



**Obtención de extractos vegetales de salvia amarga (*Austroeupatorium inulifolium*)
mediante agua subcrítica, bioetanol y arrastre con vapor para la preparación de emulsiones
con posible aplicación insecticida**

Juan Sebastian Giraldo Villegas

Ingeniero Químico

Asesor

Mauricio Esteban Sánchez, Magister en Ingeniería

Universidad de Antioquia
Facultad de Ingeniería
Departamento de Ingeniería Química
Medellín
2023

Cita	(Giraldo Villegas, 2023)
Referencia	Giraldo Villegas, J.S., (2023). <i>Obtención de extractos vegetales de salvia amarga (Austroeupatorium inulifolium) mediante agua subcrítica, bioetanol y arrastre con vapor para la preparación de emulsiones con posible aplicación insecticida</i> [Trabajo de grado]. Universidad de Antioquia, Medellín
Estilo APA 7 (2020)	



Centro de Documentación Ingeniería (CENDOI)

Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

Rector: John Jairo Arboleda Céspedes.

Decano/Director: Julio César Saldarriaga.

Jefe departamento: Lina María González Rodríguez.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Dedicatoria

“La constancia y la paciencia hacen al sabio, la virtud hace al hombre”

Agradecimientos

Primero, agradezco al creador, por permitirme hacer este camino, colmado de aprendizajes, alegrías y bendiciones.

Agradezco a mi esposa Alejandra que ha sido siempre una gran motivación y apoyo para continuar, persistir y materializar este ideal.

Agradezco al profesor Mauricio Sánchez, hombre práctico y de amplios conocimientos. Por plantear una propuesta que se convirtió en un reto y abrió un inmenso panorama de posibilidades. Además de tener siempre la paciencia y la dedicación para apoyar en la materialización del ideal. Agradezco a mis padres Martha y Francisco, Oscar y Ofelia porque me proporcionaron las bases de mi formación y me inculcaron que un gran resultado solo se consigue a partir de un gran esfuerzo.

Agradezco a la Universidad de Antioquia, espacio diverso y propicio para la adquisición de todo tipo de conocimientos.

Agradezco a mi familia, un grupo de excelentes personas que siempre me han brindado su apoyo y comprensión incondicional.

Y por último agradezco a todas esas personas que han hecho parte de este proceso, y que sin saberlo han puesto su granito de arena apoyando, facilitando, dando una palabra de aliento o simplemente acompañando en esta maravillosa experiencia.

Tabla de contenido

Resumen	10
Abstract	11
Introducción	12
1 Planteamiento del problema	14
1.1 Pregunta de investigación.....	15
2 Objetivos	16
2.1 Objetivo general	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
3 Marco teórico	17
3 Metodología	20
4 Resultados	23
4.1 Adecuación y puesta a punto del sistema SWE	23
4.2 Extracción con agua subcrítica SWE (<i>Subcritical Water Extraction</i>)	25
4.2.1 Ensayo 1. SWE (<i>Subcritical Water Extraction</i>).....	33
4.2.2 Ensayo 2. SWE (<i>Subcritical Water Extraction</i>).....	35
4.2.3 Ensayo 3. SWE (<i>Subcritical Water Extraction</i>).....	38
4.2.4 Ensayo 4. SWE (<i>Subcritical Water Extraction</i>).....	40
4.3 Extracción por maceración con bioetanol	43
4.4 Obtención de aceites esenciales mediante arrastre con vapor.....	47
4.5 Preparación de emulsiones	49
4.5.1 Pruebas de solubilidad.....	50
5 Análisis.....	55
6 Conclusiones	57
7 Referencias	60

Lista de tablas

Tabla 1. Matriz de experimentos para cuatro ensayos con condiciones distintas	25
Tabla 2. Condiciones de operación ensayo SWE 1	33
Tabla 3. Calentamiento del equipo ensayo 1	33
Tabla 4. Condiciones de operación ensayo 2	35
Tabla 5. Calentamiento del equipo-Estabilidad del equipo-enfriamiento ensayo 2.....	36
Tabla 6. Condiciones de operación ensayo 3	38
Tabla 7. Calentamiento del equipo-Estabilidad del equipo-enfriamiento ensayo 3.....	38
Tabla 8. Condiciones de operación ensayo 4	40
Tabla 9. Calentamiento del equipo-Estabilidad del equipo-enfriamiento ensayo 4.....	41
Tabla 10. Relación y condiciones de cada extracto.....	45
Tabla 11. Volúmenes de etanol y agua según el extracto.	46
Tabla 12. Condiciones de operación y método de extracción.	46
Tabla 13. Condiciones y relación de rendimiento masa vegetal/extracto	49
Tabla 14. Ensayo de solubilidad extractos para preparación de emulsiones.....	50

Lista de figuras

Figura 1. Curva de temperatura vs tiempo para el ensayo 1	34
Figura 2. Curva de presión vs tiempo para el ensayo 1	35
Figura 3. Curva de temperatura vs tiempo para el ensayo 2	37
Figura 4. Curva de presión vs tiempo para el ensayo 2	37
Figura 5. Curva de temperatura vs tiempo para el ensayo 3	39
Figura 6. Curva de presión vs tiempo para el ensayo 3	40
Figura 7. Curva de temperatura vs tiempo para el ensayo 4	42
Figura 8. Curva de presión vs tiempo para el ensayo 3	42

Lista de ilustraciones

Ilustración 1. Especímenes de Salvia amarga (<i>Austroeupatorium inulifolium</i> (Kunth) R.M.King & H.Rob.).....	17
Ilustración 2. Estado del sistema previo a la adecuación.....	23
Ilustración 3. Adecuación del sistema de control de temperatura	24
Ilustración 4. Secado y espécimen de la planta Salvia Amarga	24
Ilustración 5. Preparación previa del material vegetal.....	25
Ilustración 6. Equipo destapado que incluye de tapa, bridas y material vegetal	26
Ilustración 7. De izquierda a derecha: Cilindro de alta presión del gas inerte(nitrógeno), sistema de control y tanque cerrado en operación.....	27
Ilustración 8. Extracción al vacío del material vegetal (Torta): Vista lateral y desde arriba.	27
Ilustración 9. Apariencia del extracto obtenido y almacenamiento protegido de la luz.....	28
Ilustración 10. Masa vegetal de la que se obtuvo el extracto y canastilla cerrada para ingresar al tanque de extracción.....	29
Ilustración 11. Canastilla cerrada dentro del tanque de extracción y condiciones	29
Ilustración 12. Obtención del extracto y canastilla al finalizar el tiempo de operación.	30
Ilustración 13. Operación de drenado del extracto.	30
Ilustración 14. Equipo de laboratorio fabricado en acero inoxidable para destilación al vacío. ...	31
Ilustración 15. Resina que queda después de la extracción.	31
Ilustración 16. Resina dispuesta en un contenedor plástico con tapa.	32
Ilustración 17. Pesaje de muestras.	32
Ilustración 18. Maceración de las plantas y extracción en proceso.....	43
Ilustración 19. Preparación de los extractos con diferentes concentraciones de bioetanol	44
Ilustración 20. Rehervidor del sistema de destilación y resina libre de solvente	44
Ilustración 21. Resina libre de solvente y extracción de una etapa de destilación.	45

Ilustración 22. Recipiente para realizar la extracción de arrastre con vapor y probeta con el producto.....	47
Ilustración 23. Inyectores de vapor para arrastre.....	48
Ilustración 24. Malla cobertura inyectores de vapor y inicio de carga material para extracción.	48
Ilustración 25. Pruebas de solubilidad de glicerina con los extractos del ensayo 1 y 2 (SW) respectivamente.....	50
Ilustración 26. Pruebas de solubilidad de extractos etanólicos obtenidos a partir de etanol 96% y 60% respectivamente con glicerina.....	51
Ilustración 27. Pruebas de solubilidad de extractos obtenidos a partir de etanol al 30% en glicerina y aceite vegetal.....	52
Ilustración 28. Pruebas de solubilidad de extractos obtenidos a partir de etanol al 60% y 30% en aceite.....	52
Ilustración 29. Materiales y equipos para la preparación de las emulsiones.....	53
Ilustración 30. Agitación del extracto en aceite emulsificado y preparación extracto acuoso.....	53
Ilustración 31. Etapa inicial de agitación y emulsificación del extracto orgánico.....	54
Ilustración 32. Apariencia final de la preparación del extracto: soluble en agua y soluble en aceite emulsificado.....	54

Siglas, acrónimos y abreviaturas

SWE	Subcritical Water Extraction.
°C	Unidad de temperatura: grados centígrados.
h	Unidad de tiempo: horas.
min	Unidad de tiempo: minutos.
g	Unidad de masa: gramos.
ml	Unidad de Volumen: mililitros.
L	Unidad de Volumen: litros.
bar	Unidad de presión: bares.
Set point	Punto de referencia o punto de control de la temperatura.
EtOH	Bioetanol.
SW1	Subcritical water experimento 1.
SW2	Subcritical water experimento 2.
SW3	Subcritical water experimento 3.
SW4	Subcritical water experimento 4.
W	Masa en g.
barg	Presión manométrica en bares.
mmHg	Unidad de presión: milímetros de mercurio.
(W/O)	Emulsión agua en aceite.
(O/W)	Emulsión aceite en agua.
(W/O/W)	Emulsión tipo complejo.
UdeA	Universidad de Antioquia.

Resumen

Se obtuvieron extractos totales de salvia amarga (*Austroeupeatorium inulifolium*) por diferentes técnicas de extracción incluidas extracción con agua subcrítica, maceración con soluciones metabólicas y arrastre con vapor para preparar emulsiones o soluciones que pudieran tener actividad insecticida. Se acondicionó un recipiente para trabajo a presión con un control automático de temperatura y un suministro de gas inerte para generar un estado inicial de alta presión sin depender del aumento de la temperatura para realizar extracciones de tipo SWE. A los extractos totales obtenidos se les sometió a procesos de purificación y se recuperaron los solventes e hidrolatos mediante destilación al vacío realizada por lotes. Se comparó el rendimiento de los extractos totales y aceite obtenidos de la salvia amarga por diferentes métodos y a diferentes condiciones encontrándose que a mayor presión y tiempo de extracción en el proceso SWE se logró el mayor rendimiento de extracto (30.86% a 30 bares y 3 horas) mientras que la maceración con etanol al 96% dio el menor rendimiento en extracto (10.28%). el rendimiento en aceite esencial fue de 0.135%. Los resultados de rendimiento obtenido con el método SWE muestran diferencias de hasta un 300% comparado con la extracción realizada usando etanol. Las emulsiones preparadas con los extractos insolubles en agua presentaron alta estabilidad a concentraciones de extracto total similares a productos comerciales. Los productos obtenidos y las emulsiones preparadas se lograron a temperaturas bajas, lo que permite suponer un alto contenido de compuestos como metabolitos secundarios que no hayan sufrido degradaciones y que pudieran presentar actividad biológica.

Palabras clave: *Austroeupeatorium inulifolium*, emulsión, extractos bioactivos, SWE.

Abstract

Total extracts of bitter sage (*Austroeupatorium inulifolium*) were obtained by different extraction techniques including subcritical water extraction, maceration with metabolic solutions, and steam stripping to prepare emulsions or solutions that might have insecticidal activity. A pressure vessel with automatic temperature control and inert gas supply was fitted to generate an initial high-pressure state without relying on temperature rise to perform SWE-type extractions. The total extracts obtained were subjected to purification processes and the solvents and hydrolates were recovered by vacuum distillation carried out in batches. The yield of the total extracts and oil obtained from bitter sage by different methods and under different conditions was compared, finding that the higher the pressure and extraction time in the SWE process, the higher extract yield was achieved (30.86% at 30 bars and 3 hours) while maceration with 96% ethanol gave the lowest extract yield (10.28%). the essential oil yield was 0.135%. The yield results obtained with the SWE method show differences of up to 300% compared to the extraction carried out using ethanol. The emulsions prepared with the water-insoluble extracts presented high stability at total extract concentrations similar to commercial products. The products obtained and the emulsions prepared were obtained at low temperatures, which allows us to assume a high content of compounds such as secondary metabolites that have not undergone degradation and that could present biological activity.

