

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE INGENIERÍA



***DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PLUCHEA
SERÍCEA Y LARREA TRIDENTATA***

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:

CARLOS ALFONSO SAGASTE BERNAL

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. GISELA MONTERO ALPÍREZ

CODIRECTOR DE TESIS:

DR. VELIZAR GOCHEV

Mexicali, Baja California, junio de 2015.

Agradecimientos	ii
Resumen	iv
Índice de tablas	vii
Índice de Figuras	viii
Introducción	1
Descripción del problema y justificación	2
Objetivos	3
Hipótesis	4
Fundamento teórico	5
Definiciones	6
Métodos de extracción de terpenos	9
Terpenos y actividad humana	14
Flora del Valle de Mexicali	20
Estimación de propiedades	29
Estimación del equilibrio líquido-vapor	35
Materiales y métodos	38
Preparación de extractos de <i>Pluchea sericea</i> y <i>Larrea tridentata</i>	39
Obtención de aceite esencial de naranja	44
Método de difusión de disco	45
Concentración mínima inhibitoria	51
Resultados	53
Inhibición del crecimiento microbiológico	54
Concentración mínima inhibitoria	60
Otras pruebas fisicoquímicas	62
Conclusiones	67
Referencias	71
Otros productos académicos	77
Anexos	79

Agradecimientos

Es mi deber dar las gracias a aquellos cuya ayuda fue invaluable en este logro. Desde mi punto de vista son tres los aspectos básicos que hay que agradecer: apoyo material, apoyo intelectual, y de manera especial, apoyo personal. Muchas son las personas que caben en dos o más de esas categorías, y como formalidad empezaré por agradecer a las instituciones que brindaron recursos, instalaciones y capital humano para hacer esto posible.

Entre estas instituciones se encuentran el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y la Universidad Autónoma de Baja California. A partir de hoy podré ser un orgulloso egresado del Instituto de Ingeniería, que junto con la Universidad de Plovdiv, Bulgaria, abrió mi mente en muchos sentidos.

A mis directores de tesis Dra. Gisela Montero y al Dr. Velizar Gochev. La luz de su experiencia ha sido mi esperanza de alcanzar buen puerto. Agradezco a otros investigadores y catedráticos del Instituto de Ingeniería que me brindaron su apoyo, conocimiento y amistad: Dr. Marcos Coronado, Dr. Michael Schorr, Dr. Héctor Campbell y Dr. Rogelio Ramos. De igual manera a mis antiguos maestros de licenciatura que siguieron conmigo en este nuevo paso: Dra. Lupita Amado y Dr. Conrado García.

Agradezco también a mis compañeros de posgrado, con quienes he caminado y crecido: Ramón, Ángel, Laura, Ricardo y Juan Ricardo. Con estos años de trato estoy seguro que he ganado una amista para la vida.

Y el apoyo incondicional de mi familia, que no pude ser clasificado, medido ni descrito. A mis hermanas, que muestran que los frutos no caen lejos del árbol que son mis Padres. Y por último, sin bien no me creo merecedor de tanta bendición, es mi deber agradecer a Dios. Muchas otras personas son dignas de toda gratitud, pero si las describiera una por una, no habría lugar para escribir esta tesis.

Resumen

El principal objetivo del presente trabajo de investigación fue la obtención de extractos a partir de *Larrea tridentata* y *Pluchea serícea*, conocidas como gobernadora y cachanilla, respectivamente. Estas especies desérticas son características del Valle de Mexicali, Baja California.

La técnica de maceración con solventes orgánicos fue elegida como la más adecuada para la obtención de estos extractos. Con una metodología adaptada a este propósito, se obtuvieron tres extractos, dos de *P. serícea* y uno de *L. tridentata*. Los solventes utilizados para los extractos de *P. serícea* fueron etanol y metanol, mientras que para *L. tridentata* solo fue requerido metanol.

Los extractos obtenidos son considerados como sesquiterpenos de nombre 14-acetoximodefeno para cachanilla y ácido nordihidroguayarético (NDGA, por su abreviatura en inglés) para la gobernadora. Estas moléculas fueron usadas con el fin de estimar algunas propiedades por medio del simulador de procesos Aspen Plus[®].

Una vez obtenidos los extractos fueron sometidos a pruebas de actividad microbiológica, a través del método de difusión de disco. Para dichas pruebas fueron requeridas tres cepas de interés biomédico, una bacteria Gram positivo, una Gram negativo y una levadura: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans*. De igual manera fueron sometidos dos aceites esenciales de naranja, uno de México y otro de EE.UU., por el mismo método contra las mismas cepas.

Una vez determinada la actividad microbiológica de cada extracto, en caso de presentarse, se llevó a cabo la determinación de la concentración mínima inhibitoria por el método de diluciones sucesivas.

Los resultados mostraron que el extracto de gobernadora posee una poderosa actividad contra *S. aureus* y *C. albicans*, mientras que solamente el aceite de naranja mexicana presenta una actividad notable contra *E. coli*. La actividad inhibitoria del crecimiento es relacionada con el diámetro de inhibición del crecimiento que se puede presentar alrededor del punto donde fueron adicionados los extractos y aceites. El extracto de gobernadora presentó un diámetro de inhibición de 44 mm y 37 mm contra *C. albicans*, y *S. aureus*, respectivamente. Mientras que los extractos de cachanilla presentaron diámetros de entre 14 y 17 mm contra *C. albicans*, y de entre 17 y 22 mm contra *S. aureus*. Ningún extracto presentó actividad apreciable contra *E. coli*.

Abstract

The main purpose of this research was to obtain extracts from *Larrea tridentata* and *Pluchea sericea* as well known as gobernadora and cachanilla, in Spanish, or creosote and arrow-weed in English. These desert species are native plants from Mexicali Valley in Baja California.

Maceration technique with organic solvents was chosen as the most suitable to obtain these extracts. A methodology was adapted for this purpose, and three extracts were obtained: two *Pluchea sericea*, and one *Larrea tridentata*. The used solvents were ethanol and methanol for the *Pluchea sericea* extracts, while methanol was only required for *Larrea tridentata*.

The obtained extracts are considered sesquiterpenes known as 14-acetoximodefeno for the cachanilla and nordihydroguaiaretic acid (NDGA) for the gobernadora. These molecules were used in order to estimate some properties through the process simulators Aspen Plus®.

After the extracts were obtained, these were tested with microbiological activity through the diffusion method. For these tests were required three strains of biomedical interest: Gram-positive bacteria, a Gram-negative and a yeast: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Moreover, two essential orange oils were used: one from Mexico, and another from U.S for the same method against the same strains.

After to determine the microbiological activity of each extract, if this occurs, was carried out the determination of the minimum inhibitory concentration by the method of successive dilutions.

The results showed that the gobernadora extract contains a powerful activity against *S. aureus* and *C. albicans*, while the Mexican orange oil only shows an important reaction in opposite to *E. coli*. The growth inhibitory activity is related to the inhibition diameter of the growth that can occur in the moment where the extracts and oils were added. The gobernadora extract showed an inhibition diameter of 44 mm and 37 mm in opposite to *C. albicans*, and *S. aureus* respectively. Meanwhile, the cachanilla extracts showed diameters between 14 and 17 mm in opposite to *C. albicans*, and between 17 and 22 mm against *S. aureus*. No extract showed an appreciable activity against *E. coli*.

Índice de tablas

Tabla 1 Los diez principales productores y consumidores de terpenos en 2006.....	16
Tabla 2 Estudios sobre propiedades de extractos de cachanilla y gobernadora.	27
Tabla 3 Datos para NDGA y 14-acetoximodefeno introducidos a la estimación de propiedades. ...	33
Tabla 4 Resultados de la estimación de propiedades con sus respectivos errores porcentuales.	34
Tabla 5. Rendimientos de extracción de P. serícea y L. tridentata en etanol y metanol	43
Tabla 6 Material empleado en la preparación de extractos de gobernadora y cachanilla.	43
Tabla 7 Material empleado para la preparación de medios de cultivo.	45
Tabla 8 Diámetros de inhibición debidos a la adición de extractos y aceites esenciales.	60
Tabla 9 CMI, CMB, CMF de los extractos y aceites esenciales utilizados contra las cepas seleccionadas.....	61
Tabla 10 PCS de los extractos de cachanilla y gobernadora medidos por calorimetría.	62
Tabla 11 Condiciones de operación para la estimación del poder calorífico por Aspen Plus®.....	65
Tabla 12 Poder calorífico del extracto de gobernadora medido por calorimetría comparado al estimado por simulación.....	66

Índice de Figuras

Figura 1 Modelo de la molécula del isopreno .	6
Figura 2 Diagrama de bloques de la hidrodestilación	10
Figura 3 Diagrama de bloques de la destilación por arrastre con vapor	12
Figura 4 Valor del comercio de terpenos en México entre 2002 y 2010	16
Figura 5 Apariencia típica de los resultados de una prueba de susceptibilidad microbiológica	18
Figura 6 División florística de la península de Baja California	23
Figura 7 Matorrales de gobernadora.	25
Figura 8 Arbusto de cachanilla con florecencia.	25
Figura 9 Molécula de NDGA	32
Figura 10 Molécula de 14-acetoximodefeno.	32
Figura 11 Montaje usado para la estimación de propiedades en Aspen Plus®.	34
Figura 12 Diagrama de equilibrio líquido vapor para el sistema agua-NDGA a diversas presiones.	36
Figura 13 Diagrama de equilibrio líquido vapor para el sistema agua-14 acetoximodefeno a diversas presiones.	36
Figura 14 Molienda de material vegetal cachanilla.	39
Figura 15 Montaje para la purificación del extracto de cachanilla y gobernadora.	41
Figura 16 Baño térmico usado para mantener la temperatura del refrigerante en el condensador....	41

Figura 17 Diagrama del proceso de obtención y purificación de los extractos de <i>P. serícea</i> y <i>L. tridentata</i>	42
Figura 18 Medidor de turbidez-densidad usado para la preparación de los inóculos.....	47
Figura 19 Extractos disueltos en DMSO para las pruebas microbiológicas..	48
Figura 20 Platos de Petri inoculados y adicionados con sustancias de prueba	50
Figura 21 Prueba de susceptibilidad de <i>C. albicans</i>	55
Figura 22 Prueba de susceptibilidad de <i>S. aureus</i>	56
Figura 23 Prueba de susceptibilidad de <i>C. albicans</i>	57
Figura 24 Prueba de susceptibilidad de <i>E. coli</i> contra.	58
Figura 25 Prueba de susceptibilidad de <i>E. coli</i> contra aceites de naranja..	59
Figura 26 Reacción de combustión de NDGA.....	64
Figura 27 Reactor empleado en la simulación del poder calorífico de NDGA en Aspen Plus®.	65
Figura 28 Cálculo del PCS en función del flujo másico y el flujo de calor.	66

Introducción

*Esta vista da a los ángeles el valor
Aunque ninguno la comprende
completamente
Y todas tus obras sublimes
Se muestran espléndidas como el primer
día
J.W. von Göthe.*

Descripción del problema y justificación

Para el desarrollo de un modelo de utilidad de un extracto o aceite esencial es necesario el conocimiento sobre sus propiedades, lo cual es el caso del trabajo aquí presentado.

Se hace énfasis en que el uso de compuestos terpénicos es de origen milenario, pero es prudente dejar claro que la mayoría de los casos de éxito en el uso de extractos y aceites esenciales son sobre plantas que son originarias o son ampliamente cultivadas en la cuenca mediterránea o el lejano oriente, repercutiendo en que exista poca información sobre la flora de regiones aisladas y relativamente jóvenes en su historia.

La flora de la región del Valle de Mexicali podría ser considerada como aislada geográficamente, y el conocimiento sobre ella más bien reciente. La población establecida más antigua, el poblado Los Algodones, data de la última década del siglo XIX, y para sobrevivir se valieron de lo poco o mucho que encontraron en la zona. Entre los recursos de los que pudieron echar mano se encuentran dos especies vegetales que constituyen la mayoría del paisaje nativo: la cachanilla y la gobernadora.

El conocimiento sobre la flora del Valle de Mexicali, en general, es pobre o mejor dicho incipiente, con algunos estudios de variada profundidad que sin embargo llegan a poco más que a una descripción. Si la información sobre la flora puede ser considerado poco, el concerniente a extractos, resinas y aceites esenciales extraídos de ella es aún menor.

Aunado a la realidad encontrada, se tiene que el laboratorio de Biocombustibles del Instituto de Ingeniería de UABC ha desarrollado metodologías y otros avances en la

extracción y caracterización de extractos y aceites esenciales, sin embargo la aplicación real de ellos no ha encontrado el mismo desarrollo. Es por esto que a la vez de definir una metodología para la obtención de un extracto y describirlo, se estudió algunas de sus propiedades, en específico su capacidad inhibitoria del crecimiento microbiológico.

El estudio de estas propiedades puede, y debe, hacerse extensivo a otros extractos y aceites esenciales, con el fin de continuar la línea de investigación con la incorporación de un eslabón más en ella. Es de esta manera en que a la vez de contribuir a la generación de conocimiento sobre los extractos de flora nativa del Valle de Mexicali se pretende contribuir con un precedente en una aplicación práctica de esto y otros extractos y aceites esenciales.

Objetivos

Describir y aplicar una metodología para la obtención de extractos de *Pluchea serícea* y *Larrea tridentata*, así como someterlos a ensayos de actividad microbiológica contra *Cándida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Objetivos específicos.

- Establecer una metodología precisa y reproducible que permita la obtención y purificación de extractos de *Pluchea serícea* y *Larrea tridentata*.
- Respaldar la metodología a utilizar en estimaciones de propiedades mediante el uso de Aspen Plus[®].

- Realizar pruebas de susceptibilidad microbiológicas de los extractos contra las cepas de interés médico de *Cándida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, mediante el método de difusión de disco.
- Determinar la capacidad inhibitoria de los extractos contra las cepas mencionadas.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria de los extractos de *Pluchea serícea* y *Larrea tridentata* contra *Cándida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, por el método de diluciones sucesivas.
- Llevar a cabo las mismas pruebas microbiológicas utilizando aceites esenciales de naranja valencia.

Hipótesis

Los extractos etanólicos y metanólicos de *Pluchea serícea* y *Larrea tridentata*, extraídos a nivel laboratorio, cuentan con actividad microbiológica de inhibición medible contra algunas cepas de interés médico seleccionadas, en este caso *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*.

Fundamento teórico

*Voy a interrogarte y tú me
contestarás:
¿Dónde estabas cuando se fundaba
la Tierra?
Indícalo si sabes la verdad.
Job*

Definiciones

Isopreno, terpenos y terpenoides y su clasificación

Dentro de los alquenos se encuentran los terpenos, que son constituyentes de los aceites esenciales y extractos vegetales. A pesar de ser de forma y complejidad variables, los terpenos presentan características comunes, como el estar compuestos por varias unidades de 5 carbonos; a tal unidad se le identifica como isopreno, ilustrada en la figura 1.

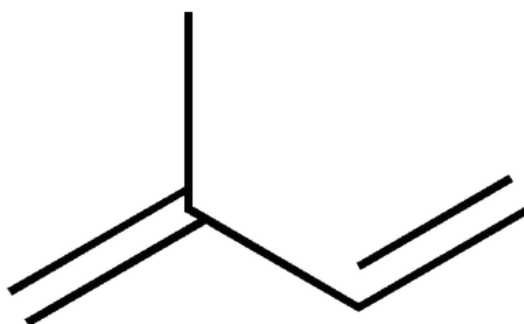


Figura 1. Modelo de la molécula del isopreno (RSC, Royal Society of Chemistry, 2010).

El isopreno, cuyo nombre sistemático de UIQPA es 2-metil-1,3-butadieno, se encuentra en la fracción más volátil del petróleo crudo, y en los productos de la pirólisis de gomas naturales. Como tal, es un líquido ligero, incoloro y de olor característico. Es extremadamente inflamable y tiende a polimerizar de forma explosiva.

Los bloques de isopreno constituyen para el terpeno una especie de “esqueleto” hidrocarburo que puede contar con algunas modificaciones. La adición de grupos funcionales oxigenados a este esqueleto hace que sea necesaria otra clasificación, de manera tal que un terpeno oxigenado recibe el nombre de terpenoide. Dichos grupos funcionales son diversos, por lo que un terpenoide puede ser químicamente un alcohol, cetona, aldehído, ácido carbónico, etc.

Los terpenos y terpenoides pueden ser clasificados químicamente de acuerdo a su grupo funcional, sin embargo, es de mayor comodidad y regularidad clasificarlos de acuerdo con el número de bloques isopreno que los constituyen. Esta clasificación es bastante simple, siendo considerado un monoterpeno, sesquiterpeno o diterpeno cuando son constituidos por dos, tres o cuatro bloques isopreno, respectivamente.

Rol de los terpenos en el metabolismo vegetal

Los terpenos son considerados metabolitos secundarios al no cumplir ningún proceso vital en el individuo. Esta es una de las razones por las cuales no se encuentran en todas las especies vegetales, ni en todos los individuos de la misma.

El no cumplir con una función vital no significa que carezcan de un rol prominente en la vida de las plantas. Las funciones que cubren son por otra parte debido a exigencias del medio, métodos de cultivo, climas y convivencia con otras especies vegetales y animales, por lo que muchos terpenos actúan como señal química entre individuos, atrayente de polinizadores, ahuyentador de depredadores y combate a infecciones.

En general, las mezclas de terpenos que constituyen los aceites esenciales y extractos son de numerosos compuestos, incluso varios cientos, pero con uno o dos compuestos que predominan en la composición. Estos compuestos, que por lo general son oxigenados, le brindan la mayoría de las propiedades al conjunto, y casi siempre reciben un nombre común derivado de la planta donde fueron encontrados en mayor concentración (Franco A. G., 2004). Éstas son algunas de las causas de que la composición de la mezcla de terpenos extraídos en forma de aceites y extractos no sea constante aún entre individuos de la misma especie.

Diferencia entre aceite esencial y extracto

Los aceites esenciales y extractos pueden ser definidos como mezclas de terpenoides naturales homogéneos. Ambos conceptos son convergentes en esto, pero no son completamente sinónimos.

Los extractos han estado presentes en el conocimiento humano por varios siglos, sobre todo los extractos etanólicos y acuosos. Era común la adición de hierbas con presuntos beneficios a bebidas como el vino, así como la preparación de otras infusiones en agua y aceites perfumados. Mientras que el aceite esencial como tal, comenzó a ser diferenciado en épocas más bien tempranas.

Estrictamente hablando de un extracto, es una sustancia concentrada obtenida por diversos métodos a partir de una matriz vegetal, mientras que un aceite esencial es una mezcla de metabolitos, que otorgan a las plantas olores característicos y son obtenidos por método físicos (Franco A. , 2004).

Partiendo de esa definición formal es poca la información para determinar una posible diferencia entre ambos. La diferenciación más aceptada entre ambos conceptos radica en cuestiones más bien tradicionalistas, según las cuales un aceite esencial es un tipo de extracto que cumple algunas características: ser extraídos por medio físicos, usar como medio extractivo el agua y ser la fase volátil de la matriz vegetal (Schnaubelt, 1999). De igual manera se suele considerar que el aceite esencial está constituido principalmente por terpenoides.

Por otro lado un extracto puede usar diferentes medios extractivos, como lo son solventes orgánicos o fluidos supercríticos; pueden contener fases pesadas y metabolitos diversos,

entre los que se encuentran terpenos, alcaloides y flavonoides. La naturaleza física y química de uno y otro suele ser muy similar, no así muchas de sus propiedades.

La composición de las mezclas de terpenos suele variar enormemente por razones de la propia naturaleza de la vida vegetal, pero la influencia más notable se debe a cuestiones antropogénicas. Las técnicas utilizadas en la extracción tienen una gran influencia en la composición del producto y sus propiedades (Cheng, Huang, & Chen, 2009), y como puede ser visto también en su clasificación. Un extracto es considerado como aceite esencial cuando se extrae por métodos como la hidrodestilación (HD) y la destilación por arrastre con vapor (SD), entre otros que cumplen las condiciones dadas.

Métodos de extracción de terpenos

La importancia del estudio científico y técnico de los métodos de extracción de terpenos y otros metabolitos vegetales radica en el considerable gasto económico y la sofisticación técnica requerida (Board, 1999), por lo que mucho del esfuerzo en este campo está orientado a la optimización de la extracción de metabolitos de interés económico y científico.

Los métodos que siguen siendo más empleados y apreciados por su simpleza y relativa eficiencia, son diversos tipos de destilación. Técnicas derivadas de la destilación han sido conocidas desde hace siglos, limitándose el nuevo conocimiento a la comprensión de los mecanismos de transferencia de masa, así como las aplicaciones útiles de sus productos.

Hidrodestilación

La destilación es definida como la separación física de dos o más sustancias debido a una diferencia entre sus volatilidades relativas a una presión y temperatura determinada (Rousseau, 1987). En el caso de la extracción de terpenos, el medio extractivo, agua u otro

solvente, y los compuestos de interés tienen diferentes puntos de ebullición, por lo que uno constituye la fase pesada y otro la ligera.

La aplicación de la hidrodestilación (HD) para la obtención de aceites esenciales implica algunas condiciones. En este método el contacto entre la matriz vegetal y el agua es íntimo. Se parte de una mezcla agua-solvente que es calentada hasta llegar al punto de ebullición de la mezcla. En ésta mezcla, el agua constituye la parte más volátil, por lo que es recuperada primero.

Una vez condensado el vapor se obtiene un líquido que en su mayoría es agua, y aunque no se llega a su temperatura de ebullición, determinados compuestos son capaces de “viajar” en forma conjunta con el agua, y por consiguiente ser condensados y recuperados. Otra de las características notables de los aceites esenciales recuperados con métodos que involucren el uso de agua como medio extractivo, es su naturaleza oleosa e hidrófuga, de donde viene el uso del término “aceite”. El diagrama de bloques de la HD es presentado en la figura 2.

