



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD DE UN BIOPROCESO PARA LA
OBTENCIÓN DE ANTOCIANINAS A PARTIR DEL BAGAZO DE
Agave lechuguilla.

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestra en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Biotecnología)

P r e s e n t a

Jessica Alejandra Chávez Cobián

La Paz, Baja California Sur, abril de 2022.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13:00 horas del día 31 del Mes de marzo del 2022, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Análisis de factibilidad de un bioproceso para la obtención de antocianinas a partir del bagazo de *Agave lechuguilla*"

Presentada por el alumno:

Jessica Alejandra Chávez Cobián

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN Biotecnología

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.



Dra. Ana Gisela Reyes Alvarado
Directora de Tesis

LA COMISIÓN REVISORA



Dr. Julian Andrés Quintero Suárez
Co-Tutor de Tesis



Dra. Selena Gutiérrez Flores
Co-Tutora de Tesis



Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos.

La Paz, Baja California Sur, a 31 de marzo de 2022.

Los miembros del comité de tesis de la estudiante Jessica Alejandra Chávez Cobián Programa de Maestría en Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales, revisamos el contenido de la tesis y otorgamos el Vo.Bo. dado que la tesis no representa un plagio de otro documento como lo muestra el reporte de similitud realizado:

- Herramienta antiplagio: iThenticate
- Filtros utilizados: Citas excluidas Bibliografía excluida
- Porcentajes de similitud: 18%
Se muestra captura de pantalla

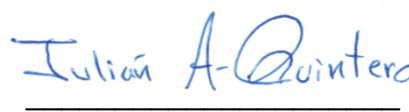


del bagazo de		Citas excluidas	18%
		Bibliografía excluida	SIMILAR
Resumen de Coincidencias			
1	Internet 508 palabras hdl.handle.net		2%
2	Internet 268 palabras LUZ MARINA ZAPATA. "OBTENCIÓN DE EXTRACTO DE ANTOCIANINAS A PARTIR DE ARÁNDANOS PARA SER UT		1%
3	Internet 202 palabras Copiado el 04-Jun-2021 1library.co		1%
4	Internet 175 palabras Copiado el 03-Mar-2022 docplayer.es		1%
5	Internet 156 palabras repositorio.ucsp.edu.pe		1%
6	Internet 129 palabras Copiado el 02-Mar-2021 core.ac.uk		1%
7	Internet 122 palabras Copiado el 29-Abr-2020 www.scielo.org.mx		<1%
8	Internet 97 palabras Copiado el 14-Sep-2020 repositorio.lamolina.edu.pe		<1%
	Internet 77 palabras		

Firmas del comité



Dra. Ana Gisela Reyes Alvarado
Directora de Tesis



Dr. Julian Andrés Quintero Suárez
Co-Tutor de Tesis



Dra. Selena Gutiérrez Florez
Co-Tutora de Tesis

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dra. Ana Gisela Reyes Alvarado
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
Directora de Tesis

Dr. Julián Andrés Quintero Suárez
Universidad Santiago de Chile
Co-Tutor de Tesis

Dra. Selena Gutiérrez Flores
Universidad Nacional Autónoma de México
Co-Tutora de Tesis

Comité Revisor de Tesis

Dra. Ana Gisela Reyes Alvarado
Dr. Julián Andrés Quintero Suárez
Dra. Selena Gutiérrez Flores

Jurado de Examen

Dra. Ana Gisela Reyes Alvarado
Dr. Julián Andrés Quintero Suárez
Dra. Selena Gutiérrez Flores

Suplente

Dra. Bertha Olivia Arredondo Vega

Resumen

El *Agave lechuguilla* es una planta nativa de las zonas áridas y semiáridas de México. Su aprovechamiento es una actividad con beneficios socioeconómicos para los pobladores rurales, debido a la extracción de sus fibras naturales, mejor conocidas como *Ixtle*. El *Ixtle* se obtiene mediante el tallado manual o mecánico del cogollo, que está integrado por las hojas tiernas y centrales de la planta. Como resultado de este proceso, el 85% representa un residuo vegetal o bagazo conocido como “*guishe*”.

Actualmente, este residuo es desechado al aire libre, generando problemas de contaminación ambiental por fermentación o cuando los campesinos lo incineran. Por lo tanto, se han planteado alternativas que permitan un mejor manejo del bagazo. Entre estas alternativas, se realizaron estudios para encontrar moléculas de alto valor en el *guishe*, tales como las antocianinas. Estas moléculas son compuestos polifenólicos con propiedades antioxidantes, que han tenido gran demanda en el mercado por su diversidad de aplicaciones, en la industria alimenticia, farmacéutica o cosmeceútica principalmente. Es por ello, que en el presente trabajo se realizó un análisis de factibilidad técnica de un bioproceso diseñado para obtener antocianinas a partir del bagazo del *Agave lechuguilla*.

Para esto, se determinó el mercado con base a la disponibilidad de bagazo y la demanda de antocianinas, considerando los datos de importación de colorantes naturales de origen vegetal que se realiza en México y de acuerdo con la Secretaría de Economía y los datos arancelarios. Posteriormente, se calcularon las variables de producción y los modelos involucrados en cada operación unitaria del bioproceso diseñado previamente por el grupo de investigación, utilizando la información experimental obtenida en el laboratorio y algunos datos teóricos complementarios. Se modeló cada equipo utilizando el programa Aspen plus V10.0. Los balances de masa mostraron una producción total de antocianinas del 0.02254 kg/día. Los balances de energía muestran que el equipo con mayor requerimiento energético total fue el segundo secador y el compresor. Se dimensionó cada equipo para obtener la cantidad de lotes que operarán, el número de equipos y los tiempos de operación. Los equipos que operarán de manera continua son el molino y la extracción con fluidos supercríticos. Se estima que el bioproceso es técnicamente factible a escala piloto y que será necesario evaluar diferentes

escenarios para producir otros compuestos bioactivos o aumentar los rendimientos produciendo flavonoides.

Palabras clave: *Antocianinas, bioproceso, bagazo, Agave lechuguilla*

ORCID: 0000-0001-8809-2891

Vo.Bo. Directora de Tesis



Dra. Ana Gisela Reyes Alvarado

Summary

Agave lechuguilla is a native plant from the arid and semi-arid zones of Mexico. Its wide distribution and uses bring socioeconomic benefits for rural inhabitants, due to the extraction of its natural fibers, better known as *Ixtle*. The *Ixtle* is obtained from the bud made up of the tender central leaves of the plant, by manual or mechanical carving. As a result of this process, 85% represents a vegetal residue or a bagasse named "guishe".

Currently, this residue is discarded in the open field, generating environmental problems by its fermentation or when the farmers incinerate it. Therefore, some alternatives have been proposed to better manage the bagasse disposition. According to this, studies have been carried out to find high-value compounds in the *guishe*, such as anthocyanins. These molecules are, in general, water-soluble pigments with antioxidant properties. Due to their bioactivities are demanded in the market, mainly in the food, pharmaceutical or cosmeceutical industries. For these reasons, in this work, a technical feasibility analysis was carried out to obtain anthocyanins from the bagasse of the *Agave lechuguilla*.

For this, the market was determined based on the availability of bagasse and the demand for anthocyanins, considering the import data that Mexico makes of natural dyes of vegetable origin according to the Ministry of Economy and tariff data. After that, the production variables and the models involved in each unit operation of the bioprocess were calculated, using the experimental information previously obtained in the laboratory and theoretical complementary data. Each piece of equipment was modeled using the Aspen plus V10.0 program. Mass balances showed a total anthocyanin production of 0.02254 kg/day. The energy balances show that the equipment with the highest energy consumption was the second dryer and the compressor. Each equipment was dimensioned to obtain the number of batches that will operate, the number of pieces of equipment and the operating times. The equipment that will operate continuously is the mill and the extraction with supercritical fluids. It is estimated that the bioprocess is technically feasible on a pilot scale and that it will be necessary to evaluate different scenarios to produce other bioactive compounds or increase yields by producing flavonoids.

Keywords: *Anthocyanins, bioprocess, bagasse, Agave lechuguilla*

ORCID: 0000-0001-8809-2891

Vo.Bo. Directora de Tesis

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Ana Gisela Reyes Alvarado', written in a cursive style.

Dra. Ana Gisela Reyes Alvarado

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mis Padres, Oscar Armando Chávez Rodríguez y Guillermina Cobián Plascencia, por el inmenso amor que me brindan, por sus enseñanzas, paciencia y bondad para mostrarme como ser una mejor persona.

Les agradezco infinitamente todo el apoyo incondicional que he recibido de ustedes y gracias por implementarme el amor a la ciencia.

Los amo con toda el alma.

Agradecimientos

Agradezco ampliamente al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada con número 743874 para la obtención del grado de Maestría.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) por permitirme realizar mis estudios de Maestría, a todo el personal académico que me ayudo a mi formación profesional y al personal administrativo de Posgrado por su disposición y amabilidad que me brindaron durante mi estancia en la Institución.

A la Universidad Santiago de Chile, por proporcionarnos el software Aspen plus V.10 para la elaboración de este proyecto.

A mi Comité Tutorial por todo el apoyo brindado, por sus buenas vibras, comentarios positivos y su entusiasmo para guiarme en mi formación académica. Los considero mis padres académicos

A la Dra. Ana Gisela Reyes Alvarado, mi Directora de Tesis, muchas gracias por sus palabras de motivación, por su apoyo incondicional en cada etapa del proyecto para que esté pudiera concluir. Por creer en mí para realizar estos temas de investigación. Por sus enseñanzas y su amistad brindada para seguir creciendo en la ciencia. Es una clave muy importante en mi formación académica, ya que, descubrí un tema muy apasionante al cuál me quiero dedicar que son los bioprocesos.

Al Dr. Julián Andrés Quintero Suarez, mi Co-Tutor de Tesis, que le puedo decir, sin usted este trabajo no sería posible. Muchas gracias por todo su apoyo, por su tiempo, su paciencia para guiarme y orientarme en la elaboración del proyecto. Me siento bendecida por encontrarme con una persona como usted que, a pesar de sus actividades académicas, siempre estuvo en la mejor disposición de apoyarme, su pasión por la ciencia y su entrega con los estudiantes fue clave para que pudiera obtener todos los conocimientos necesarios para poder desarrollar el tema. Gracias por ser un pilar muy fuerte en mi formación académica y personal.

A la Dra. Selena Gutiérrez Flores, mi Co-Tutora de Tesis, gracias por incorporarse a este proyecto y continuar siendo parte de mi comité tutorial. Estuvo conmigo desde el primer proyecto, viviendo todo este proceso caótico de la pandemia que pase durante mi estancia en la maestría y, desde la distancia, siempre me estuvo apoyando, brindando mensajes positivos para mi mejora y creyendo en mí. Muchas gracias.

A la Dra. Zoé Pelletier-Morreeuw, por el apoyo brindado, el tiempo, la dedicación y la paciencia para entrarme al tema de la lechuguilla. Por orientarme en los objetivos principales del proyecto y por transmitirme el amor a la ciencia, gracias.

A la Dra. Bertha Olivia Arredondo Vega (Kitty), muchas gracias por ser la pionera en mi formación académica. Gracias por siempre brindarme tu apoyo, por tus enseñanzas y el amor que transmites a los estudiantes, eres un ejemplo a seguir.

A la Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro, por ser una excelente Directora de Posgrado y por apoyar a la generación pandemia para concluir nuestros temas de tesis, gracias.

A mi familia, a mis Padres, mis Hermanos, y mis Suegros, muchas gracias por siempre estar para mí, los amo infinitamente, siempre se encuentran en mi corazón.

Finalmente, un agradecimiento muy especial a mi familia por decisión, a mi esposo Jesús Adrian Dibene Ramírez y a mi hija Elia Itzayana Dibene Chávez, gracias por elegirme como esposa y madre. Son el motor de mi vida y sin ustedes la conclusión de este proyecto no sería posible. Muchas gracias por no dejarme rendir y por apoyarme incondicionalmente cada día de mi vida. Los amo con todo mi corazón.

GRACIAS.

Contenido	
Resumen	i
Summary	iii
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Contenido	viii
Lista de figuras	x
Lista de tablas	xi
Abreviaturas	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 <i>Agave lechuguilla</i>	4
2.1.1 Descripción botánica	4
2.1.2 Distribución geográfica y hábitat	5
2.1.3 Fibra o “Ixtle”	6
2.1.4 Bagazo o “guishe”	8
2.2 Flavonoides.....	11
2.3. Antocianinas	12
2.3.1 Estructura química	13
2.3.2 Propiedades fisicoquímicas	15
2.3.3 Capacidad antioxidante.....	18
2.3.4 Extracción de antocianinas.....	19
2.3.4.1 Extracción asistida por enzimas	20
2.3.4.2 Fluidos supercríticos.....	20
2.3.5 Análisis de la demanda de antocianinas en el mercado	25
2.4 Simulación de procesos (Aspen plus).....	27
3. JUSTIFICACIÓN	29
4. HIPÓTESIS	31
5. OBJETIVOS	32
5.1 Objetivo general	32
5.2 Objetivos particulares	32
6. MATERIAL Y MÉTODOS	33
6.1 Determinación del mercado con base a la disponibilidad de materia prima	33
6.2 Demanda del producto (antocianinas).....	33
6.3 Composición química del <i>Agave lechuguilla</i>	34
6.4 Determinación de las variables de producción de cada operación unitaria.....	35
6.5 Modelos involucrados en las operaciones unitarias del bioproceso	38
6.6 Producción de antocianinas a partir del bagazo del <i>Agave lechuguilla</i>	40
6.6.1 Descripción del proceso	40
6.6.2 Simulación del proceso	42
6.7 Dimensionamiento de equipos	45
6.8 Determinación de la factibilidad técnica.....	45
7. RESULTADOS	46
7.1 Demanda de antocianinas con base en la disponibilidad de bagazo del <i>Agave lechuguilla</i>	46
7.2 Composición química del bagazo en la entrada del bioproceso.....	47
7.3 Simulación del bioproceso	48

7.3.1 Balances de masa	50
7.3.2 Balances de energía	52
7.4 Dimensionamiento de los equipos.....	54
7.5 Factibilidad técnica.....	62
8. DISCUSIÓN	63
8.1 Demanda del mercado de antocianinas.....	63
8.2 Rendimiento obtenido de la simulación del bioproceso	64
8.2.1 Balances de energía	69
8.3 Factibilidad técnica.....	70
9. CONCLUSIONES	73
10. LITERATURA CITADA.....	75
11. ANEXOS	88
Anexo 1. Condiciones del modelo HCOALGEN para calcular la entalpía y la densidad de los componentes no convencionales (Cenizas) de la corriente de entrada del bagazo. Se requiere tres atributos: PROXANAL (análisis aproximados), ULTANAL (análisis finales) y SULFANAL (análisis de azufre).....	88
Anexo 2. Especificaciones en Aspen plus de las corrientes de los componentes involucrados	89
Anexo 3. Niveles de madurez tecnológica (TRL). Tomado de Olguin, 2018.	89

Lista de figuras

Figura 1. Planta del <i>Agave lechuguilla</i>5 (https://www.naturalista.mx/taxa/83105-Agave-lechuguilla consultado el 27 de junio del 2021)	5
Figura 2. Distribución geográfica del <i>Agave lechuguilla</i>6 (https://www.naturalista.mx/taxa/83105-Agave-lechuguilla consultado el 27 de junio del 2021).	6
Figura 3. Fibras naturales o <i>Ixtle</i> extraído del cogollo del <i>Agave lechuguilla</i> (Obtenido de Flores, 2018).....7	7
Figura 4. Montículos de <i>guishe</i> seco en el Ejido Porvenir, Parras de la Fuente, Coahuila. (Obtenido de De la Cerda, 2012).....9	9
Figura 5. Base esquelética de un flavonoide (Tomado de Barriada – Bernal <i>et al.</i> , 2014).....12	12
Figura 6. Estructura de las antocianinas (Tomado de Durst y Wrolstad, 2001).14	14
Figura 7. Diagrama de fases de un fluido supercrítico (Tomado de Román <i>et al.</i> , 2016)21	21
Figura 8. Diagrama de flujo de un proceso de extracción con fluidos supercríticos con CO ₂ (Tomado de Hernández <i>et al.</i> , 2015).23	23
Figura 9. Diagrama de bloques del proceso de producción de antocianinas en planta piloto35	35
Figura 10. Diagrama de la simulación del bioproceso para la producción de antocianinas (ACN) a partir del bagazo del <i>Agave lechuguilla</i>48	48
Figura 11. Simulación de la extracción con fluidos supercríticos en Aspen plus V10.0.50	50
Figura 12. Equipo seleccionado para la operación del segundo secado.56	56
Figura 13. Diagrama de los equipos industriales del bioproceso propuesto.62	62