Keywords: *Austroeupatorium inulifolium*, emulsion, bioactive extracts, SWE

Introducción

Las bacterias, hongos, virus, e insectos son los causantes de grandes pérdidas en las cosechas ya que provocan una disminución en la calidad y/o cantidad de los productos que se obtienen de las plantas bajo especificaciones comerciales. La solución a este tipo de problemas se ha dado a partir del uso de insecticidas sintéticos los cuales utilizan compuestos químicos que frecuentemente contaminan el agua al filtrarse a través del suelo (*Badii, M. H., & Varela, S., 2008*), y también pueden contaminar suelos y aire al difundirse en dichos medios durante la aspersión y las lluvias. Los restos de estos plaguicidas se dispersan en el ambiente y se convierten en contaminantes para los sistemas biótico (animales y plantas principalmente) y abiótico (suelo, aire y agua) amenazando su estabilidad y representando un peligro de salud pública (Del Puerto Rodríguez, A. M., 2014) a lo largo del tiempo tardando mucho en inactivarse y promoviendo la aparición de organismos resistentes por un uso inadecuado de los productos (*Celis, C. R., Flores, V. T., 2014*).

Es por ello que se busca un método alternativo para el control de plagas y enfermedades basado en extractos y aceites esenciales de diferentes plantas que actúan como agentes de control de bacterias, hongos o insectos (*Vargas, R., & Ubillo, A. 2001*) que además suelen evitar el problema de la resistencia de los organismos dada gran variedad de compuestos químicos que lo componen. Cada vez los extractos vegetales para el control de plagas toman más fuerza ya que se ha encontrado que son económicamente viables y el impacto al medio ambiente es menor que los insecticidas sintéticos o incluso inexistente.

La calidad y la producción agrícola se ve afectada por diferentes insectos que lo atacan, el Monalonion (*Monalonium dissimulatum*), también conocido como coclillo, chinche del cacao, chupador o grajo amarillo o chupador del fruto, es uno de ellos; el Monalonion es del orden Hemiptera, familia Maridae (cápside), se alimenta directamente de la mazorca del cacao (*Huaycho, 2017*) convirtiéndose además en un vector importante para el hongo *Moniliophthora roreri* que se

alimenta de los frutos y dispersa millones de esporas que forman hifas infectivas que se encargan de penetrar el fruto y desarrollar necrosis en la parte interna de la mazorca (*Restrepo, 2012*).

Con este proyecto se pretende desarrollar un prototipo de un bioinsecticida con extractos totales de la salvia amarga, los cuales se obtienen a partir de procesos de extracción con agua subcrítica y bioetanol; también se espera obtener aceite esencial de la planta mediante la técnica de arrastre con vapor.

1 Planteamiento del problema

El cacao (*Theobroma cacao* L) colombiano se destaca pen el mundo por sus características organolépticas especiales y su gran calidad. Los principales departamentos productores son: Antioquia, Arauca, Huila, Santander y Tolima con un 72 % de la producción nacional. Entre el 2021 y el 2022 se obtuvo la mayor producción del grano en la historia en Colombia.

La exportación de nacional de cacao está regida por altos índices de calidad del producto, sin embargo puede presentarse el problema de baja calidad y productividad agrícola por la proliferación de diferentes insectos que atacan al fruto; uno de ellos es el insecto Monalonion (*Monalonium dissimulatum*) el cual también es conocido como coclillo, chinche del cacao, chupador o grajo amarillo o chupador del fruto. El Monalonion es del orden Hemíptera, familia Maridae (cápside), se alimenta directamente de la mazorca del cacao (*Huaycho, 2017*) convirtiéndose además en un vector importante para la proliferación del hongo *Moniliophthora roreri* que se alimenta de los frutos y dispersa millones de esporas que forman hifas infectivas que se encargan de penetrar el fruto y desarrollar necrosis en la parte interna de la mazorca (*Restrepo, 2012*).

Algunos productos fabricados a partir de componentes bioactivos de origen vegetal podrían ser un método alternativo para el control de plagas y enfermedades de diferentes plantas que actúan como agentes de control de bacterias, hongos o insectos (*Vargas, R., & Ubillo, A. 2001*); dichos productos además suelen caracterizarse por evitar el problema de la resistencia de los organismos dado que los extractos totales están compuestos por una gran variedad de compuestos químicos. Estas son razones por las cuales cada vez los extractos vegetales para el control de plagas toman más fuerza e interés por el mercado ya que se ha encontrado que son económicamente viables y el impacto al medio ambiente y a la salud humana es menor que los insecticidas sintéticos; incluso llegan a ser inexistentes los impactos negativos de dichos productos.

Con el desarrollo de este proyecto se pretende desarrollar un prototipo de bioinsecticida con extractos totales de la salvia amarga, los cuales se obtienen a partir de procesos de extracción con agua subcrítica y bioetanol; también se espera obtener aceite esencial de la planta mediante la técnica de arrastre con vapor para incorporarlo en un prototipo. Con dichos metabolitos se busca formular productos o emulsiones que pudieran ser útiles como insecticidas para el control del Monalonia, una plaga que afecta de manera frecuente a los cultivos de cacao, café y aguacate. Dentro de los impactos que se persiguen se encuentran: menor afectación para el medio ambiente por no usar insecticidas sintéticos, mayor selectividad en el control del insecto y menor carga residual en la tierra y en los frutos para potenciar un aumento en la calidad del producto y la posibilidad de exportación. Adicionalmente se espera fortalecer la formación de un estudiante de pregrado en ingeniería química, adatar la tecnología de extracción con agua subcrítica y mejorar las capacidades científicas y tecnológicas del departamento en técnicas de extracción y purificación de sustancias bioactivas de origen vegetal.

1.1 Pregunta de investigación

¿Pueden obtenerse componentes bioactivos de la salvia amarga a partir de métodos de extracción como agua subcrítica, maceración con bioetanol y arrastre con vapor para preparar con los extractos totales y aceites esenciales, emulsiones y soluciones que pudieran ser usadas para el control de Monalonia en un cultivo de cacao?

2 Objetivos

2.1 Objetivo general

Obtener un prototipo de insecticida biológico a partir de compuestos bioactivos de la Salvia amarga (*Austroeupatorium inulifolium*) utilizando métodos de extracción con agua subcrítica, maceración con bioetanol y arrastre con vapor.

2.2 Objetivos específicos

Determinar el rendimiento de extractos totales y aceite esencial obtenidos mediante maceración con bioetanol, extracción con agua subcrítica y arrastre con vapor.

Adecuación y puesta a punto de un equipo a presión para realizar extracciones con agua sobre material vegetal a condiciones subcríticas de hasta 30 bares y 150°C

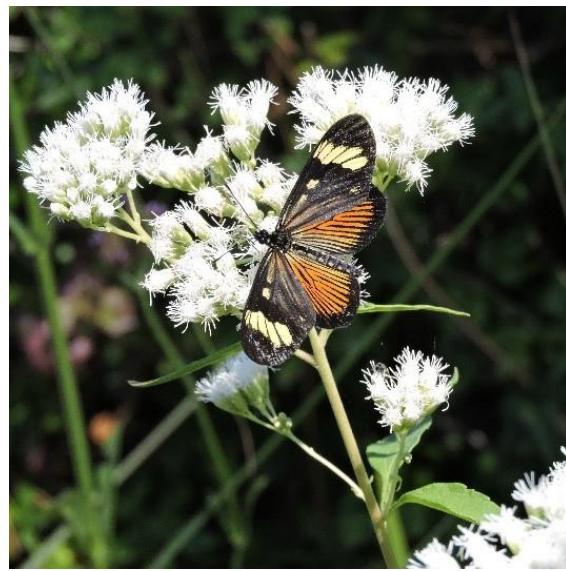
Preparación de emulsiones con alta estabilidad a partir de extractos bioactivos obtenidos de Salvia amarga, *Austroeupatorium inulifolium*, con composiciones similares a productos comerciales.

3 Marco teórico

La *Austro eupatorium inulifolium* conocido popularmente como salvia amarga es una especie que pertenece a la familia Asteraceae que crece en Sudamérica, desde Panamá hasta la Argentina. Se desarrolla en sabanas, pantanos y borde de bosques entre los 100 a 2100 metros de altura (Lucena, 2020) prefiriendo condiciones húmedas, incluso suele crecer incluso a mayores alturas. En algunos lugares se conoce como mariposera blanca por la capacidad de atraer particularmente mariposas que se alimentan de su néctar. Es un arbusto trepador ramificado que puede alcanzar los 5 metros de altura, posee tallos cuadrangulares con médula corchosa cubierto de pelos cortos. Sus hojas son simples, opuestas, elíptico-lanceoladas dentadas, ásperas al tacto de 7 a 18 cm de largo y de 2.5 a 8 cm de ancho. Presentan cabezas florales de 2 a 3 mm de diámetro y de 5 a 6 mm de largo dispuestas en capítulos densos en corimbos compuestos terminales o subterminales, con flores pequeñas, blancas y fragantes (Tsai-Wen Hsu, 2006) y en algunos lugares y casos es considerada una maleza (Álzate, 2013). En la ilustración 1 se muestran algunos especímenes.

Ilustración 1

Especímenes de Salvia amarga (Austro eupatorium inulifolium (Kunth) R.M.King & H.Rob.)



La actividad biológica de la familia asterácea, ha sido registrada por autores desde hace más de 150 años en América y Europa como lo documenta (*Schleier and Peterson ,2011*). Para especies como la *Tagetes minuta* (asterácea), se ha determinado actividad nematocida y larvicida (*Amel and Mehlhorn, 2006*). Para el crisantemo (asterácea), se ha determinado también su actividad insecticida (*Schleier and Peterson 2011*). Para el *Clibadium surinamense* (asterácea), se ha determinado su actividad insecticida sobre el Monalonión en plantaciones de cacao en Perú (*Serna, E.V.,2019*). Del mismo modo se hace referencia a una gran variedad de especies con actividad biológica insecticida (*Bilal ,2022*). La actividad biológica que poseen estas plantas, cuyos extractos actúan como nematocidas, larvicidas e insecticidas, se debe a la presencia de compuestos de tipo terpenos, fenoles y alcaloides (*Serna, E.V., 2019; Kose, 2000*). Los compuestos para los cuales se ha evidenciado una mayor actividad biológica son: α -pineno, β -caryophyllene, limoneno, D-germacreno, Espatunelol, α -caryophyllene, caryophyllene oxide, β -pineno entre otros similares mencionados por (*Grande-tovar,2016; Perez, 2006; Lancelle 2009*). Compuestos que hacen parte de aceites esenciales que se obtienen por medio del método de arrastre con vapor (*Lucena 2019; Grande-Tovar, 2016*).

La maceración es una técnica de extracción sólido-líquido en el que una cantidad de muestra, generalmente en polvo con tamaño de partícula específico, es puesta en contacto con un solvente o mezclas de solventes, a determinadas condiciones de tiempo, temperatura, relación sólido-solvente, con o sin agitación; hasta que los compuestos bioactivos de interés se solubilizan plenamente en o los solventes empleados. Las principales desventajas de este método, son los largos periodos de extracción que incluso comprenden hasta más de 24 horas. Dichos periodos de extracción no se ven reflejados en los rendimientos, puesto que son relativamente bajos. (Valdiviezo Marcelo, J. 2021).