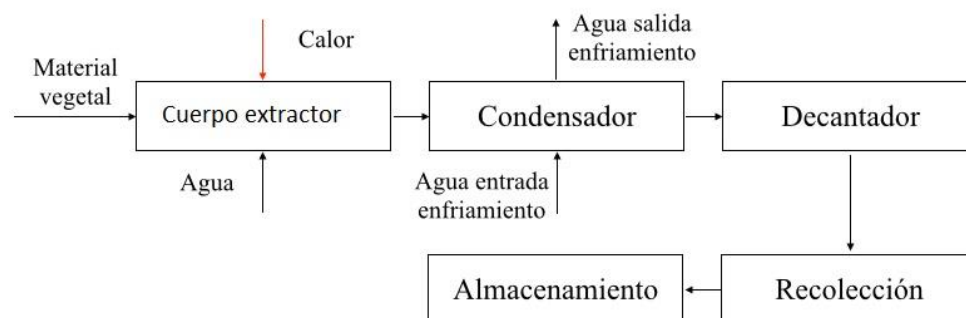


Figura 2. Diagrama de bloques de la hidrodestilación (elaboración propia).

El líquido condensado es posteriormente separado por otros métodos físicos, principalmente decantación y centrifugación, separándose el agua de la fase insoluble. Aunque no se cumple a cabalidad, los aceites esenciales suelen ser la fase ligera de la decantación.

Destilación por arrastre con vapor

Otra técnica derivada de la destilación, es la destilación por arrastre con vapor (SD). Es muy similar a la HD, con algunas diferencias notables según se aprecia en la figura 3.

El medio extractivo es nuevamente el agua, pero mientras en la HD los compuestos a extraer se difunden de la matriz vegetal al medio mientras, éste aún se encuentra en fase líquida para posteriormente salir en forma de vapor. En la SD el medio extractivo se encuentra ya en fase de vapor al momento de hacer contacto con la matriz vegetal, difundiéndose los compuestos de interés durante el tiempo de contacto entre ambos.

En el método de SD se recurre a una fuente externa de vapor, generalmente agua, de la cual se dirige una corriente hacia la matriz vegetal. La corriente de vapor es dirigida a través de una cama de material vegetal y en su camino “arrastra” determinados compuestos ligeros que se difunden en ella, al igual que lo hace la HD. La siguiente fase es igual en ambos métodos, ya que el vapor es condensado y enseguida son separadas las fases inmiscibles (Badu & Kavindran, 2004).

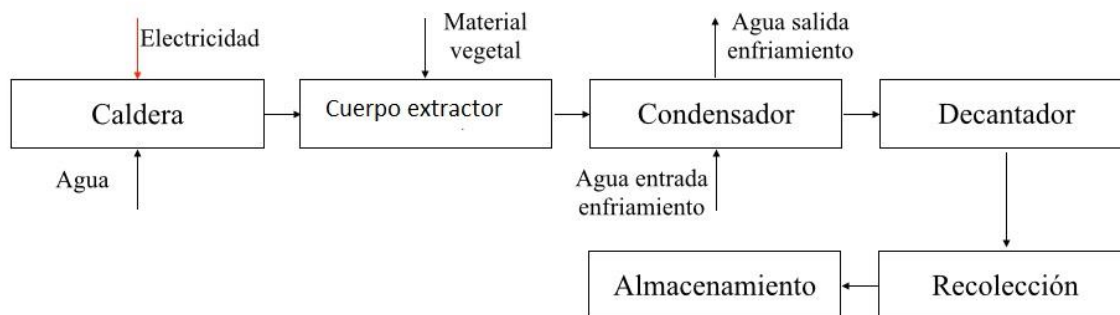


Figura 3. Diagrama de bloques de la destilación por arrastre con vapor (elaboración propia).

La HD y SD tienen diversos factores que repercuten en su funcionamiento y rendimiento, entre los que se encuentran el tamaño de partícula, el tiempo de decantación, la temperatura de ebullición de la mezcla, la calidad y presión del vapor, la temperatura del condensador, las propiedades físicas de los compuestos que se pretende extraer, etc. Estos factores determinan cual método es el más apropiado. SD por lo general es elegida cuando se trata de extraer compuestos menos solubles en agua y más volátiles, 100 °C o menos de temperatura de ebullición (Marsili, 2002), razón por la que los aceites recuperados por éste método es distinto en composición y rendimiento a los aceites o extractos obtenidos por otros métodos.

Maceración

La técnica de maceración es aún más antigua que los métodos derivados de la destilación, y destaca por su relativa simpleza y aplicación universal.

El medio extractivo se encuentra en contacto íntimo con la matriz vegetal causando fenómenos de difusión de algunos compuestos solubles en él. Las condiciones de operación pueden ser modificadas. El tiempo de contacto, el tamaño de partícula, la presencia de

agitación, la temperatura de operación, entre otros factores, tienen inferencia en el producto obtenido por maceración (Swift, 2001).

El medio extractivo puede ser el agua, aceites vegetales o animales, solventes orgánicos o bebidas alcohólicas, etc. Al igual que cualquier otro método, la maceración tiene sus desventajas y ventajas. Mientras las técnicas de HD y SD extraen compuestos que cuentan con una característica tan propia como lo es su rango de ebullición y volatilidad, la maceración extrae todo compuesto que es capaz de solubilizarse relativamente bien en el medio, incluyendo proteínas, clorofila, ácidos grasos, etc., pero a la vez con la maceración es posible extraer compuestos cuyos puntos de ebullición son difíciles de alcanzar con los métodos de destilación (David, Greber, & Holstein, 1973).

La falta de selectividad es a la vez una ventaja, dependiendo del objetivo perseguido. Un aceite esencial extraído por HD o SD es siempre insoluble en agua y soluble en casi todo solvente no-polar, mientras un aceite esencial o extracto obtenido por maceración será muy soluble en el solvente usando, además de que la composición química varía en función del solvente utilizado (Cheng, Huang, & Chen, 2009).

El solvente con el extracto suele ser refinado por diversos métodos físicos, principalmente destilación simple o al vacío, o evaporación. El remanente suele ser llamado aceite refinado, o simplemente refinado, pero es más común llamarlo extracto, principalmente si se usaron solventes diferentes al agua en su extracción.

La elección del método a emplear obedece sin duda a las necesidades de la extracción y sus objetivos. Conocer el compuesto de interés en la extracción es de vital importancia, ya que sus propiedades fisicoquímicas como temperatura de ebullición, afinidad a ciertos

solventes, entre otras, determinan el éxito o fracaso que se obtiene al emplear cualquier método descrito u omitido.

Terpenos y actividad humana

Aspecto histórico

El desarrollo de técnicas de extracción de sustancias de interés de origen vegetal es un tema más bien añejo.

Según lo atestiguan documentos como La Ilíada de Homero o el Antiguo testamento, el uso de infusiones, tizanas y ungüentos preparados con plantas era una práctica habitual en esos días para tratar heridas, malestares físicos, y hasta emocionales, como era el caso del mítico nepente, usado a la vez para curar heridas y olvidar los males.

El conocimiento de la eficacia de estas preparaciones obedecía a conocimiento netamente empírico. Fue hasta entrada la edad media, que si bien es conocida por el notable estancamiento científico, “ciencias” como la herbolaria lograron un relativo florecimiento. El desarrollo de técnicas de destilación de licores y refinación de aceites trajo consigo la posibilidad de conocer más a fondo las sustancias vegetales, conocidas hoy en día como aceites esenciales y extractos. Los logros son de importancia, aunque ciertamente muchas veces se llegaba a estos conocimientos tras ir persiguiendo quimeras.

Ya con el método científico aplicado, son muchos los casos en que extractos y aceites esenciales han demostrado valiosas propiedades.

Importancia económica

Hasta el momento han sido mencionadas las técnicas de extracción y algunas propiedades generales de los terpenos extraídos. Muchas de las aplicaciones de ellos en la actividad humana son tradicionales y en cierta manera no-científicos, pasando por medicina tradicional y terapias. Con todo esto se han desarrollado aplicaciones industriales que cuenta con respaldo amplio en conocimiento experimental.

Algunas mezclas de terpenos, en forma de aceite esencial o extracto, cuentan con propiedades demostradas que interesan a la investigación y desarrollo. Microbicidas, repelentes de insectos, saborizantes y antioxidantes derivados de terpenos son aplicados en la industria farmacéutica, de alimentos, cosmética y de limpieza (Guerra, Rodríguez, García, & Llerena, 2004) (di Pasqua & Villani, 2005) (Holley & Pathel, 2005).

Las propiedades aprovechables en la actividad humana contribuyen a que el valor económico de los aceites esenciales y mezclas terpénicas sea considerable. De acuerdo con datos del Anuario estadístico de comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos (AECEEUM) editado por el Instituto de geografía y estadística (INEGI), mostrados en la figura 4, entre los años 2002 y 2010, México importó más de 4,500 millones de pesos en aceites esenciales y extractos, a la vez que el comercio interno llegó a un valor de alrededor de 3,200 millones de pesos (INEGI, 2010). Aun México siendo un producto/consumidor de extractos y aceites esenciales que no figura entre los diez primeros productores (tabla 1) a nivel mundial reafirma el valor económico de las industrias que los producen y consumen (Bishop, 2008).

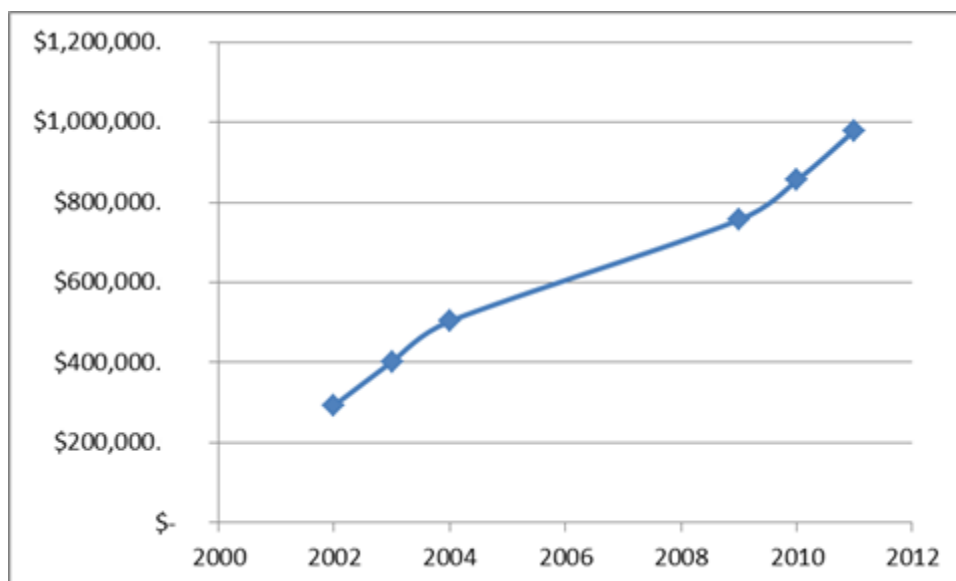


Figura 4. Valor del comercio de terpenos en México entre 2002 y 2010 en valor presente (INEGI, 2010).

Tabla 1. Los diez principales productores y consumidores de terpenos en 2006.

País	Valor total (miles USD)	Porcentaje de participación
Estados Unidos	287,174	19.64
Francia	152,815	10.45
India	111,691	7.64
China	108,133	7.40
Reino Unido	74,481	5.09
Brasil	60,250	4.12

Indonesia	60,246	4.12
Argentina	59,850	4.09
Italia	45,554	3.12
España	44,956	3.08

El considerable valor del mercado de mezclas terpénicas y los productos asociados a ellas refleja gran valor económico y práctico que tienen. En la misma serie de documentos se encuentra detallado el tipo de extracto o aceite, con lo cual es posible que los aceites de cítricos, eucaliptos y citronela son los que son comerciados en mayor volumen y valor.

Aprovechamiento de la actividad microbiológica

Una de los roles que cumplen los terpenos en el metabolismo vegetal es el combate a infecciones. Partiendo de esta premisa es natural que exista el esfuerzo humano por aprovechar esto en su beneficio.

Numerosos estudios respaldan la capacidad inhibitoria, bactericida, fungicida y antioxidante de numerosas mezclas terpénicas. La búsqueda de estas propiedades recibe el nombre de ensayos de susceptibilidad microbiológica, destacándose métodos de difusión de disco (llamado también de Kirby-Bauer), difusión en agar y el método de pocillos.

Las pruebas de susceptibilidad microbiológica tienen diferentes estándares de acuerdo con la región y organización, sin embargo, el procedimiento básico es el mismo y muy similar al que se utilizaría para probar un antibiótico (Ortez, 2005). Cepas de interés son

cultivados a determinadas condiciones, comparándose el comportamiento y desarrollo de un cultivo con una sustancia de prueba contra un blanco sin ella. En la figura 5 se aprecia un cultivo blanco contra otros, a los que les fue adicionado un aceite esencial o extracto.

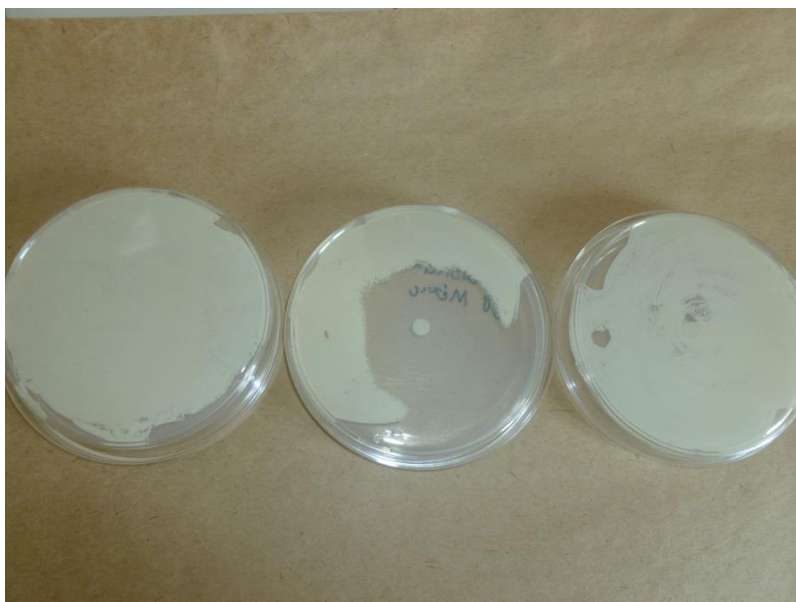


Figura 5. Apariencia típica de los resultados de una prueba de susceptibilidad microbiológica; de izquierda a derecha: un cultivo de blanco, un cultivo susceptible, un cultivo no susceptible (Elaboración propia).

La actividad de una sustancia de prueba, ya sea un terpeno o un antibiótico o fungicida tradicional, es de tipo inhibitorio. Esto es que interfiere con la capacidad del microorganismo de sintetizar cierta sustancia vital para su desarrollo o bien crea un ambiente hostil para él (Chao, 2000).

Se reportan propiedades contra enfermedades tropicales en aceites usados en medicina tradicional peruana (Rojas, Solis, & Palacios, 2010), concluyendo que aceites como el de citronela, eucalipto globulus y menta, presentan aceptables niveles de inhibición al desarrollo de cultivos de la Enfermedad de Chagas, así como falta de toxicidad a

mamíferos. Conclusión similar a la que Guerra llegó en su análisis de extractos y cremas elaboradas a partir de citronela de grado comercial (Guerra, Rodríguez, García, & Llerena, 2004). De igual manera, ya habían sido evaluadas las propiedades antibióticas del aceite esencial de tomillo varios años antes, pero a diferencia de los anteriormente mencionados, en este estudio Jansen, evaluó las propiedades de un solo aceite de tomillo, contra varios taxones y cepas bacterianas (Jansen, Scheffer, & Baerheim, 1987).

Doce aceites esenciales tradicionales del Mediterráneo fueron evaluados por Di Pasqua, determinando las propiedades contra la actividad de bacterias típicas contaminantes de alimentos. Se obtuvieron resultados atribuidos al aceite de tomillo contra *E. coli* y salmonela (di Pasqua & Villani, 2005).

Las propiedades de extractos vegetales y aceites esenciales de plantas típicas del Mediterráneo han sido ampliamente documentadas, sin embargo, otros grupos de trabajo alrededor del mundo han tratado de aprovechar su producto nacional o flora nativa, la mayoría de las veces completamente desconocida. Entre los ejemplos a mencionar, se encuentran Bulgaria y Colombia. Mientras que la primera ostenta con orgullo su gran producción de aceite de flores (principalmente geranio y rosa damasco) (Basim, 2003). Mientras que Colombia sobresale por su riqueza y diversidad florística, que seguramente tiene multitud de propiedades aún por descubrir (Jaramillo, 2004).

Actividad sinérgica y antagónica

Muchas propiedades de un extracto o aceite esencial muchas veces son debidas a la actividad propia de uno o pocos compuestos que sean mayoritarios, dejando a la multitud de compuestos minoritarios en un rol secundario.

La actividad microbiológica no es la excepción. Este concepto suele ser más entendido como la capacidad de inhibir el desarrollo microbiológico, pero en su sentido más amplio si una sustancia incentiva el crecimiento de una cepa bacteriana también tiene actividad microbiológica.

Cuando un compuesto presente en el extracto o aceite contribuye a potenciar cierta acción de otro se dice que su rol es sinérgico, mientras que si la disminuye se dice que su acción es antagónica (Rosato, Vitalli, Patirulli, Mazzotta, & Argentieri, 2009). En lo referente a la actividad microbiológica, se considera que una acción sinérgica contribuye a la inhibición del crecimiento microbiológico, mientras que es antagónica si la incentiva.

Un compuesto aislado puede presentar una actividad sinérgica en interacción con un compuesto, pero ser antagónico con respecto a otro. Los ensayos de actividad microbiológica muchas veces son complementados con la fracción de la mezcla para determinar el rol que juega cada compuesto en el conjunto (Rosato & Vitalli, 2008).

La actividad sinérgica también puede ser evaluada en la eficacia de un antibiótico convencional contra él mismo mediante la adición de un aceite esencial o un determinado terpenoide (Fadhline, Susanti, & Taher, 2013), en el que una mayor inhibición muestra una actividad sinérgica.

Flora del Valle de Mexicali

Clasificación florística

Los sistemas de clasificación florística han sido desarrollados desde mediados del siglo XX. Diversos criterios fueron desarrollados a lo largo del tiempo, sin embargo, el sistema propuesto por Armen Takhtajan, botánico soviético, es de los más difundidos. Este sistema considera la división del mundo en 6 u 8 reinos florísticos, dependiendo de las revisiones

posteriores (Udvardy, 1975). Como ordenes secundarios de clasificación establece la región, la provincia, sector y distrito. Cabe señalar que las zonas de transición florísticas son difusas y extensas, debido a la misma extensión de los reinos, que en algunos casos, abarcan continentes enteros, por lo que ha sido sometido a diversas revisiones (Takhtajan, 1986).

Una vez establecida y comprendida la naturaleza florística de una región, es posible identificar las especies características, así como fundar bases para justificar el aprovechamiento económico y científico de estas.

El Reino Holoártico comprende toda la región circundante del Polo Norte, toda Europa, Siberia, China, Canadá y casi todo Estados Unidos, fundándose en la abundancia de bosques templados. Casi todo el resto de América queda comprendido en el Reino Neotropical (Cox, 2001).

Casi la totalidad del territorio mexicano queda comprendido en una zona transicional entre los reinos Holoártico y Neotropical, pudiendo ser incluido en uno u otro, de acuerdo al punto de vista del autor. Dicha región intermedia comprende casi toda la línea fronteriza entre México y Estados Unidos, los desiertos y planicies de Sonora y Chihuahua, y las zonas aledañas a las Sierras Madres. Sin embargo, se establece como netamente Holoártico la costa noroeste de Baja California, y como Neotropical el bosque tropical del sureste mexicano (Rzedowski, 2005).

Baja California es una estrecha y larga porción de tierra, que se extiende a lo largo de la costa del Océano Pacífico por el oeste y con el mar de Cortes al este.. Con aproximadamente 1,250 km de largo, y una anchura que va desde 40 km a 320 km, y una

área de más de 140,000 km². La península se encuentra dividida políticamente en dos estados dentro de los Estados Unidos Mexicanos: Baja California y Baja California Sur.

Peinado et al llevó a cabo extensos estudios de la flora de las Californias, de acuerdo con el sistema de clasificación florística de Takhtajan. En conclusión, Baja California se encuentra dividida entre los dos reinos florísticos mencionados, perteneciendo al reino Holoártico desde la frontera con EE.UU. hasta el arroyo El Rosario (420 km al sureste), y desde la costa del Pacífico hasta la Sierra de Juárez y San Pedro, quedando el resto en el reino Neotropical, concretamente en la región del desierto de Sonora (Peinado, Alcaraz, & Delgadillo, 1994).

