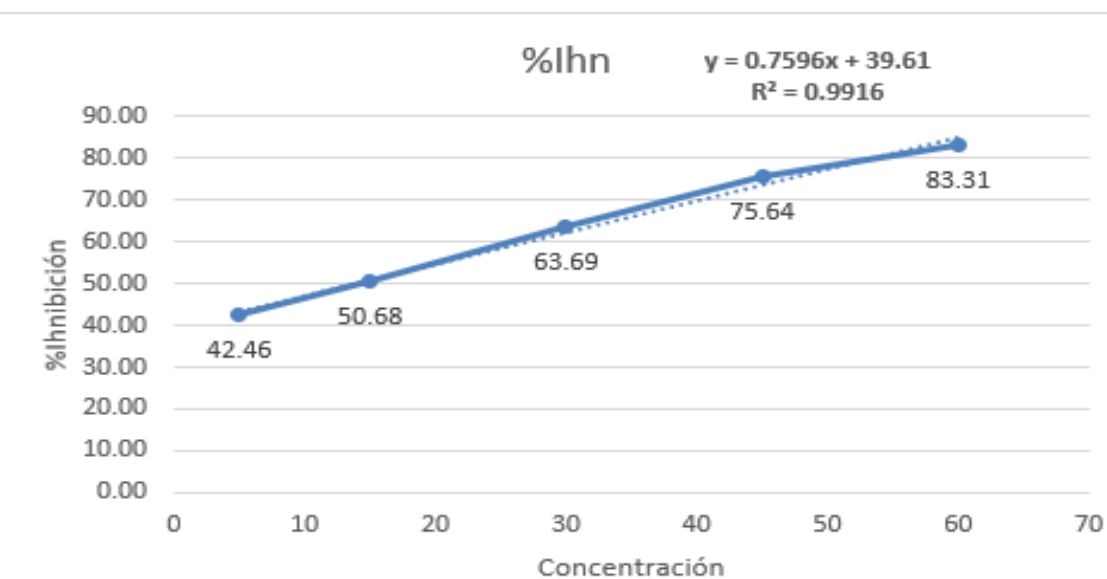


Figura 36. Porcentaje de inhibición contra concentración de extracto metanol/agua y ecuación de regresión.

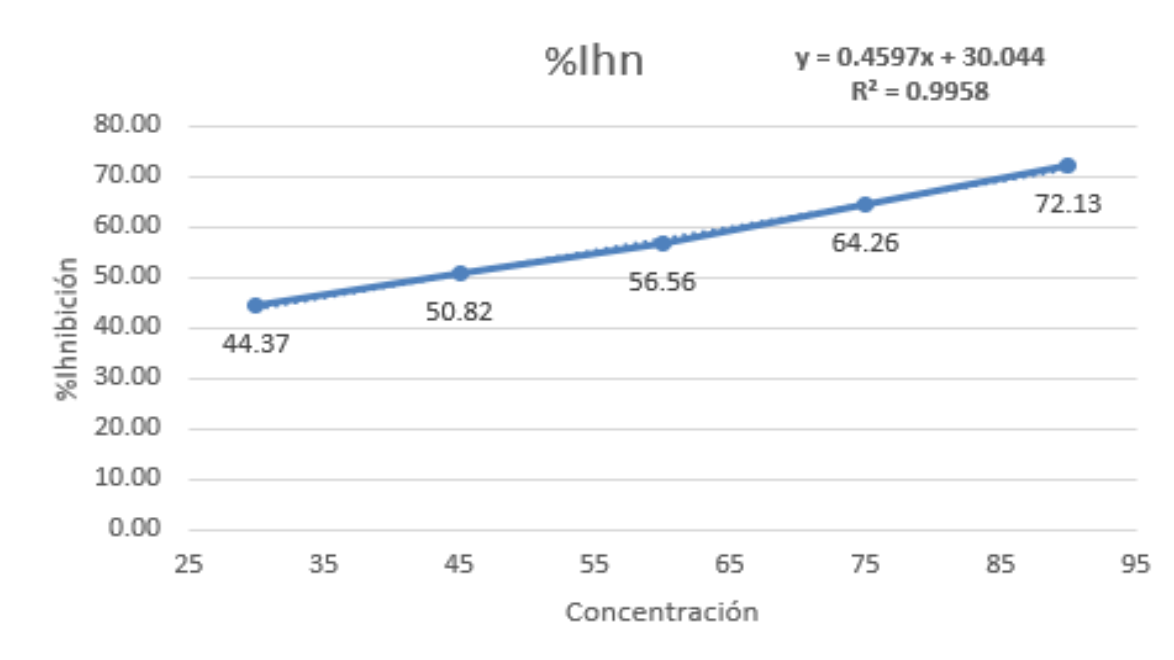


Figura 37. Porcentaje de inhibición contra concentración de extracto agua y ecuación de regresión.

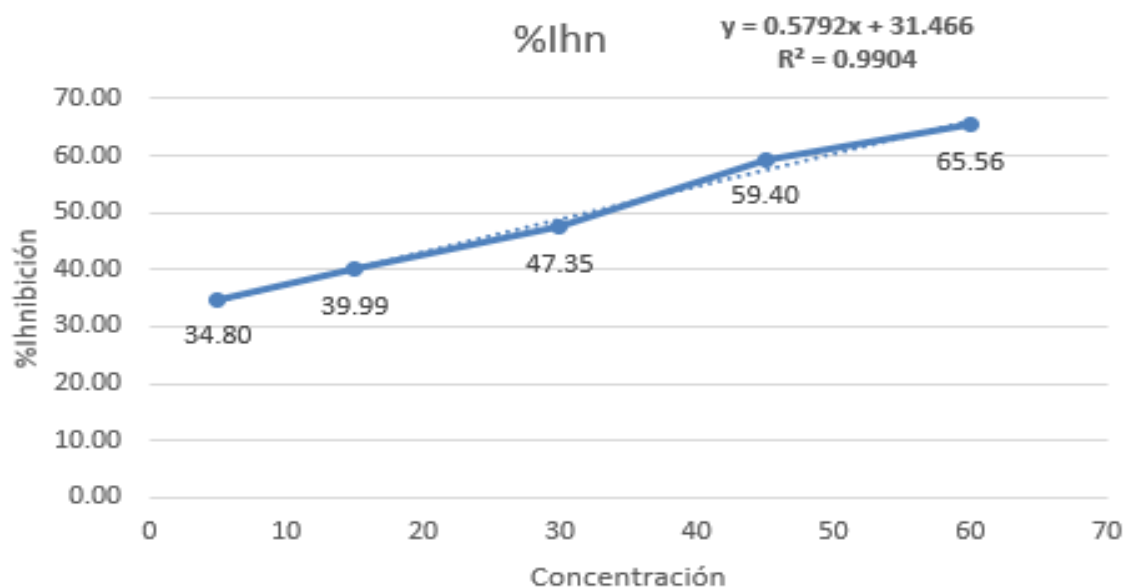


Figura 38. Porcentaje de inhibición contra concentración de extracto etanol y ecuación de regresión.

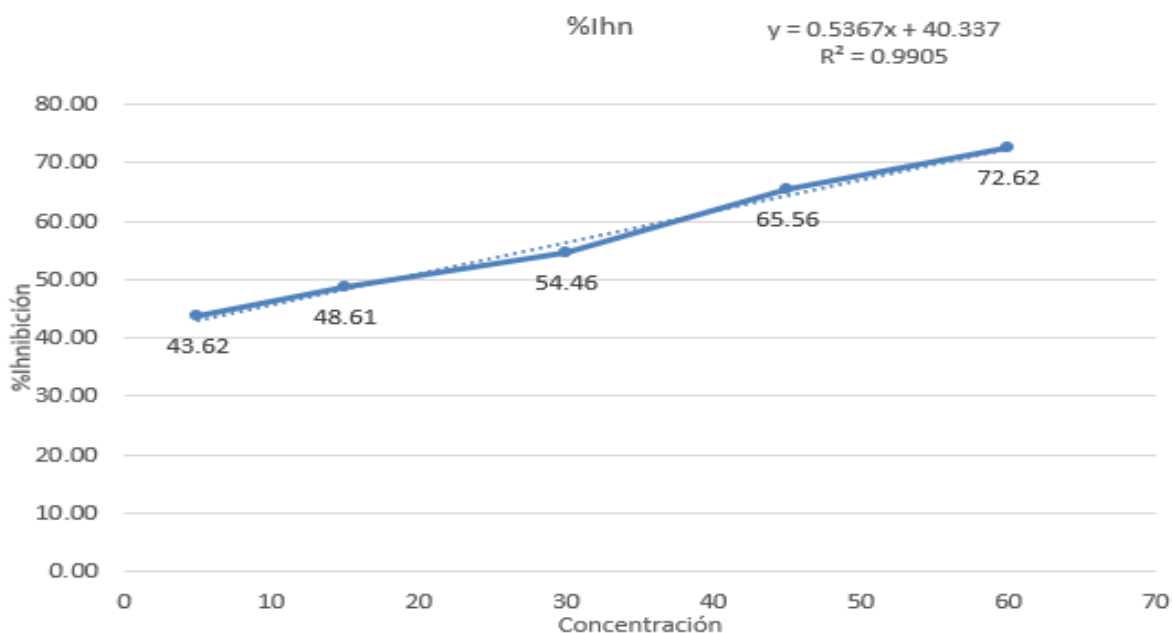


Figura 39. Porcentaje de inhibición contra concentración de extracto etanol/agua y ecuación de regresión.

Clasificación actividad antioxidante

Se puede clasificar la actividad antioxidante de los extractos en: fuerte, intermedia y débil, dependiendo de su IC50 como se presenta en la tabla 16. La clasificación de los extractos obtenidos junto a su IC50 se puede observar en la tabla 17.

Tabla 16. Clasificación de los extractos por su actividad antioxidante [40].

IC50(μg/ml)	Actividad antioxidante
<50 μg/ml	Fuerte
50-100 μm/ml	Intermedia
>100μg/ml	Débil

Tabla 17. Actividad antioxidante relativa, IC50 y clasificación de la actividad antioxidante de los extractos de la hoja de higuierilla.