Los extractos etanólicos se obtienen del material vegetal procesado de diversas formas, algunas se citan a continuación: la primera es tomar las cantidades de material vegetal macerado someterlo a una proporción de 9:1 (etanol al 96%: material vegetal) a temperatura ambiente por 72 horas; para esta extracción se presentan compuestos como lactonas sesquiterpénicas, cumarinas,

esteroides y flavonoides, descritos como alelopáticos (*Machiaro-Martínez, 2017; Serna, 2017*). La segunda es la extracción de las hojas secas pulverizadas colocadas en un embudo Soxhlet en una relación de 300 ml de etanol al 96% para 10 g de material vegetal (relación 30:1) hasta agotar la muestra, esto es, hasta que no se observa cambio de coloración en el extracto. De esta extracción se realizarán pruebas fitoquímicas, para determinar flavonoides, terpenos, cumarinas y saponinas. (*Torres-Pelayo, 2018*). La tercera es una técnica en la cual se secan las plantas al aire y a la sombra y se pulverizan en un molino para luego ponerlas en un equipo Soxhlet en una relación de 600 ml de etanol para 150 g (relación 4:1) por un periodo de 12 horas. Los ensayos fitoquímicos presentan los compuestos mencionados en las dos anteriores y actividad biológica, en este caso sobre ácaros. (*Tello-Mercado, 2017*). La cuarta técnica consiste en macerar el material y someterlo a extracción soxhlet a 50°C hasta agotar la muestra, con una relación etanol al 96% a material vegetal de 4:1. Del mismo modo fueron detectados en la muestra metabolitos secundarios como flavonoides, terpenoides, alcaloides y cumarinas, los cuales presentan actividad biológica. (*Ávila et al., 2006*).

La extracción con agua subcrítica SEW ó SCW es un proceso que se viene implementando de forma documentada aproximadamente desde el año 1994 como se muestra en (*Saldana, M. D., & Valdivieso-Ramírez, C. S. 2015*). Las aplicaciones de este proceso que consiste en poner agua en un recipiente a presión y llevarlo a las condiciones críticas del agua entre los 100 y 374°C y al alrededor de los 30bar y de este modo, aprovechar la variación de la constante dieléctrica que tiene importantes efectos sobre la variación de la polaridad de esta. Al mismo tiempo que mejora su afinidad por compuestos presentes en los materiales de origen vegetal que normalmente presentarían mayor afinidad por solventes de naturaleza no polar como el hexano.

La alta presión, relativamente alta temperatura y la presencia de un gas inerte que permite dar un inicio desde una presión inicial superior a la atmosférica, propician las condiciones para que el agua se mantenga en estado líquido, la polaridad se desplace hacia valores menores y por efecto de la presión se aumente la penetración del solvente sobre los intersticios del material vegetal ablandando las paredes de celulosa o hemicelulosa. (*Cvetanović, A., 2017*)

Los aceites esenciales son mezclas de compuestos que se encuentran contenidos en vesículas secretoras de hojas, flores, corteza, semillas y frutos de muchas especies. (*Mendoza-Pico,*

V. 2020). Y sus aplicaciones como un producto vegetal con actividad antimicrobiana están registrados desde antes de los años 70 del siglo pasado. (Dabbah, R., Edwards, V. M., & Moats, W. A. (1970). La obtención de este tipo de compuestos se realiza por excelencia, por medio del método conocido como destilación por arrastre con vapor. El cual consiste en poner el material en contacto con un flujo de vapor de agua, el cual de encarga de abrir y extraer pequeñas cantidades de aceite contenidas en las vesículas secretoras para luego hacerlo pasar por un condensador que devuelve el agua a su estado líquido y recogerlo en un matraz o beaker en el cual se da la separación por diferencia de fases. El rendimiento de este proceso es muy bajo, de porcentajes de menos del 1% de aceite respecto al material vegetal por lo que en ocasiones resulta económicamente muy costoso. (Sánchez, Aréballo. 2021).

Las emulsiones son el producto de una mezcla de dos fases líquidas inmiscibles la cual una se dispersa en la otra. De forma general, una emulsión consiste en una fase continua que se conoce como fase externa, donde se dispersan las gotas y una fase dispersa se puede definir como fase interna o discontinua (Montoya Ruiz, A. 2019). Las emulsiones requieren una fuerza mecánica para dispersar una fase en la otra, además la adición de un material con actividad de superficie que proporcione estabilidad, de otro modo las mezcla se separaría en capas como función de sus diferencias de densidad. (Nour, A. H. 2018). Las emulsiones pueden ser (W/O) agua en aceite, (O/W) aceite en agua ó emulsiones de tipo complejo (W/O/W). En este caso particularmente la fase dispersa es el aceite por lo cual la emulsión es de tipo (O/W).

3 Metodología

La metodología que se empleó se muestra a continuación:

Revisión crítica del estado del arte

Se realiza una revisión crítica y análisis de referencias bibliográficas para determinar cuáles experimentos pueden realizarse para cumplir mejor con el cumplimiento de los objetivos trazados; también para determinar la mejor manera de encontrar la actividad insecticida del extracto formulado como emulsión sobre el *Monalonion Dissimulatum* que ataca el cacao. Se revisó la bibliografía con relación las técnicas de extracción por maceración, SWE y arrastre con vapor. Se

buscaron los productos comerciales similares para determinar sus propiedades generales. Se estudiaron referencias relacionadas con la preparación de emulsiones con componentes bioactivos.

Adecuación de sistema SWE

Se realiza la adecuación del sistema que se compone por un recipiente para trabajo a alta presión, control de temperatura, adaptación de sensores, adaptación de suministro de gas inerte a alta presión.

Pruebas de extracción con bioetanol

Se recolectará y preparará el material vegetal (recolección, limpieza, secado, reducción de tamaño) y se realizarán extracciones por maceración con bioetanol sobre el material vegetal preparado haciendo una selección de las mejores relaciones material vegetal: solvente según los reportes mencionadas en la literatura para especies similares.

Pruebas de extracción mediante agua a condiciones subcríticas (SCWE o SWE)

Se recolectará y preparará el material vegetal (recolección, limpieza, secado, reducción de tamaño) y se realizará la extracción sobre el material vegetal, usando como solvente agua a condiciones subcríticas. Se determinarán las condiciones para los cuales se da el mejor rendimiento de extractos.

Extracción de aceite esencial por arrastre con vapor

Se recolectará y preparará el material vegetal (recolección, limpieza, secado, reducción de tamaño) y se extraerá con el método de arrastre con vapor buscando obtener aceites esenciales que contengan compuestos tipo terpenos o terpenoides de interés según lo mencionado en la literatura.

Determinación de solubilidades

Se medirá experimentalmente la solubilidad de cada uno de los extractos obtenidos en diferentes solventes: agua, aceite mineral y glicerina

Formulación de productos

La formulación de los productos se realiza con la mezcla del extracto, agua como base y un emulsionante-adherente que permita funcionalidad al producto.

Preparación del informe final

Durante todo el transcurso del proyecto se recolectará, procesará y analizará información sobre las pruebas experimentales y ensayos en campo para la preparación del informe final y su socialización a la comunidad universitaria.

4 Resultados

4.1 Adecuación y puesta a punto del sistema SWE

Las siguientes ilustraciones corresponden al proceso de extracción SWE, en estas puede verse el equipo desde su etapa inicial previo a la adecuación (ilustración 2) y su posterior adecuación donde se adicionan todos los elementos mecánicos, de control y de suministro de gas inerte, ilustración 3. Además del sistema de ventilación adaptado para el enfriamiento.

En la ilustración 2 puede apreciarse el soporte del equipo y la mesa donde va ubicado el gabinete de control antes de su restauración y adecuación.

Ilustración 2

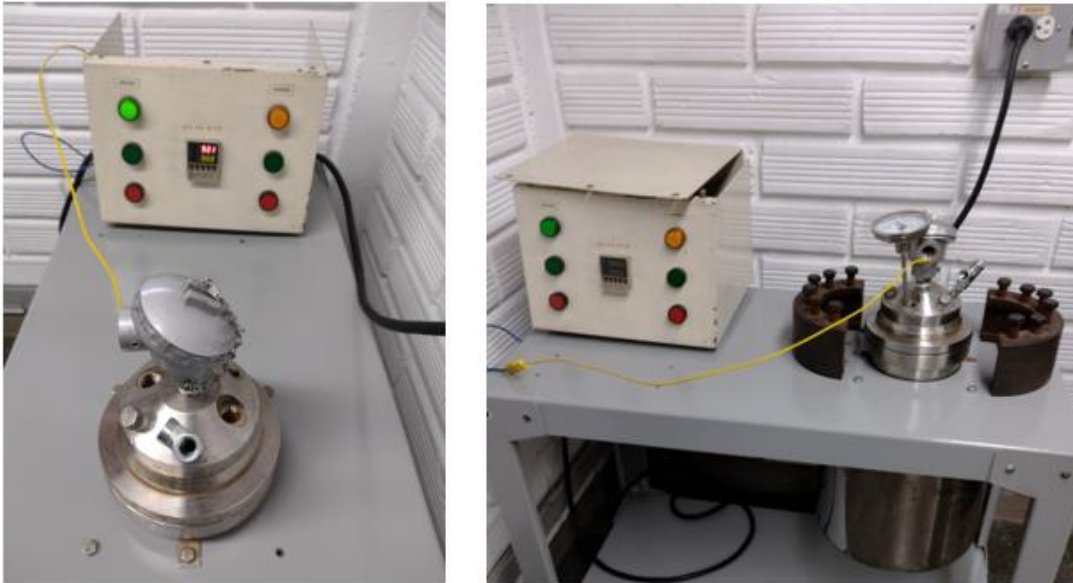
Estado del sistema previo a la adecuación.



En la ilustración 3 se muestra la adecuación inicial del sistema de control de temperatura que consta de la conexión de la termocupla, instalación del suministro de energía eléctrica, gabinete de control y pintura en general.

Ilustración 3

Adecuación del sistema de control de temperatura



En la ilustración 4 se observa hojas tallos y flores seleccionadas y puestas en la estufa para su secado

Ilustración 4

Secado y espécimen de la planta Salvia Amarga



En la ilustración 5 se muestra la selección del material vegetal y puesto en las estufas para el secado previo al proceso de molienda.

Ilustración 5

Preparación previa del material vegetal



4.2 Extracción con agua subcrítica SWE (*Subcritical Water Extraction*)

En la tabla 10 se observa el planteamiento del numero de experimentos realizados para el sistema SWE, para los cuales se varió la presión y el tiempo manteniendo una temperatura fija para todos los ensayos.

Tabla 1

Matriz de experimentos para cuatro ensayos con condiciones distintas

Ensayo	Matriz de experimentos		
	Temperatura (°C)	Presión (bar)	Tiempo (h)
SW1	150	30	1
SW2		30	3
SW3		20	1
SW4		20	3

En la ilustración 6 se muestra el equipo destapado donde posteriormente se ingresará la canastilla que contiene el material vegetal

Ilustración 6

Equipo destapado que incluye tapa, bridas y material vegetal



En la ilustración 7 se muestra el sistema de extracción completo, conexiones eléctricas, suministro de gas inerte, sistema de control de temperatura y válvula de alivio de presión manual.

Ilustración 7

De izquierda a derecha: Cilindro de alta presión del gas inerte (nitrógeno), sistema de control y tanque con instrumentación cerrado en operación



En la ilustración 8 se muestra el sistema de filtración al vacío después del proceso de extracción donde se recupera una mayor cantidad de solvente que contiene el extracto para mejorar el rendimiento

Ilustración 8

Extracción al vacío del material vegetal (Torta): Vista lateral y desde arriba.