Lista de tablas

Tabla 1. Sustituyentes de las antocianinas más conocidas y de mayor abundancia en las plantas superiores. Los nombres derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez (Tomado de Durst y Wrolstad, 2001).	15
Tabla 2. Volumen de producción de la fibra y del guishe de la lechuguilla (<i>Agave lechuguilla</i> Torr.) después del beneficio y transformación para la obtención de la fibra en el noreste de México (SEMARNAT, 2018).	33
Tabla 3. Composición química del <i>Agave lechuguilla</i> Torr. (Carmona <i>et al.</i> , 2017).	34
Tabla 4. Distribución del tamaño de partícula considerado para los componentes sólidos del material fibroso del <i>Agave lechuguilla</i>	36
Tabla 5. Distribución del tamaño de partícula en la salida del proceso de molienda.	36
Tabla 6. Variables de operación para la extracción de fluidos supercríticos.	38
Tabla 7. Modelos empleados en algunas operaciones unitarias requeridas.	39
Tabla 8. Fracciones de los componentes principales involucrados en el separador para la extracción con fluidos supercríticos, antes de la separación.	42
Tabla 9. Condiciones de operación del bioproceso	44
Tabla 10. Volumen necesario para determinar la cantidad de bagazo que se requiere para cubrir la demanda de antocianinas a partir de los datos obtenidos en el laboratorio.	46
Tabla 11. Flujos máscicos de la corriente principal de entrada del bagazo de <i>Agave lechuguilla</i> . ..	47
Tabla 12. Balance de masa de las corrientes de entrada y salida de la simulación de la extracción de fluidos supercríticos de la figura 11.	51
Tabla 13. Balance de masa general de la corriente principal de entrada y las de salida del bioproceso para la producción de antocianinas a partir del bagazo del <i>Agave lechuguilla</i>	52
Tabla 14. Balances de energía de las principales operaciones unitarias involucradas en el proceso.	53
Tabla 15. Dimensionamiento del equipo de secado.	54
Tabla 16. Dimensionamiento del segundo secado. Parámetros considerados que se ajustan a las condiciones de operación previamente establecidas en el bioproceso.	57
Tabla 17. Comparación entre los parámetros del equipo seleccionado (Mercado) y la simulación de la extracción de fluidos supercríticos.	58
Tabla 18. Parámetros considerados para el dimensionamiento del equipo del proceso de liofilización.	60
Tabla 19. Dimensionamiento de todos los equipos involucrados en el proceso.	61
Tabla 20. Precios de los equipos involucrados en el bioproceso.	62

Abreviaturas

ACN	Antocianinas
ADEX	Asociación de exportaciones en Perú
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Aspen	Sistema avanzado para ingeniería de procesos
Aspen plus	Aspen Technology Inc. USA
° C	Grados Celsius
C	Corriente
C_B	Índice de trabajo de Bond
CAM	Metabolismo ácido de las crasuláceas
CIPSD	Sólidos convencionales
CO₂	Dióxido de carbono
CO₂ - SFE	Dióxido de carbono en condiciones críticas
d_A	Tamaño de partícula de la alimentación
d_E	Tamaño de partícula del producto
DW	Peso seco
E₁	Mezclador
E₂	Compresor
E₃	Cámara de extracción
E₄	Cámara de separación
E₅	Válvula adiabática
E₆	Conector
ETAN-H₂O	Mezcla de etanol y agua
FC	Factor de conversión
FD&C	Alimentos, medicamentos y cosméticos
FDA	Administración de alimentos y medicamentos
FOB	Gratis a bordo
H	Hidrógeno
H	Entalpía
H₂O	Agua

H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
HOC	Ecuación de Hayden – O’Connell
ITC	Centro de comercio Internacional
L₁	Liofilizador
L*W*H	Largo, ancho y alto
<i>ṁ</i>	Flujo másico
MIT	Instituto Tecnológico de Massachusetts
MIXED	Mezcla
NOM	Norma Oficial Mexicana
NRTL	Modelo no aleatorio de dos líquidos
O₂	Oxígeno
O₂⁻	Superóxidos
OCH₃	Metoxilo
OH	Hidroxido
P₁	Secador 1
P₂	Molienda
P₃	Intercambiador de calor
P₄	Reactor estequiométrico 1
P₅	Secador 2
P₆	Reactor estequiométrico 2
pH	Potencial de hidrógeno
PROFECO	Procuraduría federal del consumidor
PSRK	Predictivo Soave-Redlich-Kwong
ROO⁻	Peróxidos
ROS	Especies reactivas de oxígeno
RSTOIC	Reactor estequiométrico
SEMARNAT	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
SIAVI	Sistema de Información Arancelaria Vía Internet
SIICEX	Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior
SNICE	Servicio Nacional de Información del Comercio Exterior

SR - Polar	Método termodiámico basado en la ecuación de estado de SRK y propuesta por Schwarzantruber-Renon
TIGIE	Tarifa de ley de los impuestos generales de importación y exportación
TRL	Sistema de evaluación de madurez tecnológica
UMT	Unidad de medida de tarifa
UNIFAC	Método termodinámico de coeficientes de actividad
UPF	Unidades de papel filtro
W_B	Trabajo de molienda

1. INTRODUCCIÓN

El *Agave lechuguilla* (lechuguilla) es una planta nativa de las zonas áridas y semiáridas de México, perteneciente a la familia Asparagáceas (Tropicos, 2021). Su distribución geográfica es muy amplia, abarca una superficie aproximada de 20 millones de hectáreas, correspondiente al 10% del territorio nacional mexicano (Castillo *et al.*, 2011; Márquez *et al.*, 1996). Por ello, es considerada como uno de los recursos forestales no maderables, aportando beneficios socioeconómicos a los pobladores rurales, por la extracción de sus fibras naturales mejor conocidas como “*Ixtle*”, convirtiéndose en una actividad esencial para contribuir al desarrollo cultural, y a las economías rural y nacional (Castillo *et al.*, 2013; Reyes *et al.*, 2000; Rzedowski, 2005).

Debido a la amplia versatilidad que tienen las fibras naturales, están son utilizadas principalmente en la industria, y para uso doméstico (Castillo *et al.*, 2013; Sheldon, 1980). Su producción se lleva a cabo mediante el tallado manual o mecánico de las hojas más tiernas de la planta mejor conocido como cogollo (Castillo *et al.*, 2005; Narcia *et al.*, 2012). El objetivo de este proceso es separar las fibras naturales del bagazo o “*guishe*” (tejido succulento de la hoja), el cuál llega a representar el 85% del peso fresco de la cosecha, lo que corresponde a más de 150 mil toneladas de biomasa residual al año (Burciaga *et al.*, 2011; Dewey, 1965; Díaz - Jiménez *et al.*, 2019; Taylor *et al.*, 2017). Este subproducto actualmente no tiene un valor comercial, por lo tanto, se acumula en grandes cantidades. Es desechado en campo abierto provocando contaminación ambiental y ecológica, principalmente al ser incinerado por los campesinos para liberar espacio de almacenamiento (Carmona *et al.*, 2017; Mathews, 1937; Castillo *et al.*, 2005; Díaz – Jiménez, *et al.*, 2019; Gentry, 1982; Nobel, 1998).

Debido a esta problemática, la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SEMARNAT- 1996 estableció los procedimientos, criterios y especificaciones para realizar el aprovechamiento, transporte y almacenamiento de los cogollos. Con ello, se asegura la perennidad de las poblaciones silvestres de *Agave lechuguilla*. Por lo tanto, el *guishe* que se genera, puede ser considerado como una biomasa renovable y abundante (Castillo *et al.*, 2005; Pando-Moreno *et al.*, 2008). Entonces, derivado de esta acumulación, el bagazo puede considerarse como un recurso natural valioso

bajo un esquema de biorrefinería para el aprovechamiento integral de la lechuguilla (Díaz-Jiménez *et al.*, 2019).

Estudios previos han realizado investigaciones para establecer las características fisicoquímicas y posibles aplicaciones del bagazo del *Agave lechuguilla*, entre las que destacan la producción de biocombustibles a nivel piloto, así como la obtención de compuestos bioactivos como fitoquímicos, entre otros (Ortiz-Méndez *et al.*, 2017; De la Cerda, 2012; Siller Juarez *et al.*, 2014). Sin embargo, no ha sido posible escalar procesos viables para aprovechar el residuo de manera integral, y una alternativa es utilizarlo bajo el concepto de biorrefinería para una implementación a nivel industrial que sea sostenible, produciendo compuestos bioactivos que sean de interés en el mercado (Díaz – Jiménez *et al.*, 2019; Prado y Meireles, 2012). Entre los compuestos bioactivos de interés que se han encontrado en el bagazo del *Agave lechuguilla* están los flavonoides (Almaraz – Abarca *et al.*, 2013a). Morreeuw y colaboradores, en el 2021, extrajeron flavonoides del bagazo del *Agave lechuguilla* utilizando como extractantes etanol y metanol. Encontraron que los extractos etanólicos tenían mayor concentración de flavonoides, hasta de un 6.23 QE/g, en comparación con los extractos metanólicos (3.81 QE/g). De igual manera, dentro de la diversidad de flavonoides, encontraron antocianinas en los extractos etanólicos, como la cianidina que obtuvieron una cantidad entre 3.53 y 10.48 µg/g, y de delphinidina entre 11.42 y 21.55 µg/g de materia seca. Esto demuestra que el bagazo puede ser una materia prima potencial para la producción de compuestos polifenólicos como las antocianinas, que tienen una gran diversidad de aplicaciones y que son demandas en el mercado, principalmente en las industrias alimenticia, farmacéutica y cosmeceútica.

Las antocianinas son compuestos polifénolicos hidrosolubles que se encuentran almacenados en las vacuolas de las células vegetales (Lock, 1997; Mazza, 1993; Wagner, 1982). Se caracterizan porque son visibles al ojo humano, presentando colores como el azul, púrpura y rojo; principalmente. Debido a su capacidad antioxidante, presentan una gran diversidad de propiedades, como lo son: antiinflamatorias, antitumorales, anticancerígenas, antidiabéticas, entre otras; posicionándolas como un potencial promotor para la salud (Kurambhatti *et al.*, 2020; De Pascual-Teresa y Sánchez-Ballesta, 2008; Strack y Wray, 1989). Debido a estas cualidades, las antocianinas son atractivas para el mercado, como en la industria alimenticia por

sus características sensoriales en los alimentos; en la farmacéutica por sus beneficios a la salud humana a través de diferentes vías; y en la cosmeceútica y textil al ser utilizados como colorantes naturales de origen vegetal (Boo *et al.*, 2012; De Pascual-Teresa y Sánchez-Ballesta, 2008; Garzón, 2008; He y Giusti, 2010).

Los colorantes naturales de origen vegetal han tenido gran relevancia en la industria internacional, principalmente por las antocianinas, ya que existe una tendencia creciente en la que los consumidores prefieren estos colorantes sobre los sintéticos, lo que ha ocasionado un incremento en el mercado de producción de antocianinas. El mercado internacional representa cerca de 3 millones de toneladas, con una demanda en crecimiento a un ritmo del 4 al 6% anual, lo que estimula los grandes intereses de las industrias (García y Campos, 2021). Los principales importadores son Europa y Estados Unidos, principalmente por las exportaciones peruanas del maíz morado para la producción de antocianinas (García y Campos, 2021; Palaco, 2018).

Sin embargo, a pesar de las grandes ventajas que presentan las antocianinas, su extracción no es económica debido a los altos costos de las materias primas, los altos requisitos de energía para el almacenamiento y procesamiento, y los bajos ingresos por coproductos (Somavat, 2017; Somavat *et al.*, 2018). Por ello, es necesario buscar procesos alternativos más económicos, con materias primas biodisponibles. A partir de esto, se han analizado y evaluado diferentes especies de plantas y frutos que contengan un importante contenido de antocianinas. Sin embargo, la producción sigue siendo costosa.

Con esta problemática, el bagazo del *Agave lechuguilla* puede ser una buena alternativa como materia prima económica, al estar disponible en el ambiente y no ser aprovechado actualmente para la producción de antocianinas. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es evaluar la factibilidad técnica de un bioproceso que fue diseñado previamente en el laboratorio por el grupo de trabajo, para producir antocianinas a partir del bagazo del *Agave lechuguilla*. Esto se llevó a cabo mediante una simulación utilizando el software Aspen Plus V10.0.

2. ANTECEDENTES

2.1 *Agave lechuguilla*

El *Agave lechuguilla* es una planta que se encuentra clasificada dentro de la familia Asparagácea (Tropicos, 2021). Fue descrita por primera vez en 1859 por el taxónomo J. Torrey, quién además señaló que su nombre común era lechuguilla (McCleary, 1955). Ésta, es considerada como un recurso forestal no maderable, que forma parte del desarrollo cultural y contribuye a la economía rural y nacional, debido a que, genera fuentes de empleo. Se puede utilizar como autoconsumo y para la comercialización de la materia prima, trayendo divisas para el país, gracias a su amplia área de distribución (Aguirre, 1983; Berlanga *et al.*, 1992; Castillo *et al.*, 2005; Reyes *et al.*, 2000).

2.1.1 Descripción botánica

El *Agave lechuguilla* es un arbusto rosetófilo, acaule y pequeño. Llega a medir entre 30 y 40 cm de ancho, y 20 a 70 cm de alto. Cada planta contiene un promedio de 10 a 50 hojas ascendentes conocidas como pencas de color verde claro hasta amarillo verdoso, en forma de rosetas lineales lanceoladas, que irradian desde el suelo sin un tronco expuesto (Fig. 1). Las hojas son gruesas, fuertes y rígidas, con tamaños de 3-6 cm de ancho y 20-50 cm de largo. Cada hoja contiene de 8 a 20 púas en forma de gancho de 3 – 8 mm de largo de color gris claro, y termina con una espina afilada de 25-40 mm de largo. Las hojas externas de la planta son duras, ásperas y difíciles de trabajar. Las hojas más jóvenes y tiernas crecen en una yema apical desarrollada conocida como cogollo, que se forma en el centro de la planta. (Berlanga *et al.*, 1992; Dewey, 1965; Font Quer, 1953; Gentry, 1982; Rzedowski, 1964; Sheldon, 1980).



Figura 1. Planta del *Agave lechuguilla*
(<https://www.naturalista.mx/taxa/83105-Agave-lechuguilla> consultado el 27 de junio del 2021)

2.1.2 Distribución geográfica y hábitat

La lechuguilla es una planta suculenta nativa de las zonas áridas y semiáridas de México, destacando las regiones del desierto de Chihuahua y los estados de Coahuila, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas. En el centro del país se encuentran en menor proporción los estados de Hidalgo, Estado de México y Oaxaca. También se puede ubicar en algunas partes del sur de Estados Unidos, Texas y Nuevo México, principalmente. Sin embargo, éste no es un país productor de la lechuguilla debido a que la mano de obra es cara y existen otras actividades productivas mejor remuneradas (Castillo *et al.*, 2011; Marroquín *et al.*, 1981; Nobel y Quero, 1986; Reyes *et al.*, 2000).

Así, su distribución geográfica es muy amplia, abarca una superficie aproximada de 20 millones de hectáreas, correspondiente al 10% del territorio nacional mexicano (Fig. 2) (Castillo *et al.*, 2011; Márquez *et al.*, 1996), siendo una especie dominante y clave en los ecosistemas matorrales desérticos rosetófilos y microfilos (Reyes *et al.*, 2000; Rzedowski, 1964; Rzedowski, 2005). La densidad de sus poblaciones naturales varía entre los 4,300 a 56,000 individuos por hectárea en matorrales desérticos rosetófilos, mientras que en el matorral desértico micrófilo son más frecuentes individuos promedios de 21,000 por hectárea (Nobel y Quero, 1986; Reyes *et al.*, 2000). Esta repartición y alta densidad se debe a su alta capacidad de competencia intraespecífica e interespecífica, así como resistencia a plagas y herbivoría (Reyes *et al.*, 2000).



Figura 2. Distribución geográfica del *Agave lechuguilla* (<https://www.naturalista.mx/taxa/83105-Agave-lechuguilla> consultado el 27 de junio del 2021).

Esta planta prospera principalmente en terrenos secos áridos, montañosos, y en suelos calizos, calcáreos rocosos (pedregosos) y arcillosos con poca materia orgánica y en pendientes pronunciadas (Berlanga *et al.*, 1992; Zapién, 1981; Villarreal y Maiti, 1989). Dada su amplitud altitudinal que varía entre los 200 a 2400 m.s.n.m., puede abarcar climas secos, semisecos, templados, veranos cálidos y bajas precipitaciones (entre 200 a 500 mm con un 60% de las precipitaciones anuales principalmente durante el verano). Esto, le da la característica de adaptarse a ambientes extremos, logrando crecer en temperaturas desde -8°C a 44°C y resistir a períodos de sequía de varios años, así como inundaciones (Berlanga *et al.*, 1992; Castillo *et al.*, 2008; Pulido, 2004; Blando y Baca, 2001; Hernández *et al.*, 2005). Bajo estas condiciones, su metabolismo es de tipo CAM (*Crassulean Acid Metabolism* por sus siglas en inglés), debido a su gran capacidad de almacenar agua y de absorción del CO_2 durante la noche (Eickmeier y Adams, 1978; Nobel y Quero, 1986).