Extractos	AAR ácido ascórbico	IC50(µg/ml)	Actividad antioxidante
Metanol	274.29	9.6	Fuerte
Metanol/Agua	390.57	13.67	Fuerte
Agua	1240.29	43.41	Fuerte
Etanol	914.00	31.99	Fuerte
Etanol/Agua	514.29	18	Fuerte

Resultados análisis elemental

En la tabla 18 se muestran los resultados obtenidos del análisis elemental.

Tabla 18. Resultados análisis elemental.

Muestra	C, %m/m	H, %m/m	N, %m/m	S, %mm	O, %m/m
Hoja de higuierilla	40.13	5.09	3.64	0.22	50.92

Resultados de la simulación

Las tablas 19 y 20 muestran las entradas y salidas de las corrientes de las simulaciones.

Tabla 19. Entradas y salidas de la simulación del aceite esencial.

	Units	BIOMASS	SOLV	SOL	STEAM	RESIDUES	EOIL
Temperature	C	25	25	25.08	110	110	57
Pressure	bar	1.01	1.01	2.02	2	2	1
Mass Flows	kg/hr	1	1	1	2	1.89	0.109
METHANOL	kg/hr	0	1	1	1	0.9	0.1
DEXTROSE	kg/hr	0.59	0	0	0.59	0.59	0
RICINOL	kg/hr	0.05	0	0	0.05	0.05	0
LYSIN	kg/hr	0.22	0	0	0.22	0.22	0
THUJONE	kg/hr	0.01	0	0	0.01	0.001	0.009
CAO	kg/hr	0.12	0	0	0.12	0.12	0

Tabla 20. Entradas y salidas de la simulación del extracto.

	Units	BIOMASS	SOLV	SOL	MIX	EXTRACT
Temperature	C	25	25	25.15	25.07	25.07
Pressure	bar	1.01	1	2	2	2
Mass Flows	kg/hr	1	1	1	2	0.109
DEXTROSE	kg/hr	0.59	0	0	0.59	0
RICINOL	kg/hr	0.05	0	0	0.05	0
LYSIN	kg/hr	0.22	0	0	0.22	0
METHANOL	kg/hr	0	1	1	1	0.1
RUTIN	kg/hr	0.01	0	0	0.01	0.009
CAO	kg/hr	0.12	0	0	0.12	0

Resultados de la corrida para el diseño de experimentos.

Se realizó la corrida experimental y se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 21.

Tabla 21. Resultados corrida experimental.

Réplica	Solventes	Tiempo	Relación	Rendimiento
1	Metanol	24	5:1	1.20
1	Metanol	24	10:1	2.65
1	Metanol	48	5:1	1.70
1	Metanol	48	10:1	2.69
1	Etanol	24	5:1	1.00
1	Etanol	24	10:1	1.24
1	Etanol	48	5:1	1.13
1	Etanol	48	10:1	1.55
1	Agua	24	5:1	2.10
1	Agua	24	10:1	3.54
1	Agua	48	5:1	2.38
1	Agua	48	10:1	4.49
1	Metanol/Agua	24	5:1	1.00
1	Metanol/Agua	24	10:1	2.81
1	Metanol/Agua	48	5:1	1.92
1	Metanol/Agua	48	10:1	3.05

Análisis estadístico del diseño de experimentos

Para el análisis estadístico se utilizó el software Minitab ® versión 18, los resultados del análisis se presentan en la tabla 22.

Tabla 22. Resultados del análisis estadístico del diseño de experimentos.

Fuente	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor F	Valor p
Modelo	10	16.5097	1.65097	31.78	0.000
Lineal	6	15.2750	2.54584	49.01	0.000
Solventes	4	8.1153	2.02883	39.06	0.000
Tiempo	1	0.6845	0.68450	13.18	0.005
Relación	1	6.4752	6.47522	124.66	0.000
Interacciones de 2 términos	4	1.2346	0.30866	5.94	0.013
Solventes*Relación	4	1.2346	0.30866	5.94	0.013
Error	9	0.4675	0.05194		
Total	19	16.9772			

Con el fin de validar que los resultados obtenidos del diseño de experimentos cumplan con los supuestos de normalidad, varianza constante e independencia, se utilizaron las gráficas de residuos.

Con las gráficas de residuos de la figura 41 se establece el cumplimiento de los supuestos de normalidad, varianza constante e independencia, ya que la variable de repuesta se distribuyó de manera normal con la misma varianza en cada tratamiento y las mediciones fueron independientes.

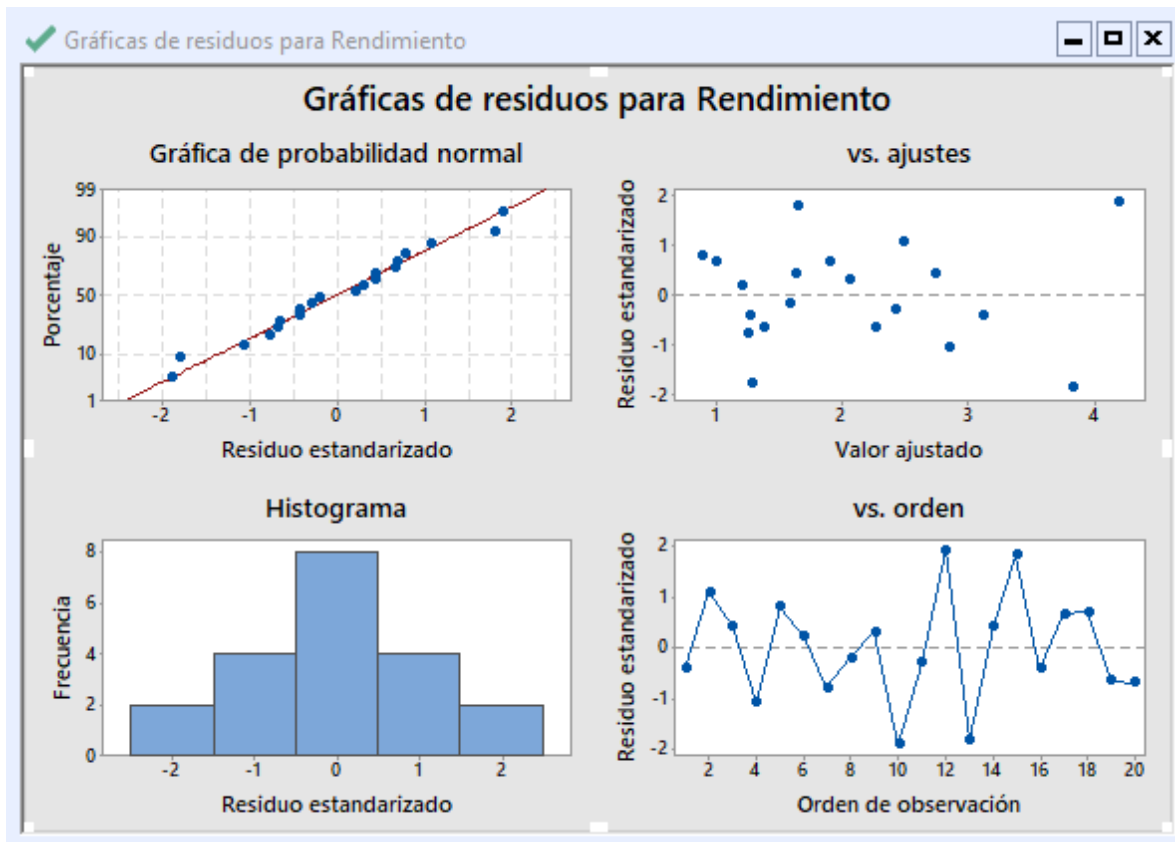


Figura 41. Gráficas de residuos para la variable de respuesta.

Resultados microscopía electrónica de barrido

Las micrografías representativas de las superficies de la hoja de higuerilla sin procesar y procesadas con los distintos solventes utilizados en la metodología para la preparación de extractos, se muestran de la figura 40 a la figura 51. El análisis morfológico de la superficie a través de SEM muestra que no hubo diferencia significativa en la superficie de la hoja antes y después del procesamiento con los solventes, debido muy probablemente al uso de la técnica de maceración en frío, al no haber vapor que modifique la estructura mecánica del material vegetal.

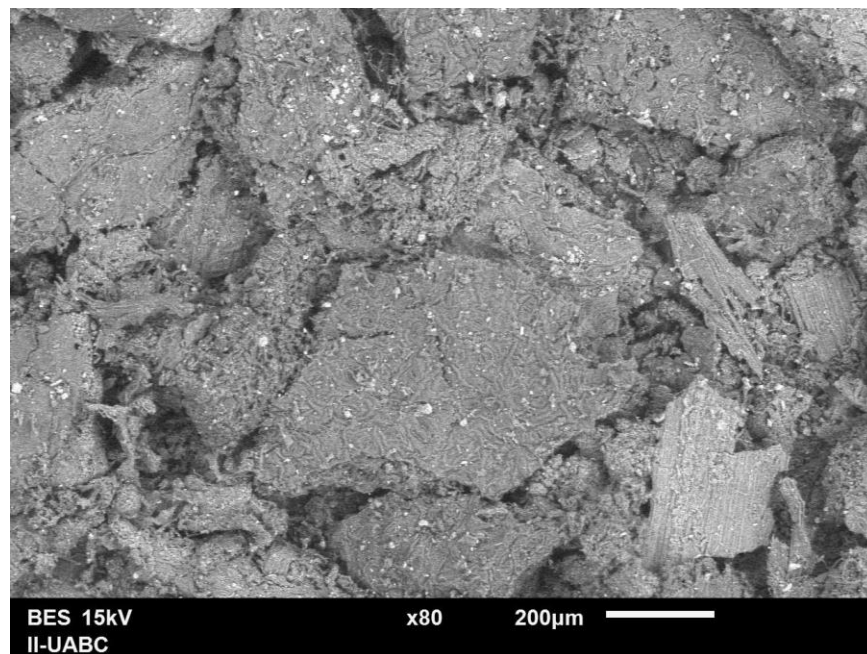


Figura 40. Micrografía de hoja de higuerilla sin procesar a 80x.