En la ilustración 9 se observa el volumen y apariencia obtenido y su posterior almacenamiento en envase ámbar

Ilustración 9

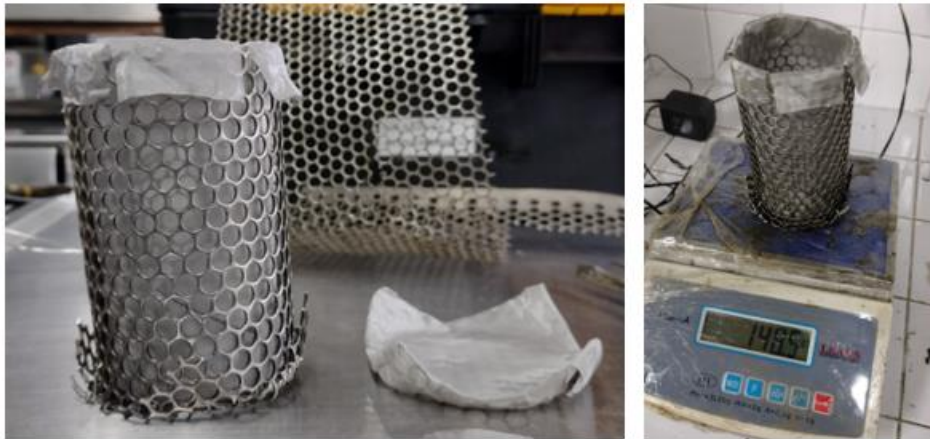
Apariencia del extracto obtenido y almacenamiento protegido de la luz



En la ilustración 10 observa el prototipo de canastilla para contener el material vegetal dentro del recipiente a presión. Este está fabricado en malla de acero inoxidable.

Ilustración 10

Masa vegetal de la que se obtuvo el extracto y canastilla y malla en inoxidable para ingresar al tanque de extracción



En la ilustración 11 se observa la canastilla sumergida en el solvente; etapa en la cual se humecta el material vegetal antes de bridar el recipiente para realizar el ensayo. Se observa también unos minutos después como la temperatura va aumentando hasta llegar a que se estabilice el proceso.

Ilustración 11

Canastilla cerrada dentro del tanque de extracción y condiciones



En la ilustración 12 se observa la apertura del equipo después del proceso de extracción y enfriamiento, evidenciándose material fino de la molienda contenida dentro de la canastilla y el

cambio de color de la canastilla por efecto de la temperatura y la exposición a los compuestos vegetales.

Ilustración 12

Obtención del extracto y canastilla al finalizar el tiempo de operación.



En la ilustración 13 se observa el proceso de drenado del extracto del recipiente a presión por medio de una válvula ubicada en la parte inferior del equipo.

Ilustración 13

Operación de drenado del extracto.



En la ilustración 14 puede observarse un equipo para destilación al vacío, compuesto por un calentador de baño, un rehervidor, conexiones de manguera de alta presión-vacío revestida y estructurada en malla de acero inoxidable, un condensador de tubos y coraza, un banco de hielo un recipiente con tapa tipo clamp y una bomba de vacío refrigerada por un ventilador axial.

Ilustración 14

Equipo de laboratorio fabricado en acero inoxidable para destilación al vacío.



En la ilustración 15 se observa la resina obtenida de la evaporación del solvente, en este caso el agua de forma posterior al proceso de destilación al vacío.

Ilustración 15

Resina que queda después de la extracción.



En la ilustración 16 se puede apreciar la resina puesta en un contenedor plástico en el cual se procede a su pesaje para el cálculo del rendimiento respecto al material vegetal y el almacenamiento para la posterior preparación de las emulsiones.

Ilustración 16

Resina dispuesta en un contenedor plástico con tapa.



En la ilustración 17 puede observarse el procedimiento de pesaje que se llevó a cabo con cada una de las muestras de resina obtenidas a partir de los extractos SEW y etanólicos.

Ilustración 17

Pesaje de muestras.



4.2.1 Ensayo 1. SWE (*Subcritical Water Extraction*)

La Tabla 2 corresponde a las condiciones de operación del ensayo 1 con el método de extracción SWE.

Tabla 2

Condiciones de operación ensayo SWE 1

Condiciones de operación	
T(°C)	150
Presión(bar)	30
Tiempo(h)	1
Cantidad vegetal(g)	100
Volumen agua(L)	1
Set point (°C)	110
Fecha	20/02/2023

En la tabla 3 y figuras 1 y 2 se muestran los resultados que se obtuvieron de las curvas de calentamiento- enfriamiento en tres ensayos con condiciones distintas de operación. Esto con el fin de determinar las condiciones óptimas de operación y la estabilidad del equipo de extracción

Tabla 3

Calentamiento del equipo ensayo 1

Calentamiento del equipo			
Hora	Tiempo(min)	Temperatura(°C)	Presión(bar)
11:55	0	22.8	14
12:15	20	48	15
12:25	25	71.3	16
12:34	34	99.2	17
12:37	37	111	18
12:43	43	127	20
12:46	46	134	21
12:48	48	138	22
12:51	51	145	23
12:53	53	150	24
12:56	56	156	25
13:00	60	161.3	26

13:10	70	167.6	27
13:14	74	167.7	27
13:29	89	166.7	28
13:44	104	163.5	28
13:51	111	159.5	27
13:56	116	155.4	26

Figura 1

Curva de temperatura vs tiempo para el ensayo 1

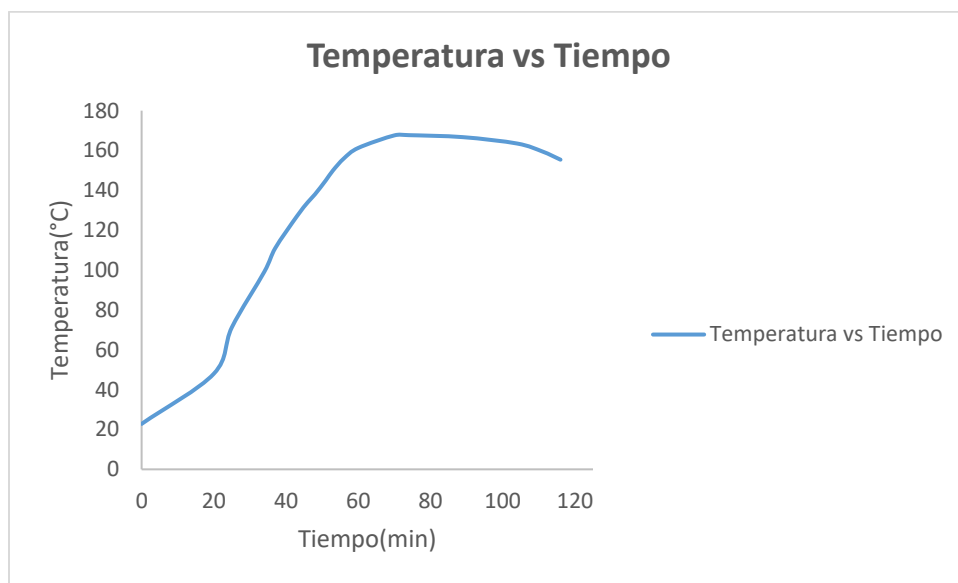
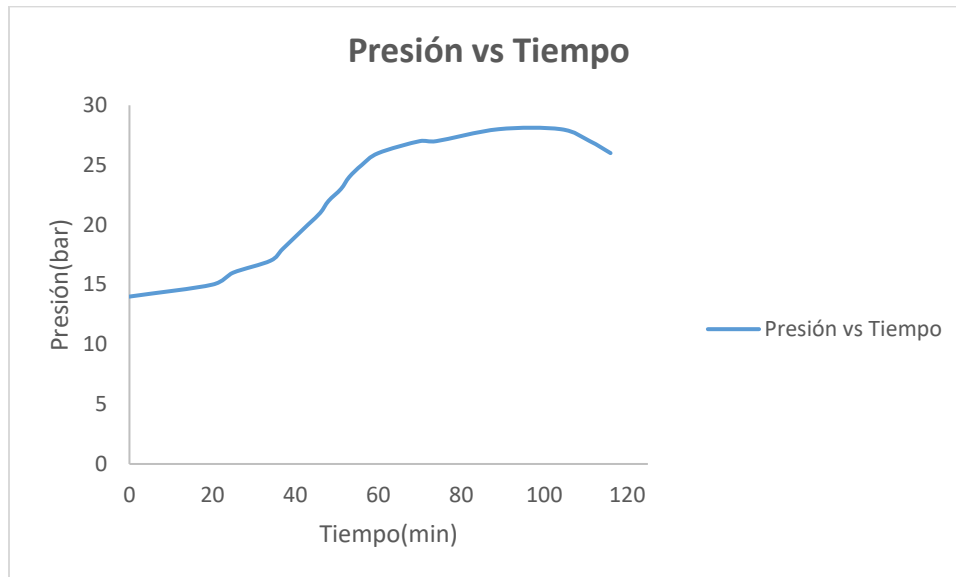


Figura 2

Curva de presión vs tiempo para el ensayo 1



4.2.2 Ensayo 2. SWE (Subcritical Water Extraction)

Las condiciones de operación para el ensayo 2 se muestran a en la tabla 3

Tabla 4

Condiciones de operación ensayo 2

Condiciones de operación	
T(°C)	150
Presión(bar)	20
Tiempo(h)	1
Cantidad vegetal(g)	100
Volumen agua(L)	1
Set point(°C)	90
Fecha	22/02/2023

Los datos de calentamiento, estabilidad y enfriamiento del equipo de extracción para el ensayo 2 se muestran en la tabla 5 y figuras 3 y 4.

Tabla 5

Calentamiento del equipo-Estabilidad del equipo-enfriamiento ensayo 2

Etapa	Hora	Tiempo(min)	Temperatura(°C)	Presión(bar)
Calentamiento	10:32	0	22.8	10
	11:06	34	48	11
	11:14	42	71.3	12
	11:20	48	99.2	13
	11:30	58	111	14
	11:40	68	127	14
	12:05	93	134	16
Inicio ensayo	12:09	97	138	20
Ensayo buscando estabilidad	12:23	111	145	21
	12:34	122	150	22
	12:50	138	156	22
	12:51	139	161.3	21
	13:08	156	167.6	20
	13:28	176	167.7	20
	13:31	179	166.7	21
	13:43	191	163.5	21
	13:46	194	159.5	21
	13:51	199	155.4	21
13:59	208	152.5	21	
Fin del ensayo se suministra ventilación para enfriar	14:52	262	117.2	20
	15:02	272	110	15
	15:16	286	100.9	15
	15:28	298	93.7	14
	15:38	308	87.7	13
	15:51	321	80.6	13