2.1.3 Fibra o “Ixtle”

La lechuguilla ha aportado beneficios socioeconómicos a los pobladores rurales por su extracción de fibras naturales mejor conocidas como “Ixtle” (Fig. 3), la cual se ha convertido en una actividad esencial para mantener los empleos directos para la subsistencia de las familias rurales (Castillo *et al.*, 2013).



Figura 3. Fibras naturales o *ixtle* extraído del cogollo del *Agave lechuguilla* (Obtenido de Flores, 2018).

El *ixtle* de la lechuguilla, es una fibra natural que se obtiene del cogollo (brote o tallo central), integrado por las hojas más tiernas y jóvenes de la yema apical (cogollo) que se encuentran agrupadas o enrolladas en la porción central de la planta (Castillo *et al.*, 2005; Narcia *et al.*, 2012), teniendo la mejor calidad y el mayor valor comercial. Además, de tener la ventaja de ser cosechado varias veces sin necesidad de sacrificar la planta (Sheldon, 1980).

Estas fibras se caracterizan por ser fuertes, duras, de alta resistencia, durabilidad, textura suave, elasticidad, absorbente y posee una única aspereza en su superficie, lo que le permite tener una versatilidad de uso, ya que se puede emplear para uso industrial, doméstico y construcción; principalmente (Castillo *et al.*, 2013; Sheldon, 1980). Entre la gran diversidad de aplicaciones que presenta el *ixtle*, destacan la producción de cepillos, cuerdas, brochas, tapetes, escobetas, sacos, entre otros (Gentry, 1982), generando una fuente de entrada de divisas para el país con tendencias a una mayor demanda de fibras naturales. Cabe destacar que México es el único país productor de *ixtle*, teniendo un mercado nacional e internacional, exportando el 93% de su producción, principalmente a Estados Unidos, los Países Bajos, Suiza y Honduras (Castillo *et al.*, 2011).

Para realizar la extracción del *ixtle*, los campesinos recorren el campo en busca de pencas, recolectan el cogollo de la lechuguilla para proceder al tallado, se separan las hojas de mayor dimensión para seleccionar las hojas tallables y se desechan aquellas más tiernas y de menor tamaño, regularmente se obtienen alrededor de 6 a 8 hojas tallables. El tallado de las hojas para obtener las fibras puede ser de manera manual o mecánica (Dewey, 1965).

El tallado manual es un proceso lento que se realiza en la zona de la recolecta, mediante el uso de un utensilio de metal puntiagudo y sin filo para desfibrar las hojas del cogollo. A pesar de obtener menores rendimientos, las fibras son de mayor calidad, más largas, gruesas, uniformes y de mayor resistencia (De la Garza, 1987; Dewey, 1965). En el tallado mecánico, hay un menor esfuerzo, aumentando la producción y obteniendo mayores ingresos económicos en menor tiempo. Este tallado consiste en utilizar una máquina en forma de cilindro o de tambor con clavos incrustados a base energía eléctrica. Una vez extraída la fibra, se seca al sol durante varios días para continuar con su tratamiento y exportación. A pesar de que este proceso es más rápido y eficiente, la fibra puede llegar a ser de menor calidad (Berlanga *et al.*, 1992; Dewey, 1965; Zapién, 1981).

El objetivo de estos procesos consiste en separar las fibras de la parte más carnosa de las hojas tiernas del cogollo para eliminar su epidermis y separar las fibras del bagazo o “*guishe*” (tejido succulento de la hoja) (Dewey, 1965). Se ha determinado que el *ixtle* representa tan solo el 15% de la cosecha de la planta, mientras que el otro 85% del residuo vegetal restante corresponde al *guishe*, lo que representa alrededor de más de 150 mil toneladas de biomasa residual al año sin aprovechar (Burciaga *et al.*, 2011; Díaz - Jiménez *et al.*, 2019; Taylor *et al.*, 2017).

2.1.4 Bagazo o “*guishe*”

El bagazo (o *guishe*) es la pulpa residual que se obtiene después del tallado del cogollo del *Agave lechuguilla* y representa el 85% del peso fresco de la cosecha (Orozco *et al.*, 1977). Este subproducto actualmente no tiene un valor comercial y de explotación, por lo tanto, se acumula en grandes cantidades (Fig. 4). Es desechado a campo abierto provocando la erosión del suelo, así como un factor de contaminación por fermentación (por su alto contenido de celulosa y azúcares) al tardar en degradarse, promoviendo el crecimiento bacteriano y el riesgo en las localidades donde se llevan a cabo la producción del *ixtle*, ya que en algunas de ellas incineran el bagazo para liberar espacio de almacenamiento, provocando contaminación ambiental y ecológica.



Figura 4. Montículos de *guishe* seco en el Ejido Porvenir, Parras de la Fuente, Coahuila. (Obtenido de De la Cerda, 2012).

Debido a esta problemática, fue necesario buscar alternativas para el manejo del residuo del bagazo. Así, con base en las normas de aprovechamiento del *Agave lechuguilla* la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SEMARNAT- 1996, se considera al *guishe* como un recurso abundante y renovable (Castillo *et al.*, 2005). Consecutivamente, se realizaron investigaciones para estudiar sus características fisicoquímicas y sus posibles aplicaciones.

Entre las aplicaciones más destacadas por su poder abrasivo se encuentran la elaboración de láminas, maderas aglomeradas, cartón, papel filtro, absorbentes, geotextiles, tableros, embalajes, ladrillos (con mezcla de arcilla), y en la industria del vidrio (Berlanga *et al.*, 1992).

También es utilizado para mejorar el suelo en parcelas agrícolas como composta, en la producción de biocombustibles a nivel piloto (Ortiz-Méndez *et al.*, 2017; Sheldon 1980), así como en la obtención de compuestos bioactivos como fitoquímicos que tienen la capacidad de ser antimicrobiana (tales como timol, carvacrol, xilitol), antifúngicos, antioxidante (como vitamina C, esteroides, hormonas, saponinas y flavonoides), entre otras (De la Cerda, 2012; Gregorio-Jáuregui *et al.*, 2008; Reyes *et al.*, 2000; Siller Juárez *et al.*, 2014). De las saponinas se producen los jabones o shampoo (Flores y Perales, 1989; Zapién, 1981). A pesar de esta gran diversidad de aplicaciones, la mayor parte del bagazo no se aprovecha a gran escala, generando desperdicio, problemas ecológicos, y por lo tanto, bagazo disponible por aprovechar.

Sin embargo, si se pretende implementar de manera sostenible a nivel industrial la producción de compuestos bioactivos utilizando como materia prima el bagazo, es necesario realizarlo bajo el concepto de biorrefinería para promover el uso de estos residuos que generarían una amplia gama de co-productos de alto valor agregado (Díaz – Jiménez *et al.*, 2019; Prado y Meireles, 2012). Inclusive, algunas agroindustrias han extraído esteroides, saponinas, terpenos, vitaminas y hormonas a partir del residuo de la Lechuguilla (Gentry, 1982 y Nobel, 1998). No obstante, para disminuir los costos de transporte de la materia prima, las industrias prefieren otros recursos más accesibles con agaves más comerciables, y estas son otras de las causas por las que el bagazo sigue desechándose en grandes volúmenes y dando como resultado pérdidas económicas a los campesinos (Carmona *et al.*, 2017; Castillo *et al.*, 2005).

Entre los compuestos bioactivos de interés que se han encontrado en el *Agave lechuguilla* están los flavonoides (Almaraz – Abarca *et al.*, 2013a). Morreeuw *et al.*, 2021a, encontraron compuestos polifenólicos y flavonoides totales en el bagazo del *Agave lechuguilla* de 3 regiones distintas. Los compuestos polifenólicos más altos encontrados fueron de 16.46 GAE/g de la región donde se tenía menor índice de agua y de vegetación. Esto demuestra, que los estos compuestos no se ven afectados por las condiciones ambientales que estudiaron. En cuanto a los flavonoides totales, Morreeuw *et al.*, 2021a, encontraron que con extractos etanólicos contenían mayor diversidad de flavonoides, de hasta 6.32 QE/g, en comparación con los extractos metanólicos de 3.81 QE/g. Los autores mencionan que la mayor diversidad en flavonoides se encontró en el extracto etanólico de *guishe* y que esté es una materia prima valiosa en términos de sus extractos bioactivos enriquecidos con flavonoides (Morreeuw *et al.*, 2021a). Los compuestos flavonoides son de gran importancia, ya que han demostrado tener una fuerte capacidad antioxidante, insectividad, potencial anticancerígeno, antiinflamatorios, vasodilatadores, beneficios nutricionales, entre otros (Anguiano – Sevilla *et al.*, 2018; Kumar y Pandey, 2013; Ontiveros *et al.*, 2020). Y que, están presentes en todas las partes de la planta (hojas, flores, polen y rizomas) (Almaraz-Abarca *et al.*, 2013a; Anguiano Sevilla *et al.*, 2018; Misra *et al.*, 2018; Peña-Rodríguez *et al.*, 2020). Estos compuestos, de gran interés, podrían ser valorizados en la industria farmacéutica, nutracéutica, cosmética, agroalimentaria, bioenergéticos y como biomateriales (Pistelli y Giorgi, 2012; Lucci *et al.*, 2017).

2.2 Flavonoides

Los flavonoides son moléculas bioactivas derivadas de los compuestos fenólicos que contienen una gran variedad de propiedades bioquímicas, como actividades antioxidantes, antibacteriales, antivirales, antiinflamatorias, anticancerígenas, antimutagénicas, antidiabéticas y hepatoprotectoras (Kumar y Pandey, 2013). Se encuentran principalmente en plantas y alimentos de origen vegetal, como frutas, verduras, té, cacao y vino. En las plantas, son los responsables de su color, aroma y protección para el estrés biótico y abiótico; actúan como filtros UV, fotorreceptores e interacciones químicas con el medio ambiente, como moléculas de señal, compuestos alopáticos, fitoalexinas, agentes desintoxicantes y compuestos defensivos antimicrobianos. Además, tienen funciones de resistencia y adaptación en climas fríos y calurosos (Samanta *et al.*, 2011; Panche *et al.*, 2016). Esto genera que, de todas las plantas descritas, existan alrededor de 9000 variantes de moléculas con diferentes estructuras y actividades químicas, clasificados como flavonoides, flavonas, isoflavonas, flavanoles, taninos, calconas, antocianidinas, antocianinas, entre otros, que contribuyen a los pigmentos coloridos que se encuentran en las frutas, hierbas, vegetales y plantas medicinales (Yanez *et al.*, 2004; Mierziak, *et al.*, 2014; Panche *et al.*, 2016; Lucci *et al.*, 2017).

Los flavonoides son metabolitos secundarios de importancia por considerarse como productos naturales para la industria alimenticia y farmacéutica principalmente, por tener un amplio espectro de efectos que promueven la salud, participando en terapia de enfermedades y la quimiopreención (Brown, 1980; Pistelli y Giorgi, 2012). Por otra parte, son componentes indispensables en la industria cosmética y en la agricultura como plaguicidas (Metodiewa *et al.*, 1997; Panche *et al.*, 2016). Esto, se atribuye a sus propiedades bioquímicas, mencionadas anteriormente. Estructuralmente, son considerados polifenoles que están constituidos de esqueletos de 15 átomos de carbono con dos anillos de dihidroxibenceno unido por un heterociclo oxigenado llamado pirano de bajo peso molecular (Figura 5) (Hollman y Katan, 1997). Los compuestos se diferencian por el grado de hidroxilación o metoxilación de los anillos, presentándose como agliconas y derivados de glucósidos, esto hace que sean buenos donadores de hidrógeno y electrones, así como eficaces captadores de radicales libres, lo que caracteriza su actividad antioxidante. (Tsimogiannis y Oreopoulou, 2004; Tapas *et al.*, 2008;

Passmonti *et al.*, 2009). De estos, derivan las diferentes clasificaciones de los flavonoides de acuerdo a los subgrupos, ya mencionados anteriormente. Esto, depende del carbono que esté unido al anillo B y el grado de insaturación y oxidación con el anillo C (Fig. 5).

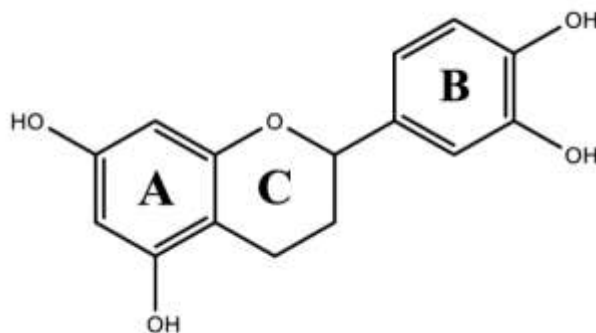


Figura 5. Base esquelética de un flavonoide (Tomado de Barriada – Bernal *et al.*, 2014)

Los flavonoides que presentan mayor actividad antioxidante, en su mayoría se encuentran en las plantas superiores que tienen respuesta a estímulos ambientales, caracterizándose por sus estructuras polihidroxi sustituidas en el anillo B (Tsimogiannis *et al.*, 2007; Pollastri y Tattini, 2011). Se acumulan en la vacuola celular y se forman a partir de los complejos enzimáticos del retículo endoplásmico (Pollastri y Tattini, 2011). Por otra parte, en diferentes especies de agaves que han mostrado actividades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias, que se han atribuido a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides (López-Romero *et al.*, 2018). La síntesis de estos compuestos está inducida por factores ambientales, principalmente por la presencia de las radiaciones UV que mantienen la homeostasis frente al estrés oxidativo que presenta el agave (Taiz y Zeiger, 2002; Pollastri y Tattini, 2011). También, se le atribuye factores como la temperatura, la demanda de agua y la disposición de nutrientes (Almaraz-Abarca *et al.*, 2013b; Puente-Garza *et al.*, 2017).

2.3. Antocianinas

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles de origen vegetal que forman parte de la familia de los flavonoides (polifenoles) (Mazza, 1993). La palabra antocianina es una combinación de dos palabras griegas, "Anthos" que significa flor y "kyanos" que significa azul, revelando su función como pigmento natural en la materia vegetal (Lock, 1997). Las antocianinas se caracterizan porque son visibles para el ojo humano, destacando los colores azul, púrpura y

rojo, que son reflejados por el resultado de la absorción selectiva de la luz según su longitud de onda (región visible). Se encuentran acumuladas en las vacuolas de las células vegetales, principalmente en las hojas, flores, semillas y frutos como arándanos, frambuesas, fresas, bayas rojas, camote, uvas, zarzamoras, ciruelas y jamaica; y en verduras como rábanos, zanahorias, la col, cebolla y maíz morado (Garzón, 2008; Oancea *et al.*, 2012; Prior y Wu, 2006; Strack y Wray, 1989; Valencia, 2015; Wagner, 1982).

Las antocianinas juegan un papel importante en las plantas al poseer diferentes funciones, entre ellas se encuentran la atracción de polinizadores, fitoalexinas o mecanismos de defensa químico como la protección contra los efectos de la radiación ultravioleta, contaminación viral y microbiana (De Pascual-Teresa y Sánchez-Ballesta, 2008; Garzón, 2008). Además, se ha demostrado que una alta ingesta de estos flavonoides tiene efectos potenciales benéficos para la salud humana en enfermedades coronarias, neurológicas, inflamación, diabetes e infecciones bacterianas, así como en el cáncer, envejecimiento, agudeza visual, comportamiento cognitivo, déficit de memoria, entre otros. Esto, debido a su alta capacidad antioxidante y relación con el estrés oxidativo, antimutagénicas, así como otras propiedades fisicoquímicas y biológicas (De Pascual-Teresa y Sánchez-Ballesta, 2008; Garzón, 2008; Li *et al.*, 2012; Soto-Vaca *et al.*, 2012).

Esto, demuestra que las antocianinas pueden tener una gran diversidad de aplicaciones, principalmente en la industria alimenticia (por sus características sensoriales en los alimentos), farmacéutica (beneficios a la salud humana a través de diferentes vías), cosmeceútica y textil, al ser utilizados como colorantes naturales de origen vegetal. También, pueden aplicarse como agentes potenciales en la obtención de productos con valor agregado para el consumo humano (Boo *et al.*, 2012; De Pascual-Teresa y Sánchez-Ballesta, 2008; Garzón, 2008).

2.3.1 Estructura química

Estructuralmente, las antocianinas son glucósidos solubles en agua que están formados por una molécula de antocianidina (llamada aglicona) que se une por enlace β -glucosídico a una fracción de carbohidratos, proporcionando mayor estabilidad y solubilidad a la molécula (Fig. 6) (Gross, 1987). Estos carbohidratos comúnmente son monosacáridos como la D-glucosa, D-galactosa, L-

Ramnosa, D-galactosa, D-arabinosa y D-Xilosa, que se unen con los grupos hidroxilos de la posición 3 de la antocianidina (grupo fenólico). También, pueden contener oligosacáridos como gentiobiosa, sambubiosa, rutinosa y soforosa, unidos con los hidroxilos 3 y 5 o bien en las posiciones 3 y 7 de la molécula de aglicona (Badui, 1987; Gross, 1987). A su vez, se ha encontrado que la presencia de grupos acilo que también le confieren estabilidad a la molécula, ante condiciones extremas de pH y temperatura. Por lo tanto, cuando en la estructura estén presentes únicamente azúcares, se pueden denominar no aciladas; mientras que, si se encuentran azúcares con uno o varios radicales acilos, se catalogan como aciladas (Salinas *et al.*, 2010).