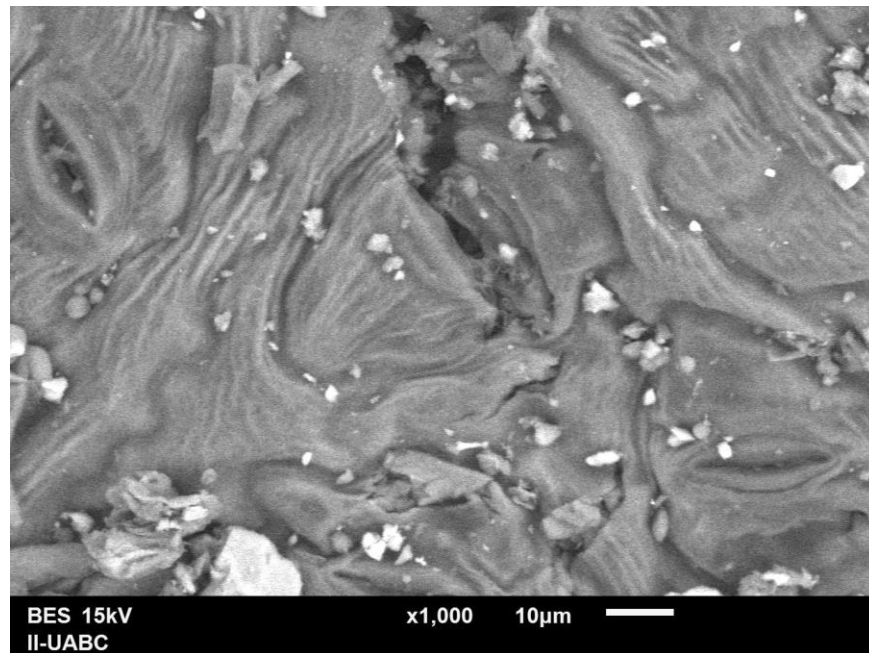


Figura 41. Micrografía de hoja de higuierilla sin procesar a 1000x.

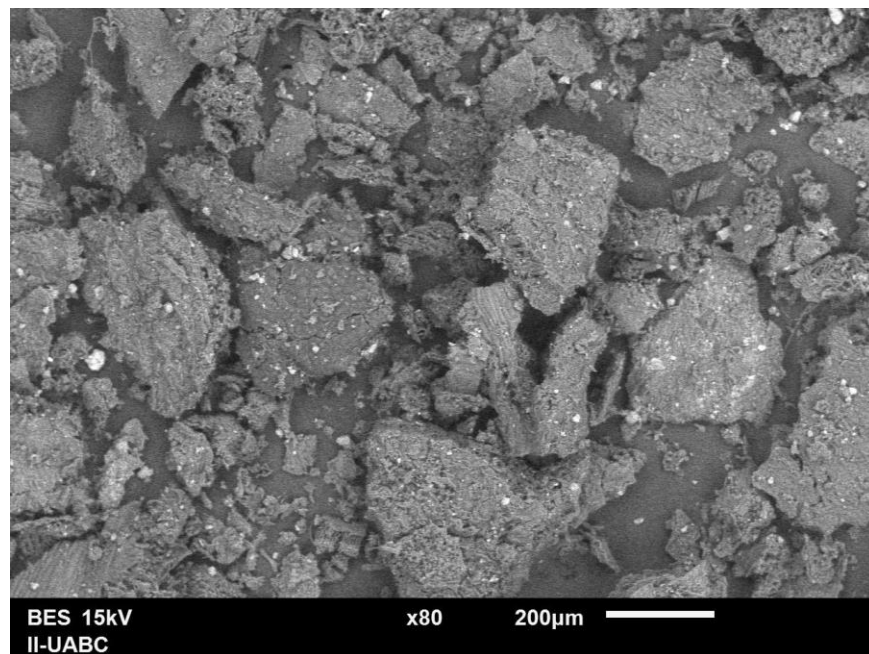


Figura 42. Micrografía de hoja de higuierilla procesada con metanol a 80x.

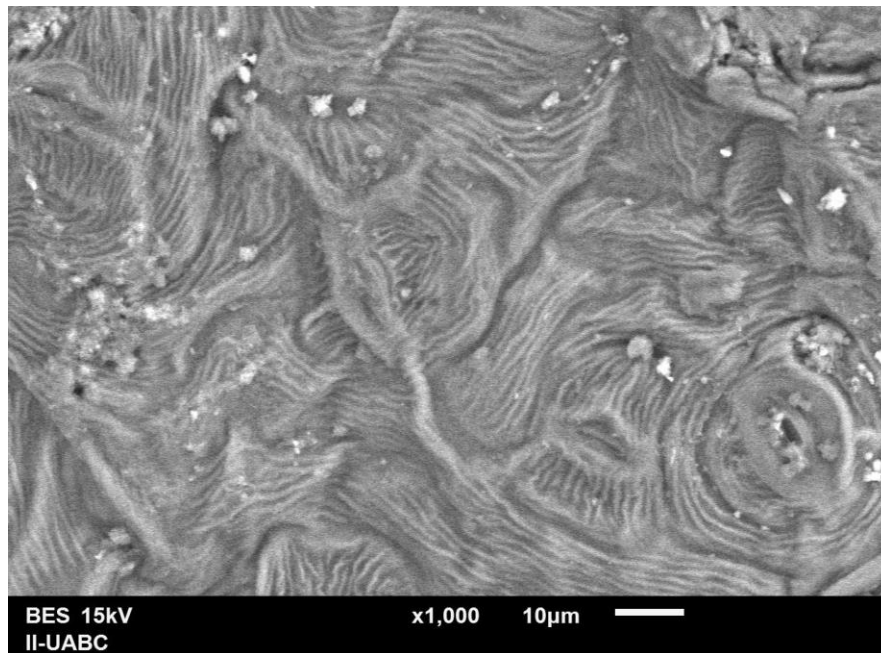


Figura 43. Micrografía de hoja de higuera procesada con metanol a 1000x.

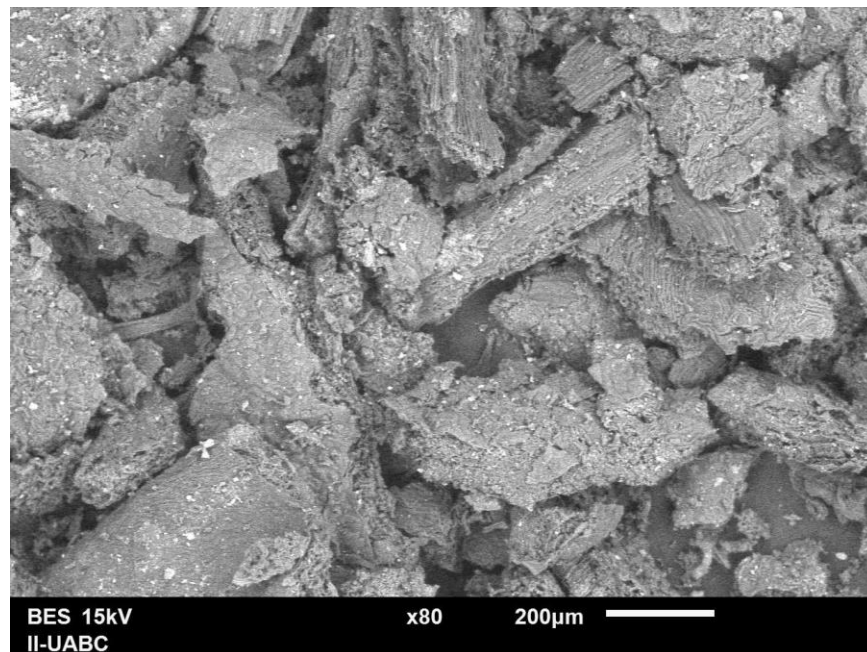


Figura 44. Micrografía de hoja de higuera procesada con metanol/agua a 80x.

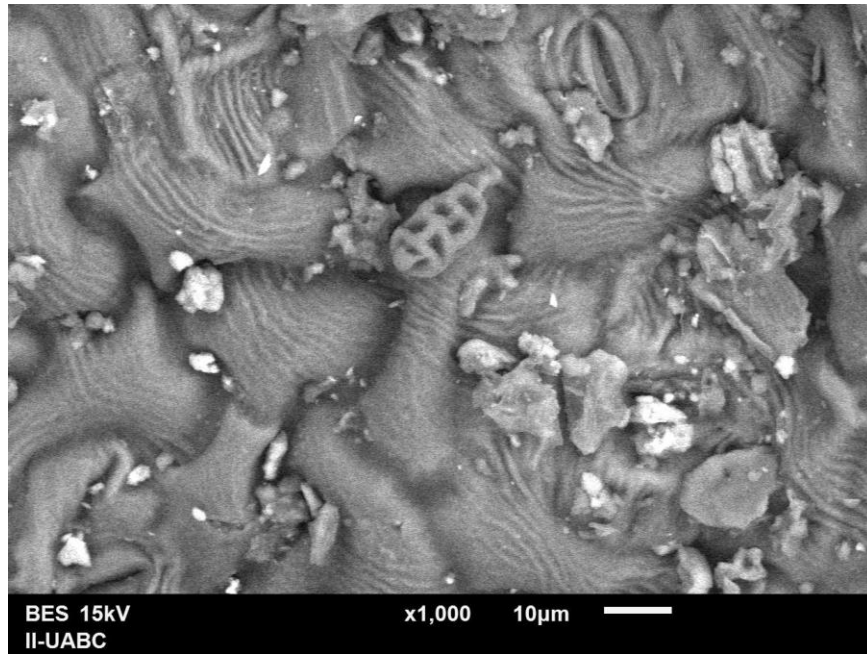


Figura 45. Micrografía de hoja de higuera procesada con metanol/agua a 1000x.