Figura 3

Curva de temperatura vs tiempo para el ensayo 2

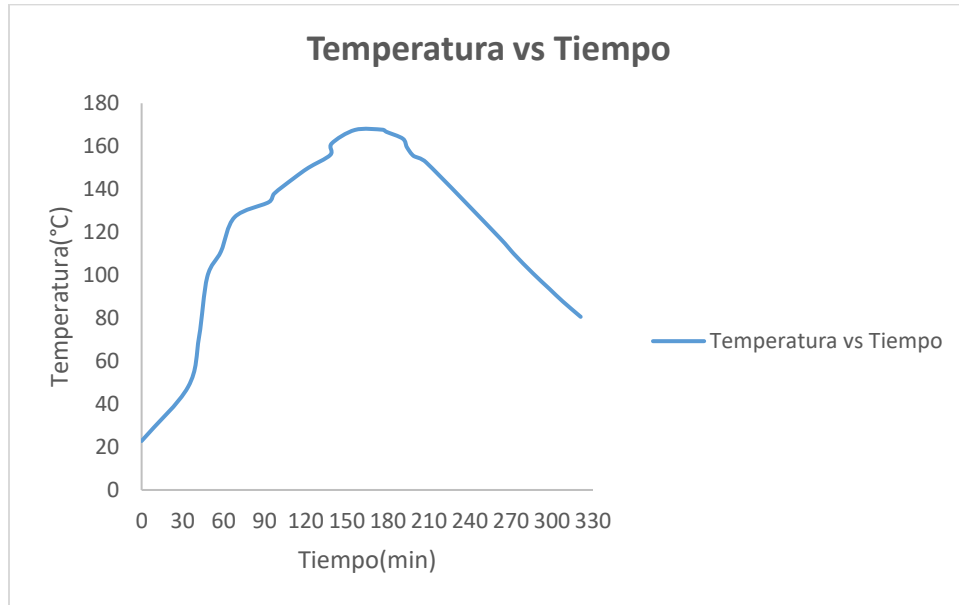
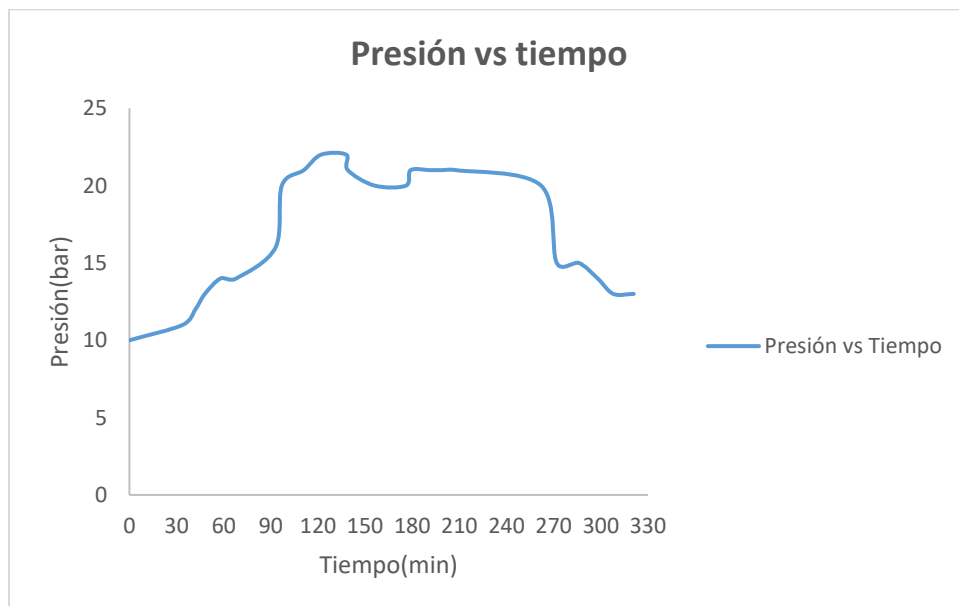


Figura 4

Curva de presión vs tiempo para el ensayo 2



4.2.3 Ensayo 3. SWE (*Subcritical Water Extraction*)

Las condiciones de operación del ensayo 3 se muestran en la tabla 6:

Tabla 6

Condiciones de operación ensayo 3

Condiciones de operación	
T(°C)	150
Presión(bar)	20
Tiempo(h)	3
Cantidad vegetal(g)	100
Volumen agua(L)	1
Set point(°C)	90
Fecha	13/03/2023

Los datos de calentamiento, estabilidad y enfriamiento del equipo de extracción para el ensayo 3 se muestran en la tabla 7 y figuras 5 y 6.

Tabla 7

Calentamiento del equipo-Estabilidad del equipo-enfriamiento ensayo 3

Etapa	Hora	Tiempo(min)	Temperatura(°C)	Presión(bar)
Calentamiento	9:32	0	20.7	10
	9:39	7	30.5	11
	9:41	9	35.5	11
	9:45	13	45.8	11
	9:47	16	50.3	11
	9:51	19	60	11
	9:54	21	70	12
	9:57	24	80	12
	9:59	26	90	12
	10:02	29	100	13
	10:06	33	110.4	13
	10:11	38	120	14
	10:23	50	130	15
10:38	65	135	16	
10:43	70	145	17	

Inicio ensayo	10:50	77	152	20
Ensayo buscando estabilidad	11:07	91	158.6	21
	11:52	136	149.7	22
	12:02	146	146.5	22
	12:08	152	145.8	22
	12:18	162	147.5	22
	12:45	189	148	22
	12:55	199	149	22
	14:20	224	150	23
Fin del ensayo se suministra ventilación para enfriar	14:45	249	140	22
	14:50	254	137.9	22
	14:59	263	132	20
	15:57	321	93.4	15
	16:05	329	88.4	15
	16:11	335	84	15
	16:19	343	80.1	14
	16:41	365	70	13

Figura 5

Curva de temperatura vs tiempo para el ensayo 3

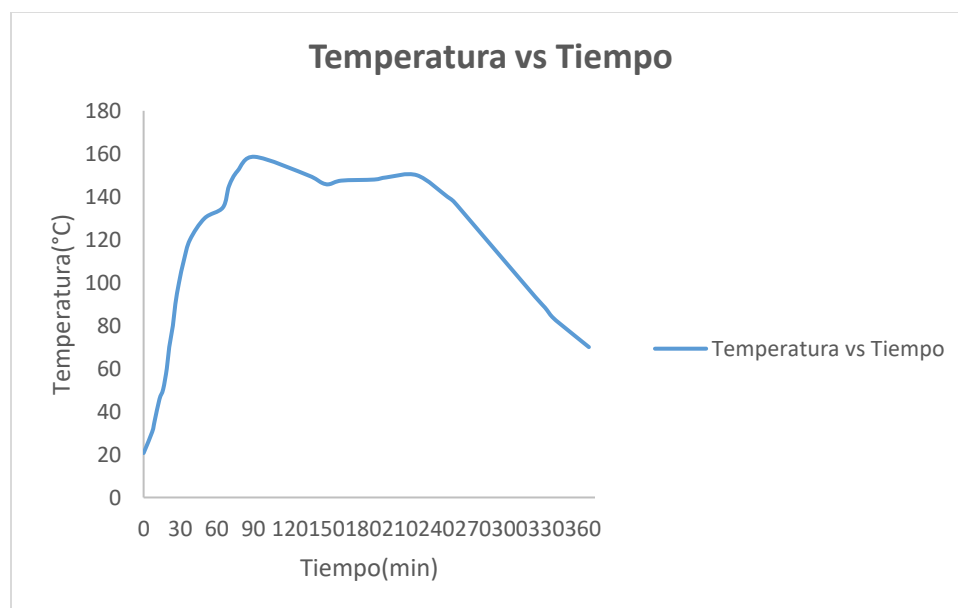
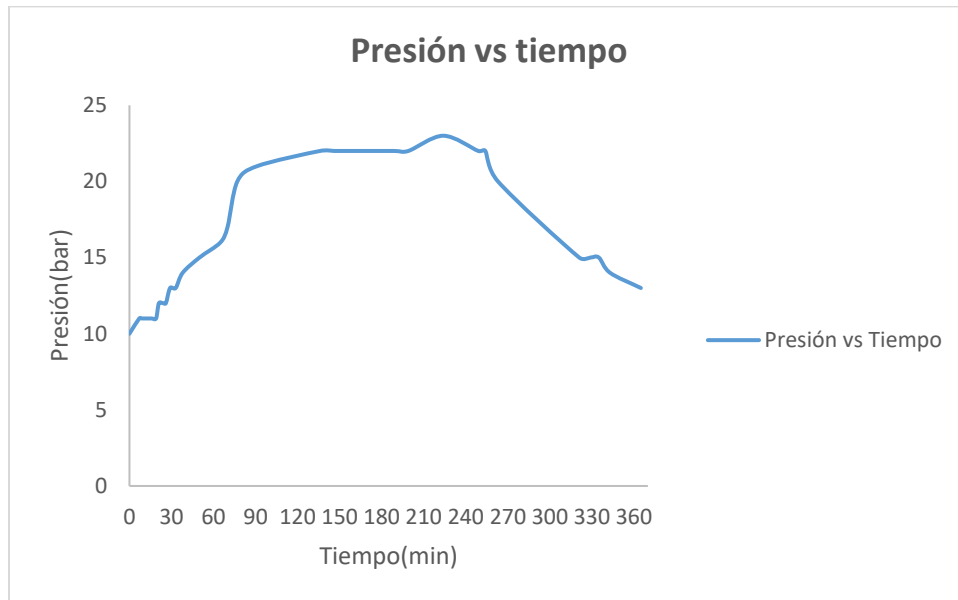


Figura 6

Curva de presión vs tiempo para el ensayo 3



4.2.4 Ensayo 4. SWE (*Subcritical Water Extraction*)

Las condiciones de operación del ensayo 4 se muestran en la tabla 8.

Tabla 8

Condiciones de operación ensayo 4

Condiciones de operación	
T(°C)	150
Presión(bar)	30
Tiempo(h)	3
Cantidad vegetal(g)	100
Volumen agua(L)	1
Set point(°C)	90
Fecha	15/03/2023

Los datos de calentamiento, estabilidad y enfriamiento del equipo de extracción para el ensayo 4 se muestran en la tabla 9 y figuras 7 y 8.

Tabla 9

Calentamiento del equipo-Estabilidad del equipo-enfriamiento ensayo 4

Etapa	Hora	Tiempo(min)	Temperatura(°C)	Presión(bar)
Calentamiento	9:40	0	20.9	10
	9:45	5	30.7	12
	9:50	10	35.8	15
	9:55	15	45.9	16
	10:00	20	50.5	16
	10:05	25	62	16
	10:10	30	72	17
	10:15	35	82	19
	10:20	40	92	21
	10:25	45	100.1	22
	10:30	50	110.8	22
	10:35	55	120.4	23
	10:40	60	130.2	24
	10:45	65	132	25
10:50	70	145	27	
Inicio ensayo	10:55	75	153	30
Ensayo buscando estabilidad	11:00	80	158.9	30
	11:05	85	149.8	31
	11:10	90	146.4	29
	11:15	95	145.8	31
	11:20	100	146.2	30
	11:25	105	148.2	30
	11:30	110	148.9	30
	11:35	115	150	30
Fin del ensayo se suministra ventilación para enfriar	11:40	120	140	29
	11:45	125	138.5	27
	11:50	130	135	26
	11:55	135	99.4	25
	12:00	140	88.2	25
	12:05	145	84.5	24
	12:10	150	80.2	23
12:15	155	71	20	