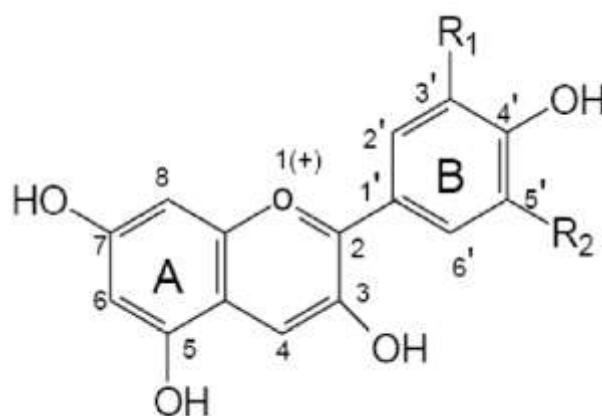


Figura 6. Estructura de las antocianinas (Tomado de Durst y Wrolstad, 2001).

Las agliconas están conformadas por el ion flavilio (que funciona como catión), también llamado 2-fenil benzopirilio, que consta de dos anillos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); ambos unidos por una unidad de tres carbonos (Fig. 6) (Aguilera Ortíz *et al.*, 2011; Badui, 1987). Las variaciones estructurales en las posiciones 3', 4' y 5' del anillo B determinan el tipo de antocianidina o aglicona que se produce, de las cuales, 6 son mayor conocidas en las plantas superiores y las más abundantes en la naturaleza, porque se presentan en un 80% de las hojas pigmentadas, 69% en los frutos y 50% en las flores (Tabla 1). De ellas, 3 son de carácter no metiladas, presentes en los frutos principalmente (cianidina, delphinidina y pelargonidina) (Mazza y Miniati, 1993; Kong *et al.*, 2003; Zapata 2014). Cabe destacar, que se conocen más de 150 diferentes tipos de antocianinas. Las diferencias entre ellas se deben al número de grupos hidroxilos y al grado de metoxilación en el anillo B, al tipo de azúcar, así como a la naturaleza y

al número de ácidos aromáticos y alifáticos presentes en la molécula. (Badui, 1987; Wilska-Jezska, 1996).

Tabla 1. Sustituyentes de las antocianinas más conocidas y de mayor abundancia en las plantas superiores. Los nombres derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez (Tomado de Durst y Wrolstad, 2001).

Aglicona	Substitución		λ_{\max} (nm)
	R ₁	R ₂	Espectro visible
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH ₃	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	510 (azul-rojo)

Por otra parte, el color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contenga y la posición de estos en el grupo flavilio; por ejemplo, si se aumenta el número los grupos hidroxilos del anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metoxilos produce coloraciones rojas (Badui, 2006; Zapata, 2014). La tonalidad púrpura, por ejemplo, depende de las sustituciones glucosídicas en la posición 5, así como en las acilaciones aromáticas de los azúcares (Garzón, 2008). La coloración de las antocianinas va a depender de la concentración y naturaleza de la planta, con la finalidad de atraer insectos y otros animales a las plantas, para asegurar la dispersión de las semillas y la propagación de la especie (Gross 1987).

2.3.2 Propiedades fisicoquímicas

Las antocianinas son altamente inestables y susceptibles la degradación, debido a los diversos factores que influyen en la estabilidad del pigmento (Giusti y Wrolstad, 2001). Esto, afecta en cualquier etapa a los bioprocesos tecnológicos, principalmente en la extracción de antocianinas

de un material vegetal (Zapata 2014). A continuación, se presentan los principales factores que afectan la estabilidad de las antocianinas:

- **pH.** Es uno de los principales factores que permite mantener el color y la estabilidad de las antocianinas. La variación del pH (ácido – base) presenta diferentes actividades repercutiendo en la estructura molecular e influyendo en el color. Así, la estabilidad de la molécula se ve favorecida por la acidez que actúa como un efecto protector. Por ejemplo, en soluciones acuosas a pH inferiores a 2, el catión flavilio se encuentra en su forma más estable, presentando el color rojo, mientras que a pH más altos se presenta el color violeta hasta alcanzar un color azul, debido a una pérdida del protón y en consecuencia una adición del agua en la posición 2 de la molécula por el ataque nucleofílico del ión flavilio. A pH superiores a 7, la estructura de las antocianinas es más inestable, degradándose rápidamente por oxidación del aire (Figura 6) (Fernández 1995; Gross 1987; Hutchings, 1999; Zapata 2014).
- **Temperatura.** Es uno de los factores críticos que influyen en la degradación de antocianinas (Min-Sheng y Po-Jung, 2007). Su incremento afecta en la pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula (Fig. 6) (Timberlake, 1980). Sin embargo, durante periodos cortos de tiempo tienen mayor resistencia a los procesos térmicos con altas temperaturas en comparación con menores temperaturas en periodos largos de tiempo. Esto, debido a las reacciones endotérmicas que se presentan durante las conversiones estructurales de la molécula. No obstante, por efecto del calor, a temperaturas por encima de los 60°C, se degradan según una cinética de primer orden. En general, las características estructurales que conducen a una mayor estabilidad al pH son las mismas que conducen a una mayor estabilidad térmica. La estabilidad térmica también se ve afectada por la estructura de las antocianinas. Son menos estables térmicamente las antocianinas metiladas, glicosidadas o acetiladas, mientras que las antocianinas altamente hidroxiladas le ofrecen mayor estabilidad a la molécula (Fennema 2000; Garzón, 2008; Zapata 2014). Por lo tanto, la degradación de las antocianinas por efecto de la temperatura ocurre por dos mecanismos: hidrólisis del

enlace glucosídico que da lugar a la formación de aglicona o por la ruptura hidrolítica que origina la formación de chalconas (Castañeda y Guerrero 2015).

- **Agua.** Actúa como nucleófilo atacando al catión flavilio y al carbono 2 de la estructura de las antocianinas (Fig. 6). Esta degradación puede variar dependiendo de la concentración de azúcares presentes en la molécula o por la co-pigmentación. Cuando hay altas concentraciones de azúcares, la actividad del agua disminuye, teniendo menor oportunidad de atacar el ión flavilio. Por otra parte, cuando se encuentran bajas concentraciones de azúcares, la actividad del agua no es afectada, acelerando la degradación de las antocianinas. Por lo tanto, es conveniente eliminar o disminuir la molécula del agua para evitar las reacciones mediante el ataque nucleofílico al catión flavilio (Fennema 2000; Kopjar y Piližota, 2009; Lewis y Walker, 1995).
- **Oxígeno.** Las antocianinas pueden oxidarse por reacción directa con el oxígeno, o por una reacción indirecta en la que los compuestos ya han sido previamente oxidados, formando colores marrones o incoloros (Fennema 2000; Rein 2005). De igual manera, pueden reaccionar con radicales libres de oxígeno actuando como antioxidantes, cuando se eleva la temperatura (Rein 2005). Además, se ha observado que el ácido ascórbico en presencia de oxígeno, degrada por completo a las antocianinas, formando peróxido de hidrógeno. Este último, actúa rompiendo el anillo de pirilio por un ataque nucleofílico en el carbono 2 (Figura 6) produciendo ésteres incoloros y precipitados de color café. La reacción es acelerada en presencia de cobre e inhibida en presencia de flavonoles (Fennema, 2000).
- **Luz.** Es otro de los factores que afectan la aceleración de la degradación de las antocianinas. Cuando hay una sustitución del hidroxilo en el carbono 5, hace que la molécula de la antocianina (Fig. 6) sea más susceptible a la fotodegradación, principalmente, si están presentes flavonas polihidroxiladas, isoflavonas y auronas sulfonadas (Delgado-Vargas *et al.*, 2000). Sin embargo, se ha observado que el efecto de la luz también favorece la síntesis de antocianinas, activando las enzimas especializadas

para su biosíntesis por la actividad fenilalanina amoníaco-liasa, que es estimulada por la irradiación de luz (Zhang y Furusaki 1999).

Además de los factores ya mencionados, existen otros factores que afectan la coloración y estabilidad de las antocianinas como la estructura, concentración del pigmento, la presencia de co-pigmentos, iones metálicos, enzimas, azúcares, ácido ascórbico, productos de degradación, dióxido de azufre, entre otros (Mazza y Brouillard, 1990).

2.3.3 Capacidad antioxidante

Las antocianinas han tenido gran relevancia debido a los beneficios que han presentado a la salud, por a su capacidad antioxidante (Camire *et al.*, 2002). Esto se debe a la estructura fenólica de la molécula que es la responsable de tal actividad, ya que neutraliza a las especies reactivas de oxígeno (ROS), como son: superóxidos (O_2^-), oxígeno (O_2), peróxidos (ROO^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radicales hidroxilos (OH) (Wang & Jiao, 2000); que son capaces de atacar a proteínas, carbohidratos, grasas y ADN de las células ejerciendo un efecto oxidativo (Youngson, 2004). Así, cuando un radical reacciona con una molécula, la molécula resultante de esta reacción se convierte en un nuevo radical libre, provocando una reacción en cadena, que causa daño en los tejidos, y a su vez, derivan en enfermedades degenerativas disminuyendo la calidad de vida (Youngson, 2004).

Por lo tanto, la función principal de los antioxidantes es reaccionar con radicales libres, cediéndoles un electrón para neutralizarlos, impidiendo el daño biológico o el estrés oxidativo. A esto, se le conoce como capacidad antioxidante y va a depender de las características estructurales, así como de la reactividad química hacia especies reactivas, influyendo en la estabilidad de las antocianinas (Valencia 2015). Consecuentemente, un antioxidante es una molécula capaz de retardar, controlar, impedir, eliminar o prevenir la oxidación de otras moléculas. El sistema de defensa antioxidante puede estar constituido por compuestos enzimáticos o no enzimáticos, de los cuales en estos último se encuentran las antocianinas (Suzuki y Mittler, 2006; Valencia 2015). Estas últimas, se caracterizan por tener una deficiencia de electrones en su estructura química, lo que hace que sean muy reactivas a los radicales libres

y que, por consiguiente, actúan como antioxidantes naturales (Bridgers *et al.*, 2010). De igual manera, pueden ser donadores de hidrógenos o electrones para los radicales libres o atraparlos y desplazarlos en la estructura aromática de la molécula (Miller y Rice-Evans, 1997; Wang *et al.*, 1997; Ramírez-Tortosa *et al.*, 2001).

2.3.4 Extracción de antocianinas

Existen diferentes métodos de extracción para obtener antocianinas. Su adecuada elección está en función de la naturaleza química de la molécula. Es decir, considerando las propiedades fisicoquímicas de su estructura como: carácter polar, solubilidad y los factores que afectan su estabilidad (Francis y Markakis, 1989).

Por lo tanto, tomando como referencia que las antocianinas se encuentran en los orgánulos intracelulares de los tejidos vegetales, su accesibilidad va a depender de la capacidad de los métodos a emplear para ingresar a estas estructuras y de su integridad (Wagner, 1982). Esto, podría ser un enfoque interesante para aumentar la eficiencia de la extracción (Silva *et al.*, 2017), y así, maximizar la extracción de pigmentos, minimizar los compuestos adjuntos extraídos y limitar la degradación o alteración del estado natural del extracto (Zapata 2014).

La extracción comúnmente es llevada a cabo con disolventes polares como metanol, etanol y/o acetona en una pequeña concentración de ácidos orgánicos o inorgánicos, para poder obtener la forma del catión flavilio, el cual es estable en un medio altamente ácido (Abdel-Aal y Hucl, 1999; Silva *et al.*, 2017). Cabe destacar que, para aplicaciones alimenticias, clínicas o cosméticas, el etanol es menos tóxico y el más empleado (Ortiz *et al.*, 2011). Por otra parte, los ácidos recomendados a utilizar son los ácidos débiles, como el ácido tartárico o cítrico, con la finalidad de mantener los sustituyentes dicarboxílicos intactos de las fracciones acil en las antocianinas aciladas (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009).

El método más utilizado para la extracción de antocianinas es la extracción líquido – líquido (Fan *et al.*, 2008). Sin embargo, hoy en día, con el aumento de la demanda de antioxidantes y colorantes naturales, se están aplicando nuevos enfoques tecnológicos para mejorar el

rendimiento de extracción. Algunas de estas tecnologías emergentes son la extracción con fluidos supercríticos, la extracción asistida por campo eléctrico pulsado, la extracción asistida por microondas, la extracción asistida por ultrasonido (romper las paredes celulares y subsecuente extracción del pigmento), la extracción de líquido presurizado, la extracción asistida por enzimas (enzimas pectolíticas que hidrolizan las paredes celulares de las células vegetales) o por cromatografía en contracorriente (Hernández 2014; Li *et al.* 2012; Silva *et al.*, 2017).

2.3.4.1 Extracción asistida por enzimas

Para poder extraer los pigmentos de las plantas, los disolventes a utilizar deben penetrar la pared celular, la membrana, el citoplasma, y finalmente, ingresar a la vacuola celular donde se encuentran las antocianinas (Gould *et al.*, 2008). Para lograr esto, se utilizan un cóctel enzimático (enzimas hidrolíticas) que rompan la pared celular y facilite la extracción. Existen una gran variedad de enzimas, incluso mezclas enzimáticas disponibles comercialmente, que se utilizan para extraer estos compuestos fenólicos, la mayoría se componen de enzimas con polímeros complejos como la pectinasa, celulasa, hemicelulasa y lignina en diferentes proporciones (Buchert *et al.*, 2005; Landbo y Meyer, 2001). Los parámetros usualmente considerados en los pretratamientos enzimáticos son el pH, la temperatura, el tiempo de reacción, la composición y el origen del mix enzimático (Antunes- Ricardo *et al.*, 2018).

2.3.4.2 Fluidos supercríticos.

La extracción con fluidos supercríticos (SFE) es una tecnología alternativa que promete ser amigable con el medio ambiente al reducir el uso de disolventes orgánicos, así como no presentar daños a la salud, garantizando la integridad y calidad de la recuperación de productos de valor añadido (bioactivos principalmente) a partir de materiales vegetales (Pereira y Meireles, 2010; Velásquez 2008).

Una de las principales ventajas que presenta esta tecnología es que mediante la elección del disolvente se puede adecuar las propiedades fisicoquímicas, ya que se puede ajustar

modificando las condiciones de temperatura y presión del sistema, aumentando la selectividad de extracción y eficiencia. Los disolventes pueden ser dióxido de carbono, agua, metano, etano, propano, etileno, propileno, metanol, etanol, acetileno, butano, éter, pentano, amoníaco y acetona; principalmente (Román *et al.*, 2016). Los disolventes como dióxido de carbono y etanol son los más aceptados por la industria alimenticia, farmacéutica y cosmeceútica, lo que permite hacer una fácil separación del extracto y el disolvente (Herrero *et al.*, 2006).

La extracción con fluidos supercríticos se basa en la utilización de un fluido, cuya presión y temperatura son superiores a sus valores críticos, llamándolo fluido supercrítico. Esto significa, que si disminuye la zona de equilibrio líquido – vapor, la presión aumenta hasta alcanzar un punto crítico. En la figura 7 se puede observar el diagrama de fases de un fluido supercrítico de una sustancia pura. Primeramente, se distinguen las fases sólido, líquido y gas, las cuales entre ellas coexisten las fases de equilibrio o estado de equilibrio que es aquel en el que una sustancia no cambia sus propiedades con el tiempo, al menos que sea afectada por alteraciones en la presión y temperatura, y la línea triple donde se encuentran las 3 fases (sublimación, fusión y vaporización) a una única presión y temperatura. En esta sección se localiza el punto crítico que es definido por una temperatura, presión y volumen crítico específico para una sustancia pura, donde desaparece la fase de vaporización (Espinosa, 2001; Román *et al.*, 2016; Kiran *et al.*, 2012).