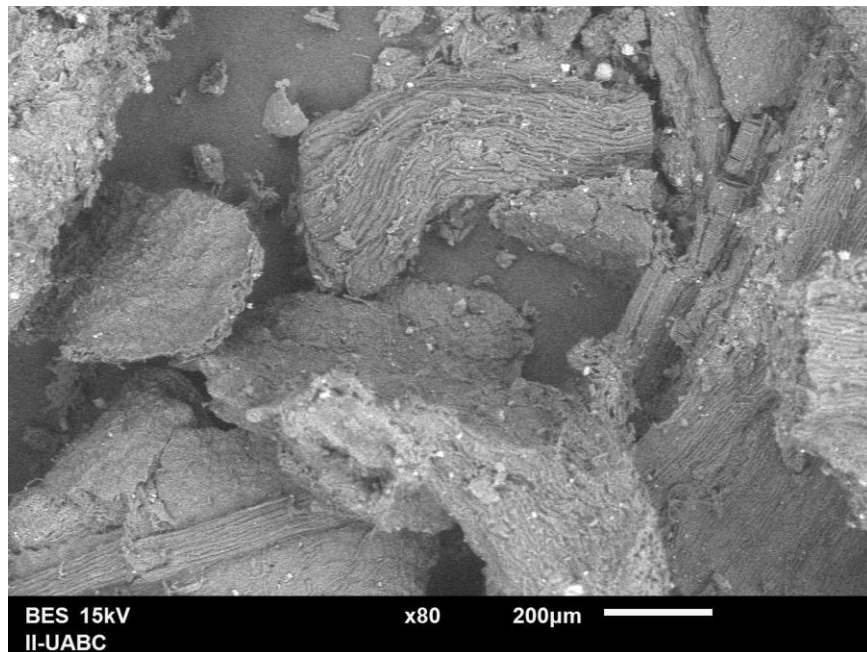


Figura 46. Micrografía de hoja de higuera procesada con agua a 80x.

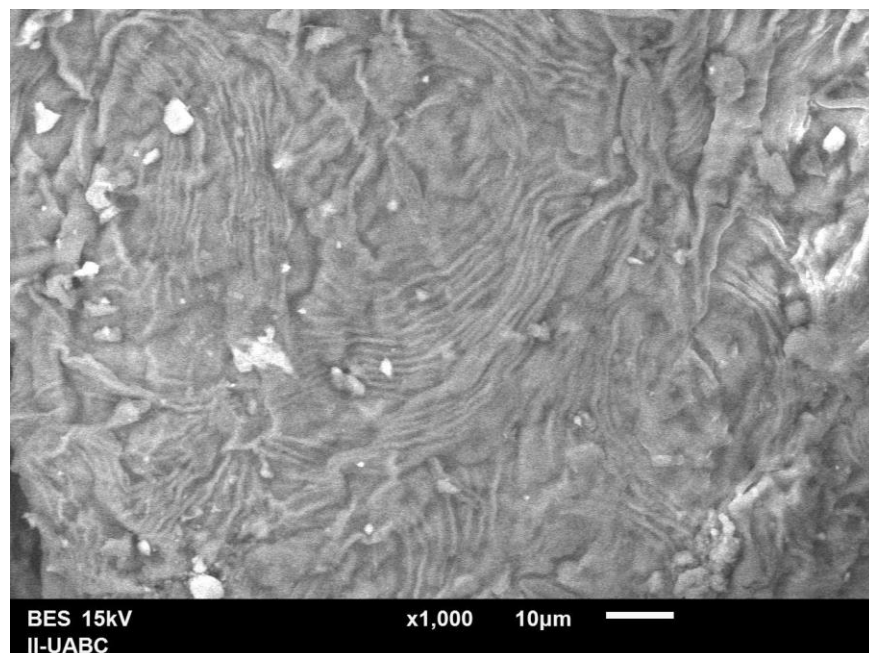


Figura 47. Micrografía de hoja de higuera procesada con agua a 1000x.

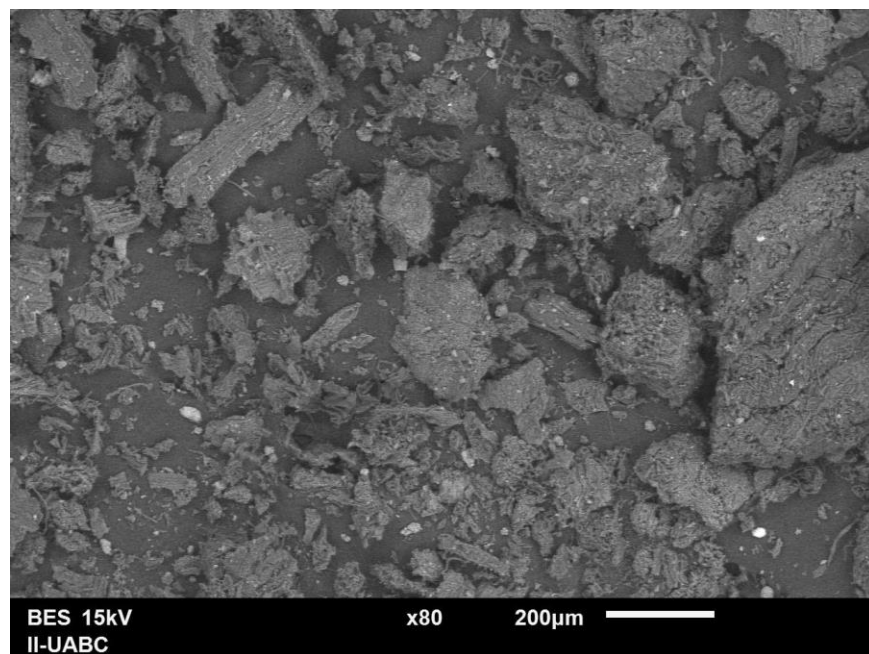


Figura 48. Micrografía de hoja de higuera procesada con etanol a 80x.

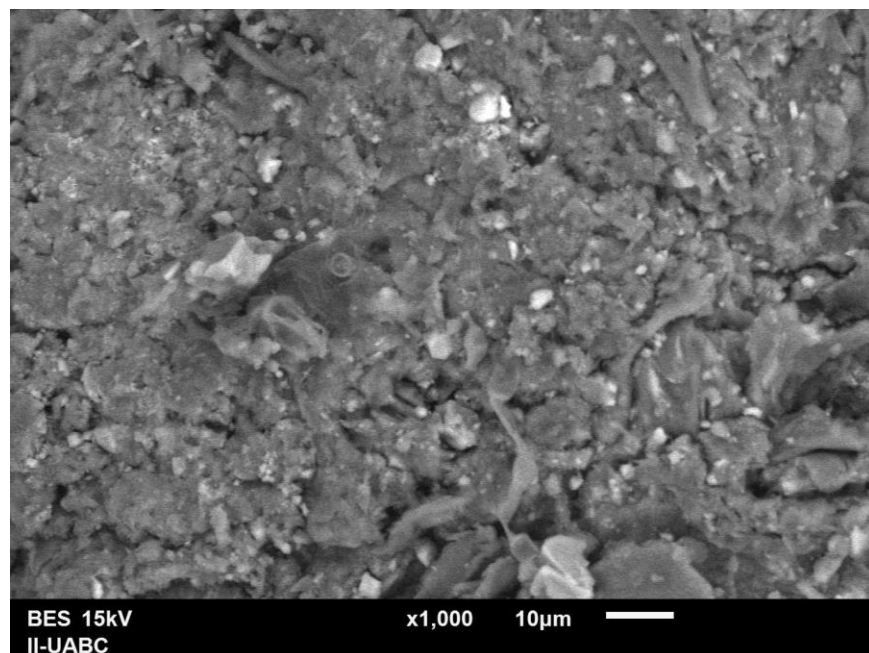


Figura 49. Micrografía de hoja de higuera procesada con etanol a 1000x.

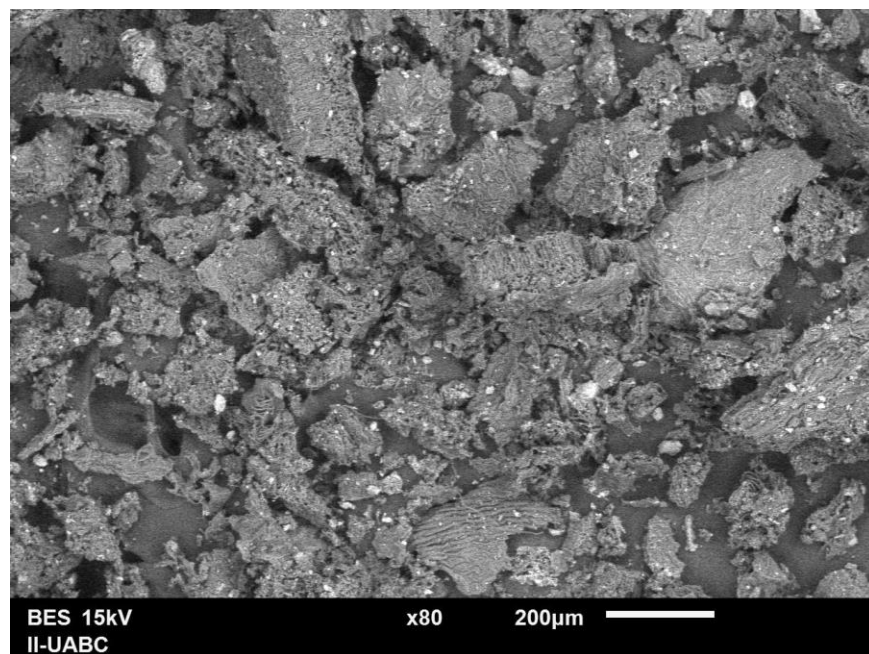


Figura 50. Micrografía de hoja de higuera procesada con etanol/agua a 80x.