Mexicali es el municipio que contiene la capital de Baja California, asentada en una continuación del Valle Imperial que en territorio mexicano se denomina Valle de Mexicali. Los límites geográficos del municipio casi coinciden con lo que diversos autores identifican como la provincia Colorada o del Valle del Colorado, de la región florística del desierto de Sonora (León de la Luz, Domínguez, & Medel, 2012) (Cox, 2001), cuya flora característica está principalmente representada por chaparrales y arbustos xerófilos. La provincia recibe su nombre por estar asentada en el delta del Colorado. Cualquiera que sea el caso, el mapa resultante de los estudios sobre la flora de Baja California es muy similar al presentado en la figura 6 (Peinado, Alcaraz, & Delgadillo, 1994) (Garcillán, 2003)

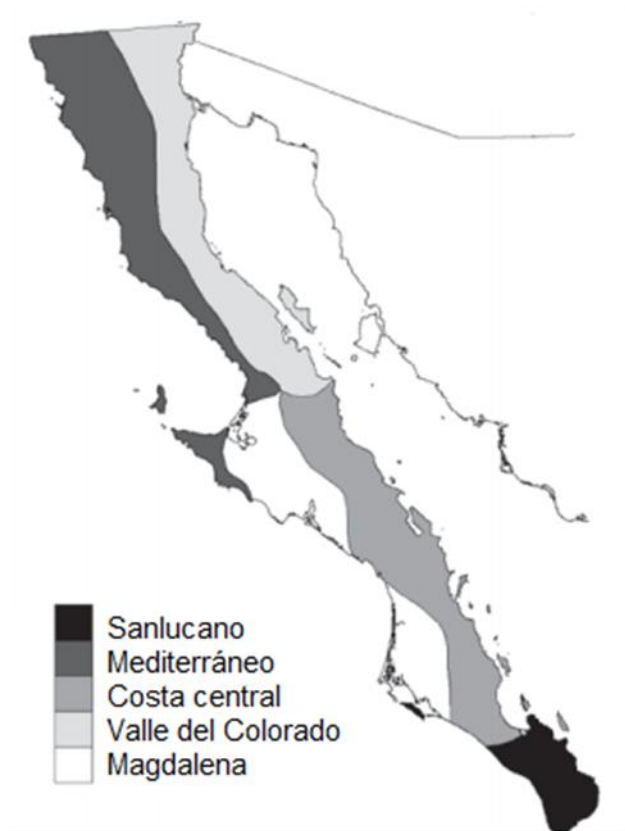


Figura 6. División florística de la península de Baja California (Peinado, Alcaraz, & Delgadillo, 1994).

Flora característica del Valle de Mexicali

Fuera del norte del Valle, modificado por acción del hombre, principalmente por la agricultura, la flora nativa del Valle de Mexicali es de acuerdo con su condición desértica: arbustos xerófilos y siempre verdes, perennifolios con una casi total inexistencia de especies leñosas (Delgadillo & Macías, 2002).

Las dunas cubiertas con chaparrales y arbustos que crecen al margen de los remanentes del otrora poderoso Río Colorado y canales de riego, forman parte del paisaje habitual en amplias zonas del Valle de Mexicali, que otros autores llaman desierto de San Felipe, debido al poblado y puerto de San Felipe (Wiggins, 1980).

Características de *Larrea tridentata* y *Pluchea serícea*

De acuerdo a las consideraciones de la Comisión Nacional Forestal, *Larrea tridentata* y *Pluchea serícea*, conocidas como gobernadora y cachanilla, respectivamente, son las especies más representativas del Valle de Mexicali, Baja California. Mientras que la gobernadora se encuentra en zonas más áridas, la cachanilla es común solamente en las cercanías de los cuerpos de agua (Rzedowski, 2005) (Palacios, 2006).

La gobernadora es un arbusto perenne, siempre verde y de amplia distribución que sobrevive en los ambientes más hostiles debido a su gran resistencia a la desecación. Sus tallos son leñosos y sus hojas pequeñas y gomosas, rematadas por pequeñas flores amarillas (figura 7). Otras de sus características notables son su olor penetrante y su gran resistencia a las plagas e infecciones, además de casi carecer de depredadores (Wiggins, 1980).

Por lo general, los matorrales de gobernadora se encuentran constituidos por plantas individuales separadas unas de otras por algunos metros, espacio en el cual pocas plantas de otras especies logran prosperar. Esta separación existente se ha atribuido a la producción de repelentes o toxinas por la misma planta para eliminar competencia, así como a su gran capacidad para extraer la escasa humedad del suelo (Valverde, 1993). La naturaleza implacable de *L. tridentata* la hace “gobernar” el desierto (Cox, 2001) de donde deriva su nombre común.

Por su parte *P. serícea* recibe el nombre común de cachanilla, el cual ha trascendido hasta ser un segundo gentilicio para los habitantes de la región. Se trata de un arbusto de color gris plateado, con tallos no-leñosos, hojas perennes y floración color morado, apreciables en primer plano de la figura 8. Aunque es una especie bien adaptada a la vida del desierto, es más común verla crecer en la cercanía de cuerpos de agua (Villaseñor & Villarreal,

2006). A diferencia de la gobernadora, la cachanilla compite con algunas especies introducidas que se ha elevado al nivel de plagas (Glenn, 1998).



Figura 7. Matorrales de gobernadora.



Figura 8. Arbusto de cachanilla con florecencia.

Antecedentes en la aplicación de *L. tridentata* y *P. serícea*

La gobernadora estuvo presente en la medicina tradicional indígena del sur de Estados Unidos y norte de México desde tiempos remotos. Arteaga realizó una revisión general sobre las características botánicas, distribución y composición promedio de la planta (Arteaga S. , *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid, 2005).

Con la revisión de Arteaga et al., se incluye un condensado de 40 usos reportados por diversos autores. Aunque dichos usos son variados, desde problemas respiratorios hasta quemaduras, lo cierto es que la mayoría de las presuntas bondades incluyen malestares urológicos, ginecológicos y reproductivos. Sin embargo, el tema central de esa revisión fue exponer el potencial del extracto rico en ácido norhidroguayarético (NDGA) como antioxidante.

Dicho compuesto, aislado a partir de *L. tridentata*, fue ampliamente utilizado adicionado a alimentos y bebidas. No obstante, presunta hepatotoxicidad llevó a que fuera prohibido en Canadá (Times, 1967), y al poco tiempo en Estados Unidos, obedeciendo más a la falta de información que a algo comprobado (Arteaga S. , 2005).

Estudios complementarios aseguran actividad antifúngicas (Mojica, Luna, Sandoval, & Morales, 2011), antioxidante (Abou, Berdil, Takamatsu, Ferreira, & Khan, 2004), y antibacteriales (Tequida, Cortez, Rosas, López, & Corrales, 2002) (Vargas, 2005).

La cachanilla tiene un papel en la historia del desarrollo de Baja California. Fue utilizada desde la antigüedad para la elaboración de chozas y adobes, tanto por las tribus indígenas como por los primeros colonos mexicanos, chinos y estadounidenses. Constituyó, junto con otras pocas especies, el único recurso forrajero natural del delta del Colorado

(Vandersande, Glenn, & Walworth, 2001). A pesar de los cambios de usos de la tierra para la introducción de cultivos como el algodón, trigo o alfalfa, y la llegada de especies invasoras, *P. serícea* se adaptó bien a un nuevo entorno, empezando a crecer en campos de cultivo, canales y drenes, tanto así, que hoy día continúa siendo abundante incluso en zonas urbanas y suburbanas entre las ciudades de Mexicali y San Luis Río Colorado (Gordillo, 2003).

Algunos estudios tienen como centro de estudio extractos de cachanilla. Reyes obtuvo flavonoides, sesquiterpenos, y sales metálicas de terpenos tras realizar extractos de raíces y partes aéreas macerados con hexano (1999). Por otro lado, Hussain reporta las características más sobresalientes del género *Pluchea* como son sus usos tradicionales, distribución geográfica, moléculas representativas de sus extractos, etc., (2013). Por último Lee (2009) describe al 14-acetoximodefeno, compuesto característico de los extractos de *P. serícea*, a nivel molecular. Estos y otros usos se encuentran resumidos en la tabla 2.

Tabla 2. Estudios sobre propiedades de extractos de cachanilla y gobernadora.

Larrea tridentata	Referencias
Revisión general de composición y usos	(Arteaga, Andrade-Cetto, & Cárdenas, 2005)
Actividad del extracto de hojas contra <i>Fusarium oxysporum</i> y otros	(Osorio, Flores, Hernández, Ventura, Rodríguez, & Aguilar, 2010)
Antioxidantes aislados de hojas	(Abou, Berdil, Takamatsu, Ferreira, & Khan, 2004)

Evaluación de la actividad de extractos acuosos y alcohólicos de las hojas contra infecciones en chiles	(Mojica, Luna, Sandoval, & Morales, 2011)
Evaluación de extractos en solvente orgánicos y agua contra <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	(Mendéz, Rodríguez, Ruiz, Morales, Castillo, & Aguilar, 2012)
Extractos alcohólicos de hojas y tallos secos contra <i>Aspergillus flavus</i> y otros	(Tequida, Cortez, Rosas, López, & Corrales, 2002)
Pluchea serícea	
Terpenos y sales metálicas de raíces extraídas por hexano	(Reyes & Joseph, 1999)
Distribución del género <i>Pluchea</i> en México	(Villaseñor & Villarreal, 2006)

Estimación de propiedades

*La imaginación empieza a ofender mi
razón:
Si lo soy todo, debo ser también tonto.
J.W. von Goethe.*

En el campo de la ciencia y la ingeniería, el uso de paquetes informáticos y software especializado juega un papel vital. Los simuladores tienen un lugar especial entre dichas herramientas. Éstos permiten el diseño, análisis, estudio y optimización de un proceso conocido sin necesidad de llevarlos a la realidad, ahorrando así esfuerzo y recursos materiales, a la vez que resultan mucho más seguros y didácticos. Otra de las utilidades de estos paquetes, entre los que se encuentra Aspen Plus® de Aspen tech, es la estimación y análisis de propiedades de una sustancia de interés.

Las bibliotecas de Aspen® están repletas de propiedades termodinámicas y fisicoquímicas de cientos de compuestos de interés, lo cual resulta muy conveniente. Sin embargo, al ser este paquete informático producto de una necesidad de la industria petroquímica, es natural que la mayoría de estas bibliotecas presten mayor atención a compuestos habituales de procesos de dicha industria. Aun así existen valiosas herramientas que permiten la estimación de propiedades de compuestos de interés que no se encuentren dados de alta en las bases de datos convencionales, y Aspen® no es la excepción.

En el presente caso es sabido que los extractos vegetales y aceites esenciales son una mezcla de compuestos que pueden alcanzar varios cientos (Mira, 1999), pero se presentan uno o pocos compuestos que representan una gran proporción de la masa, por lo que las propiedades de la mezcla en conjunto pueden ser representadas por esos pocos compuestos, además de la cuestión práctica y límite de recursos que podría suponer ser tan fiel a la composición de la sustancia a simular.

Para la estimación de propiedades de los extractos de interés, se optó por reducirlos a un único compuesto que de acuerdo con la literatura, representan proporciones significativas del extracto.

En el caso de la gobernadora, es ampliamente reportado que el ácido nordihidroguayarático (NDGA por sus siglas en inglés) representa hasta el 4 % del peso seco de partes aéreas de los arbustos (Arteaga S. , 2005). Por su parte, aunque menos conocido, con base en el estudio de extractos metanólicos y con hexano (Reyes & Joseph, 1999) de cachanilla, apoyados por estudios moleculares (Lee, 2009), el extracto de *P. serícea* fue considerado como 14-acetoximodefeno.

Es necesario contar con datos de partida para la estimación de propiedades, siendo la estructura molecular uno de ellos, debido a que los motores de simulación utilizan métodos de contribución de grupos funcionales entre otros (Domalski, 1988). Para el modelado de las moléculas de interés mencionadas, existe una diversidad de programas que pueden ser de utilidad, siendo software libre como Jmol (RSC, Jmol.org, 2013) o bien empresas lucrativas como Cambridge Software creadora de ChemDraw.

Aunado a la estructura molecular, es necesario tener información sobre algunas propiedades fisicoquímicas que se deben alimentar al motor de estimación de propiedades. Las propiedades recomendadas como mínimas incluyen, pero no se limitan, a la densidad específica (S), la entalpía de formación (H_f), masa molecular (M) y temperatura de ebullición (T_b).

Para la estimación de propiedades del NDGA, cuyo modelo molecular se ilustra en la figura 9, se cuenta con una temperatura de ebullición de 465.62 °C, una entalpía de formación de

374 kcal/kmol, y una gravedad específica de 1.24. Estos datos, además de la estructura molecular, fueron extraídos de la base de datos de la Royal Society of Chemistry. Mediante la herramienta ChemSpider, (RSC, Royal Society of Chemistry, 2010) se obtuvo la estructura molecular como imagen y como archivo .mol que puede ser importado a la estimación de propiedades. Por otra parte, los datos para el 14-acetoximodefeno fueron obtenidos de diversas publicaciones (Lee, 2009) (Reyes & Joseph, 1999) (Hussain, 2013), y la estructura molecular fue construida por medio del uso de Jmol, software de código abierto, tal como se muestra en la figura 10. Los datos considerados para la estimación de propiedades de 14-acetoximodefeno son un T_b de 265 °C, masa molar de 262.38 g y una gravedad específica de 0.95, datos que encuentran en la tabla 3.

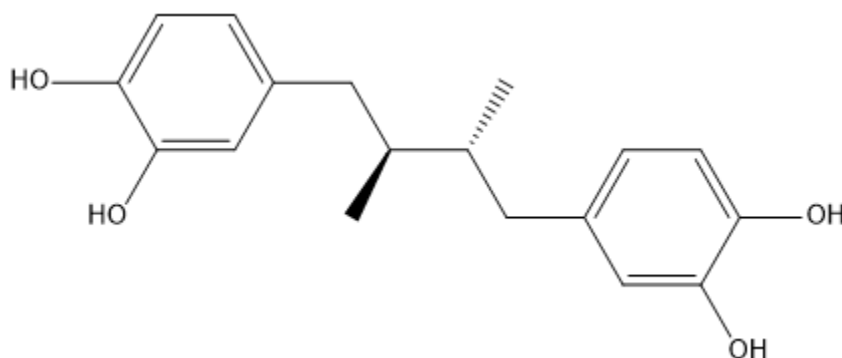


Figura 9. Molécula de NDGA (RSC, Royal Society of Chemistry, 2010).

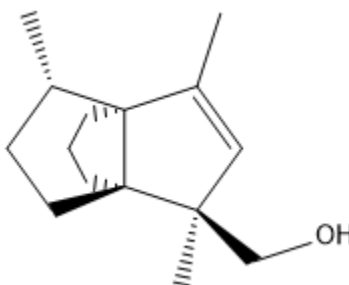


Figura 10. Molécula de 14-acetoximodefeno (elaboración propia).

Tabla 3. Datos para NDGA y 14-acetoximodefeno introducidos a la estimación de propiedades.

Propiedad	NDGA	14-acetoximodefeno
Temperatura de ebullición (K)	738	265
Masa molar (g)	302.36	262.38
Gravedad específica	1.24	0.95
Entalpía de formación (kcal/kmol)	374	-

Los datos alimentados son procesados mediante el Motor de datos termodinámicos de Aspen Plus® (Thermo data engine, TDE por su siglas en inglés), obteniéndose datos directos de algunas propiedades, mientras que de otras se tienen solamente factores que deben ser empleados en determinadas ecuaciones de estado en función de la temperatura y la presión. Además de los datos propiamente dichos, TDE estima una desviación absoluta del valor presentado para que sea el usuario quien determine qué datos le son útiles y cuales se encuentran fuera de un límite de tolerancia. Estos datos, con los errores absolutos y relativos estimados por el TDE se encuentran en la tabla 4. De igual manera en la figura 4, se muestra el diagrama simulado para la estimación de propiedades.

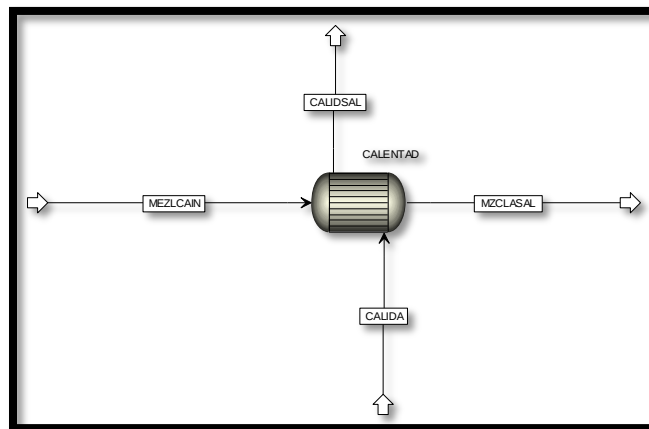


Figura 11. Montaje usado para la estimación de propiedades en Aspen Plus®.

Tabla 4. Resultados de la estimación de propiedades con sus respectivos errores porcentuales.

Parámetro	14-acetoximodefeno		NDGA	
	Valor	Error porcentual	Valor	Error porcentual
Volumen molar líquido (cm ³ /kg)	0.23248	3.39	0.2178	0.09
Presión crítica (kPa)	1920.298	100	2603	100
Temperatura crítica (K)	719	3.59	940	2.43
Volumen crítico (cm ³ /kmol)	0.8014	3.61	0.8328	4.69
Peso molecular	262.39	0	302.36	0

Temperatura de ebullición (K)	538.15	0.2	738.77	0.09
--------------------------------------	--------	-----	--------	------

Estimación del equilibrio líquido-vapor

El análisis de los métodos de extracción de aceites esenciales y extractos requiere la comprensión de las curvas de equilibrio líquido-vapor entre los compuestos de interés y el solvente usado como medio extractivo. Entre los métodos más socorridos para la obtención de aceites esenciales se encuentran la hidrodestilación (HD) y la destilación por arrastre de vapor (SD). En ambos, a pesar de sus diferencias apreciables, las fases en equilibrio representan la base de su funcionamiento. Estas fases en equilibrio se encuentran en el cuerpo extractor en ambos casos.

A partir del cuerpo extractor ambos métodos se comportan de la misma manera, determinando así que la composición de la fracción vapor determina la composición del líquido condensado, y por tanto el máximo contenido que podría ser recuperado teóricamente. En las figuras 12 y 13 se presentan las curvas de equilibrio líquido-vapor de un sistema agua-NDGA y agua-14 acetoximodefeno.

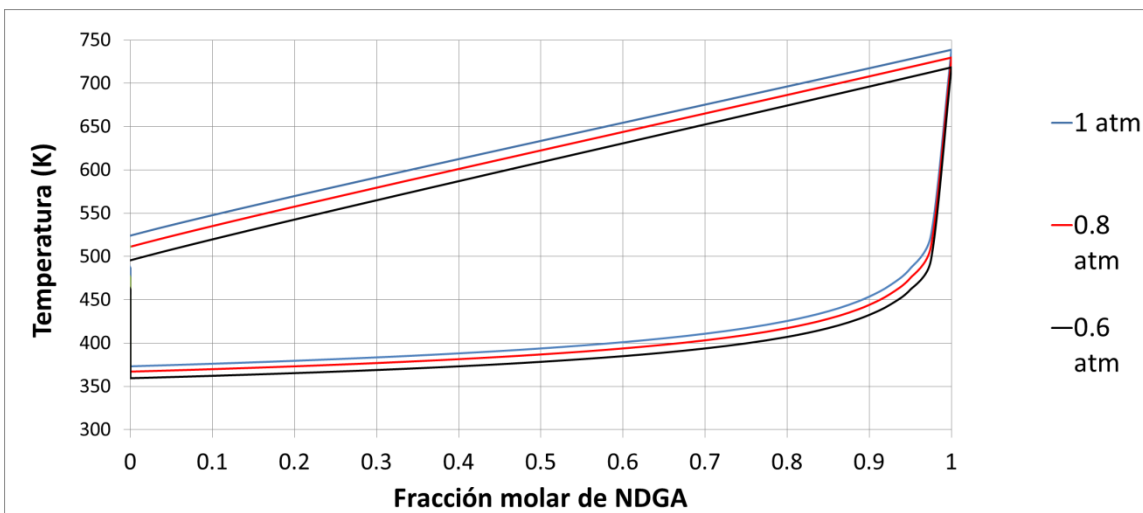


Figura 12. Diagrama de equilibrio líquido vapor para el sistema agua-NDGA a diversas presiones (elaboración propia).

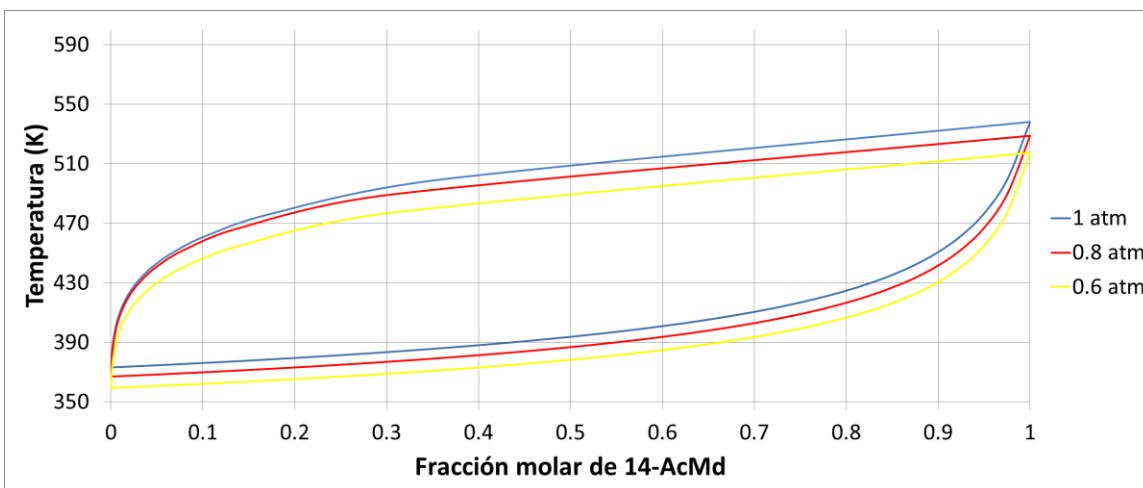


Figura 13. Diagrama de equilibrio líquido vapor para el sistema agua-14 acetoximodefeno a diversas presiones (elaboración propia).