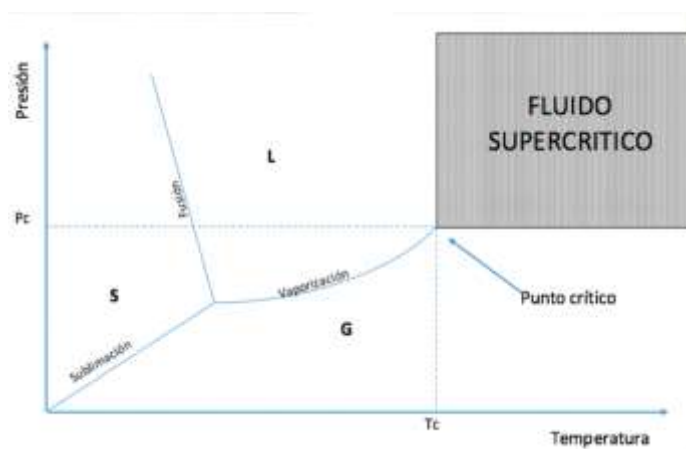


Figura 7. Diagrama de fases de un fluido supercrítico (Tomado de Román *et al.*, 2016)

Cuando una sustancia se encuentra como fluido supercrítico, está no llega a licuarse por más que aumente la presión, y tampoco se evapora por más que se eleve la temperatura, lo que

hace que no se distinga entre una fase líquida o gaseosa, porque no hay una interacción entre ellas (Velásquez 2008; Brunner, 2013). En este punto, la sustancia no puede ser considerada un líquido o un gas, ya que solo existe una fase como tal (Kiran *et al.*, 2012). En cuanto a la densidad de un fluido supercrítico, esta aumenta cuando aumenta la presión, lo que hace que la solubilidad del soluto en el fluido supercrítico aumente de manera considerable (Sahena *et al.*, 2009). La sustancia o disolvente más utilizado para esta tecnología es el dióxido de carbono (CO₂), porque llega a una temperatura y presión crítica relativamente baja (alrededor de 30 °C y 71 bar), tiene baja toxicidad, alta disponibilidad, ambientalmente benigno, es de bajo costo, es reciclable fácilmente, no inflamable, químicamente inerte y presenta alto nivel de pureza (Barba *et al.*, 2016; Cardona *et al.*, 2007; Espinosa, 2001; Kiran *et al.*, 2012; Velásquez 2008). En este estado, el CO₂ conserva la integridad de las moléculas extraídas, esto es, para el caso de compuestos antioxidantes, no afectan sus propiedades, ya que se ha demostrado que la capacidad antioxidante se ve afectada a temperaturas por encima de los 55 °C (Navarrete *et al.*, 2011). Así, el CO₂ llega a tener una densidad líquida de 102 a 103 kg/m³, difusividad gaseosa de 10⁻⁷ m²/s y una viscosidad de 5x10⁻⁴ a 5 x10⁻⁵ Pa/s (del Valle y Aguilera, 1999). Estas propiedades permiten que pueda disolver los solutos y penetrar los poros, lo que lo hace ser un disolvente excelente para el procesamiento de productos naturales con aplicaciones alimenticias, farmacéuticas y cosmética por ser seguro para eliminar componentes de materiales vegetales (Espinosa, 2001; Caballero Galván *et al.*, 2020). Además, que, una vez extraído el compuesto de interés, el CO₂ puede ser aislado y concentrado fácilmente por evaporación, reciclándose al cambiar las condiciones de temperatura y presión (Sahena *et al.* 2009).

El proceso de extracción con fluidos supercríticos consta de 4 etapas: Presurización, ajuste de temperatura, extracción y separación. En la etapa de presurización, se eleva la presión por encima de la presión crítica de la sustancia con el uso de un disolvente, después se ajusta la temperatura disminuyéndola y aumentándola, empleando cualquier medio físico o mecánico para llevar al disolvente a la temperatura adecuada de extracción (por encima de la temperatura crítica). En la etapa de extracción el fluido supercrítico entra en contacto con la muestra que contiene el compuesto de interés y finalmente en la separación, el disolvente se descomprime a una presión inferior que la crítica para provocar la liberación del soluto (Fig. 8) (Brunner, 2013; Kiran, 2012; Román *et al.*, 2016). Sin embargo, es importante considerar el tipo

de muestra a extraer, por ejemplo, si son células vegetales, la mayoría de los metabolitos de interés se encuentran dentro de los orgánulos celulares, por lo que es necesario realizar un pretratamiento como trituración o molienda antes de iniciar la extracción con el fluido supercrítico (Pereira y Meireles, 2010; Román *et al*, 2016). De igual manera, el agua presente en las células interactúa con el soluto y el disolvente, lo que contribuye a la disminución de los rendimientos de la extracción. Por lo tanto, es también necesario realizar un secado adecuado de la materia prima (Pereira y Meireles, 2010).

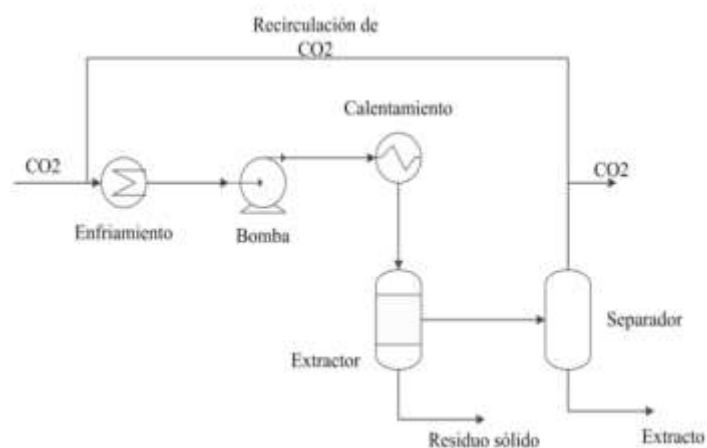


Figura 8. Diagrama de flujo de un proceso de extracción con fluidos supercríticos con CO₂ (Tomado de Hernández *et al.*, 2015).

Cuando se extraen sustancias polares, es conveniente utilizar disolventes orgánicos polares, que cambian las propiedades del fluido supercrítico para poder tener cierta polaridad y permitir aumentar la capacidad del disolvente (García, 1995). Por lo tanto, la elección del disolvente es un factor clave para el éxito de la extracción (Silva *et al.*, 2015). Estos ayudan a aumentar la densidad de la mezcla, aumentando también las interacciones intermoleculares entre las moléculas del soluto y el disolvente, mejorando la solubilidad (Kopcak y Mohamed 2005). Estos disolventes pueden ser etanol, metanol, agua, acetona, diclorometano, *n*-hexano o aceites vegetales en combinación con el CO₂. El más empleado es el etanol, por ser inocuo para el medio ambiente y la salud humana, por lo que es muy utilizado para obtener compuestos en la industria alimenticia, cosmética y farmacéutica (Román *et al*, 2016).

Por otra parte, debido a la gran demanda del uso de antioxidantes naturales, la extracción de ácidos fenólicos, flavonoides y tocoferoles se realiza empleando extracción con fluidos

supercríticos (Yépez *et al.*, 2002; Zancan *et al.*, 2002). Además, se ha demostrado que los extractos obtenidos mantienen o exceden la bioactividad en comparación con los métodos convencionales de extracción, debido a la gran especificidad de los procesos que promueven la extracción selectiva de compuestos, que son libres de disolventes orgánicos, sin tener pérdidas por deterioro o degradación de los compuestos bioactivos (Pereira y Meireles, 2010).

En cuanto a las antocianinas esta tecnología de extracción presenta una gran ventaja, ya que la ausencia de O₂ atmosférico y luz, reduce la oxidación y la degradación, al utilizar bajas temperaturas (Vatai *et al.*, 2009). Además, que el CO₂ y la presión inhiben las enzimas nativas que degradan las antocianinas (Seabra *et al.*, 2010; Caballero Galván *et al.*, 2020). Esto, hace que la extracción sea más selectiva y fácil de llevar el proceso a escala industrial de manera automatizada, generando una tecnología competitiva y económica al ser una alternativa sustentable (Barba *et al.*, 2016; del Valle y Aguilera, 1999; del Valle, 2014).

A pesar de las ventajas que presenta esta tecnología, uno de los inconvenientes que puede presentar, son las cinéticas de extracción lentas en comparación con los procesos de extracción convencionales. Además, que cuando se utiliza disolventes, estos pueden quedar en el extracto, requiriendo otro proceso de separación adicional (Román *et al.*, 2016; Santos – Zea *et al.*, 2019). Otro inconveniente está relacionado con los costos de producción, al estar asociada principalmente a la producción de extractos que cumplen con estrictas normativas ambientales o con productos de alto valor (Junior *et al.*, 2010). Así como, los elevados costos de operación y mantenimiento, por lo que la inversión inicial es alta en comparación con los equipos clásicos de baja presión, destilación de vapor y extracción con solventes orgánicos (Meireles 2008; Román *et al.*, 2016). Sin embargo, el costo de manufactura de productos utilizando la extracción de fluidos supercríticos, cuando se toman en cuenta todos los costos involucrados en el proceso, puede ser muy competitivo con los extractos obtenidos por técnicas de extracción tradicionales dependiendo de la fuente de compuestos bioactivos (Meireles 2008). Generalmente, para un proceso de extracción por fluidos supercríticos, el costo de la materia prima está relacionado con el material vegetal y el disolvente perdido durante el proceso. La pérdida del CO₂, por ejemplo, se debe principalmente a la despresurización del extractor al final del proceso y la pérdida del disolvente que queda atrapado en los residuos y el condensador. Los costos del pre-

procesamiento implican el secado y la trituración de la materia prima. Los costos de los servicios públicos comprenden la producción de agentes de intercambiadores de calor y la electricidad utilizada en el proceso. Los costos del tratamiento de residuos se pueden omitir, si se utiliza una materia vegetal sólida seca que puede incorporarse al suelo o comercializarse como subproducto, ya que no contiene ningún residuo de solventes tóxicos. Finalmente, las pérdidas de CO₂ y disolvente no necesitan tratamiento de residuos porque no presentan daños al medio ambiente ni a la salud humana en pequeñas cantidades (Pereira y Meireles 2010).

2.3.5 Análisis de la demanda de antocianinas en el mercado

Para asegurar un alto rendimiento, productividad y contenido del producto de interés, es necesario tener una buena estrategia del proceso de producción para que sea rentable desde el punto de vista económico (Zhang y Furusaki, 1999). Consecuentemente, es importante conocer el mercado, es decir, hacer un análisis de la demanda del producto, tomando como referencia el destino, ósea, hacia quienes va dirigido dicho producto (Palaco 2018).

Así, el mercado se define como el conjunto de compradores actuales y potenciales de un producto determinado, en este caso, las antocianinas (Ramírez, 2015). Por lo tanto, para llevar a cabo un análisis de la demanda del mercado, es necesario definir el problema a resolver. A partir de este, se realiza una evaluación de las soluciones que hay en la actualidad en el mercado, identificando los posibles usuarios para crear una prueba de concepto a partir de una idea que se crea pueda solucionar el problema en particular (Olivares y Quintero, 2018). Luego, con el análisis del mercado, se podrá analizar un producto antes de ser lanzado al mercado, con el objetivo de corroborar si puede ser factible llevar a cabo el proceso (Olivares y Quintero, 2018; Ramírez, 2015).

Para llevar a cabo el análisis del mercado es importante tener en consideración la información del producto a ofrecer, el objetivo del proceso (propuesta de negocio), el público al que se le oferta el producto (marketing) y el mercado (sector donde se localiza el producto) (Olivares y Quintero, 2018; Ramírez, 2015; Orjuela y Sandoval, 2002).

Por ejemplo, en la producción de pigmentos, el mercado mundial ha alcanzado 2.9 billones de dólares en el 2019, de acuerdo con ADEX (Asociación de exportaciones en Perú), destinando el 50% a la industria textil y el 25% a la alimentaria, de los cuales, los principales países importadores de colorantes naturales son: Estados Unidos, España, Alemania y Japón (Palaco 2018). Mientras que, los principales productores de colorantes naturales de acuerdo con el Centro de Comercio Internacional (ITC) son: Holanda, Nueva Zelanda, India, Italia, Costa de Marfil, China, México, Brasil, Perú y Estados Unidos (Palaco 2018). Por lo tanto, la alta demanda es generada principalmente por los sectores de productos farmacéuticos, alimenticios y cosmeceúticos, lo que origina la alta tasa de crecimiento (García y Campos, 2021).

Dentro de los colorantes naturales se encuentran las antocianinas, que se utilizan para reemplazar el color rojo 40 sintético FD&C (Alimentos, Medicamentos y Cosméticos) que constituye el 40% del total de colorantes sintéticos certificados por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) (Potera, 2010). El mercado mundial de las antocianinas se estimó para el 2018, en 305 millones de dólares, con una demanda aproximada de 3 millones de kilogramos (Palaco 2018; García y Campos, 2021). En el que Europa representa la mayor participación del mercado con el 33% de antocianinas en el 2017. Seguido de Estados Unidos, un gran consumidor con un 30%, luego Asia-Pacífico con el 19%, Sudamérica con un 12% y África con el 6% (García y Campos, 2021). En cuanto, a los precios, estos varían dependiendo del País de destino, por ejemplo, en Estados Unidos, que es uno de los principales países importadores de antocianinas su precio oscila entre los 100 y 150 dólares FOB/kg (Palaco 2018). Por ejemplo, en Perú las exportaciones de antocianinas del maíz morado a Estados Unidos han ido en aumento, mientras que en el 2012 se exportaban 109 200 dólares FOB (880 kg), en el 2017 aumentó a 993 654 dólares FOB (8 405 kg), posicionándose paulatinamente en el mercado (Palaco 2018). Esto se debe a que las antocianinas del maíz morado son el tercer colorante más exportado a América del Norte, más del 70% de las exportaciones peruanas van a Estados Unidos. En México, se llegó a exportar en el 2016 alrededor de 150 kg en peso neto con un FOB de 12,334 dólares, con un precio de 82 dólares por kilogramo (Palaco, 2018).

Entonces, el mercado objetivo del presente proyecto son las industrias alimenticias, farmacéuticas y cosmeceúticas para la producción de antocianinas como colorantes naturales

de origen vegetal en México. Esto con la finalidad de importar el producto dentro del país y producir antocianinas sin la necesidad de importarlas de otros países, como Perú y Estados Unidos, principalmente.

2.4 Simulación de procesos (Aspen plus)

La simulación de un proceso se define como la técnica que evalúa de forma rápida un proceso mediante su presentación con modelos matemáticos. La solución de dichos modelos se lleva a cabo con programas computacionales que simulan el comportamiento del proceso (Martínez *et al.*, 2000). Prácticamente, la simulación consiste en imitar el funcionamiento de procesos reales o hipotéticos, expresándolo en relaciones matemáticas o lógicas (Castillo *et al.*, 2019).

En el diseño y operación de un proceso químico, la simulación con programas computacionales permite estimar, en distintos escenarios de estudio, el comportamiento de la planta en estado estacionario, midiendo parámetro de temperatura, presión, composición, velocidades de flujo, entre otras (Babu, 2004; Gutiérrez *et al.*, 2008). Además, que pueden ser fácilmente incorporados en los cálculos de diversos reactores químicos, ya que contienen paquetes termodinámicos capaces de representar el comportamiento de sistemas en equilibrio termodinámico (Castillo *et al.*, 2019). De igual manera, estos modelos permiten realizar cálculos de balances de masa y energía asociados con el equilibrio de fases, así como con la cinética de las ecuaciones de reacciones químicas y cálculos de dimensiones y costos de equipo, para efectuar una evaluación económica preliminar del costo del proceso (Castillo *et al.*, 2019). Por lo tanto, es importante considerar antes de iniciar la simulación la definición de componentes químicos, la selección de un modelo termodinámico, la determinación de la capacidad de la planta, la elección de las unidades operativas adecuadas y la configuración de las condiciones de entrada (Zhang *et al.*, 2003).

Existen una gran variedad de simuladores, la mayoría tienen banco de datos que contienen las propiedades físicas de compuestos y sustancias químicas, selección de modelos termodinámicos, cálculos de equipos, análisis de costos, estados de agregación y condiciones de operación. Entre los simuladores más utilizados se encuentra Aspen plus (Castillo *et al.*, 2019).

El software Aspen plus deriva del nombre Sistema Avanzado para Ingeniería de Procesos (ASPEN). En 1970 el programa fue diseñado por investigadores del Laboratorio de Energía en el Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT) para el Departamento de Energía de Estados Unidos, con el objetivo de evaluar tecnología de combustibles sintéticos, y a partir de 1980 se ha comercializado por la compañía AspenTech (Castillo *et al.*, 2019; Magnusson, 2006). Aspen plus se caracteriza por contener la más amplia base de datos, ya que cuenta con una biblioteca de modelos (operaciones unitarias) como bombas, columnas de destilación, separadores, intercambiadores de calor, reactores, entre otros, que le ayudan a modelar y simular cualquier tipo de proceso para el cual hay un flujo continuo de materiales y energía de una unidad de proceso a otra. También contiene una herramienta para los cálculos de costos y optimización, generando resultados en forma de gráficas, tablas, entre otros. Además de, realizar análisis de sensibilidad (estimación de la variación de una variable respecto a otra), dimensionamiento de los equipos y ajustes de datos experimentales (Castillo *et al.*, 2019; Espínola Lozano, 2017; Rodríguez Flores, 2016).

Por otra parte, Aspen plus está compuesto por un grupo de unidades representados por bloques o íconos, a lo que se les suministra la información necesaria para realizar las operaciones pertinentes de los balances de materia y energía (Espínola Lozano, 2017). Al mismo tiempo, consta de un programa ejecutivo que controla y realiza un seguimiento de los cálculos del diagrama de flujo, los cálculos termodinámicos (métodos termodinámicos como PSRK, SR-Polar, UNIFAC, NRTL o Peng-Robinson) necesarios para emplear los cálculos de equilibrio líquido-vapor y las entalpías de cada una de las corrientes; y se pueden realizar esquemas alternativos del proceso, así como los costos de operación (Espínola Lozano, 2017).