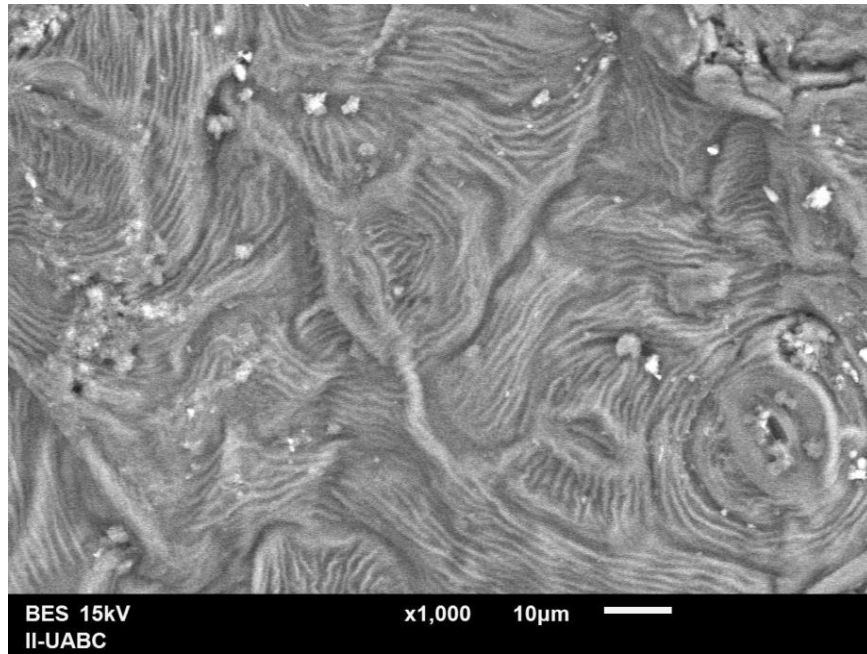
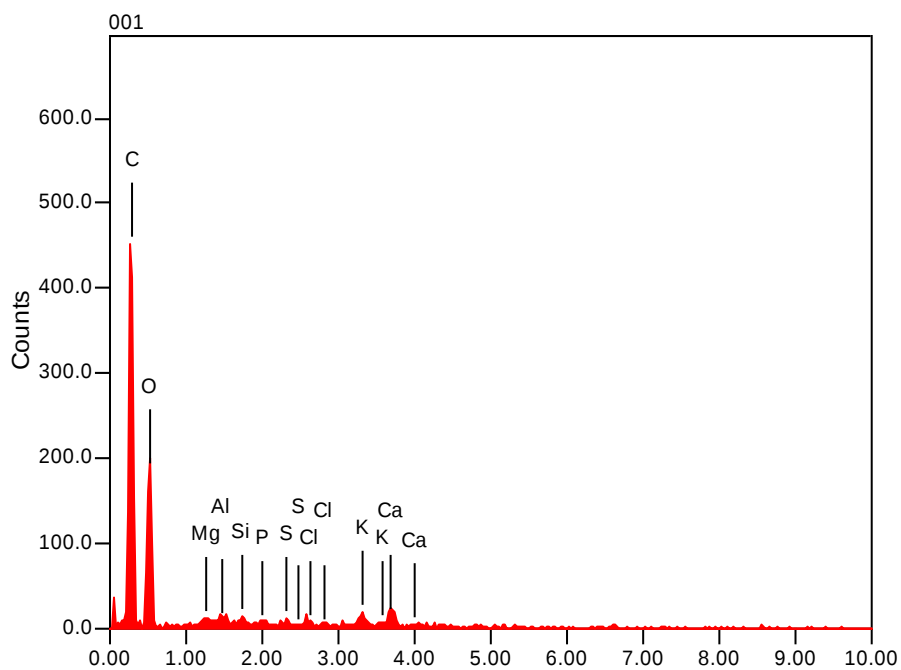


Figura 51. Micrografía de hoja de higuera procesada con etanol/agua a 1000x.

Resultados espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDS)

Los resultados obtenidos por análisis EDS para la hoja de higuera antes y después del procesamiento se muestran en la figura 52 a la figura 57. En las hojas de higuera antes del procesamiento, se encontraron distintos elementos, su presencia es posible debido a los restos de polvo en la hoja. Aluminio no estuvo presente en las hojas procesadas por metanol y etanol lo que habla de un posible arrastre por estos solventes, en el análisis en el que se presentaron menos elementos fue en de la hoja procesada por etanol lo que podría indicar un mejor arrastre por parte del etanol a comparación del metanol y las mezclas con agua. Los elementos C y O se determinaron antes y después del procesamiento con ligeras diferencias.



Acquisition Condition

Instrument : 6010LA

Volt : 15.00 kV

Current : ---

Process Time : T4

Live time : 60.00 sec.

Real Time : 60.29 sec.

DeadTime : 0.00 %

Count Rate : 142.00 CPS

Acquisition Condition

Instrument : 6010LA

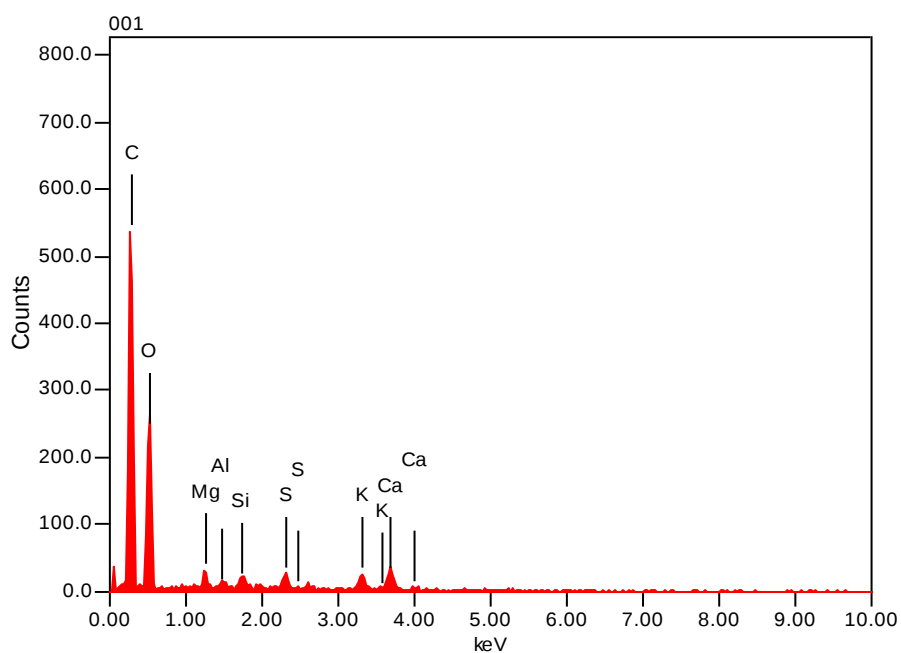
Volt : 15.00 kV

Current : ---

Process Time : T4

Chemical formula	mass%	Atom%	Sigma	keV Net	K ratio	Line
C	57.83	66.40	0.11	11006	0.0040343	K
O	36.38	31.36	0.33	5100	0.0061266	K
Mg*	0.30	0.17	0.06	198	0.0001235	K
Al*	0.21	0.11	0.06	159	0.0001026	K
Si*	0.29	0.14	0.06	222	0.0001590	K
P*	0.23	0.10	0.05	151	0.0001295	K
S*	0.47	0.20	0.05	326	0.0002788	K
Cl*	0.52	0.20	0.05	330	0.0003182	K
K*	1.36	0.48	0.10	656	0.0008568	K
Ca	2.41	0.83	0.13	1063	0.0015802	K
Total	100.00	100.0				

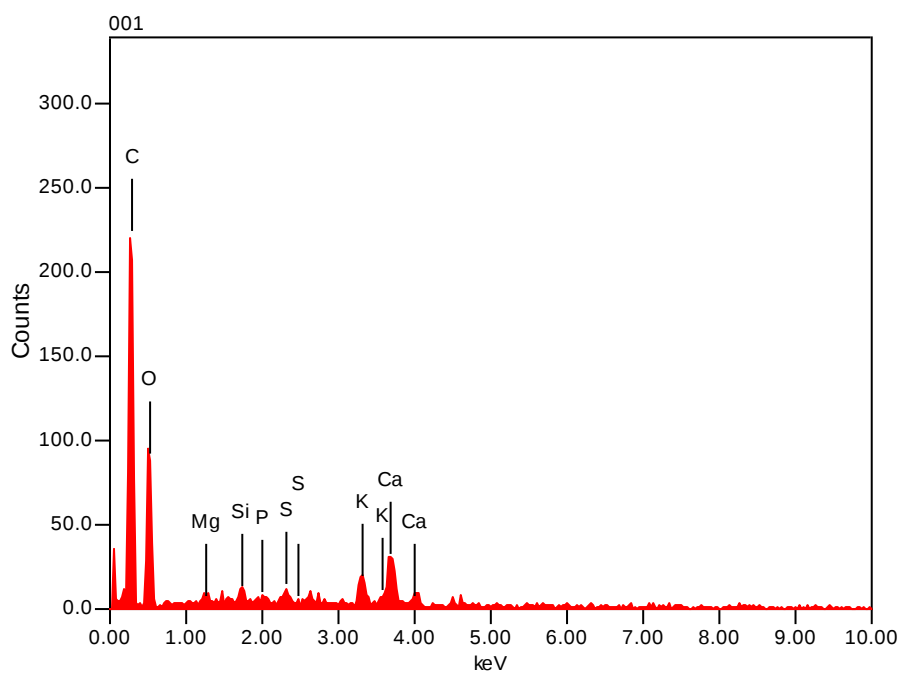
Figura 52. Hoja de higuera sin procesar (EDS).



Acquisition Condition
Instrument : 6010LA
Volt : 15.00 kV
Current : ---
Process Time : T4
Live time : 60.00 sec.
Real Time : 60.28 sec.
DeadTime : 1.00 %
Count Rate : 180.00 CPS
.Acquisition Condition
Instrument : 6010LA
Volt : 15.00 kV
Current : ---
Process Time : T4

Chemical formula	mass%	Atom%	Sigma	Net	K ratio	Line
C	55.03	64.10	0.10	12379	0.0045376	K
O	37.55	32.84	0.30	6664	0.0080058	K
Mg*	1.00	0.58	0.06	816	0.0005075	K
Al*	0.29	0.15	0.05	265	0.0001706	K
Si*	0.59	0.30	0.06	562	0.0004032	K
S	1.09	0.48	0.05	926	0.0007924	K
K	1.84	0.66	0.10	1095	0.0014308	K
Ca	2.60	0.91	0.12	1415	0.0021038	K
Total	100.00	100.00				

Figura 53. Hoja de higuera procesada con metanol (EDS).



Acquisition Condition

Instrument : 6010LA

Volt : 15.00 kV

Current : ---

Process Time : T4

Live time : 60.00 sec.