Figura 7

Curva de temperatura vs tiempo para el ensayo 4

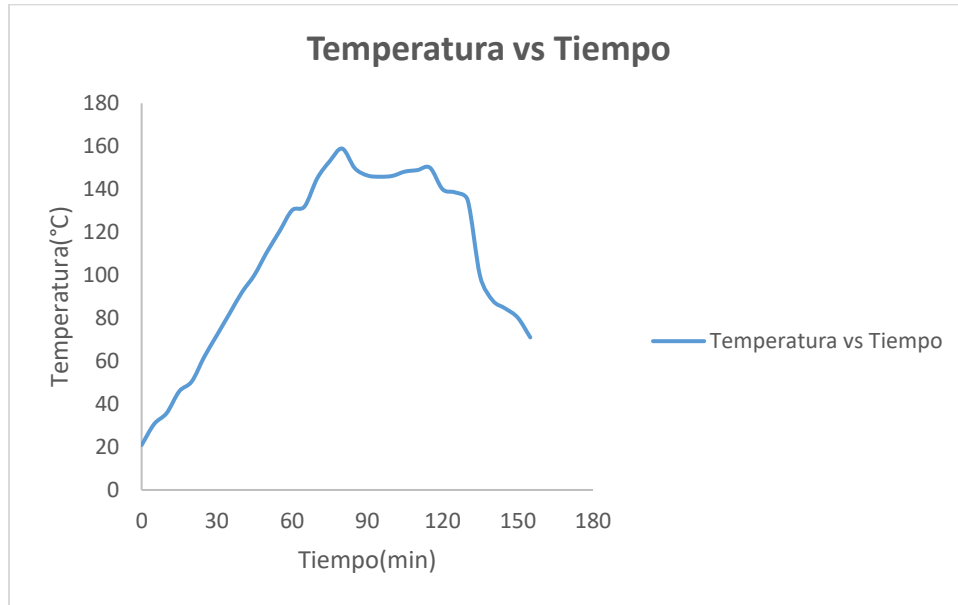
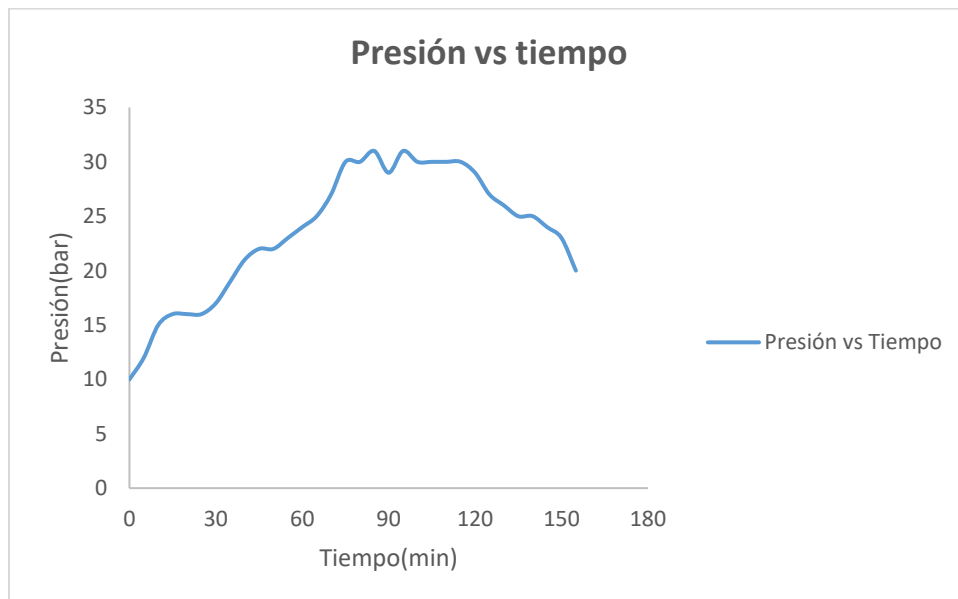


Figura 8

Curva de presión vs tiempo para el ensayo 3



4.3 Extracción por maceración con bioetanol

Las siguientes ilustraciones corresponden a la extracción por maceración con bioetanol. Se aprecia en la figura el material vegetal se posteriormente pesado y puesto en maceración. Se observa de manera posterior el extracto puesto en el sistema de destilación al vacío y la posterior obtención de la resina.

En la ilustración 18 se observa el proceso de la introducción del material vegetal en los recipientes ámbar para ajustar el volumen con solvente según las características definidas

Ilustración 18

Maceración de las plantas y extracción em proceso.



En la ilustración 19 se observan las preparaciones en los recipientes ámbar con las diferentes concentraciones de etanol y agua propuestas. Composiciones etanol agua que se variaron con el objetivo de lograr la obtención de resinas con diferente polaridad y composición.

Ilustración 19

Preparación de los extractos con diferentes concentraciones de bioetanol



En la ilustración 20 se observa el enfriamiento del rehervidor del sistema de destilación al vacío y aun lado la resina libre de solvente, al finalizar el proceso.

Ilustración 20

Rehervidor del sistema de destilación y resina libre de solvente



En la ilustración 21 se observa el proceso de envasado de la resina obtenido de la extracción con etanol y el extracto medido previo a la carga en el sistema de destilación.

Ilustración 21

Resina libre de solvente y extracción de una etapa de destilación.



En la tabla 10 se muestra la relación material vegetal-solvente para la realización de las extracciones

Tabla 10

Relación y condiciones de cada extracto.

Extracto	Especie vegetal	Material vegetal seco (g)	Relación (EtOH/mat Vegetal) (ml/g)	Volumen solución (ml)	Etanol, %
1		300	10	3000	96
2	SALVIA	300	10	3000	60
3		300	10	3000	30

En la tabla 11 se listan los volúmenes de solvente utilizados según cada uno de los ensayos

Tabla 11

Volúmenes de etanol y agua según el extracto.

Extracto	ρ(g/ml) EtOH (96%)	Volumen EtOH 96% ml	Peso EtOH 96%, g	Agua, ml (g)
1		3000	2391	0
2	0.797	1875	1494.375	1125
3		937.5	747.1875	2062.5

En la tabla 12 se describe las condiciones de presión, temperatura, volumen de filtración, y tiempo de cada uno de los extractos.

Tabla 12

Condiciones de operación y método de extracción.

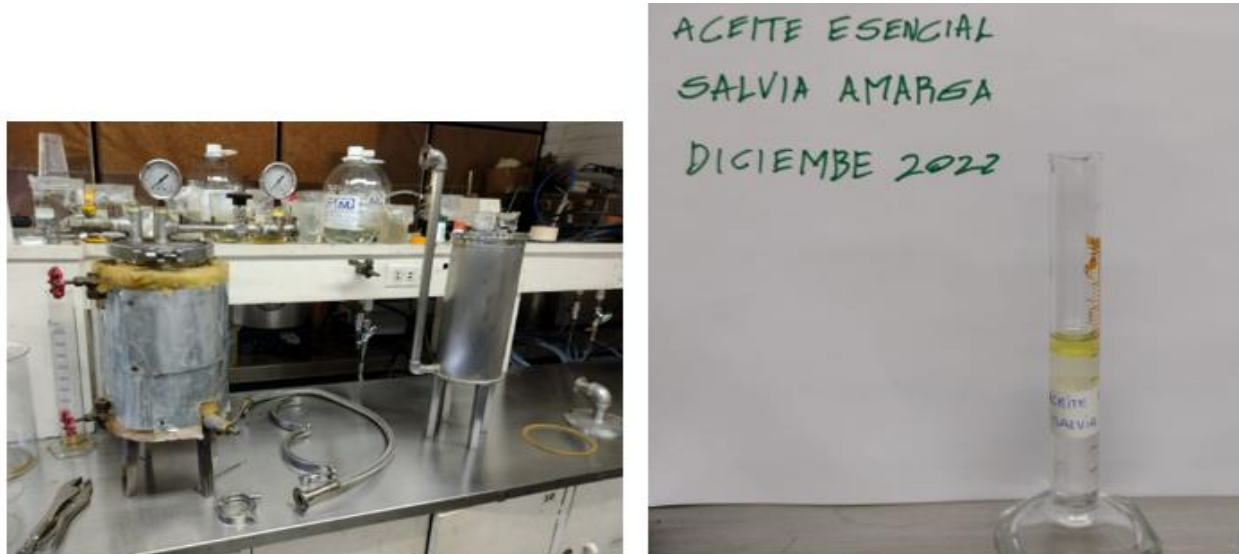
Extracto	Métodos extracción	Temperatura maceración °C	Presión, barg	Tiempo proceso (h)	Volumen filtrado (ml)	Presión Vacío, (mmHg)	Temperatura de baño °C
1	Maceración (96%)	Ambiente	0	136	2500		55
2	Maceración (60%)	Ambiente	0	160	2500		55
3	Maceración (30%)	Ambiente	0	184	2300		55
4	SW1	150	30	1	820	575	60
5	SW2	150	20	1	815		60
6	SW3	150	20	3	825		60
7	SW4	150	30	3	821		60
8	Destilación	Saturación	1 - 1.5	4	3500		--

4.4 Obtención de aceites esenciales mediante arrastre con vapor

En la ilustración 22 se muestra el equipo utilizado para realizar el proceso de arrastre con vapor, compuesto de un generador de vapor, mangueras, un contenedor para realizar la extracción del material vegetal y el recipiente para recibir la mezcla aceite-hidrolato para su posterior separación. También se puede observar el aceite separado del vapor utilizado en la destilación.

Ilustración 22

Recipiente para realizar la extracción de arrastre con vapor y probeta con el producto.



En la ilustración 23 se observan los inyectores del sistema de arrastre con vapor los cuales están distribuidos geoméricamente de manera homogénea, para que al colmar el recipiente con material vegetal se dé una extracción con mejor rendimiento.

Ilustración 23

Inyectores de vapor para arrastre.



En la ilustración 24 puede observarse la malla que se posiciona sobre los inyectores de vapor con el objetivo de evitar el acanalamiento del flujo y mejorar la distribución del vapor. Al lado vemos una cantidad de material vegetal iniciando la carga del recipiente para iniciar el proceso de extracción.

Ilustración 24

Malla cobertura inyectores de vapor y inicio de carga material para extracción.



En la tabla 13 se muestra los porcentajes de rendimiento en masa de la resina obtenido con cada método de extracción a partir del material vegetal.

Tabla 13

Condiciones y relación de rendimiento masa vegetal/extracto

Extracto	Masa extracto(g)	% Rendimiento (Wextracto/Wmaterialvegetal)x100
1	30.8420	10.2807
2	36.3442	12.1147
3	44.3516	14.7839
4	25.3236	25.3236
5	21.3732	21.3732
6	29.3714	29.3714
7	30.8600	30.8600
8	0.6	0.135

4.5 Preparación de emulsiones

A continuación se muestran los materiales, equipos y algunas operaciones realizadas para la preparación de las soluciones y emulsiones, además de los resultados finales, que posteriormente pueden ser a su vez dispersas en agua con ayuda de un adherente agrícola para su aspersion y en la ejecución de los ensayos sobre insectos.

Los resultados cualitativos de las pruebas de solubilidad realizados con los extractos con tres solventes diferentes, se muestran en la tabla 14.

Tabla 14

Ensayo de solubilidad extractos para preparación de emulsiones

Extracto	Solubilidad		
	Agua	Aceite	Glicerina
Etanol 30%	Si	No	Si
Etanol 60%	Si	No	Si
Etanol 96%	No	Si	No
SW1	Si	No	No
SW2	Si	No	No

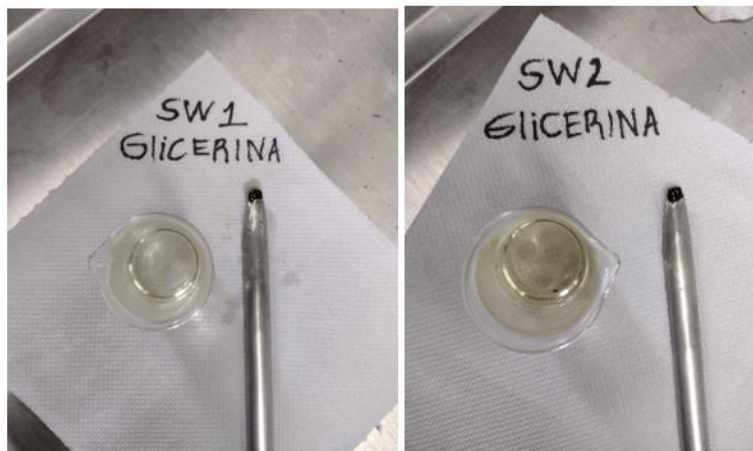
En las ilustraciones siguientes, se muestran las pruebas de solubilidad realizadas a los extractos previamente al proceso de preparación de las emulsiones, solubilidad en agua, solubilidad en etanol y solubilidad en glicerina. Y de este modo caracterizar el camino a seguir según sea el tipo de fase a dispersar.