Finalmente, el software Aspen Process Economic Analyzer funciona con la tecnología Aspen Icarus, desarrollada por Aspen Tech. Este sistema está basado en tecnología de modelamiento matemático, que ha sido usada desde que ICarus Corporation fue fundada en 1969. Dentro de los sistemas de Icarus existen modelos de diseño y costo para más de 250 tipos de equipos de proceso de sólidos, líquidos y gases, más de 60 tipos de elementos para plantas, casi una docena de tipos de edificios (Aspen Technology, Inc., 2012).

3. JUSTIFICACIÓN

México es el único país productor de *ixtle* (fibras naturales), que tiene un mercado nacional e internacional. Sus exportaciones representan el 93% de la producción total, y se envían principalmente a Estados Unidos, Países Bajos, Suiza y Honduras (Castillo *et al.*, 2011). La producción de estas fibras naturales se obtiene del tallado de las hojas más tiernas de la planta (cogollo) del *Agave lechuguilla*, el cual tiene una gran distribución territorial para su producción. El aprovechamiento de la lechuguilla ha otorgado beneficios económicos, sociales y rurales a las poblaciones de las zonas donde se produce el *ixtle*, así como al país.

Durante el proceso de extracción de las fibras naturales se genera un residuo o bagazo que representa el 85% del peso fresco de la cosecha. El residuo se acumula sin ningún uso, ocasionando fuertes problemas ambientales y ecológicos por contaminación. Estudios recientes, han encontrado fitoquímicos en el bagazo del *Agave lechuguilla* como flavonoides, entre los que se identificaron antocianinas, tales como: cianidina y delphinidina, que son interesantes para la industria debido a las actividades que se han reportado para ellas, como su capacidad antioxidante. De estas destacan una gran diversidad de actividades, como son antiinflamatorias, antitumorales, anticancerígenas, antidiabéticas, entre otras, que las posicionan como un potencial promotor para la salud.

Con base en esto, las antocianinas del *guishe* de *Agave lechuguilla* representan la oportunidad para el desarrollo de nuevos productos en diferentes sectores industriales. Sin embargo, actualmente la comercialización de estos flavonoides es de altos costos, debido a la obtención de la materia prima, así como los procesos de extracción y manipulación de los residuos.

Por lo tanto, en el presente trabajo se propone utilizar al bagazo del *Agave lechuguilla*, como materia prima para la extracción de antocianinas, como estrategia para la valorización del residuo. Con esto se plantea una alternativa para disminuir la cantidad de bagazo que se desecha en el medio, dándole un manejo integral al cultivo. Para lograrlo, el grupo de trabajo diseñó un bioproceso que incluye un secado, una molienda, seguido de una hidrólisis enzimática, un segundo secado, la extracción con fluidos supercríticos y una liofilización. Y con

el que se propone procesar 1331.07 kg/día de biomasa del bagazo del *Agave lechuguilla*, para la extracción de las antocianinas a escala piloto. Con este objetivo se realizó un estudio de mercado para determinar la demanda del producto de importación de colorantes naturales de origen vegetal en México, de las cuales se encuentran implícitas las antocianinas. Para poder analizar si la concentración de antocianinas en el bagazo es suficiente para satisfacer la demanda del mercado en México, es necesario realizar una simulación para determinar la factibilidad técnica del bioproceso. Con ello, se espera producir la cantidad de antocianinas suficientes para cubrir el 10% de la demanda del mercado en México como un dato conservador. Con ello, se daría un uso al bagazo para disminuir la contaminación ambiental originada por su desecho, y se podrían beneficiar los campesinos que viven de la cosecha, para generar empleos y aprovechar al guishe como materia prima para la extracción de compuestos flavonoides como lo son las antocianinas.

4. HIPÓTESIS

La producción de antocianinas a partir del bagazo de *Agave lechuguilla* en una planta de pequeña escala, es factible y puede operarse en regiones lechuguilleras del país

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar la factibilidad técnica de un bioproceso diseñado para la obtención de antocianinas a partir del bagazo de *Agave lechuguilla*.

5.2 Objetivos particulares

1. Determinar el mercado con base en la disponibilidad de materia prima y de la demanda del producto.
2. Determinar las variables de producción de cada operación unitaria del bioproceso con base en información experimental y/o complementaria.
3. Modelar las operaciones unitarias mediante la descripción de los fenómenos que ocurren en cada una de ellas.
4. Calcular los balances de masa, energía y dimensionamiento de equipos mediante simulación.
5. Determinar la factibilidad técnica y pre-factibilidad económica de acuerdo con los rendimientos obtenidos.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Determinación del mercado con base a la disponibilidad de materia prima

Para determinar la disponibilidad del bagazo del *Agave lechuguilla* se tomaron como referencia los datos obtenidos por SEMARNAT en el 2018 del listado de aprovechamiento de los recursos forestales no maderables de zonas semiáridas para el noreste de México. Los estados con mayor producción de esta especie considerada para la disponibilidad de materia prima, fueron Coahuila, Nuevo León, San Luis Potosí y Zacatecas. En la tabla 2 se muestra el volumen de producción en toneladas de las fibras naturales y del bagazo al año de la lechuguilla del noreste de México. El dato tomado como referencia para la simulación del bioproceso para la producción de antocianinas fue de 4517.8 Ton/año de materia prima, considerando que el guishe representa el 85% de la producción del *Agave lechuguilla* (Tabla 2).

Tabla 2. Volumen de producción de la fibra y del guishe de la lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) después del beneficio y transformación para la obtención de la fibra en el noreste de México (SEMARNAT, 2018).

Volumen a aprovechar (Ton)	Volumen por año (Ton)	Volumen de producción anual de fibra (Ton)	Volumen de producción anual de guishe (Ton)
24,040.1	5,315.0	797.25	4517.8

6.2 Demanda del producto (antocianinas)

Para obtener el dato de la demanda de antocianinas que requiere México a nivel nacional, se tomó como referencia los datos de importación de colorantes naturales de origen vegetal que producen, ya que México no es un país productor de antocianinas.

Se realizó una búsqueda en la página de la Secretaría de Economía en el portal del SIAVI 5.0 (<http://www.economia-snci.gob.mx>), para obtener la fracción arancelaria de los colorantes naturales de origen vegetal. De esta manera se determina el volumen de importación en kilogramos del año 2020 en el portal SNICE (<https://www.snice.gob.mx>) de la información estadística del Servicio Nacional de Información del Comercio Exterior (SNICE), para obtener las partidas y a su vez, el dato de la demanda del producto (colorantes naturales de origen vegetal).

6.3 Composición química del Agave lechuguilla

Se definieron los componentes presentes en el proceso de producción de antocianinas a partir del bagazo de *Agave lechuguilla*, partiendo de la composición química establecida por Carmona *et al.*, 2017 de acuerdo con la tabla 3.

Tabla 3. Composición química del *Agave lechuguilla* Torr. (Carmona *et al.*, 2017).

Componente químico	Composición (% base seca)
Celulosa	17.72 ± 0.68
Hemicelulosa	17.15 ± 0.91
Lignina soluble	3.64 ± 0.34
Lignina insoluble	3.68 ± 0.21
Cenizas	12.45 ± 0.88
Extractivos	45.34 ± 1.2

Considerando que las antocianinas pertenecen al grupo de los extractivos y tomando como referencia su rendimiento global del 30.33%, obtenido previamente en el laboratorio por el grupo de trabajo, se realizó la siguiente relación para obtener el valor representativo de antocianinas en la composición química de los extractivos:

$$\% \text{ Antocianinas} = \frac{(\% \text{ Extractivos})(\% \text{ Rendimiento de antocianinas})}{(\% \text{ Rendimiento global})} \quad (1)$$

En donde el rendimiento de antocianinas corresponde a un valor de 150 µg/g con respecto a su peso seco (DW). Este valor fue considerado como un rendimiento inicial de antocianinas, determinado mediante una relación que corresponde a la cantidad de antocianinas extraídas (103 µg/g DW) por el grupo de trabajo, partiendo de que se obtiene el 70% de ellas (Cerón *et al.*, 2012), como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianinas iniciales en el bagazo} = \frac{(103 \mu\text{g/g})(70\%)}{(100\%)} \quad (2)$$

6.4 Determinación de las variables de producción de cada operación unitaria.

Para determinar las variables de producción involucradas en cada una de las operaciones unitarias se partieron de los datos previamente realizados en el laboratorio por el grupo de trabajo y con datos complementarios de búsqueda bibliográfica.

Las operaciones unitarias involucradas se muestran en el diagrama de bloques de la figura 9. A partir del cual, se determinan las condiciones de operación, tales como las temperaturas de trabajo, presiones requeridas y las conversiones de reacciones involucradas en los procesos que lo requieran. Los flujos másicos de salida y las entalpías de las composiciones de cada una de las operaciones unitarias fueron las variables a medir.

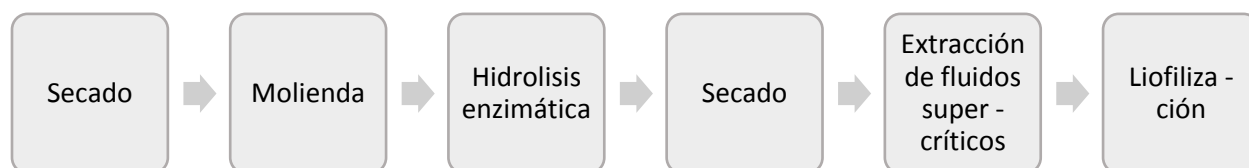


Figura 9. Diagrama de bloques del proceso de producción de antocianinas en planta piloto

A continuación, se muestran las variables de operación de cada una de las operaciones unitarias involucradas en el diagrama de bloques de la figura 9:

- **Secado**

Las condiciones de operación del secado fueron de 1 bar a 40 °C, considerando que el producto saldrá completamente seco sin humedad. Para la corriente de entrada, que es el bagazo o *guishe* del *Agave lechuguilla*, fue necesario definir las componentes de acuerdo con la composición química de la tabla 3, tomando como referencia la cantidad de bagazo disponible en la entrada del proceso (Tabla 2). Esto es, la oferta disponible para cubrir la demanda del 10% de antocianinas de acuerdo con los datos obtenidos del portal del SIAVI 5.0 de la página de la Secretaría de Economía.

- **Molienda**

En cuanto a la molienda, fue necesario determinar el tamaño de distribución de las partículas en la entrada del bioproceso (Tabla 4). Se tomó como referencia tamaños de partículas de 60 a 100 mm para materiales fibrosos de acuerdo con Iñiguez-Covarrubias *et al.*, 2001, quienes utilizaron el proceso de molienda como una de las operaciones unitarias para la producción de bioproductos a partir del bagazo del agave, encontrando tamaños de 10 a 12 cm de fibra. Estos tamaños son ideales para poder llegar a obtener un diámetro de partícula final de 2 mm que es el deseado para la producción de antocianinas en el proceso.

Tabla 4. Distribución del tamaño de partícula considerado para los componentes sólidos del material fibroso del *Agave lechuguilla*.

Límite menor (mm)	Límite mayor (mm)	Fracción
10	20	0
20	40	0
40	60	0
60	80	0.5
80	100	0.5

En la tabla 5 se muestran los intervalos determinados para obtener un tamaño de partícula final alrededor de los 2 mm.

Tabla 5. Distribución del tamaño de partícula en la salida del proceso de molienda.

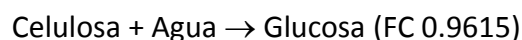
Límite menor (mm)	Límite mayor (mm)	Fracción
0.25	1	0.3
1	5	0.7
5	10	0
10	15	0
15	20	0

- **Hidrólisis enzimática**

Para la hidrólisis enzimática se realizaron los cálculos pertinentes para obtener la cantidad de volumen del flujo de agua que ingresará a un intercambiador de calor para elevar la temperatura del agua. Se parte de un volumen inicial de 1 L de buffer de fosfatos, previamente realizado en el laboratorio por el grupo de investigación (Morreeuw *et al.*, 2021b). Debido a que utilizar buffer a muy baja concentración (0.66 mL) es muy costoso a nivel industrial, se planteó llevar a cabo la reacción de hidrólisis solamente con agua. Para determinar el flujo volumétrico en la entrada, la ecuación empleada fue:

$$\text{Flujo volumétrico de agua } \left(\frac{\text{L}}{\text{día}}\right) = \frac{\text{Flujo másico de bagazo}}{[\text{Sustrato}]} \quad (3)$$

Para las condiciones de operación del reactor fueron de 40 °C a 1 atm, donde se llevará el proceso de la hidrólisis enzimática. Para el sustrato, se calculó la concentración del sustrato a escala piloto con respecto a la concentración inicial utilizada en el laboratorio previamente por el grupo de trabajo. Las reacciones que se emplean en el reactor para lograr el rompimiento de la pared celular son:



Los factores de conversión fueron obtenidos de Rodríguez Flores, 2016, como dato complementario del bioproceso. El autor evaluó la producción de etanol a partir del *Agave lechuguilla*, empleando una hidrólisis enzimática a una concentración de 25 UPF/g de glucanos, muy similar a la que se empleó en el laboratorio por el grupo de trabajo.

- **Extracción de fluidos supercríticos**

Las condiciones de operación para la extracción con fluidos supercríticos se muestran en la tabla 6. Estos datos fueron obtenidos de las evaluaciones previas realizadas en el laboratorio por el grupo de trabajo. Se ajustaron a las condiciones de operación del bioproceso a escala piloto. Cabe destacar que se considera que el CO₂ se obtiene del mercado en su estado crítico, es decir, en condiciones de presión a 73 bar, con una temperatura de 31°C. Para la fracción de

antocianinas, este dato se obtiene de Cerón *et al.*, 2012, quienes extrajeron compuestos antioxidantes de frutos de Andes Berry (*Rubus glaucus Benth*) utilizando un proceso de extracción de fluidos supercríticos utilizando como co-solvente CO₂ y etanol.

- **Liofilización**

Las condiciones de operación para la liofilización fueron de una temperatura de congelamiento de -49 °C para que la parte acuosa del sistema con algunas fracciones de etanol puede sublimarse al vacío, a una presión de 0.12 mbar, para obtener mayores rendimientos de extracción, mayor calidad del producto y lograr la comercialización principalmente para las industrias ya sea farmacéutica, cosmeceútica o alimenticia.

Tabla 6. Variables de operación para la extracción de fluidos supercríticos.

Cámara de Extracción		
Variables	Valores	Unidades
Fracción de antocianinas	0.7	
Fracción de agua	0.08	
Fracción de etanol	0.1866	
Flujo másico de CO ₂ crítico	1702.93	kg/h
Flujo másico de etanol – agua	255.44	kg/h
Temperatura	60	°C
Presión	250	Bar
Cámara de Separación		
Presión	150	Bar
Temperatura	53	°C

6.5 Modelos involucrados en las operaciones unitarias del bioproceso

El modelo que se eligió para el cálculo de las propiedades termodinámicas fue el de NRTL – HOC, que incluye el método NRTL (Non-Random Two Liquid), que se utiliza para calcular los coeficientes de actividad en la fase líquida y la ecuación de estado de Hayden-O’Connell para

modelar los coeficientes de actividad de la fase de vapor. Este modelo permite calcular el equilibrio de fase en mezclas ideales como no ideales. Además, que se recomienda para sistemas químicos que contengan fases de equilibrio líquido – vapor o líquido – líquido; así como para sustancias que estén fuertemente asociadas a sustancias apolares (Renon y Prausnitz, 1968). Además, se ha demostrado que este modelo permite calcular con éxito el equilibrio de fase en mezclas que contienen compuestos no convencionales (Cardona Alzate y Sanchez Toro 2006).

Para algunas operaciones unitarias, fue necesario determinar el modelo a emplear para la simulación del objetivo 4. En la tabla 7 se muestran los modelos utilizados en algunos de las operaciones involucradas de acuerdo con el diagrama de bloques de la figura 9.

Tabla 7. Modelos empleados en algunas operaciones unitarias requeridas.

Operación Unitaria	Modelo
Secado	Shortcut
Molienda	Ley de Bond
Intercambiador de calor	Shortcut
Hidrólisis enzimática	Reacciones estequiométricas

El modelo seleccionado para el secado y el intercambiador de calor fue el shortcut de acuerdo con la tabla 7. Este modelo engloba en una sola ecuación los cálculos robustos de los fenómenos de transferencia de calor y masa, dando como resultado el cálculo a partir de las principales variables que describan el funcionamiento del equipo y su consumo energético. Por lo tanto, de este modelo resulta una aproximación suficientemente exacta para poder obtener valores de las principales variables del problema (Redepenning y Marquardt, 2016). Ideal cuando no se cuenta con suficientes datos de la operación del equipo.