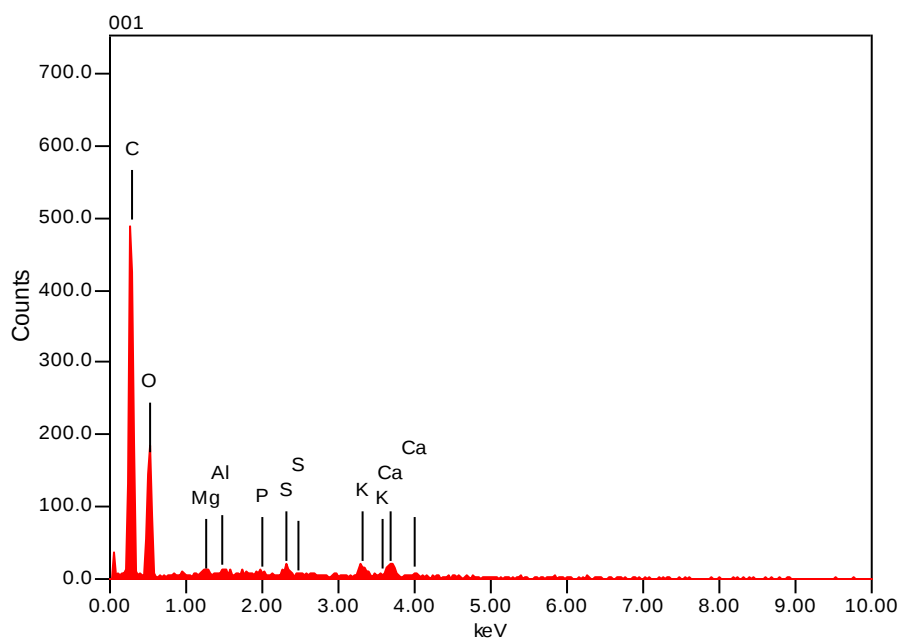
Real Time : 60.18 sec.

DeadTime : 1.00 %

Count Rate : 145.00 CPS

Chemical formula	mass%	Atom%	Sigma	Net	K ratio	Line
C	52.49	63.47	0.14	5267	0.0019307	K
O	34.80	31.59	0.44	2428	0.0029170	K
Mg*	0.30	0.18	0.09	106	0.0000658	K
Si*	0.80	0.41	0.10	334	0.0002398	K
P*	0.19	0.09	0.08	67	0.0000574	K
S*	0.97	0.44	0.08	362	0.0003101	K
K*	2.96	1.10	0.18	791	0.0010333	K
Ca	7.51	2.72	0.28	1806	0.0026848	K
Total	100.00	100.00				

Figura 54. Hoja de higuera procesada con metanol/agua (EDS).



Acquisition Condition

Instrument : 6010LA

Volt : 15.00 kV

Current : ---

Process Time : T4

Live time : 60.00 sec.

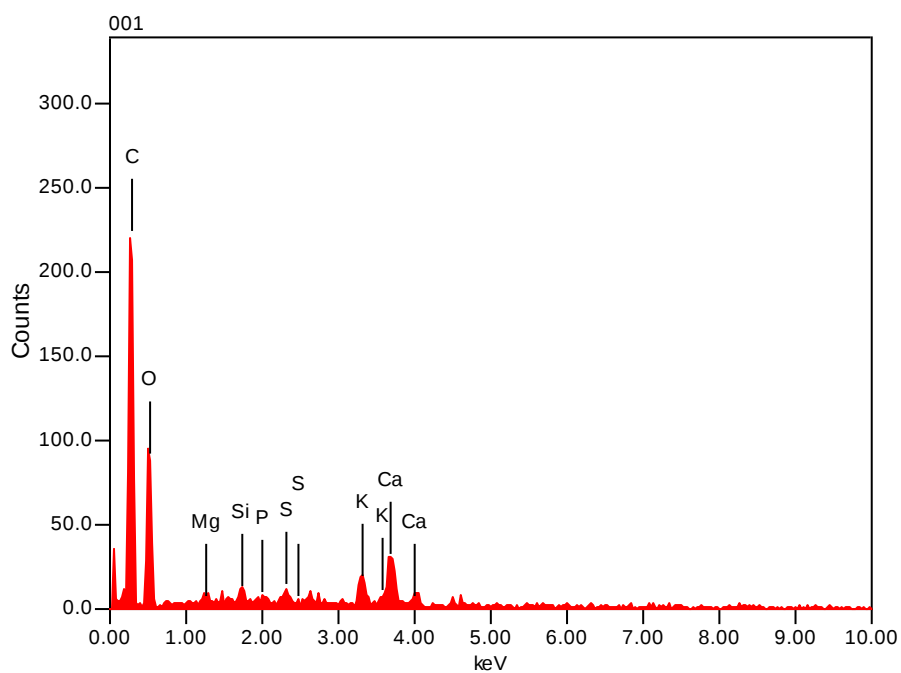
Real Time : 60.29 sec.

DeadTime : 0.00 %

Count Rate : 142.00 CPS

Chemical formula	mass%	Atom%	Sigma	Net	K ratio	Line
C	60.12	68.56	0.11	11777	0.0043168	K
O	34.27	29.34	0.33	4452	0.0053485	K
Mg*	0.20	0.12	0.06	131	0.0000816	K
Al*	0.19	0.10	0.06	138	0.0000891	K
P*	0.20	0.09	0.05	128	0.0001105	K
S*	0.77	0.33	0.06	514	0.0004398	K
K	1.83	0.64	0.11	853	0.0011141	K
Ca	2.40	0.82	0.14	1021	0.0015177	K
Total	100.00	100.00				

Figura 55. Hoja de higuera procesada con agua (EDS).



Acquisition Condition

Instrument : 6010LA

Volt : 15.00 kV

Current : ---

Process Time : T4

Live time : 60.00 sec.

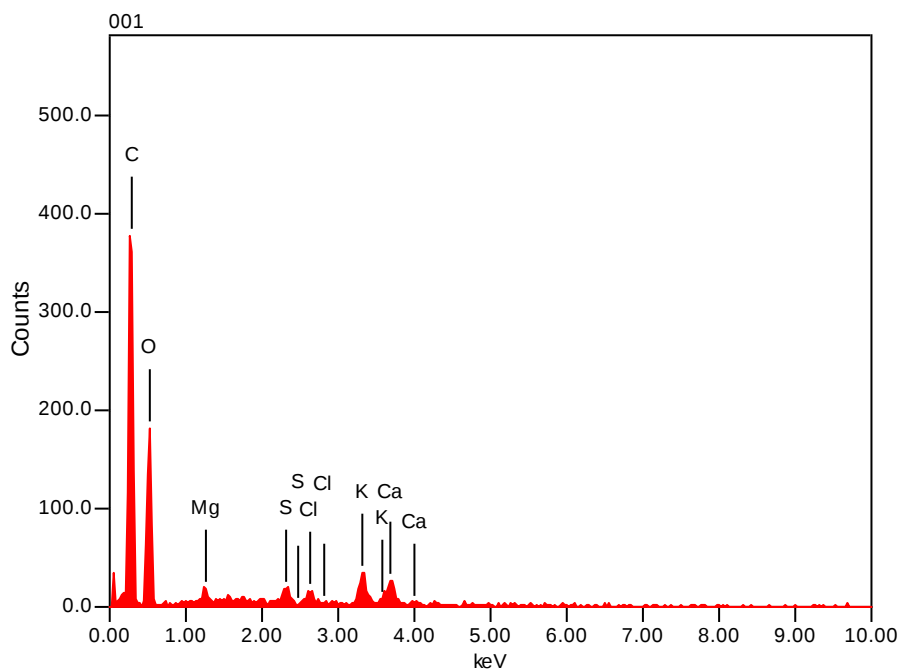
Real Time : 60.18 sec.

DeadTime : 1.00 %

Count Rate : 145.00 CPS

Chemical formula	mass%	Atom%	Sigma	Net	K ratio	Line
C	52.49	63.47	0.14	5267	0.0019307	K
O	34.80	31.59	0.44	2428	0.0029170	K
Mg*	0.30	0.18	0.09	106	0.0000658	K
Si*	0.80	0.41	0.10	334	0.0002398	K
P*	0.19	0.09	0.08	67	0.0000574	K
S*	0.97	0.44	0.08	362	0.0003101	K
K*	2.96	1.10	0.18	791	0.0010333	K
Ca	7.51	2.72	0.28	1806	0.0026848	K
Total	100.00	100.00				

Figura 56. Hoja de higuera procesada con etanol (EDS).



Acquisition Condition

Instrument : 6010LA

Volt : 15.00 kV

Current : ---

Process Time : T4

Live time : 60.00 sec.

Real Time : 60.25 sec.

DeadTime : 0.00 %

Count Rate : 138.00 CPS

Acquisition Condition

Instrument : 6010LA

Volt : 15.00 kV

Current : ---

Chemical formula	mass%	Atom%	Sigma	Net	K ratio	Line
C	55.06	64.76	0.12	8971	0.0032885	K
O	35.95	31.74	0.35	4448	0.0053436	K
Mg*	0.79	0.46	0.07	475	0.0002954	K
S*	1.03	0.45	0.07	645	0.0005524	K
Cl*	0.77	0.31	0.06	444	0.0004280	K
K	3.54	1.28	0.15	1550	0.0020244	K
Ca	2.86	1.01	0.16	1135	0.0016863	K
Total	100.00	100.00				

Figura 57. Hoja de higuera procesada con etanol/agua (EDS).

Conclusiones

Se logró la obtención de extractos de las hojas higuera (*Ricinus communis*), provenientes de la poda del arbusto mediante el uso de distintos solventes y se comprobó por medio de la prueba con DPPH que los extractos obtenidos tienen una fuerte actividad antioxidante. De mayor actividad a menor actividad se presentan a continuación: metanol con un IC₅₀ de 9.67, metanol/agua con un IC₅₀ de 13.67, etanol/agua con un IC₅₀ de 18, etanol/agua con un IC₅₀ de 31.99 y agua con un IC₅₀ de 43.41. Además, el etanol y agua presentaron una reacción lenta para la reducción del DPPH, continuando reduciéndolo incluso después de 60 min.

Debido a que, según Singh, P. P. *et al.* [41] los extractos preparados con mezcla 80:20 de alcohol/agua obtuvieron una mayor capacidad antioxidante, se decidió utilizar esta mezcla de solventes, pero de acuerdo con la experimentación realizada y los resultados esto sólo sucedió con la mezcla etanol/agua, logrando tener una mejor capacidad antioxidante que el etanol y el agua por separados.