Las conclusiones obtenidas de la estimación de propiedades son que los métodos de HD y SD no son viables para la purificación de los compuestos de interés en una solución con agua, eligiéndose por ello solventes orgánicos para la extracción. Gráficamente es observable que las temperaturas necesarias para llegar a una composición apreciable de

NDGA y 14-acetoximodefeno son demasiado altas, y a temperaturas moderadas la concentración de los ambos compuestos es cercana a cero, aún a presiones reducidas. Aunado a esto, la presencia de saponinas que producen una emulsión en al contacto con el agua (Arteaga S. , 2005) (Abou, Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*, 2004), reforzó la idea de utilizar solventes orgánicos. Si bien al utilizar solventes en vez de agua se dejaría de tratar de un aceite esencial propiamente dicho para convertirse en un extracto vegetal. Ésta diferenciación obedece más bien a razones tradicionalistas y de determinación de uso que a una verdadera diferencia interna de ambos tipos de refinados vegetales (González, 2004).

Materiales y métodos

Asumió el mando personal de la operación de rescate con la orden irrepetible de que en un plazo máximo de cuarentaiocho horas lo encuentren vivo y me lo traen y si lo encuentran muerto me lo traen vivo y si no lo encuentran me lo traen.
G. García.

Preparación de extractos de *Pluchea serícea* y *Larrea tridentata*

En el mes de septiembre de 2014 fueron recolectadas muestras de dos plantas silvestres típicas del Valle de Mexicali, Baja California: cachanilla (*Pluchea serícea*) y gobernadora (*Larrea tridentata*). Ambas muestras fueron tomadas de arbustos que crecen a la orilla de canales de riego en el Ejido Campeche, ubicado a 14 kilómetros al sur de la frontera entre México y EE.UU., con coordenadas aproximadas de 32 °N, 115 °W. Para las pruebas fueron tomadas hojas, flores, tallos y ramas de ambas especies, el material fue puesto a secar en una habitación oscura durante 96 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo de secado, el material vegetal fue molido hasta formar un polvo fino en un mortero manual de porcelana, según se aprecia en la figura 14.



Figura 14. Molienda de material vegetal cachanilla.

El método elegido para la preparación de los extractos, de acuerdo con las conclusiones obtenidas a través de los datos de la estimación de propiedades, fue la maceración a temperatura ambiente usando solventes orgánicos. Los solventes elegidos fueron etanol y metanol para la cachanilla y solamente metanol para la gobernadora.

La maceración se llevó a cabo con una relación másica ente el solvente y el material vegetal de 5:1 a temperatura ambiente por un lapso de 4 h en un matraz Erlenmeyer de 1 l.

Una vez terminado el tiempo de maceración, el líquido madre es decantado del matraz y filtrado a presión atmosférica a través de un filtro Whatman número 2 de 12 mm. El mismo proceso se empleó para los tres extractos que se prepararon: dos metanólicos y uno etanólico. El solvente con las sustancias difundidas en él recibe el nombre de líquido madre.

El líquido madre fue sometido a un proceso de destilación a presión atmosférica en un equipo de borosilicato con objetivo de recuperar el solvente a la vez que el extracto era concentrado. Para lo que fue empleada agua a 10 °C como fluido de refrigeración que era recirculada por la bomba. Para mantener la temperatura del agua en el punto establecido se empleó un baño térmico. El montaje del equipo se muestra en la figura 15, y en la figura 16 se aprecia el baño térmico empleado.

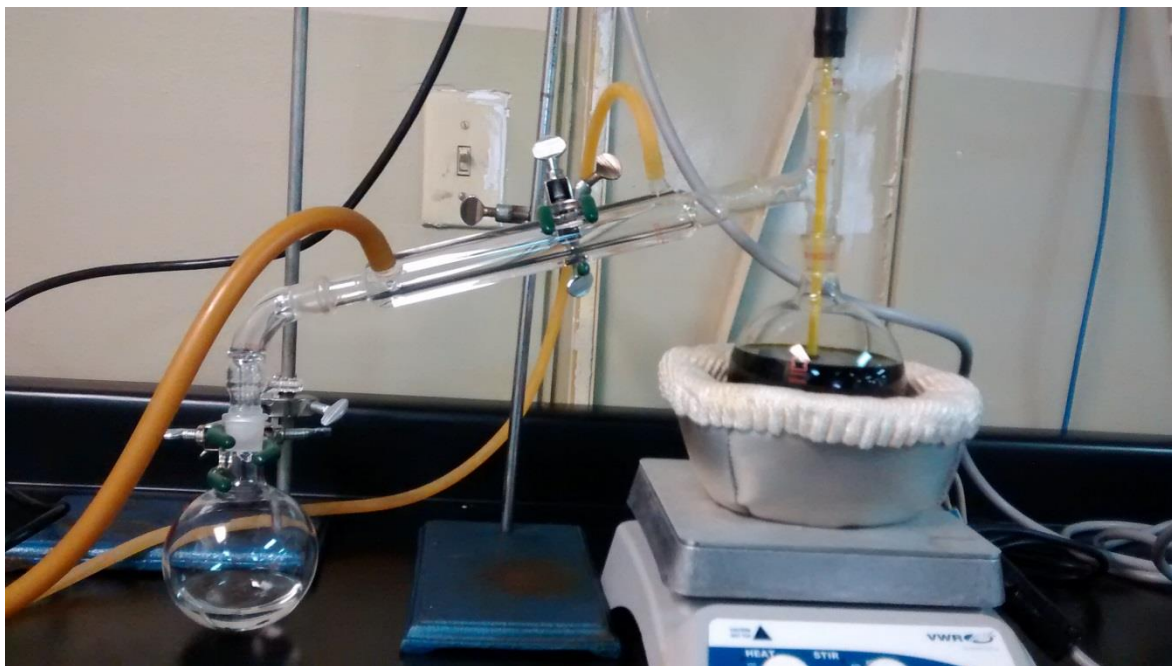


Figura 15. Montaje para la purificación del extracto de cachanilla y gobernadora.

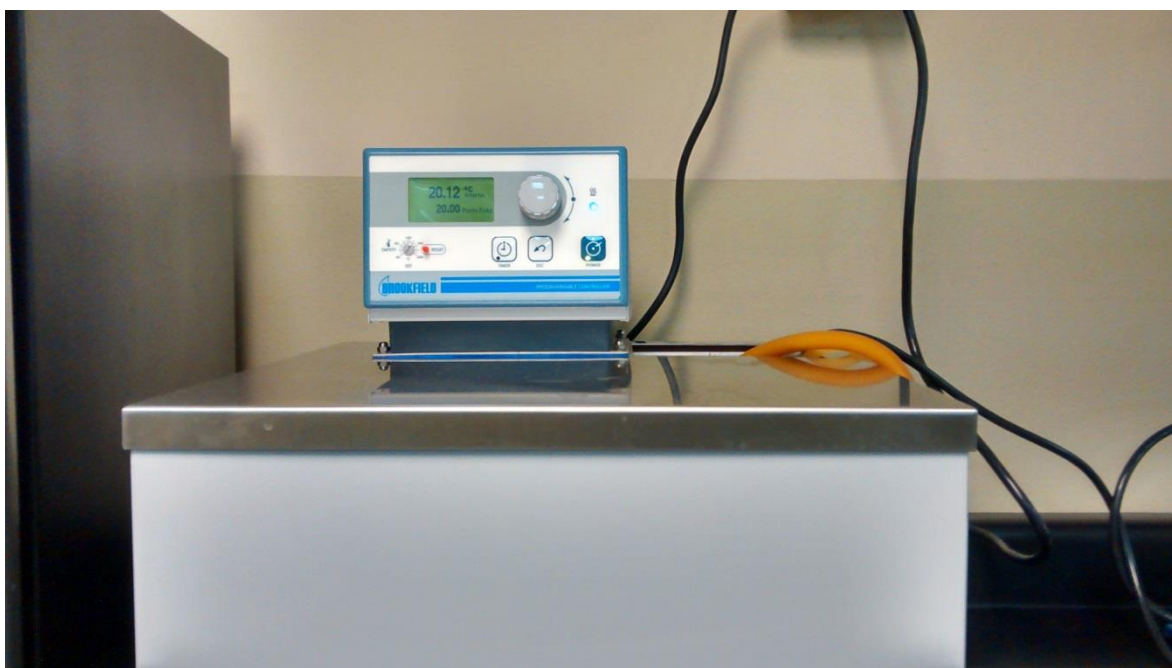


Figura 16. Baño térmico usado para mantener la temperatura del refrigerante en el condensador.

El proceso de recuperación del solvente constó de dos fases. En la primera, fue llevado a cabo una destilación simple a presión atmosférica a una temperatura similar a la de evaporación del solvente, es decir 60 °C para el metanol y 78 °C para el etanol. La temperatura era monitoreada con el termómetro y controlada con el regulador de voltaje de la manta de calentamiento.

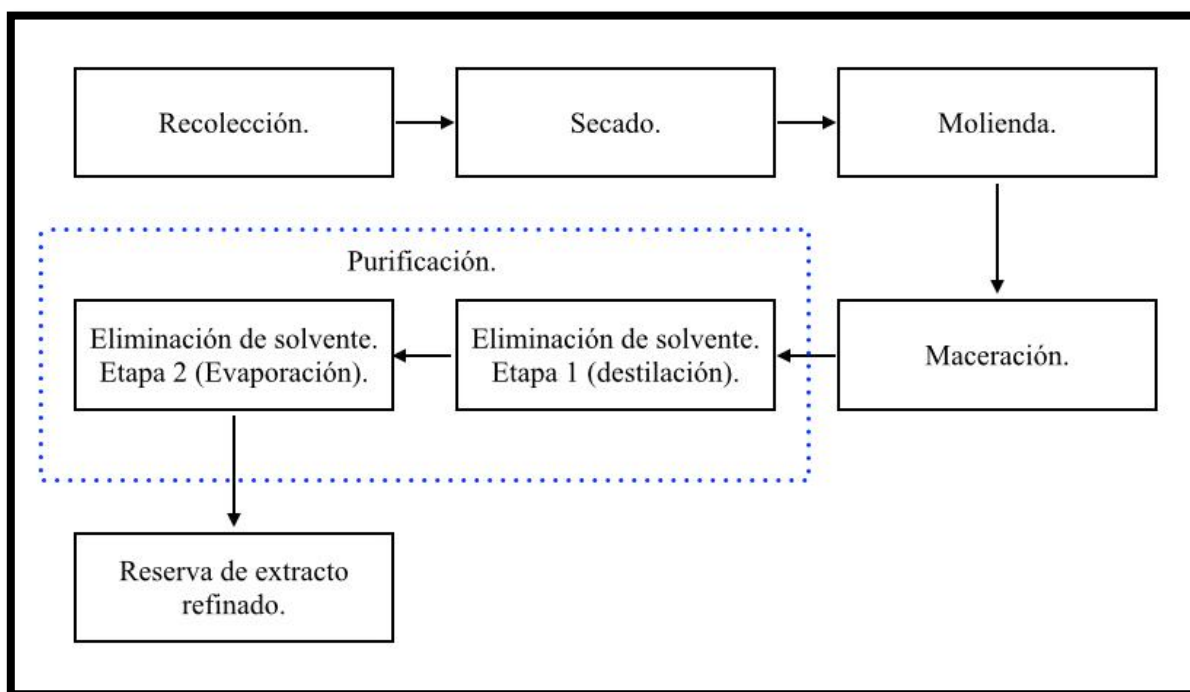


Figura 17. Diagrama del proceso de obtención y purificación de los extractos de *P. serícea* y *L. tridentata*

Una vez que la temperatura empieza a incrementarse es señal de que el metanol o etanol ha sido casi completamente recuperado, momento en el cual se implementó la segunda fase de eliminación del solvente. Para ello, el remanente del líquido presente en el matraz empleado para el proceso de destilación fue vertido en viales oscuros color ámbar, y a la vez estos fueron colocados en el interior de la mufla con la temperatura establecida a 65 °C y 80 °C para los extractos metanólicos y etanólicos, respectivamente. Los viales con el

extracto fueron pesados antes de iniciar y vueltos a pesar cada 10 minutos, al llegar a un peso constante se consideró concluido el proceso. El proceso completo se encuentra representado en el diagrama de bloques de la figura 17. Los rendimientos de extracción son mostrados en la tabla 5, y el material empleado se describe en la tabla 6.

Tabla 5. Rendimientos de extracción de *P. serícea* y *L. tridentata* en etanol y metanol

Tipo de extracto	Material vegetal (g)	Extracto obtenido (mL)	Rendimiento (mL/g)
Etanólico de <i>P. serícea</i>	51	6	0.12
Metanólico de <i>P. serícea</i>	70	9	0.13
Metanólico de <i>L. tridentata</i>	73	9	0.17

Tabla 6. Material empleado en la preparación de extractos de gobernadora y cachanilla.

Cantidad	Descripción
300 g	Cachanilla seca y molida
150 g	Gobernadora seca y molida
2000 ml	Metanol al 99.8 %

600 ml	Etanol absoluto
3	Matraz Erlenmeyer de 1000 ml
1	Matraz bola de 500 ml
1	Matraz bola de 250 ml
1	Condensador de paso simple
1	Conector de tres vías
1	Adaptador de vacío
1	Bomba de pecera
2	Mangueras de caucho
1	Baño térmico con control de temperatura
1	Manta de calentamiento con regulador de voltaje
	Soportes y pinzas necesarios
3	Papel filtro Whatman número 2
1	Termómetro de mercurio de 60-110 °C
1	Mufla.

Obtención de aceite esencial de naranja

Aceite esencial de naranja Valencia (*Citrus sinensis*) fue extraído por hidrodestilación a presión atmosférica en material de vidrio de borosilicato. Este aceite fue obtenido de cáscaras frescas de la fruta que fueron licuadas en una licuadora casera durante 1 min. Fueron realizadas dos extracciones, la primera utilizando naranja cultivada en Caborca, Sonora; el segundo con naranja de origen estadounidense, de Redlands, California.

El proceso fue llevado a cabo a 102 °C durante 60 min, el condensado fue decantado en un embudo de separación. El aceite recuperado, es decir la fase ligera del decantador, fue almacenado a 4 °C en viales ámbar hasta ser requerido.

Método de difusión de disco

Para el método de difusión de disco es necesaria la preparación adecuada de todo lo que venga a ser requerido. Todo el material a emplear debe ser esterilizado en una autoclave. Se debe decidir las cepas a utilizar y en función de ello preparar el medio nutritivo de cultivo requerido, los inóculos y las sustancias de prueba.

Preparación del medio nutritivo

Los medios de cultivos son preparados de acuerdo con las indicaciones de concentración del fabricante, las cuales indican que son necesarios 4 g y 6.141 g de NA y SDA, respectivamente, por cada 100 ml de medio que se desea preparar. El material empleado en la preparación del medio nutritivo es resumido en la tabla 7.

El medio de cultivo junto con todo material que haya de ser empleado es colocado en autoclave para ser esterilizado a 15 psi de presión, que corresponde a 121 °C, durante 15 minutos. Las cajas de Petri no requieren esterilización debido a que, al ser plásticas, son de un solo uso y ya se encuentran estériles de inicio.

Tabla 7. Material empleado para la preparación de medios de cultivo.

Cantidad	Descripción
12 g	Agar nutritivo número 2 (NA)
20 g	Agar Sabouraud dextrosa (SDA)

11	Agua destilada
21	Caja de Petri plásticas estériles
2	Matraz Erlenmeyer de 500 ml con tapa
1	Autoclave
1	Balanza analítica
1	Mechero de Bunsen

Una vez estéril el medio de cultivo, es colocado en las cajas de Petri. Para las bacterias es requerido NA y para la levadura es requerido SDA, por lo tanto 14 y 7 cajas son llenadas con NA y SDA, respectivamente. Hay que ser cuidadoso de trabajar con la luz ultravioleta activada y en cercanía al mechero de Bunsen encendido. Las cajas de Petri llenas y estériles, son colocadas en refrigeración hasta el momento de ser necesitadas.

Preparación del inóculo

Para las pruebas de actividad microbiológica de los extractos preparados fueron empleadas tres cepas de importancia biomédica: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans*, que son una bacteria Gram negativo, Gram positivo y una levadura, respectivamente. Los tres microorganismos son bastante comunes, y por lo general, se comportan de manera inofensiva con el ser humano, sin embargo, es común que se produzcan contaminaciones de alimentos con *E. coli* (Tahiri, 2006), o que *S. aureus* desarrolle una gran resistencia a antibióticos (Tsiodras, 2001) o que se produzcan infecciones llamadas candidiasis en piel y mucosas (Groll, 2000).



Figura 18. Medidor de turbidez-densidad usado para la preparación de los inóculos.

Para la preparación del inóculo se emplearon colonias maduras de las cepas mencionadas en resguardo en el departamento de Bioquímica y microbiología de la Facultad de biología de la Universidad de Plovdiv, Bulgaria. Mientras las dos especies bacterianas fueron aisladas de carne molida de res contaminada adquirida por el departamento ya mencionado, la cepa de *C. albicans* fue aislada de un paciente con manifestación clínica de candidiasis tratado por el National Reference Laboratory of Mycology perteneciente al National Center for Infectious and Parasitic Diseases, en la ciudad de Sofía, Bulgaria.

Primeramente fue preparado un tubo de ensayo estéril con medio líquido agar de Sabouraud dextrosa que fue incubado 24 h a 37 °C. Posteriormente se tomaron colonias maduras de los tubos preparados de las tres cepas y fueron suspendidas en solución fisiológica de cloruro de sodio al 0.85 %. La concentración óptima recomendada para éstas pruebas es de 0.5×10^3 a 2.5×10^3 UFC/mL (unidades formadoras de colonias) (Ortez, 2005), que a su vez es equivalente a una turbidez de 0.5 Unidades de McFarland a 530 nm, medido

con un medidor de turbidez-densidad portátil modelo Grant bio DEN-1 de fabricación estadounidense mostrado en la figura 18.

Preparación de los extractos

A diferencia de los aceites esenciales que son empleados en pruebas de actividad microbiológica sin ningún tipo de preparación, los extractos vegetales deben ser sometidos a una preparación similar a la utilizada en el caso de pruebas de antibióticos (Fiebelkorn, 2003), en el que deben ser medidos contra un blanco que represente la actividad del solvente elegido.

Una pequeña cantidad de los extractos preparados anteriormente fue colocada en tubos de ensayo estériles (figura 19). Posteriormente le fue agregada la cantidad necesaria de DMSO, para lograr una concentración de 20 mg/ml.

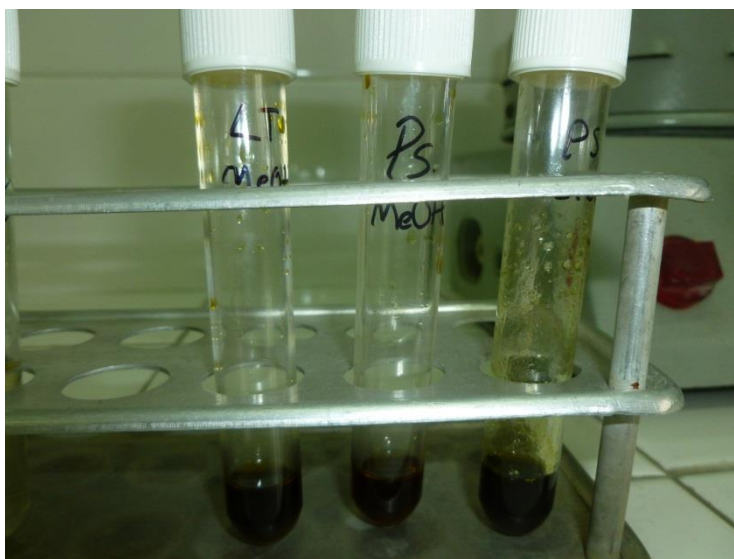


Figura 19. Extractos disueltos en DMSO para las pruebas microbiológicas. De izquierda a derecha: metanólico de gobernadora; metanólico y etanólico de cachanilla.

Pruebas de inhibición del crecimiento microbiológico

Utilizando los platos de Petri con medio nutritivo preparados, los inóculos, extractos diluidos en DMSO y aceites esenciales fueron utilizados en pruebas de actividad microbiológica para determinar la actividad inhibitoria de crecimiento de las tres cepas microbiológicas anteriormente mencionadas.

Para ello se recurrió al método de difusión de disco, en el que el radio de inhibición alrededor de un punto donde es adicionado el principio activo (en este caso aceites esenciales y extractos) es análogo a la actividad microbiológica de éstos.

En las pruebas de cada una de las tres cepas fueron empleados siete platos de Petri con medio nutritivo, SDA para *C. albicans* y NA para las cepas bacterianas. Cada uno de los platos fue inoculado con 0.1 ml del inóculo preparado. Una vez inoculados los platos, les fue colocado un estéril disco de papel filtro Whatman número 1 de 2 mm de diámetro, exceptuando uno de cada cepa que fueron dejados como controles positivos de la prueba.

Sobre el disco de papel filtro se adicionaron 20 µl de las sustancias de pruebas, 1 plato por cepa por cada uno de las cinco sustancias de prueba. Es decir, un plato para cada cepa con extracto etanólico de cachanilla, metanólico de cachanilla, metanólico de gobernadora, aceite esencial de naranja mexicana y aceite esencial de naranja estadounidense. Por último, a un plato de cada cepa le fueron agregados 20 µl de DMSO puro para actuar como control positivo en las pruebas con extractos. Los platos de Petri listos para ser incubados se muestran en la figura 20.