En la molienda, se emplea el método de la Ley de Bond que es ideal para tamaños de partículas de 0.05 a 50 mm. Esta ley establece que el trabajo consumido para reducir el 80% el tamaño de

un material es inversamente proporcional a la raíz cuadrada del tamaño producido, como se muestra en la siguiente ecuación:

$$W_B = c_B * \left(\frac{1}{\sqrt{d_E}} - \frac{1}{\sqrt{d_A}} \right) \quad (4)$$

Donde d_E representa el tamaño de partícula del producto y d_A el tamaño de la partícula de la alimentación. Por otra parte, C_B denota el índice del trabajo de Bond (kWh) que se define como el trabajo consumido en la reducción del tamaño, es decir, la capacidad de los materiales para ser fragmentados. El índice de Bond utilizado fue de 14, ideal para materiales de dureza media a duros (King, 2001).

En cuanto a la hidrólisis enzimática, se emplea el uso de un reactor estequiométrico (RSTOIC), que modela las reacciones estequiométricas (en este caso la conversión de las reacciones que se abordaron en el apartado 6.3.2 para la hidrólisis enzimática), cuando no se conoce la cinética de la reacción o esta es despreciable, en vez de la cinética usa otro parámetro, la conversión (Gil *et al.*, 2011).

Para la extracción de fluidos supercríticos y la liofilización no se considera un modelo termodinámico como tal, se toma de referencia el modelo base NRTL – HOC para hacer la simulación de varias operaciones unitarias que involucren un proceso similar al de estas tecnologías.

6.6 Producción de antocianinas a partir del bagazo del *Agave lechuguilla*.

6.6.1 Descripción del proceso

Existe una gran variedad de métodos para extraer antocianinas, en todos ellos, es importante mantener temperaturas inferiores a los 60°C para evitar la degradación térmica del compuesto, ya que la temperatura juega un papel importante en la calidad del producto (Cerón *et al.*, 2012). La primera etapa del proceso consiste en el pretratamiento de la materia prima, este inicia con

un secado donde se evapora la mayor cantidad de humedad posible para poder triturarlos mediante una molienda, obteniendo un tamaño de partícula final de 2 mm aproximadamente. Después de la reducción del tamaño de partículas, se ingresa la materia prima a un reactor para realizar la hidrólisis enzimática. Este necesita agua a 40°C, por lo que un intercambiador de calor ayudará a tener la temperatura ideal para ingresar al reactor. Posteriormente, se realiza un segundo secado para reducir la humedad en la biomasa procesada y poder aumentar la tasa de transferencia de masa en el proceso de extracción.

En el proceso de extracción, se realiza la simulación en dos etapas, la extracción y la separación. Estas incluyen la simulación de la extracción con fluidos supercríticos. Este proceso es provechoso para extraer compuestos con disolventes como el CO₂ que se encuentran en sus condiciones críticas. El dióxido de carbono tendrá la capacidad de difundirse fácilmente con la materia prima para arrastrar a las antocianinas en la cámara de extracción (Martínez, 2008). A continuación, se muestra la descripción del proceso para la extracción de fluidos supercríticos en Aspen plus:

- **Cámara de extracción:** El proceso inicia con un ajuste del CO₂ para que ingrese a las condiciones de extracción (60°C, 250 bar). Para ello, es necesario simular un mezclador, el cuál entra CO₂ en condiciones críticas (Temperatura de 31°C, a una presión de 73 bar). Seguido, pasa a un compresor para subir la presión a 250 bar, mediante la simulación de un modelo Isentrópico, para mantener la entropía constante y poder variar la temperatura, evitando la transferencia de calor (Kittel, 1969). Finalmente, el CO₂ ingresa a una cámara de extracción simulado con un Sep o un separador, en el que es necesario considerar las fracciones de cada uno de los componentes de interés involucrados en el proceso (Tabla 8). Al extractor ingresa una corriente de la mezcla etanol – agua (70:30), donde se va a producir el contacto entre el líquido de mayor fluidez y las antocianinas para realizar la separación del resto de los componentes (Cerón *et al.*, 2012).

Tabla 8. Fracciones de los componentes principales involucrados en el separador para la extracción con fluidos supercríticos, antes de la separación.

Componentes	Fracciones
Ácido galacturónico (Pectinas)	0
Agua	0.0798
Antocianinas	0.7
CO ₂	1
Etanol	0.1862
Glucosa	0
Xilosa	0

- Cámara de separación:** Las antocianinas son recolectadas o separadas con la fracción etanol-agua como extracto. El CO₂ es liberado mediante el proceso de descompresión o despresurización simulado mediante una válvula a la presión crítica, permitiendo así la separación de la mezcla producto – disolvente. Luego, el CO₂ es recirculado al mezclador. En esta etapa de separación hay una caída de temperatura de 60 a 53°C, y una presión de 250 a 150 bar, disminuyendo así la solubilidad y separando el producto (precipitado).

Finalmente, las antocianinas con el co-disolvente son pasadas por un proceso de liofilización, el cuál es simulado con un flash en condiciones de – 45°C y 0.12 mbar para evaporar el etanol y el agua. La solución resultante contiene el compuesto de antocianina extraído.

6.6.2 Simulación del proceso

La simulación del bioproceso para la producción de antocianinas a partir del bagazo de *Agave lechuguilla*, se realizó en el software Aspen Plus V10.0 (Aspen Technology Inc., USA). Con el objetivo de generar los balances de materia para calcular los requerimientos de materia prima y producción total de antocianinas, así como los balances de energía para calcular las necesidades energéticas del proceso. Para ello, fue necesario utilizar las propiedades químicas y físicas de los componentes involucrados (Caballero Galván et al.,2020). Los componentes que no estaban

disponibles en la biblioteca de software pero que eran necesarios en la simulación se registraron como componentes definidos por el usuario y luego se ajustaron a las propiedades reales del componente (Adeyi *et al.*, 2021). Este software fue proporcionado por la Universidad Santiago de Chile, bajo la tutoría del doctor Julián Quintero Suárez. Aspen plus es reconocido internacionalmente por su capacidad, precisión e interfaz amigable, además de poder evaluar impactos al medio ambiente (emisiones) y análisis de costos (Malah y Kamal, 2017).

Se simuló cada una de las operaciones tecnológicas propuestas del diagrama de bloques de la figura 9. Se tomó como referencia la oferta disponible para la entrada del bioproceso del bagazo del *Agave lechuguilla* (materia prima). De acuerdo con el modelo termodinámico establecido (NRTL – HOC), los datos de las propiedades físicas de los componentes necesarios para la simulación se obtuvieron de Wooley y Putsche (Wooley & Putsche, 1996). En la tabla 9 se muestran los parámetros que se emplearon para la simulación del bioproceso.

Tabla 9. Condiciones de operación del bioproceso

Operación Unitaria	Parámetros operativos	Modelo termodinámico
Secado	Flujo másico: 1331.07 kg/día Temperatura: 45°C Presión: 1 bar	Shortcut
Molienda	Tamaño de partícula inicial: 15 – 10 mm Tamaño de partícula final: < 5 mm	Ley de Bond
Intercambiador de calor	Temperatura de salida: 45°C Presión: 1 bar	Shortcut
Hidrólisis enzimática	Temperatura: 40°C Presión: 1 bar Flujo másico del agua: 6650.3 kg/día	Reacciones estequiométricas
Secado	Temperatura: 45°C Presión: 1 bar	Shortcut
Extracción	Temperatura: 60°C Presión: 250 bar Flujo de CO ₂ : 1702.93 kg/h Flujo de etanol-agua: 255.44 kg/h	NRTL-HOC
Separación	Temperatura: 53°C Presión: 150 bar	NRTL-HOC
Liofilización	Temperatura: -49°C Presión: 0.00012 bar	NRTL-HOC

Las simulaciones generaron datos sobre los balances de masa y los balances de energía para poder realizar las estimaciones básicas de los tamaños de los equipos, su consumo de energía y la producción total de antocianinas (producto). La ecuación utilizada para calcular la energía requerida de cada equipo se muestra en la ecuación 9, donde \dot{m} representa el flujo másico y H la entalpía de cada corriente. Esta información se utiliza luego en los cálculos de producción:

$$(\dot{m} * H)_{entrada} = (\dot{m} * H)_{salida} \quad (5)$$

6.7 Dimensionamiento de equipos

Con los datos obtenidos de los balances de materia y energía se realizó una búsqueda bibliográfica para obtener información de los equipos que se encuentran en el mercado. Los parámetros más importantes para considerar fueron: volumen, tiempo de operación, capacidad, temperatura de operación, entre otros. Para determinar el rendimiento esperado con los equipos dimensionados. Para el intercambiador de calor, éste fue dimensionado en el software para obtener el cálculo de los requisitos de energía y el área de intercambio de calor.

6.8 Determinación de la factibilidad técnica

Para llevar a cabo el análisis técnico del proceso comienza con la recopilación de información de fuentes primarias y secundarias. La información primaria se refiere a los datos obtenidos experimentalmente en el laboratorio por el grupo de trabajo (Morreeuw *et al.*, 2021a, 2021b), esenciales para realizar cada etapa del proceso. Incluyendo la composición del bagazo y las condiciones óptimas de operación para cada una de las operaciones unitarias involucradas. La literatura es la información de fuentes secundarias, es decir todos los artículos, reportes y libros consultados para complementar los modelos de operaciones requeridas. Éstas proporcionan datos útiles de los procesos realizados anteriormente por otros grupos de trabajo o de los que no se pueden hacer a escala laboratorio. Para completar la base de datos del Aspen plus es necesario introducir en las propiedades de los componentes que no son comunes, como son la celulosa, hemicelulosa, lignina y extractivos, que en este caso se simulaban como pectinas (ácido galacturónico). Estos datos permiten tener una mayor confiabilidad en los resultados que se obtengan, haciendo que la simulación sea más rigurosa y cercana a la realidad (Quintero Suárez, 2011).

La simulación se lleva a cabo en el software comercial elegido y se introducen todos los datos necesarios. Con esto se calcula el consumo de energía de cada equipo y por lo tanto de cada operación del proceso (Rodríguez Flores, 2016). Todos los resultados en conjunto permiten evaluar la tecnología estudiada y dar las recomendaciones pertinentes que puedan ayudar para determinar la factibilidad técnica, evaluando 3 criterios: la madurez tecnológica del bioproceso, los criterios de productividad (criterios cualitativos) y la inversión del proyecto.

7. RESULTADOS

7.1 Demanda de antocianinas con base en la disponibilidad de bagazo del *Agave lechuguilla*

Después de realizar la búsqueda en la página de la Secretaría de Economía en el portal del SIAVI 5.0, se obtuvo la fracción arancelaria según la subpartida 320300 para colorantes naturales de origen vegetal. Esta subpartida hace referencia a los materiales colorantes de origen vegetal incluidos los extractos tintóreos. Consecuentemente en el portal del Servicio Nacional de Información del Comercio Exterior (SNICE), se buscó el volumen de importación para las fracciones 32030001, 32030003 y 32030099 que contenían colorantes naturales de origen vegetal, dando un volumen total promedio de 251.76 kg en el año 2020, de acuerdo con el valor de UMT (Unidad de Medida de Tarifa) que corresponde a la cantidad de mercancías importadas conforme a la unidad de medida de la TIGIE (Tarifa de la Ley de los Impuestos Generales de Importación y Exportación). Los países importadores de colorantes naturales de origen vegetal son Estados Unidos, Perú, Brasil, Alemania, Argentina y Chile; principalmente.

Tomando como referencia la cantidad de antocianinas obtenidas en el laboratorio para el bagazo de *Agave lechuguilla* (tabla 9), se hizo una relación para calcular la cantidad de bagazo que se requiere con respecto a la demanda de colorantes naturales de origen vegetal, considerando que entre ellos se encuentran las antocianinas. En la tabla 9 se observan los datos que se obtuvieron para determinar la demanda y oferta del producto (antocianinas).

Tabla 10. Volumen necesario para determinar la cantidad de bagazo que se requiere para cubrir la demanda de antocianinas a partir de los datos obtenidos en el laboratorio.

Antocianinas	Cantidad
Antocianinas en el bagazo de <i>Agave lechuguilla</i> (laboratorio ¹)	150 µg/g
Promedio de Importación de colorantes naturales de origen vegetal en México	251.76 kg/año
Producción máxima de antocianinas (demanda)	678 kg
Requerimiento de bagazo para la demanda (oferta)	452 ton

Notas: ¹ Dato obtenido en el laboratorio por el grupo de investigación después de la extracción.

En la simulación del bioproceso no se pretende abastecer la máxima cantidad de la demanda de antocianinas que se requiere en el mercado, por lo que se cubrirá el 10% de la demanda total. Este dato conservador permitirá realizar una escala pequeña que satisfaga las necesidades de las comunidades rurales donde se produce la lechuguilla. Por lo tanto, se pretende cubrir una demanda de 67.8 kg de antocianinas al año, conociendo que se tiene la suficiente cantidad de materia prima (bagazo).

7.2 Composición química del bagazo en la entrada del bioproceso.

Los flujos másicos en la entrada del bioproceso de cada uno de los componentes involucrados en el bagazo del *Agave lechuguilla* se muestran en la tabla 10. De igual manera, se muestran los tipos de corrientes y subcorrientes establecidos en la simulación. Para la composición de antocianinas, se tomó como referencia, el rendimiento global del 30.33 % de la composición de polifenoles y flavonoides que fue obtenido por el grupo de trabajo en el laboratorio para el guishe del *Agave lechuguilla*. Por lo tanto, el resultando representativo para las antocianinas dentro de la composición de los extractivos fue del 0.02242% que corresponde al bagazo. Se determinaron los tipos de corrientes (Anexo 2). Las corrientes convencionales son aquellas en las que se conoce su fórmula química, mientras que las no convencionales no se conoce con exactitud su fórmula química como son las cenizas, humedad, etc. (Haydary 2018).

Tabla 11. Flujos másicos de la corriente principal de entrada del bagazo de *Agave lechuguilla*.

Componente químico	Flujo másico (kg/día)
Celulosa	219
Hemicelulosa	212
Lignina	91
Cenizas	154
Extractivos	561.31
Antocianinas	0.278
Agua	99
Total	1337

Cabe destacar que en esta reacción no es necesario ingresar agua al reactor, ya que, solo se realiza el cambio de corriente para que Aspen plus pueda obtener antocianinas en la extracción de fluidos supercríticos y no las deseche con el resto de los componentes involucrados.

Para el proceso de extracción con fluidos supercríticos, se usan CO_2 y etanol como co-disolventes. Para la etapa de extracción, se consideran varios procesos que simulan las condiciones críticas que requiere la tecnología (Figura 11). Inicialmente, el CO_2 y el etanol se suministran a la cámara de extracción (E3). Para ello, el CO_2 ingresa en condiciones críticas con un flujo másico de 1,702.93 kg/h. Entra a un mezclador (E1), el cual a su vez recircula el CO_2 después de la separación. El CO_2 sale del mezclador para ingresar a un compresor (E2) que se simula de manera isentrópica para elevar la presión e ingresar a la cámara de extracción. En la extracción ingresa el etanol y agua con un flujo másico de 255.44 kg/h. Los datos de los flujos másicos calculados para las corrientes de entrada se muestran en la tabla 11.

En la salida del extractor (E3) se desecha los residuos que son los componentes que no son de interés y las antocianinas son arrastradas junto con el etanol, agua y CO_2 a la cámara de separación (E4). En este proceso se libera el CO_2 , pasando por una válvula (E5) para descomprimirlo y recuperar el compuesto (E6), dejándolo nuevamente en condiciones críticas. Mientras, las antocianinas son pasadas por la corriente C17 (figura 11) como extracto con etanol y agua. El extracto entra a un flash (L1) que simula el proceso de liofilización (figura 10), para separar el etanol y el agua en forma de vapor. El proceso sufre un congelamiento a -45°C para después someter el producto al vacío a una presión de 0.12 mbar para cristalizar el etanol y agua mediante sublimación y así obtener las antocianinas en su estado sólido.

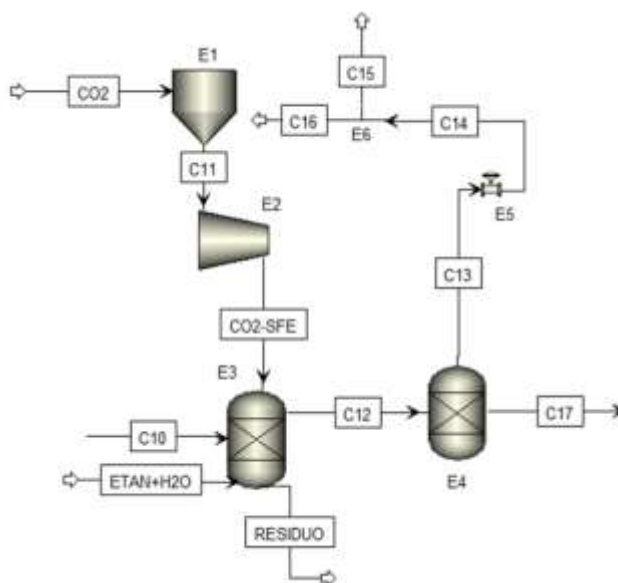


Figura 11. Simulación de la extracción con fluidos supercríticos en Aspen plus V10.0.