Se realizó el análisis elemental de las hojas para determinar su composición química y junto con el análisis último obtenido de Animal Feed Resources [34], realizar una simulación más realística en el software utilizado, pudiendo así en un futuro realizarse análisis económicos y encontrar el factor para escalar la experimentación realizada en vidrio a un nivel planta piloto.

El análisis del rendimiento de los extractos se hizo por medio de un diseño de experimentos general, arrojando que los factores significativos comprenden: el tipo de solvente, la relación masa/solvente y la interacción de tipo de solvente con la relación masa/solvente. El extracto con agua fue el que mejor rendimiento mostró en cuanto extracción, pero es el que tiene menor capacidad antioxidante.

El análisis por el microscopio electrónico de barrido muestra que a pesar de estar en contacto la hoja con el solvente, no hubo una diferencia significativa en el cambio de estructura en comparación con la hoja sin procesar, como se ha mostrado en lo reportado en otros experimentos cuando se utilizan extracciones por arrastre de vapor o en soxhlet.

Recomendaciones

- Realizar una determinación de fenoles por el método de Fenil-Ciocalteu.
- Caracterizar los extractos por medio de un análisis en el HPLC para determinar las moléculas de mayor abundancia.
- Realizar pruebas de estabilidad oxidativa en el biodiesel y otros combustibles añadiéndole el extracto obtenido.
- Realizar las mismas pruebas con las hojas tratadas térmicamente.
- Buscar el aprovechamiento de las hojas una vez extraídas.

Referencias

- [1] Córdoba Gaona, O. D. J. (2013). Comportamiento ecofisiológico de variedades de higuera (*Ricinus communis* L.) para la producción sostenible de aceite y biodiesel en diferentes agroecosistemas colombianos (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín).
- [2] Cultivarán productores higuera en el Valle de Mexicali, para la producción de Biodiesel: GAH., (Marzo, 2016). BOLETÍN DE PRENSA Delegación Estatal en Baja California, 063. Recuperado de

- [3] B. Terry, R.L. McCormick, M. Natarajan, Impact of biodiesel blends on fuel system component durability, SAE Techn. Pap. No. 2006-01-3279, 2006.
- [4] McCormick, R. L., Ratcliff, M., Moens, L., & Lawrence, R. (2007). Several factors affecting the stability of biodiesel in standard accelerated tests. *Fuel Processing Technology*, 88(7), 651-657.
- [5] Siddiqui, M. W., Bansal, V., & Prasad, K. (Eds.). (2017). *Plant Secondary Metabolites, Volume Two: Stimulation, Extraction, and Utilization*. CRC Press.
- [6] Guerra Cajas, P. A. (2016). Evaluación de la actividad antioxidante bioautográfica de dos variedades de aceites esenciales andinos *Clinopodium nubigenum* (Kunt) Kuntze y *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers (Bachelor's thesis).
- [7] M. Wijtman, D.A. Pratt, J. Brinkhorst, R. Serwa, L. Valgimigli, G.F. Pedulli, N.A. Porter, Synthesis and reactivity of some 6-substituted-2,4- dimethyl-3-pyridinols, a novel class of chainbreaking antioxidants, *J. Org. Chem.* 69 (2004) 9215–9223.
- [8] Knothe, G. (2007). Some aspects of biodiesel oxidative stability. *Fuel Processing Technology*, 88(7), 669-677.
- [9] Tafurt, G., Martínez, J. R., & Stashenko, E. E. (2005). Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales en emulsiones degradadas por radiación ultravioleta. *Revista Colombiana de Química*, 34(1), 43-55.
- [10] L. Portillo, N. Rodríguez, R. Gómez & A. Pérez (2017). Manejo de Higuierilla (*Ricinus communis* L.) para el Valle del Mezquital, Hidalgo, Servicios editoriales y diseño: Universidad Politécnica de Francisco I. Madero, México.

- [11] Saadaoui, E., Martin, J. J., Ghazel, N., Romdhane, C. B., Massoudi, N., & Cervantes, E. (2015). Allelopathic Effects of Aqueous Extracts of *Ricinus communis* L. on the Germination of Six Cultivated Species. *Int. J. of Plant and Soil Science*, 7, 220-227.
- [12] Roberto A. Cabrales, José L. Marrugo & Jorge. L Abril Castro. (2014). Rendimientos en semilla y calidad de los aceites del cultivo de higuierilla (*Ricinus Communis* L.) en el Valle del Sinú, Departamento de Córdoba, Universidad de Córdoba.
- [13] Rana, M., Dhamija, H., Prashar, B., & Sharma, S. (2012). *Ricinus communis* L.—a review. *International Journal of PharmTech Research*, 4(4), 1706-1711.
- [14] Armendáriz Velázquez, J. (2012). Caracterización fenotípica y molecular de genotipos de higuierilla (*Ricinus Communis* L.) para la producción de biodiesel (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- [15] FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations www.fao.org/faostat/en/
- [16] Stashenko Elena E., (2009). Aceites Esenciales. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga.
- [17] Vélez Rodríguez, R. E. (2015). Evaluación comparativa de metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de extractos orgánicos de *Cymbopogon citratus* (Hierba Luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil) (Bachelor's thesis, Machala: Universidad Técnica de Machala).
- [18] Pharmacopea (2007). 565 Botanical extracts. USP 30.
- [19] Lizcano Ramón, A. J., Torres Cárcamo, M. E., & Vergara González, J. L. (2011). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles*

ferruginea, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos.

[20] Vega, M., & Vega, V. O. (2001). *Etnobotánica de la Amazonia peruana*. Editorial Abya Yala

[21] Nemudzivhadi, V., & Masoko, P. (2014). In vitro assessment of cytotoxicity, antioxidant, and anti-inflammatory activities of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) leaf extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014

[22] Breitmaier, E. (2006). *Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones*. John Wiley & Sons.

[23] Ramawat, K. G., & Mérillon, J. M. (Eds.). (2013). *Natural products: phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes* (pp. 1541-2662). Heidelberg, Germany:: Springer

[24] Castillo García, E. (2007). *Manual de fitoterapia*, Encarna Castillo García, Isabel Martínez Solís.

[25] Montiel, M. (1991). *Introducción a la flora de Costa Rica*. Editorial Universidad de Costa Rica.

[26] LOCK, O. *Manual de Fitoterapia*. Editorial Es Salud. Perú. 2001. p. 41-60
<http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap4.pdf>

[27] Torrenegra Alarcón, M. E. (2014). *Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar extraído de especies de orégano (*Origanum vulgare*), orégano “borde blanco” (*Origanum vulgare* ssp) y oreganito (*Lippia alba*) cultivado en La zona Norte del departamento de Bolívar (Colombia)* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín).

[28] Moon, J. K., & Shibamoto, T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 1655-1666.

- [29] Sanchez Quezada, Vanessa & Puga, Claudia. (2016). Polifenoles y capacidad antioxidante in vitro de extractos provenientes de los frutos de *Acacia farnesiana*.
- [30] Jeyaseelan, E. C., & Jashothan, P. J. (2012). In vitro control of *Staphylococcus aureus* (NCTC 6571) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) by *Ricinus communis* L. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(9), 717-721.
- [31] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- [32] Aguirre, O. E. R., Barreiro, W. A. A., & López, F. E. D. (2015). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). *Revista de Tecnología*, 14(2), 21-36.
- [33] Montero, G., Coronado, M. A., Torres, R., Jaramillo, B. E., García, C., Stoytcheva, M., ... & Valenzuela, E. (2016). Higher heating value determination of wheat straw from Baja California, Mexico. *Energy*, 109, 612-619.
- [34] Feedipedia - Animal Feed Resources Information System - INRA CIRAD AFZ and FAO © 2012-2017. <https://www.feedipedia.org/node/11949>
- [35] Ayala, J. (2013). Procesamiento del residuo biomásico. Caso de estudio: extracción de aceites esenciales de naranja en Mexicali, Baja California. (Tesis de maestría). Universidad Autónoma de Baja California.
- [36] Chen, Q. (2015). Simulation of Citronellal Extraction Tower Based on Aspen Plus Software. *Advanced Materials Research*, 1090.
- [37] Aspen Technology, Inc., "Aspen Plus® Aspen Plus User Guide", 2000.

- [38] Carlson, E. C. (1996). Don't gamble with physical properties for simulations. *Chemical engineering progress*, 92(10), 35-46.
- [39] García, C., Montero, G., Coronado, M. A., Valdez, B., Stoytcheva, M., Rosas, N., ... & Sagaste, C. A. (2017). Valorization of Eucalyptus Leaves by Essential Oil Extraction as an Added Value Product in Mexico. *Waste and biomass valorization*, 8(4), 1187-1197.
- [40] Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., Rukachaisirikul, V., & Kirtikara, K. (2007). Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 51(3), 517-525.
- [41] Singh, P. P., & Chauhan, S. M. S. (2009). Activity guided isolation of antioxidants from the leaves of *Ricinus communis* L. *Food chemistry*, 114(3), 1069-1072.

Anexos

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**
VICERRECTORÍA - CAMPUS MEXICALI
Departamento De Información Académica

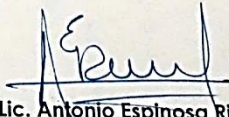
CONSTANCIA

A: José Jorge González Zúñiga

Por su Asistencia al curso:
"ProQuest"

Mexicali, B. Cfa., a 29 de agosto de 2017
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL HOMBRE"


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA
BIBLIOTECA CENTRAL
MEXICALI, B.C.


Lic. Antonio Espinosa Rivas
Jefe de Biblioteca Central Mexicali


60
ANIVERSARIO
UABC

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Instituto de Ingeniería · Facultad de Ingeniería · Facultad de Pedagogía e Innovación Educativa



Otorga la presente

CONSTANCIA

A: **JOSÉ JORGE GONZÁLEZ ZÚÑIGA**

Por su participación activa como staff de apoyo durante la

FERIA STEAM 2018: Explora, Ciencia, Tecnología + Arte

llevada a cabo el día 7 de noviembre de 2018, en las Instalaciones del Centro de Convenciones del ICBC-CEART, Mexicali.