En la ilustración 25 se observa el resultado de la prueba de solubilidad de los dos extractos iniciales obtenidos con el proceso de agua subcrítica.

4.5.1 Pruebas de solubilidad

Ilustración 25

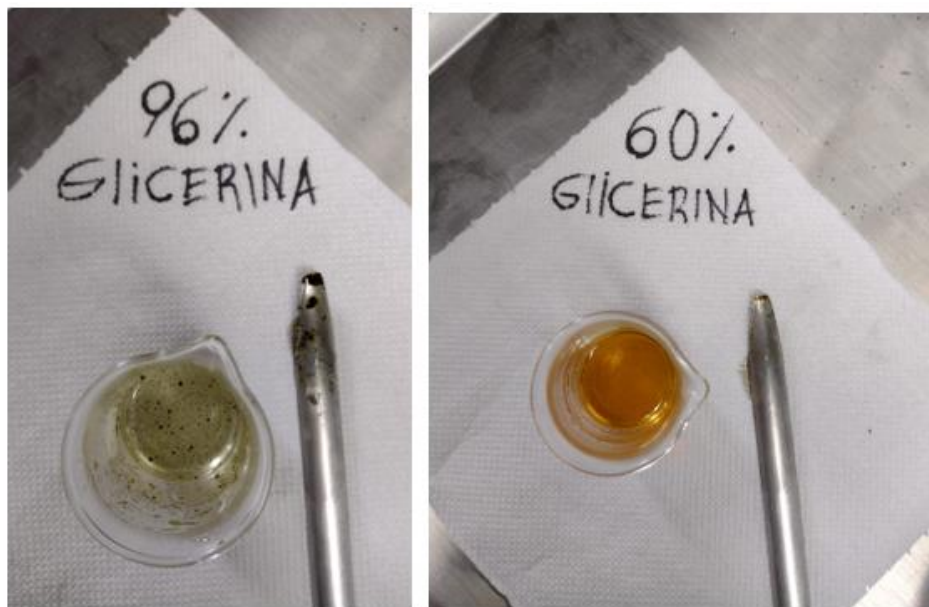
Pruebas de solubilidad de glicerina con los extractos del ensayo 1 y 2 (SW) respectivamente.



En la ilustración 26 se observan los resultados de solubilidad para alcohol al 96% que presentó insolubilidad y para etanol al 60% que presento solubilidad.

Ilustración 26

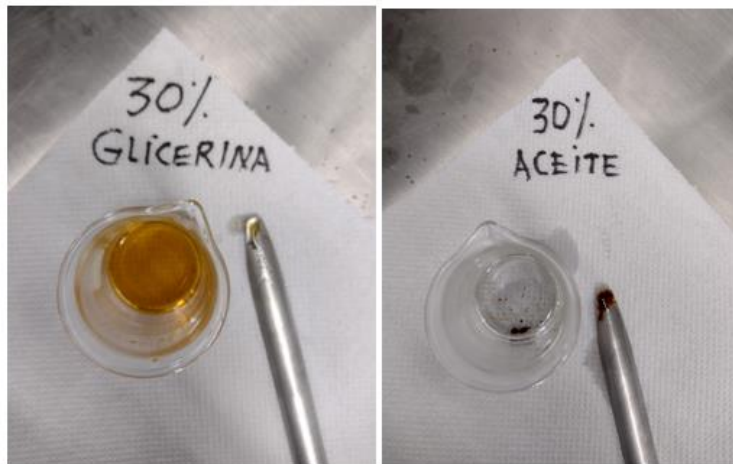
Pruebas de solubilidad de extractos etanólicos obtenidos a partir de etanol 96% y 60% respectivamente con glicerina.



En la ilustración 27 se observan los resultados del ensayo de solubilidad para el extracto al 30% en glicerina y aceite para los cuales se presenta solubilidad en glicerina e insolubilidad en aceite

Ilustración 27

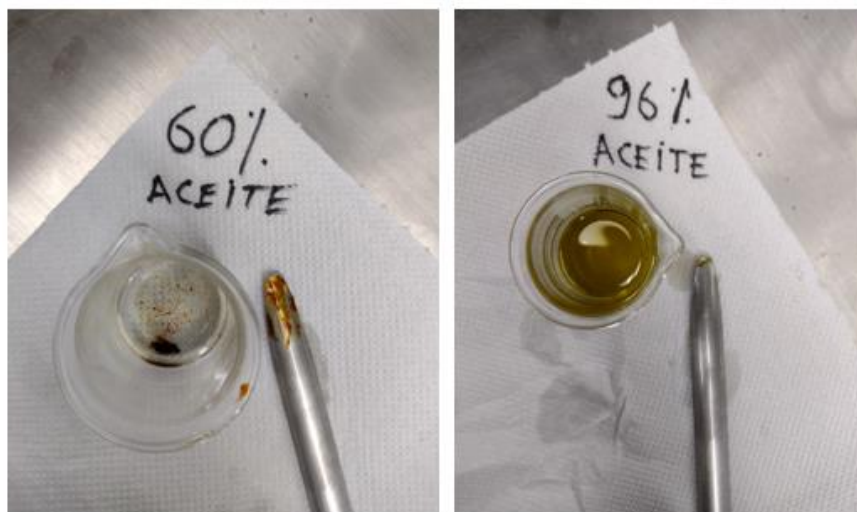
Pruebas de solubilidad de extractos obtenidos a partir de etanol al 30% en glicerina y aceite vegetal.



En la ilustración 28 se observa el ensayo de solubilidad del extracto de etanol al 60% en aceite el cual se presentó insoluble y el ensayo del extracto de etanol al 96% en aceite el cual presentó alta solubilidad

Ilustración 28

Pruebas de solubilidad de extractos obtenidos a partir de etanol al 60% y 30% en aceite.



En la ilustración 29 se observa se observa el equipo para agitación, una plancha para calentamiento con agitación, balanza analítica para el pesaje de los compuestos, surfactantes y conservantes además de los recipientes a utilizar para almacenar las emulsiones.

Ilustración 29

Materiales y equipos para la preparación de las emulsiones



En la ilustración 30 se observa la agitación de las emulsiones previa adición de los compuestos con actividad de superficie para aumentar la dispersión del aceite en la fase acuosa

Ilustración 30

Agitación del extracto en aceite emulsificado y preparación extracto acuoso.



En la ilustración 31 se observa la adición del compuesto con actividad de superficie sobre el aceite y además se adiciona la resina que presenta solubilidad en la fase orgánica.

Ilustración 31

Etapa inicial de agitación y emulsificación del extracto orgánico.



En la ilustración 32 se observa la apariencia de la emulsión final obtenido y del extracto acuoso a partir de los cuales se pretenden preparar con la adición de un adherente agrícola las mezclas para aspersión en los ensayos de campo ó sobre los denominados modelos estándar.

Ilustración 32

Apariencia final de la preparación del extracto: soluble en agua y soluble en aceite emulsificado



5 Análisis

El material vegetal utilizado en los ensayos fue secado y reducido de tamaño previamente para aumentar el área superficial y aumentar el rendimiento en el proceso de extracción. (*Huynh, L. H., Kasim, N. S., & Ju, Y. H. 2010*).

Las curvas de calentamiento, enfriamiento y dinámica de la presión fueron realizadas para describir el comportamiento del equipo en el proceso de extracción y conocer cuáles eran los tiempos necesarios para realizar los ensayos. Las curvas se realizaron inicialmente con agua, sin ningún otro material dentro del recipiente y de este modo se pudo planificar el tiempo y la estrategia para la realización de los ensayos tomando el material vegetal para el proceso de maceración. Los ensayos iniciales de presurización del equipo a partir del suministro de gas inerte utilizando un regulador de alta presión, permitieron evaluar las condiciones de estanqueidad de todos los elementos roscados sujetos a la tapa que constituían el sistema elementos de medición, control de temperatura y suministro de gas inerte.

La canastilla de cuerpo cilíndrico elaborada en acero inoxidable, se hizo necesaria para eliminar el contacto directo del material vegetal con las paredes del recipiente las cuales se encontraban a una mayor temperatura debido al mecanismo de transferencia de calor, que se daba por conducción desde una resistencia de camisa y así disminuir el riesgo respecto a la desnaturalización de los compuestos de interés por una exposición al calor que aumentase la temperatura por encima del límite admisible, ya que no se implementó en el recipiente un sistema de agitación por la complejidad del requerimiento para el sello mecánico como se menciona en (*León Ruiz, M. A. 2018*) a alta presión.

El experimento SWE se dimensionó para obtener cantidades de resina recuperadas del extracto superiores a las mencionadas en la literatura, donde los volúmenes de los reactores son inferiores a 100 ml como se menciona en (*Cvetanović, A., (2017)* y *Vergara-Salinas, J. R (2012)*) de modo que pudiesen prepararse mezclas o emulsiones con las cuales se puedan, como una siguiente etapa de este proyecto, realizar ensayos de toxicidad en campo o sobre colonias de insectos como los denominados modelos estándar.

Los extractos se obtenidos presentaban coloraciones que variaban levemente su tonalidad de marrón, dependiendo de la presión a la cual se obtenían, lo que puede ser un indicador de las

variaciones en la composición de la mezcla. La torta obtenida posterior al proceso de extracción, presentaba una absorción muy alta cerca de un 45% del extracto se quedaba absorbida en esta lo que suponía un proceso complementario de filtración al vacío, con el cual se recuperaba cerca de un 22% más, lo que permitió aumentar los valores de rendimiento de la resina obtenida respecto al material vegetal. Además la extracción SWE favorece el rendimiento, con respecto a las extracciones a base de solventes orgánicos como se menciona en *(Huynh, L. H., Kasim, N. S., & Ju, Y. H. 2010)*.

Las emulsiones preparadas se plantearon con base en composiciones de productos comerciales. Asumiendo que la concentración del principio activo a utilizar cuenta con la presencia de los compuestos bioactivos que le confieren la actividad insecticida y así, las demás características de estabilidad, adherencia, humectación entre otras, se pudieron proporcionar, con una mezcla de surfactantes de diferente naturaleza polar y un aceite mineral. *(Montoya Ruiz, A. 2019)*

Los rendimientos obtenidos para los procesos de extracción realizados pueden clasificarse de mayor a menor como se muestra en la tabla 10 y a partir de esto puede decirse que los mayores valores se obtuvieron para el proceso de extracción SEW, dentro de este grupo específicamente los mayores valores de resina obtenida, se lograron a partir de una presión de 30Bar y 3h. Los rendimientos logrados para las extracciones con etanol presentaron los mayores valores para la extracción con etanol al 96% y como se menciona en la literatura el valor de rendimiento obtenido a partir de la extracción con arrastre por vapor, fue la menor.

6 Conclusiones

El dimensionamiento del equipo SWE con base en las características de productos comerciales permitió establecer las condiciones para escalar el proceso sugerido en la literatura (Huynh, L. H., Kasim, N. S., & Ju, Y. H. 2010) hasta poder obtener la menor cantidad de principio activo como resina, necesario para realizar ensayos con un alcance que permita recopilar información concluyente sobre la actividad alelopática de este tipo de extractos en artrópodos.

El rendimiento comparativo de las extracciones realizadas es representativamente mayor utilizando la técnica SWE respecto a las extracciones realizadas con etanol y por arrastre con vapor. Confirmando la información documentada en la literatura. (Singh, P. P., & Saldaña, M. D. 2011).