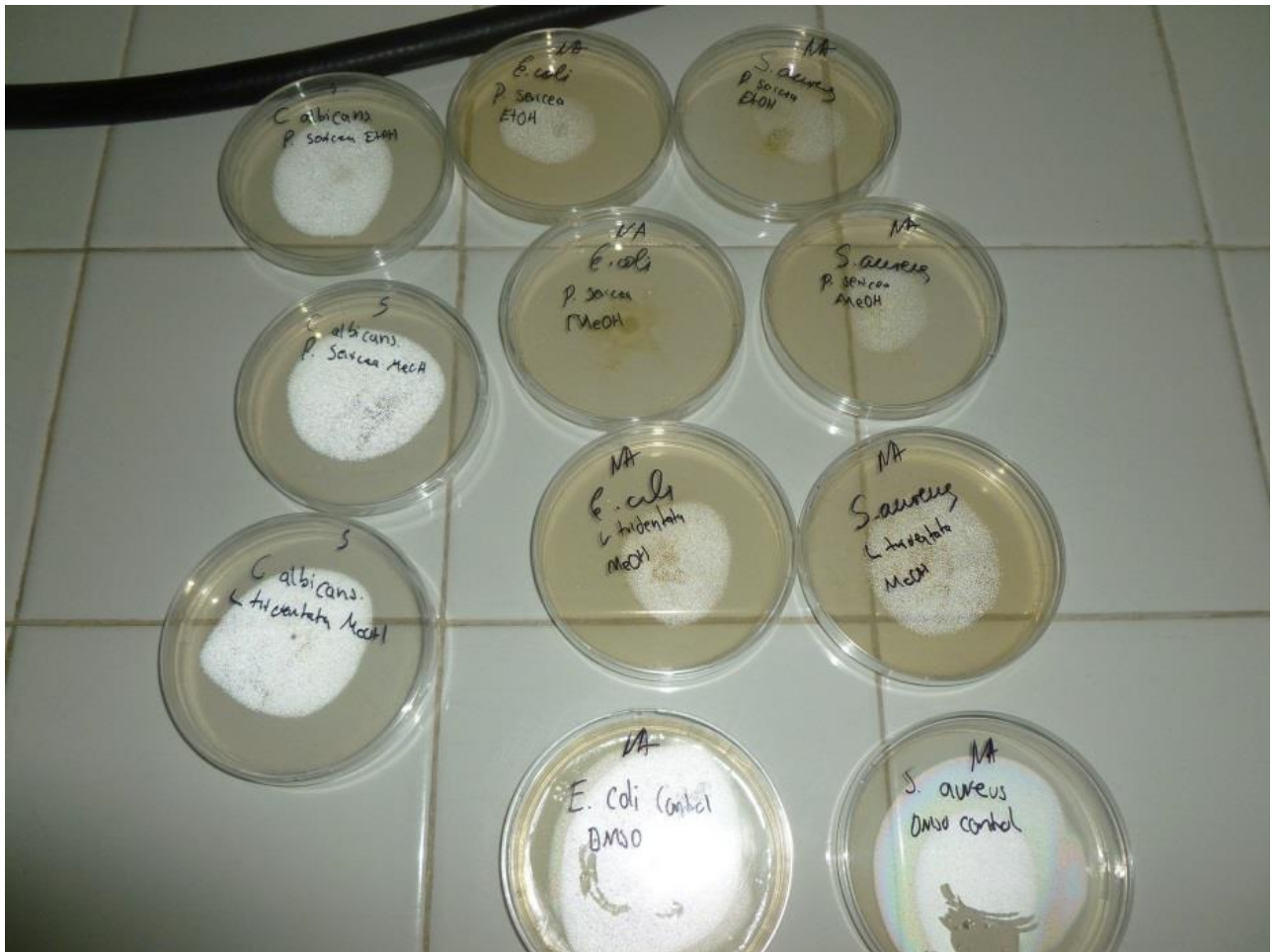


Figura 20. Platos de Petri inoculados y adicionados con sustancias de prueba antes de ser incubados.

Todos los platos inoculados con las cepas, con las sustancias de pruebas y los controles fueron incubados por 48 h. Las cepas bacterianas fueron incubadas a 37 °C y *C. albicans* a 28 °C para evitar el crecimiento de hifas (Nantel, 2002) (Pardi, 2002). Una vez concluido el tiempo de incubación los diámetros de inhibición, si existen, son medidos a contraluz con una regla, siendo a mayor diámetro mayor capacidad inhibitoria de la sustancia en cuestión contra determinada cepa.

Concentración mínima inhibitoria

Utilizando el aceite esencial y los extractos obtenidos se preparó una solución en DMSO. También fue preparado medio nutritivo de RPMI 1640 con pH amortiguado a 7.0 con 0.165 mol/l de ácido 3-N-morfolino-propanosulfónico. La concentración final del aceite fue de 1 µg/ml a 2048 µg/ml distribuido en 96 diluciones en una placa microtituladora (Andrews, 2006). Es por esto que el método recibe el nombre de método de diluciones sucesivas. La concentración final de dimetilsulfóxido es menor al 1%, por lo que se considera que no repercute en el desarrollo del cultivo. Las cepas utilizadas fueron las mismas que para el método anterior.

A cada pozo de la placa microtituladora lleno con el medio le fue agregado también 0.1 ml de inóculo. De igual manera fueron dejados dos pozos sin inocular, uno con solvente de DMSO y otro con solo medio como controles positivos. El inóculo utilizado fue preparado de la misma forma que para el método de difusión de disco, con una suspensión de colonias de 24 h de edad en solución 0.85% de cloruro de sodio.

Para las bacterias las placas microtituladoras fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas, mientras que para *C. albicans*, una levadura, fueron 48 h a 35 °C. Cumplido el tiempo de incubación el crecimiento fue evaluado visualmente y la concentración mínima inhibitoria (CMI o MIC, por sus siglas en inglés) fue determinada. Éste parámetro es la concentración correspondiente al pozo donde ya no es posible observar crecimiento microbiológico. Cada prueba fue realizada por triplicado.

Conjunto a la CMI fueron realizadas pruebas de concentración mínima bactericida (CMB) y concentración mínima fungicida (CMF). Para ello fueron usados 0.1 ml de cada pozo que no presentó crecimiento para inocular cajas de Petri con medio nutritivo. Agar nutritivo

número 2 y agar dextrosa-papa fueron utilizados para bacterias y levaduras, respectivamente. Después de ser incubadas durante 24 ha 37 °C las bacterias y 48 horas a 35 °C las levaduras, las colonias formadas fueron contadas y comparadas con los platos de control. CMF y CMB son definidas como la concentración que es capaz de matar al 99.9% de las células del inóculo original.

Resultados

*Præstet fides supplementum
Sensuum defectui.*

Pangue Lingua

Inhibición del crecimiento microbiológico

El control positivo de los extractos no presentó un diámetro de inhibición, por lo que se considera que el DMSO no tiene actividad sobre las cepas empleadas y por lo tanto no es necesario hacer correcciones a los resultados.

Los tres extractos utilizados en las pruebas de actividad inhibitoria mostraron comportamiento distinto; ninguno de los tres fue capaz de mostrar una actividad apreciable contra *E. coli*.

Sin embargo, las demás cepas se mostraron susceptibles a los extractos empleados en diferente medida, destacándose sobre ellos el extracto metanólico de gobernadora sobre *C. albicans*, presentando una diámetro de inhibición de 49 mm, contra 14 y 17 mm de los extractos etanólicos y metanólicos de cachanilla, respectivamente.

Contra *S. aureus* los diámetros de inhibición mostraron menor variación, sin embargo, el extracto de gobernadora volvió a presentar la mayor capacidad inhibitoria, siendo su diámetro de 37 mm, contra los 17 y 22 de los extractos de cachanilla, etanólico el primero y metanólico el segundo. Las figuras 21 a 25 muestran imágenes donde es posible apreciar el halo sin crecimiento microbiológico alrededor de la zona donde fueron adicionadas las sustancias de prueba.

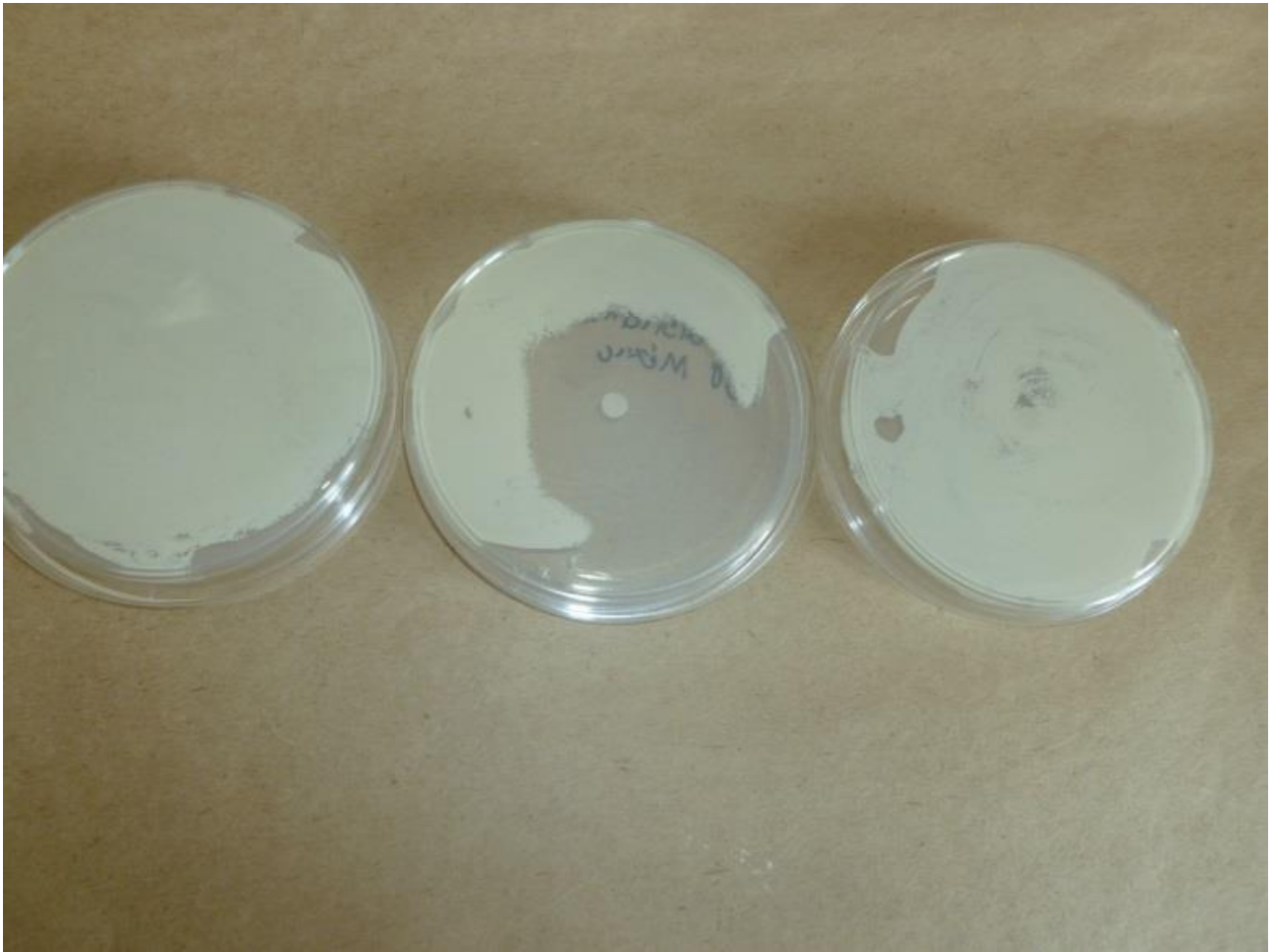


Figura 21 Prueba de susceptibilidad de *C. albicans*. De izquierda a derecha: control, aceite esencial de naranja mexicana, aceite esencial de naranja estadounidense.

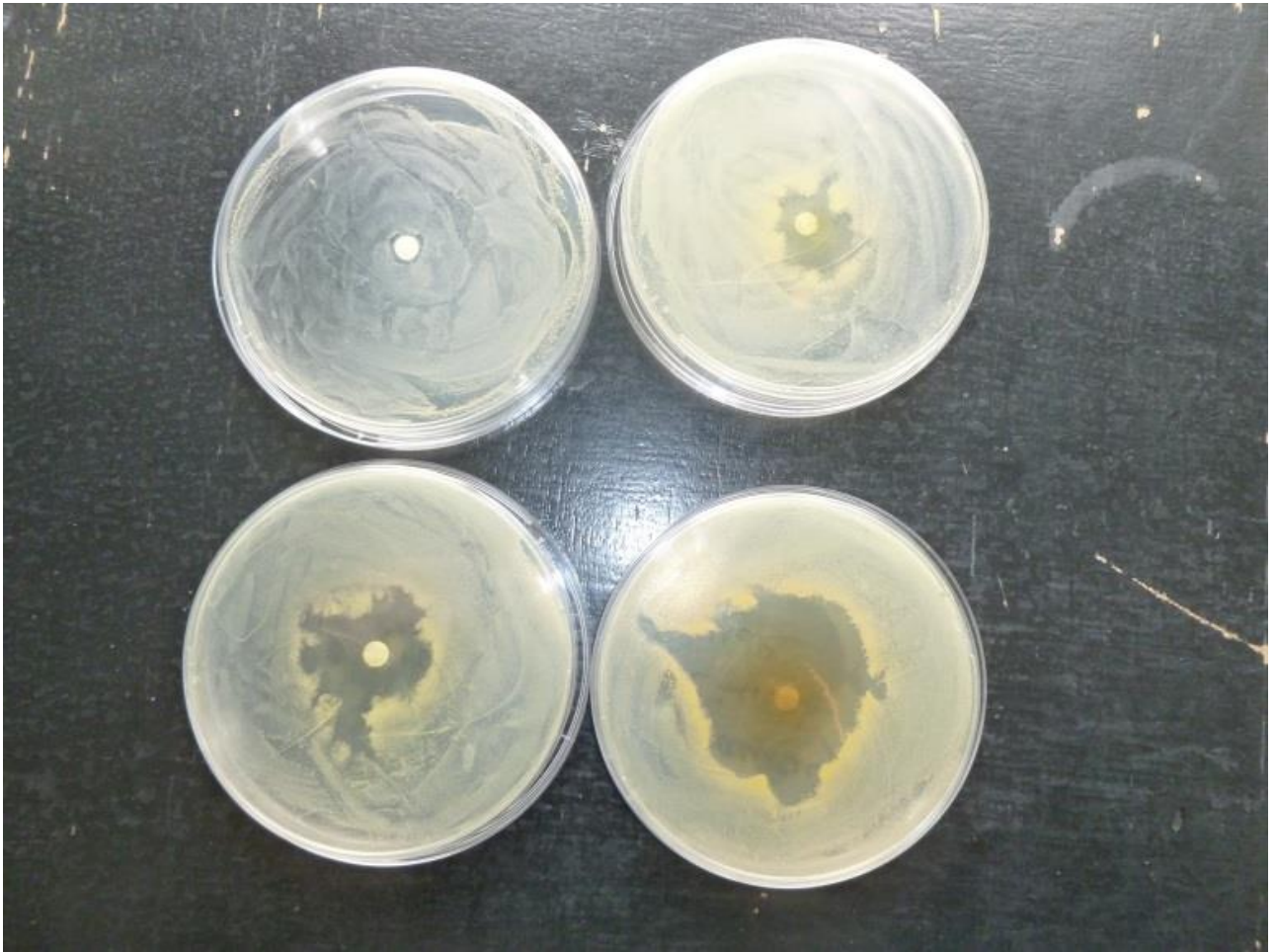


Figura 22 Prueba de susceptibilidad de *S. aureus*. De arriba abajo y de izquierda a derecha: DMSO puro (control); extracto metanólico de cachanilla; etanólico de cachanilla; extracto metanólico de gobernadora.

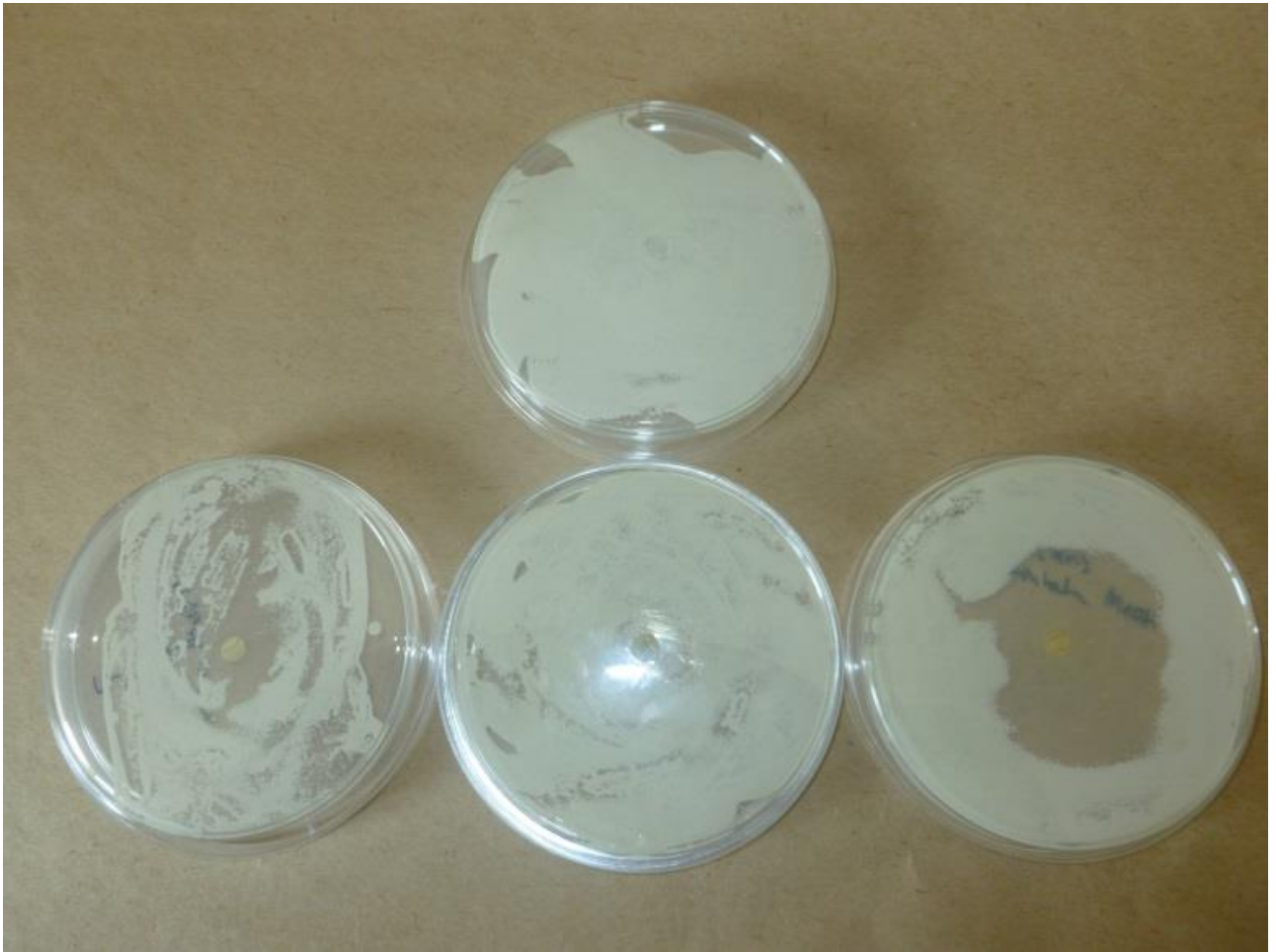


Figura 23 Prueba de susceptibilidad de *C. albicans* contra: arriba: control; abajo, de izquierda a derecha: extracto metanólico de cachanilla; etanólico de cachanilla; extracto metanólico de gobernadora.



Figura 24 Prueba de susceptibilidad de E. coli contra: arriba: control; abajo, de izquierda a derecha: extracto metanólico de cachanilla; etanólico de cachanilla; extracto metanólico de gobernadora.

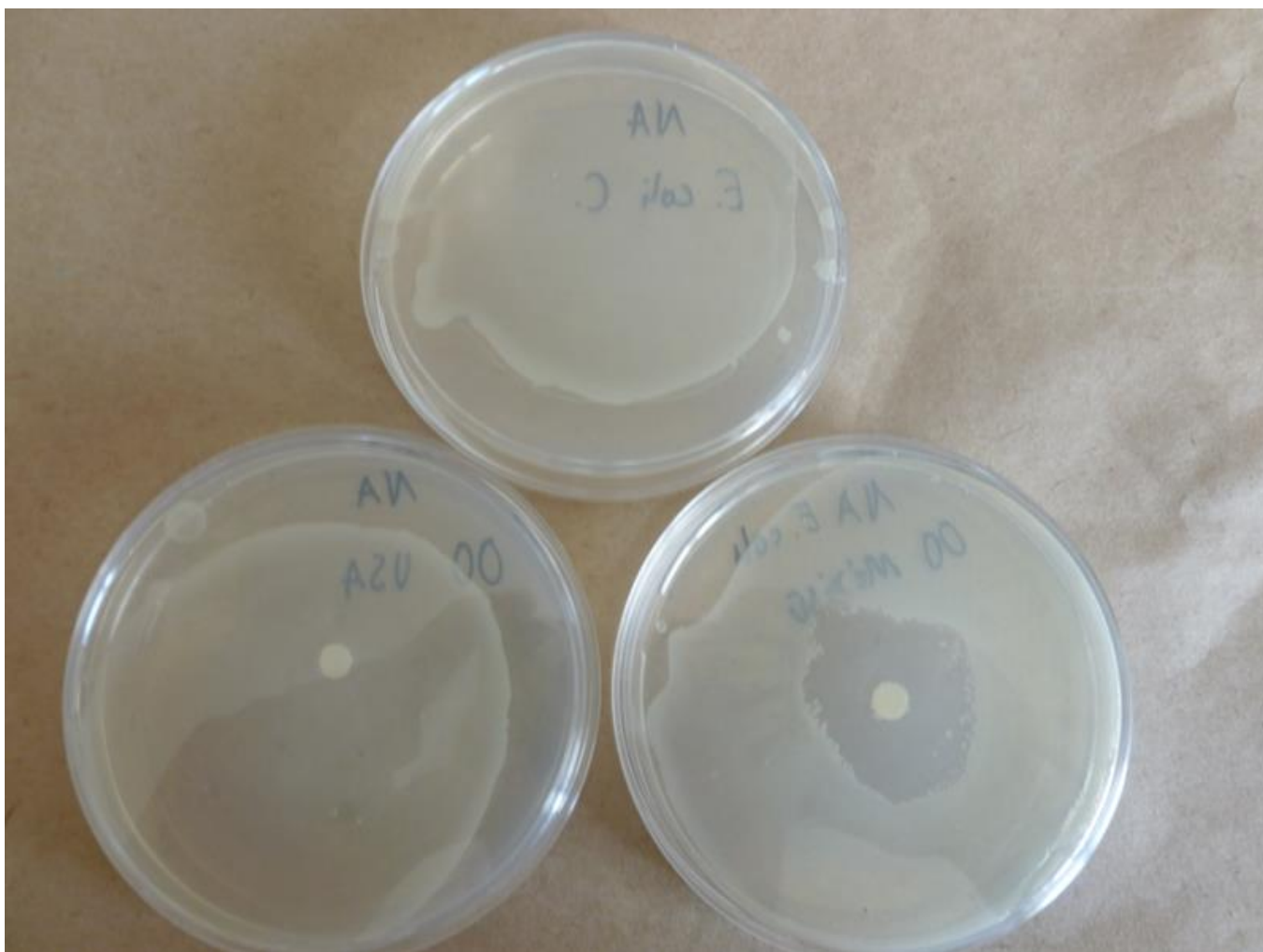


Figura 25. Prueba de susceptibilidad de *E. coli* contra aceites de naranja. Arriba control, abajo izquierda aceite de naranja estadounidense, derecha aceite de naranja mexicana.