Mexicali, Baja California, noviembre de 2018

"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL HOMBRE"

Dra. Gisela Montero Alpírez
Directora Instituto de Ingeniería

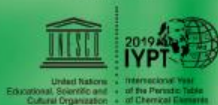
Dr. Ernesto Israel Santillán Anguiano
Director Facultad de Pedagogía e Innovación Educativa

Dr. Daniel Hernández Balbuena
Director Facultad de Ingeniería





SOCIEDAD QUÍMICA
DE MÉXICO, A.C.
"La química nos une"



Sociedad Química de México, A.C.

"La química nos une"

otorga la presente

Constancia

a

José Jorge González Zúñiga

por su apoyo en la organización de la
Jornada Académica "Química sin fronteras"
en celebración del
Año Internacional de la Tabla Periódica de los Elementos Químicos

Mexicali, B.C., México, 26 de marzo de 2019

M. del Jesús Rosales Hoz

Dra. María del Jesús Rosales Hoz
Presidente Nacional
SOCIEDAD QUÍMICA DE MÉXICO, A.C.

Ignacio González M.

Dr. Ignacio González-Martínez
Presidente Nacional Electo
SOCIEDAD QUÍMICA DE MÉXICO, A.C.

JORNADA
ACADÉMICA
QUÍMICA
SIN FRONTERAS
En celebración del Año Internacional
de la Tabla Periódica de los
Elementos Químicos



Universidad Autónoma de Baja California
DEPARTAMENTO DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
CAMPUS MEXICALI

Constancia

A QUIEN CORRESPONDA:

Por medio de la presente se hace constar que el doctor(a) MONICA CARRILLO BELTRAN académico adscrito a el INSTITUTO DE INGENIERIA, se encuentra como responsable del proyecto de investigación titulado ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO DE ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE MICROESFERAS, UTILIZANDO POLÍMEROS BIODEGRADABLES DE ORIGEN NATURAL. El cual fue registrado en este departamento con la clave 111/2075 y una vigencia 2018-2 a 2020-1.

En este proyecto de investigación participaron los siguientes:

Alumnos

KRISTEL ANNET ANGULO VILLEGAS

OLIVIA FLORES PEÑALOZA

JOSÉ JORGE GONZÁLEZ ZUÑIGA

Se extiende la presente constancia, a los quince días del mes de agosto de dos mil diez y ocho, en la ciudad de Mexicali, Baja California.

ATENTAMENTE
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL HOMBRE"
JEFA DEL DEPARTAMENTO

DRA. MARÍA DE LOURDES MONTAÑO PÉREZ



CERTIFICADO

Registro Público del Derecho de Autor

Para los efectos de los artículos 13, 162, 163 fracción I, 164 fracción I, 168, 169, 209 fracción III y demás relativos de la Ley Federal del Derecho de Autor, se hace constar que la **OBRA** cuyas especificaciones aparecen a continuación, ha quedado inscrita en el Registro Público del Derecho de Autor, con los siguientes datos:

AUTORES:

CORONADO ORTEGA MARCOS ALBERTO
GARCIA GONZALEZ CONRADO
GONZALEZ ZUÑIGA JOSE JORGE
MONTERO ALPIREZ GISELA
SANCHEZ PEREZ LUZ BIBIANA

TITULO:

ACEITE ESENCIAL DE HIGUERILLA PARA APLICACIONES ANTIOXIDANTES

RAMA:

LITERARIA

TITULARES:

CORONADO ORTEGA MARCOS ALBERTO
GARCIA GONZALEZ CONRADO
GONZALEZ ZUÑIGA JOSE JORGE
MONTERO ALPIREZ GISELA
SANCHEZ PEREZ LUZ BIBIANA

Con fundamento en lo establecido por el artículo 3° de la Ley Federal del Derecho de Autor, el presente certificado ampara única y exclusivamente la obra original literaria.

Con fundamento en lo establecido por el artículo 14 fracciones I y II de la Ley Federal del Derecho de Autor, no es objeto de protección como derecho de autor: las ideas en sí mismas, las fórmulas, soluciones, conceptos, métodos, sistemas, principios, descubrimientos, procesos e invenciones de cualquier tipo; el aprovechamiento industrial o comercial de las ideas contenidas en las obras.

Con fundamento en lo establecido por el artículo 168 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las inscripciones en el registro establecen la presunción de ser ciertos los hechos y actos que en ellas consten, salvo prueba en contrario. Toda inscripción deja a salvo los derechos de terceros. Si surge controversia, los efectos de la inscripción quedarán suspendidos en tanto se pronuncie resolución firme por autoridad competente.

Con fundamento en los artículos 2, 208, 209 fracción III y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 64, 103 fracción IV y 104 del Reglamento de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 1, 3 fracción I, 4, 8 fracción I y 9 del Reglamento Interior del Instituto Nacional del Derecho de Autor, se expide el presente certificado.

Número de Registro: 03-2017-121912451500-01

03-2017-121912451500-01

Página 1 de 2

CULTURA
SECRETARÍA DE CULTURA



INDAUTOR
Instituto Nacional del Derecho de Autor

CERTIFICADO

Registro Público del Derecho de Autor

La presente firma ampara el registro número: 03-2017-121912451500-01

México D.F., a 15 de enero de 2018

EL DIRECTOR DEL REGISTRO PÚBLICO DEL DERECHO DE AUTOR

JESUS PARETS GOMEZ



SECRETARÍA DE CULTURA
INSTITUTO NACIONAL DEL
DERECHO DE AUTOR
DIRECCIÓN DEL REGISTRO PÚBLICO



Página 2 de 2

CULTURA
SECRETARÍA DE CULTURA



INDAUTOR
Instituto Nacional del Derecho de Autor

Título de la Obra

SEP-INDAUTOR
REGISTRO PUBLICO
03-2017-121912451500-01

"Aceite esencial de la hoja de higuerilla para aplicaciones antioxidantes"

Autores

José Jorge González Zúñiga

Conrado García González

Marcos Alberto Coronado Ortega

Luz Bibiana Sánchez Pérez

Gisela Montero Alpírez

No. REGISTRO: 03-2017-121912451500-01
TITULO : ACEITE ESENCIAL DE HIGUERILLA PARA
APLICACIONES ANTIOXIDANTES

TIPO TRAMITE : REGISTRO DE OBRA
PRESENTACION: HOJAS ENGRAPADAS



Mexicali, Baja California a octubre de 2017

CERTIFICADO

Registro Público del Derecho de Autor

Para los efectos de los artículos 13, 162, 163 fracción I, 164 fracción I, 168, 169, 209 fracción III y demás relativos de la Ley Federal del Derecho de Autor, se hace constar que la **OBRA** cuyas especificaciones aparecen a continuación, ha quedado inscrita en el Registro Público del Derecho de Autor, con los siguientes datos:

AUTORES:

GARCIA GONZALEZ CONRADO
GONZALEZ ZUÑIGA JOSE JORGE
MONTERO ALPIREZ GISELA
ORTEGA CORONADO MARCOS ALBERTO
SANCHEZ PEREZ LUZ BIBIANA

TITULO:

ACEITE DE HIGUERILLA Y JATROPHA PARA LA OBTENCION DE BIODIESEL

RAMA:

LITERARIA

TITULARES:

GARCIA GONZALEZ CONRADO
GONZALEZ ZUÑIGA JOSE JORGE
MONTERO ALPIREZ GISELA
ORTEGA CORONADO MARCOS ALBERTO
SANCHEZ PEREZ LUZ BIBIANA

Con fundamento en lo establecido por el artículo 3° de la Ley Federal del Derecho de Autor, el presente certificado ampara única y exclusivamente la obra original literaria.

Con fundamento en lo establecido por el artículo 14 fracciones I y II de la Ley Federal del Derecho de Autor, no es objeto de protección como derecho de autor: las ideas en sí mismas, las fórmulas, soluciones, conceptos, métodos, sistemas, principios, descubrimientos, procesos e invenciones de cualquier tipo; el aprovechamiento industrial o comercial de las ideas contenidas en las obras.

Con fundamento en lo establecido por el artículo 168 de la Ley Federal del Derecho de Autor, las inscripciones en el registro establecen la presunción de ser ciertos los hechos y actos que en ellas consten, salvo prueba en contrario. Toda inscripción deja a salvo los derechos de terceros. Si surge controversia, los efectos de la inscripción quedarán suspendidos en tanto se pronuncie resolución firme por autoridad competente.

Con fundamento en los artículos 2, 208, 209 fracción III y 211 de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 64, 103 fracción IV y 104 del Reglamento de la Ley Federal del Derecho de Autor; artículos 1, 3 fracción I, 4, 8 fracción I y 9 del Reglamento Interior del Instituto Nacional del Derecho de Autor, se expide el presente certificado.

Número de Registro: 03-2017-121912441700-01

03-2017-121912441700-01

Página 1 de 2

CULTURA
SECRETARÍA DE CULTURA



INDAUTOR
Instituto Nacional del Derecho de Autor

H2047 A.C.

CERTIFICADO

Registro Público del Derecho de Autor

La presente firma ampara el registro número: 03-2017-121912441700-01

México D.F., a 15 de enero de 2018

EL DIRECTOR DEL REGISTRO PÚBLICO DEL DERECHO DE AUTOR

JESUS PARETS GOMEZ



SECRETARÍA DE CULTURA
INSTITUTO NACIONAL DEL
DERECHO DE AUTOR
DIRECCIÓN DEL REGISTRO
PÚBLICO
DEL DERECHO DE AUTOR



Página 2 de 2

CULTURA
SECRETARÍA DE CULTURA



INDAUTOR
Instituto Nacional del Derecho de Autor

44 F 146 HCL

TITULO DE LA OBRA

“ACEITE DE HIGUERILLA Y JATROPHA PARA LA OBTENCIÓN DE BIODIESEL”

SEP-INDAUTOR
REGISTRO PUBLICO
03-2017-121912441700-01

AUTORES

Luz Bibiana Sánchez Pérez

Marcos Alberto Coronado Ortega

Conrado García González

José Jorge González Zúñiga

Gisela Montero Alpírez

No. REGISTRO: 03-2017-121912441700-01
TITULO : ACEITE DE HIGUERILLA Y JATROPHA
PARA LA OBTENCION DE BIODIESEL
TIPO TRAMITE :REGISTRO DE OBRA
PRESENTACION: HOJAS ENGRAPADAS



Mexicali, Baja California a Octubre 2017.