Los rendimientos obtenidos de resina a partir del material vegetal, para los extractos etanólicos el rendimiento más alto para la extracción con etanol al 96% y un porcentaje de resina respecto al material vegetal del 14.78%, en segundo lugar se encuentra la extracción con una proporción de etanol al 60%, para la cual se obtuvo un rendimiento del 12.11% y para la extracción con el extracto de etanol al 30% se obtuvo un rendimiento del 10.28%. Puede verse claramente que el rendimiento disminuye en función de la concentración de etanol.

Las cantidades de resina obtenidas en las extracciones SWE realizados todos a la misma temperatura (150°) respecto a las cantidades de material vegetal fueron las mas altas, en el ensayo 1 realizado a 30bar, 1h, presentó un rendimiento del 25%; Para el ensayo 2, realizado a 20bar,1h, se presentó un rendimiento del 21.37%, para el ensayo 3 realizado a 20bar, 3h, se presentó un rendimiento del 29% y para el ensayo 4 realizado a30bar, 3h, se presentó un rendimiento del 30%. Para lo cual puede decirse que el rendimiento se favorece mas por el efecto de la presión que por la temperatura.

Los valores de rendimiento obtenidos en la extracción con arrastre por vapor fueron los mas bajos 0.135% respecto a la cantidad de material vegetal.

El efecto de la presión sobre el material vegetal además del desplazamiento de la constante dieléctrica que evidencia el cambio de polaridad del agua aumentando su espectro de solubilidad

favorecido por la alta temperatura, son los factores que caracterizan al proceso de extracción SWE como el de mejores resultados y eficiencia en términos de tiempo para la obtención de extractos a partir de material vegetal. (*Cvetanović, A., (2017)*)

Las emulsiones preparadas presentaron alta estabilidad, esto pudo evidenciarse con su homogeneidad al paso del tiempo en dos condiciones que se evaluaron, una fue su exposición a una temperatura de 40°C por un tiempo de 48 horas en una estufa y la otra fue la exposición en reposo a las condiciones de iluminación del ambiente durante una semana. Para lo cual, en ninguna de las dos circunstancias se presentó un cambio aparente de emulsificación o formación de varias fases. Del mismo modo para las soluciones, no se presentó formación de turbiedades ni precipitados al paso de una semana, expuesto a las condiciones de reposo y de refrigeración en una nevera a 4°C (*Montoya Ruiz, A. 2019*).

Los resultados obtenidos en términos de cantidad de resina, material vegetal y cantidad de solvente muestran una disminución representativa de los costos de obtención de los extractos en términos de tiempo de operación, cantidad de material vegetal necesario y cantidad de solvente a separar, además de constituirse en un proceso altamente amigable para el medio ambiente por la no aplicación de solventes orgánicos de origen sintético (*Saldana, M. D., & Valdivieso-Ramírez, C. S. (2015)*).

El equipo para realizar extracciones SWE reúne las condiciones en su estructura y mecanismo de operación para procesar cualquier tipo de material vegetal aparte de hojas flores y tallos, podrían también procesarse hongos, granos entre otros materiales.

7 Recomendaciones

Se recomienda continuar con el desarrollo y automatización de todas las operaciones aplicadas en el sistema de extracción (SWE) adaptado para obtener los extractos. Ya que se configura en un equipo con una amplia versatilidad para hacer parte de otros procesos como etapa intermedia o como única etapa para la extracción de material vegetal o como material para el desarrollo de prácticas de laboratorio.

Se recomienda realizar una identificación y evaluación de los metabolitos para determinar la presencia de compuestos con actividad biológica que puedan ser similares a los mencionados en la literatura.

Adicionalmente es bastante deseado realizar los ensayos de toxicidad para diferentes composiciones de cada uno de los extractos sobre modelos estándar y sobre objetivos de campo previamente establecidos, del orden hemíptera o similares.

7 Referencias

- Amer, A., & Mehlhorn, H. (2006). Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). *Parasitology Research*, 99(4), 466-472.
- Ávila, L., Baquero, E., Viña, A., & Murillo, E. (2006). Antibacterial Activity of *Diplostephium tolimense* Cuatrec. (Asteraceae) Against *Staphylococcus aureus*. *Vitae*, 13(1), 55-60.
- Badii, M. H., & Varela, S. (2008). Insecticidas organofosforados: efectos sobre la salud y el ambiente. *CULCyT: Cultura Científica y Tecnológica*, 5(28), 5-17.
- Bilal, T., Mushtaq, T., Ahmad, P. I., Gangoo, S. A., Behar, B., Ayoob, B., ... & Mushtaq. (2022) Botanicals their use as antimicrobial, antifungal and anti insecticides.
- Celis, C. R., Flores, V. T., Barrera, M. A. R., Jiménez, J. T., & Ramírez, Y. R. Identificación de hongo aislado de sitios contaminados con pesticidas.
- Cvetanović, A., Švarc-Gajić, J., Gašić, U., Tešić, Ž., Zengin, G., Zeković, Z., & Đurović, S. (2017). Isolation of apigenin from subcritical water extracts: Optimization of the process. *The Journal of Supercritical Fluids*, 120, 32-42.
- Dabbah, R., Edwards, V. M., & Moats, W. A. (1970). Antimicrobial action of some citrus fruit oils on selected food-borne bacteria. *Applied microbiology*, 19(1), 27-31.
- Del Puerto Rodríguez, A. M., Suárez Tamayo, S., & Palacio Estrada, D. E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y epidemiología*, 52(3), 372-387.
- Global Invasive Species Database (2022) Species profile: *Austro eupatorium inulifolium*. Downloaded from <http://www.iucngisd.org/gisd/species.php?sc=1445> on 01-09-2022.
- Grande-Tovar, C. D., Chaves-Lopez, C., Viuda-Martos, M., Serio, A., Delgado-Ospina, J., Perez-Alvarez, J. A., ... & Paparella, A. (2016). Sub-lethal concentrations of Colombian *Austro eupatorium inulifolium* (HBK) essential oil and its effect on fungal growth and the production of enzymes. *Industrial Crops and Products*, 87, 315-323.
- Hsu, T., Peng, C., & Wang, C. (2006). *Austro eupatorium inulifolium* (Kunth) King & Robinson (Asteraceae), a newly naturalized plant in Taiwan. *TAIWANIA-TAIPEI-*, 51(1), 41.
- Huynh, L. H., Kasim, N. S., & Ju, Y. H. (2010). Extraction and analysis of neutral lipids from activated sludge with and without sub-critical water pre-treatment. *Bioresource technology*, 101(22), 8891-8896.
- Pelayo, V. D. R. T., García, J. A. L., López, S. L. E., & Helguera, O. E. A. (2018). Estudio etnobotánico y evaluación citotóxica de extractos etanólicos de plantas de uso medicinal en Tlalchi Ixhuacán de los Reyes, Veracruz, México. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 6(2. Especial), 34-41.

-
- Lancelle, H. G., Giordano, O. S., Sosa, M. E., & Tonn, C. E. (2009). Chemical composition of four essential oils from Eupatorium spp. biological activities toward *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 68(3-4), 329-338.
- León Ruiz, M. A. (2018). *Diseño y construcción de un bio-reactor* (Bachelor's thesis, Quito).
- Lucena, M. E., Contreras, M. E., Moreno, V. G., Rojas-Fermín, L., de Rojas, Y. C., Fajardo, F. J. U., ... & Torres, S. (2020). Composición y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Austroeupatorium inulifolium* (Kunth) King & Robinson (Asteraceae). *Revista Cubana de Farmacia*, 52(4), 1-16.
- Mendoza-Pico, V. (2020). Procesos de obtención del licor de pétalos de rosas: Artículo de revisión bibliográfica. *Revista Científica INGENIAR: Ingeniería, Tecnología e Investigación*. ISSN: 2737-6249., 3(6), 14-22.
- Montoya Ruiz, A. (2019). Formulación de emulsiones naturales de aceites y ceras en agua.
- Naveda Rengifo, R. A., Jorge Montalvo, P. A., Flores del Pino, L., & Visitación Figueroa, L. (2019). Remoción de lignina en el pretratamiento de cascarilla de arroz por explosión con vapor. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(3), 352-361.
- Nour, A. H. (2018). Emulsion types, stability mechanisms and rheology: A review. *International Journal of Innovative Research and Scientific Studies (IJIRSS)*, 1(1).
- Saldana, M. D., & Valdivieso-Ramirez, C. S. (2015). Pressurized fluid systems: Phytochemical production from biomass. *The Journal of Supercritical Fluids*, 96, 228-244.
- Sánchez Luna, E. M., & Arévalo Villagómez, L. X. (2021). *Implementación de un destilador prototipo por arrastre de vapor para la obtención de aceites esenciales de "Eucalipto" (Eucalyptus globulus)* (Bachelor's thesis, Riobamba, Universidad Nacional de Chimborazo).
- Serna, E. (2017). Desarrollo e innovación en ingeniería. *Shinde, KS, & Bhagat, PH (2017). Industrial Process Monitoring Using IoT*, 38-42.
- Serna, E. V., Serna, D. V., Tomaylla, M. C., Castillo, T. A., & Panduro, P. V. (2019). Efecto del extracto acuoso de *Clibadium surinamense* L. en el control de *Monalonion dissimulatum* Dist. en una plantación de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Folia Amazónica*, 28(2), 217-225.
- Schleier III, J. J., & Peterson, R. K. (2011). Pyrethrins and pyrethroid insecticides. *Green trends in insect control*, 11, 94-131.
- Singh, P. P., & Saldaña, M. D. (2011). Subcritical water extraction of phenolic compounds from potato peel. *Food Research International*, 44(8), 2452-2458
- Sosa, M. E., Lancelle, H. G., Tonn, C. E., Andres, M. F., & Gonzalez-Coloma, A. (2012). Insecticidal and nematicidal essential oils from Argentinean Eupatorium and Baccharis spp. *Biochemical Systematics and Ecology*, 43, 132-138.

-
- Tello Mercado, V., & Derosas Arriagada, M. (2014). Estudio preliminar de los efectos letales y sub-letal es de extractos etanólicos de cuatro especies xerófitas del altiplano chileno contra *Tetranychus cinnabarinus* (Acarina: Tetranychidae). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 46(2), 135-148.
- Valdiviezo Marcelo, J. (2021). Una revisión de la obtención de compuestos fenólicos a partir de cáscara y semilla de palta (*Persea americana* Mill.), empleando tecnologías emergentes.
- Vargas, R., & Ubillo, A. (2001). Toxicidad de pesticidas sobre enemigos naturales de plagas agrícolas. *Agricultura Técnica*, 61(1), 35-41.
- Vergara-Salinas, J. R., Pérez-Jiménez, J., Torres, J. L., Agosin, E., & Pérez-Correa, J. R. (2012). Effects of temperature and time on polyphenolic content and antioxidant activity in the pressurized hot water extraction of deodorized thyme (*Thymus vulgaris*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(44), 10920-10929.
- (2022). Recuperado 27 de octubre de 2022, de <https://portal.wiktrop.org/files-api/api/get/raw/observations//d2c61306-8d0f-4d30-90bd-f5b5d19e2552/270.jpg>.
- (2022). Recuperado 27 de octubre de 2022, de <https://psamofila.com/austroeupatorium-inulifolium-2/>
- (2022). Recuperado 27 de octubre de 2022, de <https://www.minagricultura.gov.co/noticias/Paginas/Colombia-registr%C3%B3-la-mayor-producci%C3%B3n-de-cacao-de-la-historia,-en-el-%C3%BAltimo-a%C3%B1o-cacaotero.aspx>.
- (2022). Recuperado 27 de octubre de 2022, de <https://www.fedecacao.com.co/>
- (2022). Recuperado 27 de octubre de 2022, de <https://www.bancolombia.com/negocios/actualizate/comercio-internacional/cacao-colombiano-panorama-actual-y-cultivo>.