Los resultados se encuentran condensados en la tabla 7. De igual manera fueron empleados dos aceites esenciales de cáscara de naranja. Uno de fruta cultivada en Redlands, California y otro en Caborca, Sonora, los resultados también se encuentran en la tabla 8.

Tabla 8. Diámetros de inhibición debidos a la adición de extractos y aceites esenciales.

Muestra	Diámetro de la zona de inhibición (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
Aceite esencial de naranja mexicana	18	25	58
Aceite esencial de naranja estadounidense	19	-	32
P. serícea extracto metanólico	17	-	17
P. serícea extracto etanólico	22	-	14
L. tridentata extracto metanólico	37	-	44

Concentración mínima inhibitoria

La concentración mínima inhibitoria fue determinada solo para las cepas que se mostraron susceptibles a determinadas sustancias, así las cepas que no fueron inhibidas por alguna sustancia no se les determinó su CMI. Sin embargo, es pertinente aclarar que tanto los resultados de prueba de difusión de disco como el método de diluciones sucesivas se enfrentan a fenómenos de no-difusión que llevan a falsos negativos. Esto es que en determinadas ocasiones la mezcla medio nutritivo más cultivo impide la difusión de la sustancia evaluada y por lo tanto enmascara su acción. En este caso si bien el método de difusión de disco si mostró actividad de los extractos de gobernadora y cachanilla contra *C. albicans* en el método de difusiones sucesivas no fue determinada su CMI atribuible a

incompatibilidad de la mezcla. Solamente los aceites esenciales de naranja mostraron resultados positivos contra esta levadura arrojando datos de CMI de 0.2 % de concentración en volumen para ambos, y CMF de 0.2 para el aceite esencial de naranja mexicana y 0.4 % para el aceite esencial de naranja de EE.UU.

Contra *S. aureus* las cinco sustancias probadas mostraron que su CMI y CMB se encontraron en rangos muy cercanos entre 0.2 y 0.4 % en volumen, respectivamente, siendo la excepción el extracto metanólico de *P. serícea* que necesitó el doble de concentración para los mismos efectos. En el ensayo contra *E. coli*, solamente el aceite esencial de naranja mexicana presentó resultados positivos, arrojando CMI de 0.4 % y CMB de 0.8 %

Tabla 9. CMI, CMB, CMF de los extractos y aceites esenciales utilizados contra las cepas seleccionadas.

Muestra	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>C. albicans</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMF
Aceite esencial de naranja mexicana	0.2	0.4	0.4	0.8	0.2	0.2
Aceite esencial de naranja estadounidense	0.2	0.4	-	-	0.2	0.4
P. serícea extracto metanólico	0.4	0.8	-	-	-	-
P. serícea extracto etanólico	0.2	0.4	-	-	-	-
L. tridentata extracto metanólico	0.2	0.2	-	-	-	-

Otras pruebas fisicoquímicas

Muestras de los extractos metanólicos y etanólicos de *Larrea tridentata* y *Pluchea sericea* fueron colocadas en el calorímetro Mod3000 de la marca alemana Ika-Werke. Este modelo es capaz de medir el poder calorífico superior (PCS) de muestras tanto sólidas como líquidas. Primeramente es necesaria la realización de la calibración correspondiente con una pastilla de ácido benzoico, cuyo PCS teórico es de 26.46 kJ/g. Una vez terminada la prueba de calibración el dato arrojado por el calorímetro se debe comparar con el valor teórico y así determinar la desviación que el aparato presenta, es decir, se adquirió un valor que representó un factor de ajuste.

Dos extractos de *P. sericea* y un extracto de *L. tridentata* fueron sometidos a pruebas por triplicado, siguiendo el método descrito por el fabricante. Los resultados se presentan en la tabla 10, donde el valor de PCS leído fue dividido entre el factor de ajuste para obtener el PCS ajustado.

Tabla 10. PCS de los extractos de cachanilla y gobernadora medidos por calorimetría.

	PCS teórico	PCS leído	Factor de ajuste
Pastilla de calibración	26.46	26.344	1.004403
De ácido benzoico			
Extracto	Masa (g)	PCS leído (kJ/g)	PCS ajustado (kJ/g)
Etanólico de P. sericea	0.7716	24.596	24.48817

	0.333	25.438	25.32648
	0.243	26.802	26.6845
Metanólico de P. serícea	0.3145	27.104	26.98518
	0.2992	27.939	27.81652
	0.2247	29.762	29.63152
Metanólico de L. tridentata	0.5371	23.799	23.69467
	0.4472	23.453	23.35018
	0.5808	23.508	23.40494

Comparación del poder calorífico del extracto de *Larrea tridentata* medido por calorimetría y el estimado por Aspen Plus.

Como complemento a la estimación de propiedades se corrió una simulación para estimar el poder calorífico de la molécula modelada como representativa del extracto de *L. tridentata*, NDGA, cuya fórmula condensada es $C_{15}H_{24}O$.

La reacción de combustión para el NDGA se muestra en la figura 26, con lo cual la reacción estequiométrica entre NDGA: Oxígeno es 2:41. Esto significa que son necesarios 672 g de oxígeno molecular para oxidar completamente un gmol de NDGA, cuya masa molar es de 220.35 g, por lo tanto la fracción másica sin oxígeno en exceso del NDGA es de 0.305.

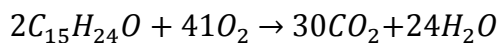


Figura 26. Reacción de combustión de NDGA.

Partiendo de los datos obtenidos anteriormente, una corriente determinada del compuesto es llevada a una cámara de combustión, representada por un reactor estequiométrico. Las reacciones de combustión fueron definidas como una conversión total del compuesto en dióxido de carbono y agua, es decir, como combustión completa.

Las condiciones de operación suministradas a la simulación son las mismas a las que trabaja el calorímetro para medir el PCS, 0 °C y 4 MPa. La composición de la corriente de entrada al reactor es con la relación combustible: oxígeno estequiométrica sin oxígeno en exceso. Los datos alimentados se presentan en la tabla 11, de igual manera fue considerado como método de propiedades el *Non-random two-liquid* (NTRL), que es recomendado cuando se trata de estudio de aceites esenciales y extractos vegetales. De igual manera fue definida una corriente de calor que representó la energía liberada en la reacción de combustión. Las corrientes se precian en la figura 27. La corriente de calor corresponde entonces a la energía liberada durante la combustión. Ambas corrientes son flujos, ya sea másico o energético, es decir, se encuentran en unidades de masa/tiempo y energía/tiempo, respectivamente. De esta manera la energía liberada por unidad de masa será el resultado del cociente del flujo energético sobre el flujo másico, para así obtener unidades de energía/masa, que es la manera en que es medido el poder calorífico.

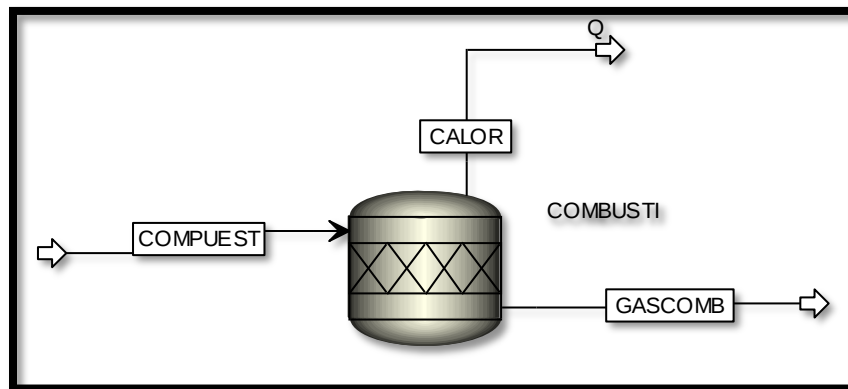


Figura 27. Reactor empleado en la simulación del poder calorífico de NDGA en Aspen Plus®.

Tabla 11. Condiciones de operación para la estimación del poder calorífico por Aspen Plus®.

Parámetro	Valor alimentado
Temperatura (°C)	0
Presión (MPa)	4
Fracción másica de oxígeno	0.7
Fracción másica de NDGA	0.3
Flujo molar	100 kmol/h

Se obtuvo un flujo energético de 12,477 kJ/s, y teniendo en cuenta que se supuso un flujo másico de 4,792 kg/h, lo cual, según fue descrito anteriormente es equivalente a los 100 kmol/h supuestos, arroja un poder calorífico estimado de 34.49 kJ/g. Este dato es comparable con el poder calorífico medido para el extracto metanólico de *L. tridentata*

presentado en la tabla 9, para lo que se consideró el promedio de las tres lecturas, es decir 28.14. La desviación del valor estimado por simulación y el leído por calorimetría es de 22.5 %, lo cual es considerable y se encontraría fuera de cualquier margen de error, posiblemente atribuible a la verdadera composición del extracto, que difiere de la idealidad considerada de representarlo con solamente un compuesto, resultados presentes en la tabla 12. Sin embargo, aún este margen de desviación resulta útil y permite dar validez a los resultados ya que en la idealidad y del simulador se elimina cualquier posibilidad de ruido causado por error humano, contaminación de la sustancia, malfuncionamiento del equipo, error de operación, etc. Considerando todo lo descrito se tiene que, según se muestra en la ecuación presentada en la figura 27, el PCS estimado por simulación, se obtiene de dividir el flujo neto de calor producto de la combustión entre su flujo másico.

$$PCS = \frac{\dot{Q}}{\dot{m}}$$

Figura 28. Cálculo del PCS en función del flujo másico y el flujo de calor.

Tabla 12. Poder calorífico del extracto de gobernadora medido por calorimetría comparado al estimado por simulación.

	Promedio medido por calorimetría	Estimado por Aspen Plus	Desviación (%).
Poder calorífico (kJ/g)	28.14	34.49	22.5

Conclusiones

*¡Es verdad! Soy nervioso,
terriblemente nervioso, siempre lo
he sido, pero, ¿por qué dicen
ustedes que estoy loco?*

E. Poe.

La estimación de propiedades de las moléculas de interés sirvió para la predicción de algunas propiedades que después pueden ser útiles en el estudio a profundidad del extracto. Estas estimaciones fueron de gran utilidad al momento de decidir la metodología a emplear para la obtención de los extractos.

Por otro lado las pruebas de actividad microbiológica sirven como un paso adelante en la investigación que se ha venido realizando en el laboratorio de Biocombustibles en el Instituto de Ingeniería, ya que si bien se han estudiado las metodologías para la extracción de aceites esencial y extractos de naranja, eucalipto, etc., llegando incluso a desarrollar patentes derivadas de ellos, la utilización del aceite esencial se encontraba más bien limitada a pruebas de caracterización fisicoquímica, sin alguna aplicación práctica.

Con estas pruebas, a las que fueron sometidos tanto aceites esenciales como extractos, fue posible adquirir conocimiento de primera mano sobre una de las principales propiedades de los aceites esenciales y extractos como es su capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano y fúngico de tres cepas de interés.

Los resultados pueden considerarse satisfactorios, por una parte, se adecuó el método de extracción para el caso particular de las especies vegetales seleccionadas. Esto es, el método fue particularizado para la obtención de los extractos resinosos, a la vez que queda como un precedente para futuras problemáticas similares.

En cuanto a las pruebas de susceptibilidad microbiológica, el extracto de gobernadora presentó una significativa actividad contra dos de las tres cepas utilizadas que concuerda con los resultados presentes en la literatura científica. De igual manera los extractos de

cachanilla mostraron actividades inhibitorias similares contra *C. albicans* y *S. aureus*, aunque evidentemente menor a la lograda por el extracto de gobernadora. Sin embargo, todos los extractos resultaron ineficaces contra *E. coli*, cepa bacteriana contra la que el aceite esencial de naranja valencia cultivada en México presentó una notable actividad inhibitoria. Cabe señalar que los extractos fueron utilizados diluidos, por lo que los resultados de actividad inhibitoria podrían estar influidos por el solvente, que si bien por sí mismo no mostró actividad inhibitoria, es capaz de formar interacciones con algunos compuestos que actúen, ya sea de una manera sinérgica (en los extractos que presentaron actividad) o antagónica (en los extractos que no inhibieron el crecimiento microbiológico).

La presunta capacidad inhibitoria de los extractos de *P. serícea* y *L. tridentata* fue demostrada contra dos de las tres cepas que se seleccionaron, siendo estas *S. aureus* y *C. albicans*. Los tres extractos se mostraron incapaces de inhibir el desarrollo de *E. coli*, si bien futuras pruebas más exhaustivas o con otros métodos podrían probar que este resultado fue un falso negativo.

Es prudente mencionar que estos sistemas sinérgico-antagónicos podrían evitarse utilizando de manera directa los extractos, sin embargo, la consistencia resinosa y semisólida de estos hace impráctica esta opción.

Por otra parte también es posible concluir que es posible implementar medidas con el fin de que las metodologías para las pruebas de actividad microbiológica aplicadas en la Universidad de Plovdiv sean también implementadas en el Laboratorio de Biocombustibles del Instituto de Ingeniería de la UABC o algún otro laboratorio existente o de próxima creación. Esta aseveración se respalda en la certeza de que existe el capital humano y

económico necesario para la adquisición de equipo, comprensión e implementación de metodologías y normas, y más importante aún, se cuenta con líneas de investigación en las que se aprovecharía el conocimiento adquirido.

Con base en lo concluido es pertinente llevar a cabo las siguientes recomendaciones:

- Establecer métodos de extracción de diversos aceites esenciales que sean reproducibles, y en la medida de lo posible sencillos, tomando como base la metodología empleada en el desarrollo de este trabajo de tesis, con el objeto de conocer de primera mano los retos de una posible futura investigación o proyecto productivo que contemple la utilización de extractos y aceites esenciales.
- Evaluar la viabilidad técnica, tecnológica y económica en pos de adquirir, equipar y operar un laboratorio o un área dedicada al desarrollo de trabajos similares al presente. Es decir, contar con la infraestructura y equipos propios del área de microbiología. Para ello, lo más natural es apoyarse en otras instituciones educativas y empresas privadas que ya cuenten con este tipo de laboratorios. Entre las instituciones educativas resaltan el Instituto Tecnológico de Mexicali, ubicado en la misma ciudad que el Instituto de Ingeniería; y la Universidad de Plovdiv, que es una universidad prestigiosa con la que se tienen buenas relaciones institucionales.
- Presentar los resultados, y la iniciativa del establecimiento de un laboratorio de pruebas microbiológicas, como una oportunidad de vinculación con la industria en la región, principalmente la industria agrícola y alimentaria.

Referencias

- Abou, H. (2004). Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry*, 2499-2505.
- Abou, H., Berdil, E., Takamatsu, S., Ferreira, D., & Khan, I. (2004). Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*. *Science Direct*, 2499-2505.
- Anderson, D. (1982). Gum exudate from genus *Prosopis*. *International Tree Crops Journal*, 15-24.
- Andrews, J. (2006). *Determination of Minimum Inhibitory Concentrations*. Birmingham: Department of Microbiology City Hospital NHS Trust.
- Arteaga, S. (2005). *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, 231-239.
- Arteaga, S., Andrade-Cetto, A., & Cárdenas, R. (2005). *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, 231-239.
- Badu, N., & Kavindran, P. (2004). *Ginger: the genus Zingiber*. Boca Ratón: CRC Press.
- Basim, E. (2003). Antibacterial activity of *Rosa damascena* essential oil. *Fitoterapia*, 394-396.
- Beristáin, C., & Vernon, E. (1994). Utilization of mesquite (*Prosopis juliflora*) gum as emulsion stabilizing agent from spray-dried encapsulated orange peel oil. *Drying Technology: An International Journal*, 1727-1733.
- Beristáin, C., García, H., & Vernon, E. (2001). Spray-dried Encapsulation of Cardamom (*Elettaria cardamomum*) Essential Oil with Mesquite (*Prosopis juliflora*) Gum. *LWT - Food Science and Technology*, 398-401.
- Bishop, J. (2008). *Trade International Brief: essential oils*. Canberra: Australian agency for international development.
- Board, N. (1999). *The complete book of technology of essential oils*. Dheli: Ajay Gupta.
- Candan, F., Uhnlu, M., Tepe, B., Dafareva, D., Polissiou, M., Soekmen, A., et al. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium*. *Journal of ethnopharmacology*, 215-220.
- Chao, S. (2000). Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. *Journal of essential oils research*, 639-649.

- Cheng, S. S., Huang, C., & Chen, Y. (2009). Chemical composition and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucaliptus species. *Bioresourse technology*, 452-456.
- Cox, B. (2001). The biogeographic regions reconsidered. *Journal of Biogeography*, 511-523.
- David, C., Greber, M., & Holstein, T. (1973). A quantitative method for separation of hydra tissue. *Wilhem Roux' Archiv*, 259-268.
- Delgadillo, J. (2002). Componente florístico del desierto de San Felipe, Baja California, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 45-65.
- Delgadillo, J., & Macías, M. (2002). Componente florístico del desierto de San Felipe, Baja California, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 45-65.
- di Pasqua, R., & Villani, F. M. (2005). In vitro antimicrobial activity of essential oils from Mediterranean Apiaceae, Verbenaceae and lamiaceae against foodborne pathogenens and spoilage bacteria. *Annals of Microbiology*, 139-143.
- Domalski, E. (1988). Estimation of the thermodynamic properties of hydrocarbons at 298.15 K. *Journal of Physical chemistry*, 1637-1678.
- Fadhilina, A., Susanti, D., & Taher, M. (2013). Antimicrobial Activity and Synergic Effect of Cinnamomum burmannii's Essential Oil & its isolated compound. *International Conference on Chemical, Agricultural and Medical Sciences* (pp. 26-29). Kuala Lumpur: International Institute of chemical, biological and environmental engineering.
- Fiebelkorn, K. (2003). Practical Disk Diffusion Method for Detection of Inducible Clindamycin Resistance in Staphylococcus aureus and Coagulase-Negative Staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 4740-4744.
- Franco, A. (2004). *Experimentos de Química Orgánica*. Armenia: Ediciones Elizcom .
- Franco, A. G. (2004). *Experimentos de Química Orgánica*. Armenia: Ediciones Elizcom.
- Garcillán, P. (2003). Biogeographic regions and beta-diversity of woody dryland legumes in the Baja California peninsula. *Journal of vegetation Science*, 859-868.
- Garcillán, P., & Ezcurra, E. (2003). Biogeographic regions and beta-diversity of woody dryland legumes in the Baja California peninsula. *Journal of vegetation Science*, 859-868.
- Glenn, E. (1998). Growth rates, salt tolerance and water use characteristics of native and invasive riparian plants from the delta of the Colorado River, Mexico. *Journal of Arid Environments*, 281-294.
- González, A. (2004). *Extracción de aceites esenciales y extratos etanólicos de plantas del Amazonas*. Manizales: Universidad Nacional de Colombia.

- Gooycolea, F., & al, e. (1999). Immunological and functional properties of the exudate gum from northwestern Mexican mesquite (*Prosopis* spp.) in comparison with gum arabic. *International Journal of Biological Macromolecules*, 29-36.
- Gordillo, C. (2003). *Guía de forestación para el municipio de Mexicali*. Mexicali: XVII ayuntamiento de Mexicali.
- Groll, A. (2000). Comparative Efficacy and Distribution of Lipid Formulations of Amphotericin B in Experimental *Candida albicans* Infection of the Central Nervous System. *The journal of Infection diseases*, 274-282.
- Guerra, M., Rodríguez, M., García, G., & Llerena, C. (2004). Actividad antimicrobiana de aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus*. *Revista Cubana de plantas medicinales*, 1-6.
- Holley, R., & Pathel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plants essential oils and smoke antimicrobials. *Food microbiology*, 273-292.
- Hussain, H. (2013). The Genus *Pluchea*: Phytochemistry, Traditional Uses, and Biological activities. *Chemistry and Biodiversity*, 1944-1971.
- INEGI, I. d. (2010). *Anuario estadístico de comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos (AECEEUM)*. México: INEGI.
- Jansen, A., Scheffer, C., & Baerheim, A. (1987). Antimicrobial Activity of Essential Oils: A 1976—1986 Literature Review. Aspects of the Test Methods. *Planta Medica*, 395-398.
- Jaramillo, B. (2004). Estudio de la actividad repelente in vitro de aceites esenciales de plantas tropicales y compuestos sintéticos nitrogenados. Bucaramanga, Santander, Colombia: Universidad Industrial de Santander.
- Lee, H. (2009). Total Synthesis of (–)-13-Acetoxymodhephene and (+)-14-Acetoxymodhephene. *European Journal of Organic Chemistry*, 5028-5037.
- León de la Luz, J., Domínguez, R., & Medel, A. (2012). Florística de la selva baja caducifolia de la península de Baja California. *Botanical Sciences*, 143-162.
- Marsili, R. (2002). *Flavor, fragrance and odor analysis*. Basel: Marcel Dekker Inc.
- Mendéz, M., Rodríguez, R., Ruiz, J., Morales, D., Castillo, F., & Aguilar, C. (2012). Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria. *Industrial Crops and Products*, 445-450.
- Mira, B. (1999). Supercritical extraction of essential oil from orange peel. *The Journal of supercritical fluids*, 95-104.

- Mojica, V., Luna, H., Sandoval, C., & Morales, L. (2011). In vitro antifungal activity of "Gobernadora" (*Larrea tridentata*) against *Phytophthora capsici*. *African Journal of Agricultural Research*, 1058-1066.
- Nantel, A. (2002). Transcription Profiling of *Candida albicans* Cells Undergoing the Yeast-to-Hyphal Transition. *Molecular biology of the cell*, 3452-3465.
- Orozco, J., Ponce, E., & Cruz, F. (2004). Mesquite gum: fractionation and characterization of the gum exuded from *Prosopis laevigata* obtained from plant tissue culture and from wild trees. *Carbohydrate Polymers*, 327-333.
- Ortez, J. (2005). Disk diffusion method. In S. Cavalieri, *Manual of antimicrobial susceptibility tests* (pp. 39-52). Seatler: University of Washington.
- Osorio, E., Flores, M., Hernández, D., Ventura, J., Rodríguez, R., & Aguilar, C. (2010). Biological efficiency of polyphenolic extracts from pecan nuts shell (*Carya illinoensis*), pomegranate husk (*Punica granatum*) and creosote bush leaves (*Larrea tridentata* Cov.) against plant pathogenic fungi. *Industrial crops and products*, 153-157.
- Palacios, R. (2006). Mezquites Mexicanos: Biodiversidad y distribución geográfica. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 99-121.
- Pardi, G. (2002). Determinantes de patogenicidad de *Candida albicans*. *Acta odontologica Venezolana*, 50-62.
- Peinado, M., Alcaraz, F., & Delgadillo, J. (1994). Fitogeografía de la Península de Baja California. *Anales de Jardinería y Botánica*, 255-277.
- Reyes, B., & Joseph, P. (1999). Modhephene derivatives from *Pluchea sericea*. *Phytochemistry*, 75-78.
- Rojas, J., Solis, H., & Palacios, O. (2010). Evaluación in vitro de la actividad anti *Trypanosoma cruzi* de aceites esenciales de diez plantas medicinales. *Facultad de Medicina Tropical de Lima Perú*, 161-165.
- Rosato, A., & Vitalli, C. (2008). The inhibition of *Candida* species by selected essential oils and their synergism with amphotericin B. *Phytomedicine*, 635-638.
- Rosato, A., Vitalli, C., Patirulli, M., Mazzotta, M., & Argentieri, P. (2009). In vitro synergic efficacy of the combination of Nystatin with the essential oils of *Origanum vulgare* and *Pelargonium graveolens* against some *Candida* species. *Phytomedicine*, 972-975.
- Rousseau, R. (1987). *Handbook of Separation Process Technology*. Nueva York: Wiley.
- RSC, R. S. (1 de Octubre de 2010). *Royal Society of Chemistry*. Recuperado el 10 de noviembre de 2014, de ChemSpider: <http://www.chemspider.com/>

- RSC, R. S. (2013, octubre 3). *Jmol.org*. Retrieved noviembre 10, 2014, from <http://jmol.sourceforge.net/>
- Rzedowski, J. (2005). *Vegetación de México*. México: Comisión nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad.
- Schnaubelt, K. (1999). *Medical Aromatherapy*. Berkeley: North Atlantic books.
- Swift, K. (2001). *Advances in flavour and fragrances*. Coventry: The Royal Society of Chemistry.
- Tahiri, I. (2006). Inactivation of food spoilage bacteria and *Escherichia coli* O157:H7 in phosphate buffer and orange juice using dynamic high pressure. *Food Research International*, 98-105.
- Takhtajan, A. (1986). *Floristic Regions of the World*. Berkeley: Theodore Crovello.
- Tequida, M., Cortez, M., Rosas, E., López, S., & Corrales, C. (2002). Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Revista iberoamericana de micología*, 84-88.
- Times, S. P. (1967, octubre 14). Canadian ban on ingredient of imitation orange juice eyed. *St. Petersburg times*, pp. 7-B.
- Tsiodras, S. (2001). Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. *The Lancet*, 207-208.
- Udvardy, M. (1975). *A classification of the biogeographical provinces of the World*. Morges: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources.
- Valverde, P. (1993). Movimiento foliar en *Larrea tridentata* (Sesse & Moc. Ex Dc.) Cov. en relación con la sequía y la edad de la hoja. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 15-21.
- Vandersande, M., Glenn, E., & Walworth, J. (2001). Tolerance of five riparian plants from the lower Colorado River to salinity drought and inundation. *Journal of arid environments*, 147-159.
- Vargas, I. (2005). Antifungal lignans from the creosotebush. *Industrial crops and products: an international journal*, 101-107.
- Vázquez, F., López, Y., & Gycoolea, F. (2006). Fractionation and Characterization of the Monosaccharides from Mesquite *Prosopis* spp. and Arabic Gum by Normal, Bonded Phase, HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 1991-1999.
- Villaseñor, J., & Villarreal, Á. (2006). El género *Pluchea* (familia Asteraceae, tribu Plucheeae) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 59-65.
- Wiggins, L. (1980). *Flora of Baja California*. Stanford.

Otros productos académicos

- Participación en el XXXV encuentro nacional de la Academia de Docencia e investigación en Ingeniería química, Puerto Vallarta, Jalisco, México, 6-9 de mayo de 2014.
 - “Cálculo energético en la producción de vapor para la extracción de aceite esencial de eucalipto”; **Carlos Alfonso Sagaste Bernal**, Gisela Montero Alpírez, José Ramón Ayala Bautista, Conrado García González, Presentación oral.
 - “Comparación de diferentes arreglos en la etapa de purificación en un proceso de producción de bioetanol”, José Ramón Ayala Bautista, Gisela Montero Alpírez, Héctor Enrique Campbell Ramírez, José Ángel León Valdez, Laura Janet Pérez Pelayo, **Carlos Alfonso Sagaste Bernal**. Presentación en forma de poster.
- Estancia de investigación en el departamento de Bioquímica y Microbiología de la facultad de Biología de la Universidad de Plovdiv, en Plovdiv, Bulgaria: 1 al 31 de octubre de 2014, bajo la dirección del Dr. Velizar Gochev, jefe de departamento.
 - Realización de pruebas de inhibición por método de dilución de disco.
 - Determinación de la concentración mínima inhibitoria por método de dilución serial de cultivo.
 - Participación en prácticas académicas en el mismo departamento.
- Resumen propuesto enviado al XXXVI Encuentro Nacional de la Academia Mexicana de Investigación y docencia en Ingeniería química.
 - “Evaluación de la actividad inhibitoria del aceite esencial de naranja contra Escherichia coli, Staphylococcus aureus y Candida albicans” Autores:

Carlos Alfonso Sagaste Bernal, Gisela Montero Alpírez, Velizar Gochev, José Ramón Ayala Bautista, Conrado García González, Ana María Vázquez Espinoza.

- “Modelado para la extracción de aceites esenciales, con limoneno y 1,8-cineol como productos refinados.” José R. Ayala, Gisela Montero, **Carlos Alfonso Sagaste**, José A. León, Edgar Valenzuela.
- “Simulación de un proceso de producción de biodiesel en condiciones supercríticas” José Angel León Valdez, Jesús Cerezo Román, José Ramón Ayala Bautista, **Carlos Alfonso Sagaste Bernal**.
- Resúmenes a congreso internacional “Energy and Sustainability 2015”:
 - “Industrial processes involving non-conventional raw materials by equivalence models in Aspen Plus®” Gisela Montero, José R Ayala; Conrado García; Marcos A Coronado; Ángel A León; Ana M Vázquez; **Carlos A Sagaste**; Laura J Pérez
 - "Power generation estimation from wheat straw in Mexico" Conrado García, Gisela Montero, Marcos Coronado, Ana M. Vázquez, José R. Ayala, José A. León, **Carlos A. Sagaste**.

Memorias del XXXV Encuentro Nacional de la AMIDIQ
6 al 9 de Mayo de 2014, PuertoVallarta, Jalisco, México

CÁLCULO ENERGÉTICO EN LA PRODUCCIÓN DE VAPOR PARA LA EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO

Carlos Alfonso **Sagaste** Bernal^a, Gisela Montero Alpírez^a, José Ramón Ayala Bautista^a, Conrado García
González^b

^a Instituto de Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California, Blv. Benito Juárez y calle de la Normal s/n
Colonia Insurgente Este, Mexicali, Baja California, CP. 21280, MÉXICO. carlos.sagaste@uabc.edu.mx

^b Instituto Tecnológico de Mexicali, Academia de Química y Bioquímica, Av. Tecnológico S/N, Col. Elías
Calles, Mexicali, Baja California, CP. 21396, MÉXICO

Resumen

El género vegetal de origen australiano *Eucalyptus* ha sido introducido con éxito en climas diversos, entre los que se encuentran templados-frío de Sudamérica, California y Europa, así como zonas áridas de África, Asia y México. Uno de dichos sitios de éxito es el valle de Mexicali, Baja California, que cuenta con un clima con veranos secos e inviernos templados. La tendencia, donde el género *Eucalyptus* fue introducido, ha sido el buscarle modelos de utilidad, ya sea de su madera, contención de vientos, obtención de postes, esencias entre otros. El presente documento está orientado a la obtención de datos sobre rendimientos energéticos (unidad de energía/unidad de producto), de un diseño experimental aplicado a un sistema para la obtención de aceite esencial a partir de hojas frescas de *E. camaldulensis*, por el método de arrastre con vapor. Los factores tomados fueron el tamaño de partícula, la presión de vapor saturado y el tiempo de operación y como variables de respuesta se determinaron la cantidad de aceite recuperado y los flujos de vapor. Los niveles utilizados fueron: presión de 10 y 30 psi; tiempo de operación de 40, 60 y 80 min y las condiciones de tamaño de partícula fueron hojas enteras o cortadas de forma manual. El mayor rendimiento fue de 5.6 ml/kg de aceite producido y se obtuvo a 30 psi, 80 min y usando hojas enteras, mientras que el mejor índice energético se presentó a 30 psi de presión, usando hojas enteras durante 40 min siendo de 0.69 kWh/ml.

Introducción

Los aceites esenciales son mezclas de compuestos orgánicos que cumplen funciones secundarias de algunas especies vegetales, es decir no son vitales. Aun cuando son llamados aceites, este nombre se origina a sus propiedades físicas (consistencia, densidad, insolubilidad en agua, etc.) y no a su naturaleza química. Los compuestos orgánicos que constituyen los aceites esenciales son llamados terpenos, pertenecientes a la familia de los alquenos.

Los terpenos tienen estructuras básicas constituidas por un esqueleto hidrocarburo formado por “bloques” de cinco átomos de carbono. Dicho bloque es llamado isopreno, o sistemáticamente metilbutadieno. En función del número de “bloques” isopreno con el que constituyan el terpeno será clasificado en monoterpeno, sesquiterpeno o diterpeno, si cuenta con 2, 3 o 4 “bloques”, respectivamente [1]. De igual manera, si el esqueleto es solo hidrocarburo se le considera terpeno mientras que si está oxigenado o cuenta con algún grupo funcional (cetónico, adélico, etc.) se le considera terpenoide.

Un aceite esencial, como se ha mencionado, es un metabolito secundario, lo que significa que no forma parte de ningún proceso vital del vegetal. Sin embargo, cumple funciones como la repelencia de depredadores, atracción de polinizadores y señal química entre poblaciones.

Debido a que no cumplen funciones vitales, los aceites esenciales no tienen composiciones definidas de especie a especie, variando incluso entre individuos de la misma especie. La composición varía en función de las exigencias del medio, método de cultivo, época del año, método de extracción, e incluso la parte de la planta utilizada [2].

El género *Eucalyptus* está constituido por aproximadamente 600 especies originarias de Australia e islas cercanas. En general son árboles de gran talla, pudiendo medir hasta 100 m en la especie *E. globulus*, aunque algunas especies son arbustos medios. El género ha sido introducido a diversas regiones del mundo presentando gran adaptabilidad. En México fue introducido a finales del siglo XIX como mecanismo de contención de pantanos y desecación del suelo, destacándose las especies *E. globulus* y *E. camaldulensis*, estando esta última presente en el Valle de Mexicali. Ambas especies han sido sometidas a técnicas de extracción de aceites esenciales, utilizando principalmente hojas, flores y madera como fuente del extracto.

Una de las moléculas más representativas del aceite esencial de eucalipto es el 1,8 cineol, monoterpene oxidado que se presenta en concentraciones de hasta el 80% [3]. Otros compuestos presentes en este aceite esencial son α -pineno, limoneno, mentol, etc. En su conjunto, el aceite esencial de eucalipto tiene un gran valor agregado gracias a sus múltiples propiedades como expectorante, antibacterial, aromatizante, etc., razones por las cuales es ampliamente utilizado en la industria alimentaria y farmacéutica [4].

Las técnicas de extracción de aceites esenciales son diversas, sin embargo, destacan algunas por su sencillez y rendimiento. Entre las más utilizadas están la hidrodestilación y el arrastre con vapor. En esta última, una corriente de vapor saturado a alta presión es pasada a través de un lecho de material vegetal, de donde por efecto de la presión y temperatura, algunos compuestos son, según su nombre lo indica, arrastrados hasta un condensador, y después separados por diferencia de densidades.

En el presente trabajo fueron sometidas a extracción hojas frescas de *E. camaldulensis*, o eucalipto rojo, mediante la técnica de arrastre con vapor en un equipo prototipo, que consta de un generador de vapor, un cuerpo extractor de acero inoxidable y un condensador. El comportamiento del prototipo fue evaluado por la realización de una corrida experimental. Los factores tomados en cuenta fueron la presión del vapor saturado, el tamaño de partícula (hoja entera o cortada) y el tiempo de operación. Contaron con dos niveles los primeros dos, y con tres niveles el tercero. De este diseño de experimento fueron tomadas como variables de respuesta la cantidad de aceite esencial obtenido después de decantar y la cantidad de vapor condensado en el cuerpo extractor y el condensador, que fueron utilizados para estimar el flujo de vapor.

Metodología

El equipo extractor consta de tres partes principales: un generador de vapor, el cuerpo extractor de acero inoxidable y un intercambiador de calor de tubos concéntricos a modo de condensador, además de material de vidrio complementario.

El generador de vapor es un equipo Sussman Electric modelo MBA-3, de 3 kW de potencia nominal y un flujo máximo de vapor de 9 lbm/h a 85 psi de presión. El cuerpo extractor consta de un cilindro horizontal de 16 l de volumen, construido en acero inoxidable, con una entrada

doble de vapor por la parte inferior, además de una purga de condensado. El vapor pasa a través de una reja sobre la que descansa la cama de material vegetal. La salida de vapor se encuentra por la parte superior del cilindro, de donde pasa al condensador. El condensador fue construido con un serpentín de acero dentro de un tubo de ABS con un flujo a contracorriente. El flujo de agua de enfriamiento fue medido al igual que su temperatura de salida.

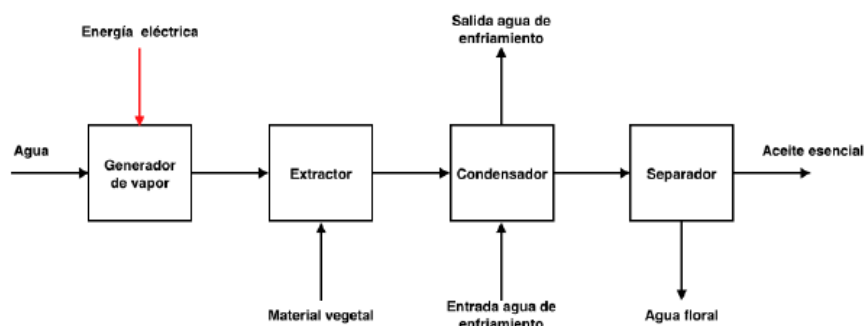


Figura 1. Esquema del proceso de extracción utilizado en el presente trabajo.

El aceite esencial fue recuperado (V_a) decantando el condensado en un embudo de decantación. Después de separarse, fue reservado a 4°C en un vial ámbar. El agua floral, es decir la fase pesada del decantador, fue cuantificada. El vapor condensado, que fue purgado, del cuerpo extractor también fue cuantificado. La suma del volumen del agua floral y el condensado purgado (V) dividido entre el tiempo de operación (t_q : 40, 60 y 80 min) resulta en el flujo de vapor promedio (Q).

$$Q = \frac{V}{t_q} \quad (1)$$

El índice energético (I_e) es el resultado de dividir la energía consumida/el volumen de aceite esencial recuperado. La energía estimada consumida fue el resultado de la suma de la energía utilizada por la caldera para llegar a la presión de operación (E_c) y la energía empleada en mantener el flujo de vapor saturado constante a la misma presión (E_q).

$$I_e = \frac{E_c + E_q}{V_a} \quad (2)$$

La E_c se calculó empleando la potencia nominal de la caldera y el tiempo de calentamiento (t_c), que se define como el tiempo empleado en llegar a la presión establecida en el diseño de experimento (10 y 30 psi). Por su parte E_q fue calculado multiplicando el flujo de vapor estimado por el tiempo de operación (t_q) y por la entalpía de vaporización a 10 y 30 psi (2.59 y 2.62 kJ/g).

$$E_c = t_c W \quad (3)$$

$$E_q = t_q H_v Q \quad (4)$$

Resultados

Los resultados obtenidos muestran una variación del rendimiento de aceite esencial en ml de aceite/kg de hoja utilizada desde 1.4 ml/kg hasta 5.6 ml/kg. Las condiciones del máximo rendimiento son la presión de 30 psi, 80 minutos de operación utilizando hoja entera.

Como es de esperar, los tiempos necesarios para alcanzar las presiones de operación se mantuvieron casi constantes en cada corrida experimental. Promediando 17 min en alcanzar la presión de operación de 10 psi, mientras que requirió 25.6 min cuando la presión deseada fue de 30 psi. Con esto, y la potencia nominal de la caldera se estimó la primera parte del índice energético. Promedió 3075 kJ para llegar a las 10 psi y 4620 kJ a 30 psi.

El valor promedio del flujo de vapor fue de 70.6 ml/min, variando desde 60.1 hasta 100, sin embargo, esa lectura puede ser desestimada al presentar demasiada diferencia con la lectura más cercana, que es de 75.1 ml/min.

Los flujos de vapor fueron considerados continuos para fines de cálculo. En la realidad la caldera cuenta con un sistema de control que se encarga de hacer que la resistencia eléctrica entre y salga de operación. El flujo energético necesario para tener funcionando la caldera calculado es de 2.77 kW para la presión de 10 psi, el cual es menor a la potencia nominal de la caldera de 3 kW. Sin embargo, en el caso de la presión establecida en 30 psi, el cálculo arrojó una potencia de 3.3 kW en promedio, lo que es superior la potencia nominal, por lo cual una desviación de 10% es comprensible teniendo en cuenta que se usaron ecuaciones ideales de la entalpia de evaporación para la elaboración de este trabajo. De igual manera, son resultados equiparables a los datos de 2 kWh/g y 1.24 kWh/g reportados por Golmanaki [5] en la extracción de aceite esencial de tomillo por hidrodestilación e hidrodestilación por microondas, respectivamente.

Tabla 1 Índice energético en kWh/ml mostrando el promedio de las dos repeticiones por experimento.

Condición de hoja de eucalipto					
		Entera		Cortada	
Presión (psi)		10	30	10	30
Tiempo (min)	40	1.577	0.694	0.775	1.126
	60	1.347	1.224	1.827	2.129
	80	1.041	1.567	1.081	2.025

Mientras que el mayor rendimiento de aceite esencial en ml/kg se dio en condiciones de 30 psi hoja entera durante 80 min, el mejor índice energético se obtuvo con 30 psi, hojas enteras y 40 min de operación. En ese experimento el índice fue de 0.69 kWh/ml, alcanzando los 2.83 kWh/ml cuando se utilizó hoja cortada manualmente a una presión de 30 psi durante 60 min.

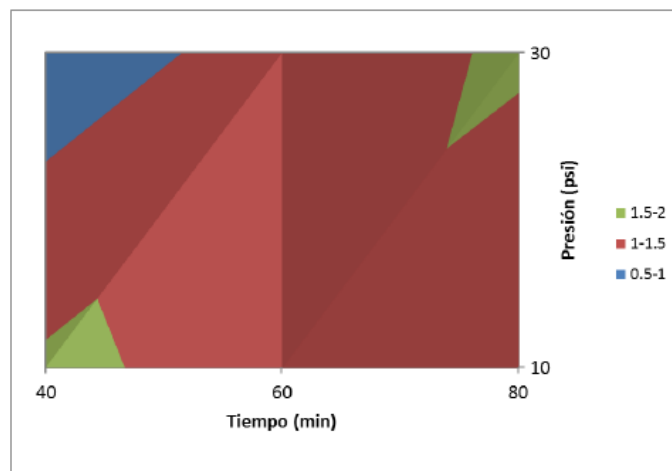


Figura 2 Curva de nivel de índice energético usando hoja entera. Se muestra escala de colores en kWh/ml.

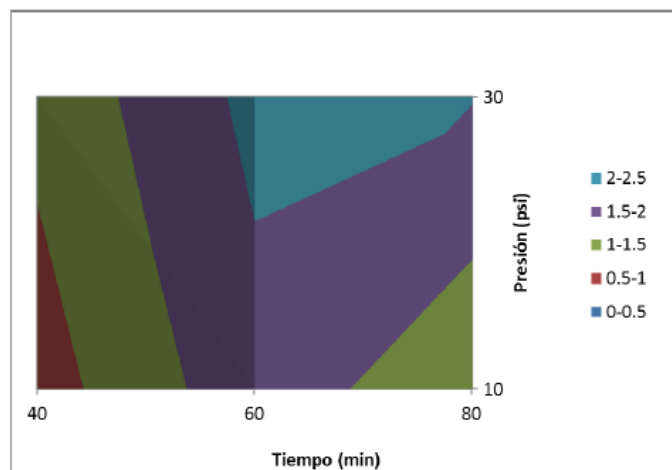


Figura 3 Curva de nivel del índice energético usando hoja cortada manualmente, se muestra su escala de colores en kWh/ml.

Conclusiones

En el presente trabajo, al evaluar la relación entre energía consumida y aceite obtenido, se tiene un panorama más amplio, ya que el consumo de energía es un dato vital al momento de buscar optimizar procesos que requieren un elevado suministro energético, con lo es la generación de vapor. Si bien, el modelo utilizado es bastante simple, podría considerarse que la relación permanece constante si se utilizara otro método real. Es decir, las diferencias

relativas entre los datos obtenidos en el presente trabajo se mantendrían. Por otra parte, los datos podrían ser mejor medidos y calculados con la implementación de instrumentación al equipo utilizado para la corrida experimental.

De acuerdo con la variables experimentales, el mayor rendimiento obtenido fue de 5.6 ml/kg de aceite producido a 30 psi, 80 min y usando hojas enteras. En tanto que el mejor índice energético se presentó a 30 psi de presión, 40 min y usando hojas y fue de 0.69 kWh/ml. Tales resultados requieren que se desarrolle una evaluación económica para determinar el mejor balance entre tales tiempos de residencia que conlleven a resultados técnica y económicamente viables.

Agradecimientos.

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado en la realización de este trabajo. La presentación de esta memoria del congreso se financió con recursos del PIFI 2013.

Referencias

1. K. Cimanga, et al, "Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo", *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 1, No. 79, p. 213-220, 2001.
2. Pompun, Siramon; et al, "Composition and antifungal property of Eucalyptus camaldulensis leaf oils from Thailand", *Record of natural products*, Vol. 7, No. 1, p. 49-53, 2013.
3. Sen-Sung Cheng et al, "Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species", *Biosurce technology*, Vol. 1, No. 100, p. 452-456, 2009.
4. El Moein, N. M. et al, "Antioxidant mechanism of active ingredients separated from Eucalyptus globulus", *Organic chemistry*, Vol. 1, No. 2, p. 1-7, 2012.
5. Golmanaki, Mohammad, et al, "Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oil from Thymus vulgaris" *Food Chemistry*, Vol. 1, No. 109, p. 925-930, 2008.

COMPARACIÓN DE DIFERENTES ARREGLOS PARA LA ETAPA DE PURIFICACIÓN EN UN PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

José Ramón Ayala Bautista^a, Gisela Montero Alpírez^a, Héctor Enrique Campbell Ramírez^a, José Ángel León Valdez^a, Laura Janet Pérez Pelayo^a, Carlos Alfonso Sagaste Bernal^a.

^aInstituto de Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California, Blvd. Benito Juárez y calle de la normal S/N, Colonia insurgentes Este, Mexicali Baja California CP 21280, MÉXICO. ramon.ayala@uabc.edu.mx

Resumen

En los últimos años se ha prestado atención a las materias primas utilizadas en los procesos de producción de biocombustibles. Cada vez, resultan más claras las desventajas de utilizar cultivos destinados a la alimentación para su producción. Lo anterior deja a los residuos como una alternativa a los dilemas presentados. Utilizar residuos de cítricos es una opción que se ha estudiado en los últimos años como materia prima. Un proceso para la producción de bioetanol a partir de cítricos residuales involucra por lo menos 4 etapas: pretratamiento, hidrólisis, fermentación y purificación. Las mejoras en el proceso ocurren en la etapa de fermentación modificando las técnicas para aumentar la producción, y en la etapa de purificación, donde la mejora se logra al aumentar la eficiencia energética. El objetivo del presente trabajo es comparar la relación: recuperación de etanol/unidad de energía utilizada en el proceso. Para ello se presentan 3 arreglos para una etapa de purificación. Se construyeron modelos de equivalencia para simular la biomasa que entra a la purificación en conjunto con el bioetanol producido. La alimentación se obtiene a partir del recurso disponible de residuos de cítricos, presentando un valor de 1562.5 kg/h. Los arreglos requieren una potencia que oscila entre los 318 kW hasta los 2640 kW para obtener corrientes másicas de 33.84 kg/h a 46.789 kg/h. Las composiciones másicas de estas corrientes varían de 6.1% a 91% w/w. Las etapas posteriores en los arreglos se discuten en el trabajo.

Introducción

Gran cantidad de alimentos se cultivan para satisfacer las necesidades humanas, siendo los cítricos uno los cultivos más abundantes en el planeta [1]. México, tan solo en 2011, produjo 6.62 millones de toneladas de cítricos [2], aportando el 5.86% de naranja, 15.5% de limón, 5.13% de toronja de la producción mundial de estos cultivos [2]. Se estima que el 18% de estos cultivos es cáscara, la cual siendo bien aprovechada puede ser utilizada para la producción de bioetanol. El estado de Baja California generó 5717 toneladas de cítricos tan solo en 2011, el cálculo de la alimentación se realiza con base en el recurso disponible para este estado. En los últimos años, la producción de biocombustibles se ha enfocado en las materias primas utilizadas durante la conversión, pasando de cultivos dedicados a alimentos, a los llamados cultivos energéticos y finalmente los residuos. Debido a la abundancia de cítricos en el planeta, el utilizar las cáscaras de los mismos después de ser procesados resulta una propuesta atractiva.

Metodología

Antes de iniciar cualquier proceso, se debe conocer la cantidad de materia prima disponible y el suministro de la misma. Para el presente caso, la región de estudio es Baja California, la materia prima serán los residuos de cítricos consumidos, dichos residuos están conformados por cáscaras de: naranja, limón, toronja y mandarina. Según los datos

publicados por el Sistema Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), el histórico de estos recursos se presenta por la figura 1. Sin embargo se estima que la región produce poco menos del 10% de su demanda [1] por lo que se debe contabilizar el recurso importado así como sus residuos.

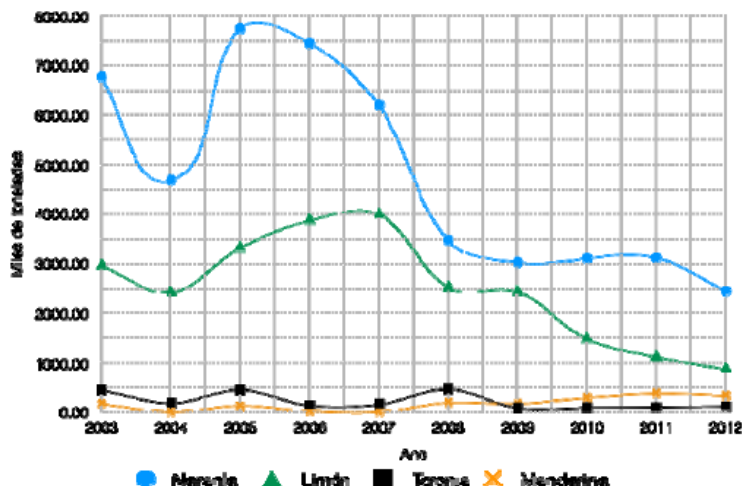


Figura 1.- Histórico de producción de cítricos de Baja California.

Un proceso para la producción de bioetanol a partir de cítricos residuales involucra por lo menos 4 etapas: pretratamiento, hidrólisis, fermentación y purificación. Para calcular el flujo a separar por las columnas de destilación, se trabaja con la entrada al proceso. Se estima que se producen 4888 toneladas de residuos de cítricos anuales, los cuales al ser hidrolizados, se convertirán en azúcares. A partir de los azúcares en los residuos de cítricos, se adiciona una fermentación con la cual, comenzará la generación de bioetanol. Es hasta la etapa de purificación, donde el bioetanol, en conjunto con los resultados de la hidrólisis y la fermentación, serán sometidos a una separación [4]-[5]. Para el presente caso, se calculó un flujo másico de 1562.5 kg/h como alimentación a esta etapa, donde 46.875 kg/h es bioetanol.

La simulación se elaboró utilizando el software comercial Aspen Plus® 8, de AspenTech®[3]. Para los módulos de trabajo, se alternaron los métodos aproximados y rigurosos [4]-[5]. Los productos de la fermentación se precalientan hasta llegar a los 60°C y a partir de ese momento toda la corriente se alimenta a la sección de purificación. Debido a que en un proceso de producción de bioetanol, los productos de la fermentación consisten tanto de una serie de compuestos que no han reaccionado como de productos secundarios de la fermentación; esta mezcla total de especies químicas debe separarse para obtener el bioetanol. La tabla 1 muestra la composición real y la utilizada en la simulación, todas en porcentaje en masa (w/w).

Tabla 1.- Composición porcentual del caldo de fermentación a purificar. (Elaboración propia)

Composición real	% (w/w)	Composición simulada	% (w/w)
Agua	91.633	Agua	91.633
Etanol	3	Etanol	3
Fructosa	0.157	Fructosa	0.157
Glucosa	0.283	Glucosa	4.21
Pectinas	3.1		
Arabinosa	0.5		
Hexosas	0.3		
Galactosa	0.027	Lisina y Vitamina C	1
Otros	1		

La alimentación a la columna se estimó con base en los rendimientos publicados en la bibliografía de procesos similares y el recurso de material vegetal para la región de origen. El flujo de alimentación a la etapa de separación fue de 1562.5 kg/h [4]-[5]. El simulador se trabajó en la opción modular-secuencial con el método de propiedades SRK (ecuación de estado de Soave-Redlich-Kwong) [5]. Los 3 arreglos simulados se presentan en la figura 2.

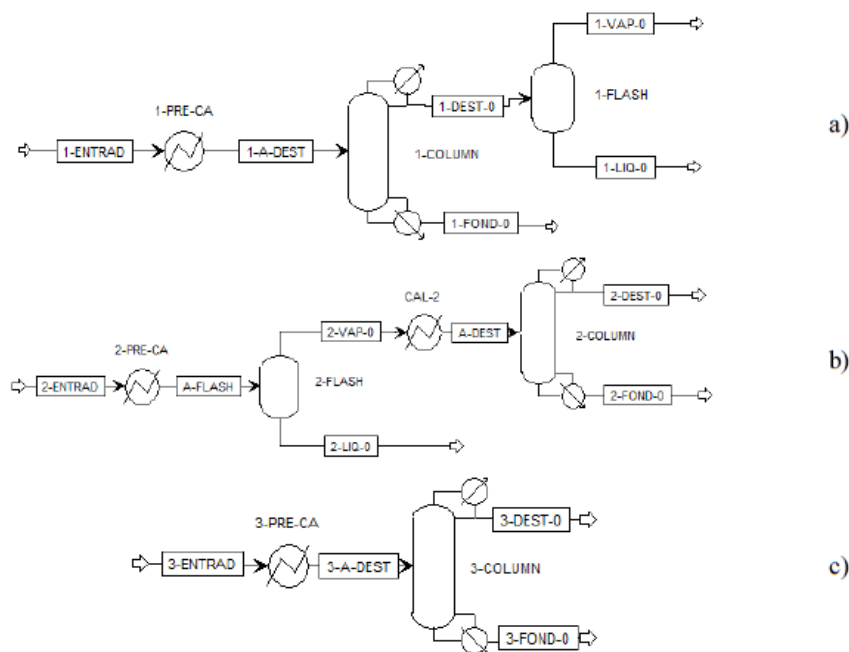


Figura 2.- Arreglos para la separación de bioetanol a partir de residuos de cítricos

La figura 2 es una combinación de destiladores flash y columnas de rectificación. El arreglo a) presenta una columna de rectificación y un destilador flash en serie. La etapa de precalentamiento lleva la temperatura de la corriente hasta 60 °C, después se inyecta en una columna de 20 platos, opera en condiciones de equilibrio con un condensador total. Para

esta columna la razón de reflujo es de 10 y la razón de ebullición es de 2. El destilado, se vuelve alimentación para un destilador flash que opera a 85 °C y 1 atm.

El arreglo b) es semejante al arreglo a), solo cambia el orden de la columna y el destilador flash. Tanto el precalentador como el destilador flash operan a las mismas condiciones que el arreglo a). Entre el flash y la columna de rectificación existe un condensador, el cual produce una corriente a 60 °C para ser alimentada a la columna de rectificación. La alimentación entra al plato 15 de 26 platos que contiene la columna, presenta un reflujo de 10, así como una razón de destilado/alimentación de 0.5. A la relación de la energía utilizada por unidad de masa de etanol producido se le denomina índice energético, el cual se enuncia en la ecuación 1.

$$I_e = \frac{P_n}{m_e} \quad (1)$$

Donde I_e =Índice energético (kW/kg), P_n = Potencia neta utilizada en el arreglo (kW) y m_e = flujo de etanol (kg) por cada hora de proceso. Este índice se calcula para cada arreglo de la figura 2. Comparar la energía suministrada para generar un producto es de suma importancia en la mejora de procesos, pues la cantidad de energía esta altamente asociada a al costo de operación. Mientras menor sea el índice, el proceso es más eficiente.

El arreglo c) se toma como estándar para la purificación de bioetanol, consiste en un precalentador que llevará la temperatura hasta 60°C para después ser inyectado en el plato 10 de una columna de rectificación de 20 platos. La columna opera con un reflujo de 10, una relación de destilado/alimentación de 0.5 y presiones en el condensador y rehervidor de 1 y 1.1 atm respectivamente.

Resultados

Las comparativas de purificación de etanol, así como la potencia utilizada en cada uno de los arreglos se discuten en la tabla 2. Se puede apreciar que los arreglos a) y c) son similares con respecto a la cantidad de etanol purificado. Sin embargo, el arreglo b) presenta un índice energético hasta 78% menor que el arreglo a) y 84% menor que el arreglo c).

Tabla 2.- Comparativa de los 3 arreglos de purificación de etanol.

Concepto	Arreglo a)	Arreglo b)	Arreglo c)
Salida másica de etanol (kg/h)	46.122	33.84	46.789
Salida molar de etanol (kmol/h)	2.172	0.736	1.017
Composición molar de etanol	0.461	0.924	0.0251
Composición másica de etanol	0.664	0.91	0.061
Energía suministrada (kW)	1913	318	2640
Energía retirada (kW)	1761	18	0
Índice energético (kW/kg)	41.477	9.397	56.424

En la tabla 3 se indican las composiciones másicas de todas las especies químicas involucradas en las corrientes de la figura 2

Tabla 3.- Flujos y composiciones másicas de las corrientes en los arreglos

Corriente	Flujo másico (kg/h)	Agua	Etanol	Glucosa	Ácido Sulfúrico	Fructuosa	Lisina	Ácido Ascórbico
Entradas	1562.50	0.9164	0.0300	0.0421	0.0020	0.0016	0.0050	0.0030
1-Destilado	159.15	0.6902	0.2943	0.0000	0.0000	0.0154	0.0000	0.0000
1-Fondo	1403.35	0.9422	0.0000	0.0469	0.0022	0.0000	0.0055	0.0032
1-Líquido	89.68	0.9924	0.0076	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
1-Vapor	69.47	0.3003	0.6642	0.0000	0.0000	0.0355	0.0000	0.0000
2-Destilado	37.18	0.0235	0.9101	0.0000	0.0000	0.0664	0.0000	0.0000
2-Fondo	14.34	0.9995	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0005	0.0000
2-Líquido	1510.98	0.9376	0.0085	0.0435	0.0021	0.0000	0.0052	0.0031
2-Vapor	51.52	0.2948	0.6568	0.0000	0.0000	0.0479	0.0005	0.0000
3-Destilado	759.98	0.9352	0.0616	0.0000	0.0000	0.0032	0.0000	0.0000
3-Fondo	802.02	0.8986	0.0000	0.0820	0.0039	0.0000	0.0096	0.0059

Conclusiones

Trabajar con columnas de rectificación en la primera etapa genera composiciones másicas de 4.45% a 8.94% con consumos de potencia por arriba de los 1200 kW. Sin embargo, al utilizar destilación flash en la primera etapa se logran composiciones másicas de 68.75%, con una potencia de 64 kW. El utilizar columnas de destilación como inicio de separación resulta energéticamente costoso, lo anterior por su diseño en forma de platos, el cual permite a especies químicas como el agua, alcanzar concentraciones elevadas conforme crece la columna. El usar un destilador flash como primera etapa reduce la carga energética, trabajando a una presión de 1 atm y 85 °C, se requiere únicamente de 318 kW para lograr una fracción másica superior a 91%. El arreglo con el menor índice energético y mayor pureza de etanol fue el arreglo b) con 9.397 kW/kg de etanol producido.

Agradecimientos

Los autores agradecen al CONACYT por el apoyo para la realización del presente trabajo. La presente memoria del congreso se financió con recursos el PIFI 2013.

Referencias

1. Mehdi Lohrasbi, Mohammad Pourbafrani, Claes Niklasson, Mohammad J. Taherzadeh, "Process design and economic analysis of a citrus waste biorefinery with biofuels and limonene as products", *Bioresource and Technology*, 101, 7382-7388, 2010.
2. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics (FAOSTAT) <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor> fecha de consulta Octubre 2013.
3. AspenTech, Aspen Plus V8, Aspen Technology Inc, 1994-2014.
4. Marina O.S. Dias, Marcelo Modesto, Adriano V. Ensinas, Silva A. Nebra, Rubens Maciel Filho, Carlos E.V. Rossell, "Improving bioethanol production from sugarcane: evaluation of distillation, thermal integration and cogeneration systems", *Energy*, 36, 3691-3703, 2011.
5. Massimiliano Errico, Ben-Guang Rong, "Synthesis of new separation processes for bioethanol production by extractive distillation", *Separation and Purification Technology*, 96, 58-67, 2012.



"PAISII HILENDARSKI" UNIVERSITY OF PLOVDIV

Bulgaria 4000, Plovdiv, "Tzar Assen str. 24; Central phone: (032) 629 094, 629 095, 629 096 Rector:
(032) 631 459, 631 449 fax (032) 628 390 e-mail: pduniv@pu.acad.bg

CERTIFICATE

This document certified that Mr. Carlos Alfonso Sagaste Bernal student at UABC, Mexicali, successfully participated into students practical course (laboratory course) on Microbial biotechnologies at Department "Biochemistry and microbiology" at "Paisii Hilendarski" University of Plovdiv, since 1st of October 2014 to the 31st of October 2014, by the following program:

Topic of the practical laboratory lesson	Duration in academic hours
Production of Single Cell Protein by yeasts	4 academic hours
Influence of nutritive medium composition on the production of microbial biomass by <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4 academic hours
Biotransformation of D-sorbitole into L-sorbose by <i>Gluconobacter oxydans</i>	4 academic hours
Biotransformation of anthranilic acid into L-tryptophan by <i>Candida utilis</i>	4 academic hours
Biosynthesis of tetracycline by mutant strain of <i>Streptomyces aureofaciens</i>	4 academic hours

Assoc. Prof. PhD Velizar Gochev

Head of Department "Biochemistry and microbiology"

AMIDIQ

La Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, A.C.

Otorga la presente

CONSTANCIA

a

SAGASTE BERNAL CARLOS ALFONSO

por su asistencia al:

XXXV Encuentro Nacional de la AMIDIQ

"La interdisciplinariedad en la Ingeniería Química"

Llevado a cabo del 6 al 9 de mayo de 2014 en Puerto Vallarta, Jalisco, México


Dr. Juan Gabriel Segovia Hernandez
PRESIDENTE DE AMIDIQ


Dr. Tomás Laveros García
PRESIDENTE DEL COMITÉ TÉCNICO



La Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, A. C.

"La Interdisciplinariedad en la Ingeniería Química"

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a:

Carlos Alfonso Sagaste Bernal, Gisela Montero Alpírez, José Ramón Ayala Bautista, Conrado
García González

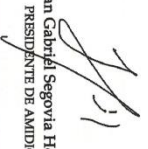
Por la presentación del trabajo:

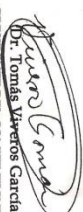
**"CÁLCULO ENERGÉTICO EN LA PRODUCCIÓN DE VAPOR PARA LA EXTRACCIÓN DE
ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO"**

ID: 208

XXXV Encuentro Nacional

Puerto Vallarta, Jalisco México, 6 al 9 de Mayo de 2014


Dr. Juan Gabriel Segovia Hernandez
PRESIDENTE DE AMIDIQ


Dr. Tomás Viveros García
PRESIDENTE DEL COMITÉ TÉCNICO

AMIDIO

La Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química, A. C.
"La Interdisciplinariedad en la Ingeniería Química"

Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a:

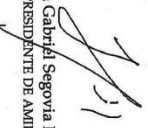
José Ramón Ayala Bautista, Gisela Montero Alpírez, Héctor Enrique Campbell Ramírez, José
Ángel León Valdez, Laura Janet Pérez Pelayo, Carlos Alfonso Sagaste Bernal

Por la presentación del trabajo:

**"COMPARACIÓN DE DIFERENTES ARREGLOS PARA LA ETAPA DE PURIFICACIÓN EN UN
PROCESO DE PRODUCCIÓN DE BIOETANOL"**

ID: 245

XXXV Encuentro Nacional
Puerto Vallarta, Jalisco México, 6 al 9 de Mayo de 2014


Dr. Juan Gabriel Segovia Hernández
PRESIDENTE DE AMIDIO


Dr. Tomás Ximenes García
PRESIDENTE DEL COMITÉ TÉCNICO