7.3.1 Balances de masa

La simulación arroja los resultados de los balances de masa y energía. En la tabla 11 se muestra el resumen del balance de materia de los flujos másicos para el proceso de la extracción con fluidos supercríticos. De igual manera, se muestra la composición de las materias primas, los principales resultados de las operaciones unitarias básicas y el producto final. Las corrientes principales de entrada son CO_2 crítico (CO_2), el cuál ingresa con una cantidad de 1,702.93 kg/h para extraer las antocianinas de la biomasa (C10) del bagazo que ingresa a 33.811 kg/h. El flujo de etanol y agua calculados para la entrada del proceso fue de 255.44 kg/h, contemplando la relación de 70% de etanol y 30% de agua como se estableció en el laboratorio. El tiempo de operación de este proceso es de aproximadamente de 1 a 2 horas, por ello los flujos másicos se representan en la tabla 11 en kilogramos por hora.

Tabla 12. Balance de masa de las corrientes de entrada y salida de la simulación de la extracción de fluidos supercríticos de la figura 11.

Componentes	Flujos másicos (kg/h)					
	Corrientes de entrada			Corrientes de salida		
	CO ₂ entrada	Biomasa	Etanol + Agua	CO ₂ salida	Residuo	ACN + Etanol + Agua
Celulosa	0	0.35	0	0	0.35	0
Hemicelulosa	0	0	0	0	0	0
Lignina	0	3.77	0	0	3.77	0
Extractivos	0	23.26	0	0	23.26	0
Antocianinas	0	0.012	0	0	0.0035	0.0081
Cenizas	0	6.42	0	0	6.42	0
Agua	0	0	76.63	0	70.50	6.13
Etanol	0	0	178.81	0	110.68	68.13
CO ₂	1,702.93	0	0	1,702.93	0	0

Para las corrientes de salida, se encuentran el CO₂ de salida (C14), el cuál una parte se recircula y otra se libera mediante el uso de un conector (E6). En la cámara de extracción (E3), en la corriente de “RESIDUO” se desechan alrededor de 250 kg/h de residuo, que incluyen los componentes de celulosa, lignina, extractivos, cenizas, agua y etanol. Sin embargo, una parte significativa de antocianinas también es desechadas por esta corriente durante el proceso, donde el 30% del 100% del rendimiento que no es aprovechado. Esto es de esperarse en procesos industriales, por lo que la fracción de la tabla 8, corresponde a un buen rendimiento (Cerón *et al.*, 2012)

En cuanto a la corriente de antocianinas con la mezcla de etanol y agua, se observa en la tabla 11 que se obtiene un buen rendimiento de antocianinas del 0.0081 kg/h, esta corriente entra al proceso de liofilización simulado por un flash.

El rendimiento total de antocianinas (ACN) después del proceso de liofilización fue de 0.1934 kg/día, como se muestra en la tabla 12. Las antocianinas tuvieron una pérdida significativa en la corriente de residuo con un flujo másico del 0.0083 kg/día durante el proceso de extracción (tabla 12). Por lo tanto, de acuerdo con los resultados arrojados en la simulación y partiendo de un flujo másico total de biomasa seca de 1,331.07 kg/día de bagazo del *Agave lechuguilla*, se logran obtener 0.1933 kg/día de antocianinas. Realizando el proceso por lotes con tiempos de operación de 1 hora, se obtendrían 0.0081 kg/h de antocianinas.

Tabla 13. Balance de masa general de la corriente principal de entrada y las de salida del bioproceso para la producción de antocianinas a partir del bagazo del *Agave lechuguilla*.

Componentes	Flujos másicos (kg/día)		
	Bagazo	Residuo	Antocianinas
Celulosa	218	8.39	0
Hemicelulosa	211	0	0
Lignina	91	91	0
Extractivos	558	558	0
Antocianinas	0.28	0.083	0.1933
Cenizas	154	154	0
Agua	99	1692.4	0
Total	1,331.07	5,159.76	0.1933

7.3.2 Balances de energía

Uno de los aspectos importantes a considerar en la industria es el consumo de energía del proceso. En la tabla 13 se muestran los gastos energéticos de los equipos que lo requieren. De acuerdo con la figura 10, la válvula y el conector no requieren un consumo energético importante, en el caso del segundo reactor estequiométrico, este dio un valor de cero en el balance de energía, ya que solo se realizó la conversión de la corriente de antocianinas de sólidos a "MIXED" corriente convencional.

Tabla 14. Balances de energía de las principales operaciones unitarias involucradas en el proceso.

Operaciones Unitarias	Gasto energético (kW)
Secado (P1)	2.74
Molino (P2)	0.04
Intercambiador de calor (P3)	6.23
Secador 2 (P5)	184.54
Compresor (E2)	41.71
Liofilizador (L1)	17.80

De acuerdo con los resultados de la tabla 13, el equipo que requiere mayor gasto energético es el segundo secado (P5), con un valor de 184.54 kW. Esto es debido a que tiene que suministrar una importante cantidad de energía para poder evaporar el agua que se encuentra en la biomasa después del proceso de la hidrólisis, requiriendo energía térmica para llevar a cabo el proceso. El segundo equipo con mayor consumo energético es el compresor, esto se debe a que requiere mayor energía durante el proceso de la extracción con fluidos supercríticos al elevar la presión del CO₂ crítico de 73 bar a 250 bar para operar el extractor. En general, los valores positivos indican un mayor consumo de energía (requiere un suministro energético). Por lo tanto, los equipos como los secadores, intercambiador de calor y el liofilizador (flash), suministran energía al sistema para lograr evaporar el líquido (agua o etanol) que se encuentra en la muestra (bagazo).

Los equipos que no se encuentran en la tabla 13 como el reactor estequiométrico, el extractor y el separador dieron valores negativos de -3.06×10^{25} , -7.84 y -0.54 kW; respectivamente. Esto indicia que, durante el proceso, los equipos necesitaron retirar calor del sistema para mantener la temperatura (pérdida de energía).

Por otra parte, los equipos que requieren energía térmica fueron el reactor estequiométrico y el intercambiador de calor. Mientras que, los equipos que operan con energía eléctrica fue el compresor y los secadores, ya que no requieren de un fluido para ser calentados.

7.4 Dimensionamiento de los equipos

A continuación, se muestra el dimensionamiento de cada uno de los equipos involucrados en el proceso de acuerdo con el diagrama de bloques de la figura 9:

- **Secado**

Se realizó la búsqueda de un secador al vacío que tuviera capacidad para un flujo másico alrededor de 1,331 kg/día que es la entrada del material fibroso (bagazo). En la tabla 14 se muestra los parámetros más importantes tomados en consideración para el dimensionamiento del equipo y que se ajusta al bioproceso. El secador elegido es empleado en la industria medicinal para la obtención de medicamentos, alimenticia (secado de alimentos) y química, lo que lo hace ideal para el bioproceso empleado. Además, se caracteriza por ser de alta eficiencia y productividad, con un bajo consumo energético. El modo de calefacción es mediante vapor empleando electricidad. Contiene 20 bandejas de secado con rejillas para el secado de vapor, con un sistema de control de temperatura (Alibaba, 2021). Tiene un amplio intervalo de temperatura que se ajustan a las condiciones de operación que se desean, alrededor de 40°C para evitar la degradación de las antocianinas.

Tabla 15. Dimensionamiento del equipo de secado

Características	Cantidad	Unidades
Capacidad	1,000	Kg
Número de equipos	1	
Rango de temperatura	3 - 150	°C
Bandejas	20	Piezas
Tamaño de las bandejas*	460*640*45	mm
Distancia entre bandejas	122	mm
Potencia	12	kW
Voltaje	380	V
Dimensiones del exterior*	1,924*1,720*1,513	mm
Dimensiones del interior*	1,500*1,060*1,220	mm
Peso	1,400	kg

Notas: * Las dimensiones del equipo: largo, ancho y alto (L*W*H, sus siglas en inglés)

Como se muestra en la tabla 14, el secador tiene una capacidad máxima de 1,000 kg, por lo que se requerirá de 1 sólo equipo para llevar a cabo la operación de manera discontinua, ya que los tiempos de operación son de ± 12 horas. Se operará 2 lotes de 666.55 kg/día en un tiempo de operación de 12 horas, para lograr una biomasa seca final de 1,333.1 kg/día que es lo que entra al bioproceso, considerando los 40 °C a 1 bar que es la temperatura y presión de operación.

- **Molienda**

El molino seleccionado es de la empresa Weifang Fengder Machinery Technology, Co, Ltd. Este molino se caracteriza por su diversidad de aplicaciones en las industrias farmacéuticas, alimentarias y químicas. Entre esta diversidad destaca los materiales fibrosos de dureza media a baja. Tiene una capacidad de 10 a 150 kg/h con una velocidad de rotación de 5,200 rpm para triturar un tamaño de partícula de alimentación menor de 8 mm. La potencia requerida es de 3 kW con una frecuencia de 50 Hz y un voltaje de 220. El diámetro de entrada es de 76 mm y las dimensiones del equipo son 580*460*1,035 mm (largo, ancho y alto). Se utilizará este molino de martillo de manera continua, alimentando el material seco alrededor de 50 a 100 kg/h, esperando tener alrededor de 12 lotes totales que ingresarán al reactor una vez triturado todo el material.

- **Intercambiador de calor**

Se simuló en el software Aspen plus V10.0 para el dimensionamiento del equipo. Las características son un intercambiador de tubos y corazas con un área de intercambio de calor del 0.11 m² para un flujo másico de agua de 287.054 kg/h. Este equipo será operado en un proceso discontinuo que suministrará agua al reactor estequiométrico, en un solo lote.

- **Hidrólisis enzimática**

El reactor seleccionado es de la marca Qiangzhong, es un reactor de acero inoxidable de tanque agitado. Tiene una capacidad de 3,000 L, por lo que el requerimiento será de 1 equipo que funcione de manera discontinua, con tiempos de operación de 2.5 horas para un total de 3 lotes que obtengan al final un flujo volumétrico de 8,000 L/día; aproximadamente. La velocidad de agitación que emplea el reactor varía de 0 hasta los 120 rpm, con una presión menor de 0.9 Mpa. Las condiciones de operación que se requieren son de 180 rpm a una presión de 1 atm. Sin

embargo, es necesario considerar que la agitación es mayor en escala laboratorio que en un reactor industrial, por lo que esta agitación de 120 rpm que brinda el equipo es óptima para llevar a cabo la hidrólisis (Quiroga *et al.*, 2010). El consumo energético que ofrece el reactor es de 3 kW, con un voltaje de 230. La temperatura de operación es ajustable, operando a intervalos menores de 160°C, deseable para una temperatura de operación en la simulación de 40°C. Sus dimensiones son 1,500 mm de altura y 1,600 mm de diámetro. El producto de los 3 reactores después del tiempo establecido pasará al proceso del segundo secado.

- **Segundo secado**

En este proceso se requiere secar un flujo másico total de 7,757.7 kg/día, por lo que se necesita un secador industrial tipo horno de secado modelo AGHD-120ELC de la empresa china AIM. Los parámetros de operación de este equipo se encuentran en la tabla 15 que se asemejan a las condiciones de operación que requiere el bioproceso. La capacidad por cámara de secado es de 600 a 2,000 kg con una carga de material húmedo total de 0.6 a 1,000 ton (Fig.14). Por lo tanto, la cantidad de equipos necesarios para este proceso es de 1 con 4 cámaras de secado. Cada cámara operará por lote, con una capacidad de 2,000 kg en un tiempo de operación de \pm 24 h, entonces, el proceso será discontinuo.



Figura 12. Equipo seleccionado para la operación del segundo secado.

Por otra parte, la temperatura de operación que requiere el bioproceso es de 40 °C y este equipo ofrece un intervalo de temperatura de 18 a 80 °C, con una capacidad de deshumidificación de 18 L/h y con un consumo energético de 12,000 W. Sus dimensiones son de 1,600 mm de largo, 1,400 mm de ancho y 1,530 mm de alto, como se muestra en la tabla 15. Después del tiempo de operación establecido para las 4 cámaras de secado, el producto pasa a

un reactor que tendrá las mismas condiciones de operación y las mismas características que en la hidrólisis enzimática, la diferencia es que sólo se producirá 1 lote para este proceso de segunda hidrólisis.

Tabla 16. Dimensionamiento del segundo secado. Parámetros considerados que se ajustan a las condiciones de operación previamente establecidas en el bioproceso.

Características	Cantidad	Unidades
Cantidad de equipos	1	
Carga de material húmedo	0.6 – 1,000	Ton
Capacidad por cámara	600 – 2,000	Kg
Capacidad de deshumidificación	18	L/h
Control de humidificación	5 - 99	%
Energía	12,000	W
Intervalo de temperatura	18 – 80	°C
Voltaje	220	V
Frecuencia	60	Hz
Potencia de entrada	11.5	kW/h
Corriente de entrada	20	A
Dimensiones*	1,600*1,400*1,530	mm
Peso	410	Kg

Notas: * Las dimensiones del equipo: largo, ancho y alto (L*W*H, sus siglas en inglés).

- **Extracción de fluidos supercríticos**

Para el proceso de la extracción con fluidos supercríticos se seleccionó el modelo WTHA de la empresa Wintech, China. Una de sus principales aplicaciones es que puede ser utilizado para productos farmacéuticos, alimenticios y cosméticos. Tiene una capacidad de 1,000 L, emplea el uso de disolvente etanol y CO₂, la presión de trabajo es hasta 400 bar con un intervalo de temperatura máxima de 85 °C y flujo de la bomba de CO₂ de 1,000 L/h. El consumo energético

es de 65 kW y sus dimensiones son 7,800 mm de largo, 7,000 mm de ancho y 4,500 mm de altura. El tiempo de extracción es de 1 a 2 horas, por lo que se requerirá de 4 equipos que trabajen de manera continua. Cada equipo generará 6 lotes por cada 2 horas de operación, generando una productividad de 204 kg/día por equipo. Operando los 4 equipos de manera simultánea se producirá 812 kg/día que es la cantidad deseada. Los tiempos de operación de cada equipo por día serán de 12 horas. En la tabla 16 se muestran los parámetros más importantes que se consideraron para la selección del equipo, en comparación con los datos de la simulación.

Tabla 17. Comparación entre los parámetros del equipo seleccionado (Mercado) y la simulación de la extracción de fluidos supercríticos.

Características	Cantidades		Unidades
	Simulación	Mercado	
Capacidad	812	1000	kg
Disolvente	Etanol/CO ₂	Etanol/CO ₂	
Presión de trabajo	250	400	Bar
Temperatura máxima	60	85	°C
Flujo de la bomba de CO ₂	1,703	1,000	L/h
Potencia		65	KW

- **Liofilización**

Las variables principales involucradas en el proceso de liofilización en la simulación fueron la temperatura y la presión de -49°C y 0.12 mbar; respectivamente. El equipo que ofrece estas condiciones de operación es de la marca JSMachine, Tailandia, ideal para la industria farmacéutica, alimenticia, cosméutica y química (producción de colorantes principalmente). Los parámetros de operación de este equipo se encuentran en la tabla 17, considerando que, para eliminar completamente la humedad al producto, este se somete primero a un enfriamiento para congelar el agua en exceso y pasar el producto por una cámara de vacío que

evapora el agua congelada con residuos de etanol, para obtener el producto final seco (Palaco, 2018).

El equipo de selección tiene una potencia de 90 kW, con un consumo de energía de 11 kW. La capacidad es de 100 kg/h con 136 piezas de bandejas para llevar a cabo la evaporación. Tiene un sistema de ajuste de temperatura radiante y de criogénica de -45 a 120°C, que se ajusta a los parámetros establecidos para el bioproceso, ya que la temperatura de evaporación opera a 45°C y la de sublimación a -49°C. Las presiones de trabajo dentro de la cámara de secado son menores a 1 Pa. Para llevar a cabo la operación se requieren 2 equipos que operen cada uno con una capacidad de 450 kg para alcanzar una productividad final de 936 kg/día que fue lo que resulto en los balances de masa (Anexo 2). El tiempo de operación del equipo es de 14 a 20 horas, por lo que el proceso será discontinuo. Cada equipo tendrá un solo lote que estarán operando dentro de estos tiempos. Finalmente, en la tabla 18 se muestra un resumen general del dimensionamiento de los equipos.

Tabla 18. Parámetros considerados para el dimensionamiento del equipo del proceso de liofilización.

Características	Cantidad	Unidades
Cantidad de equipos	2	
Capacidad de entrada en la cámara de secado	500	kg
Capacidad de evaporación	100	Kg/h
Ajuste de temperatura radiante	-45 a 120	°C
Cryo – temperatura	-45 a -50	°C
Diseño de la cámara de presión	-1	Bar
Presión de trabajo dentro de la cámara de secado	>1	Pa
Dimensiones*	3,000*300*1350	mm
Diámetro	2,400	mm
Longitud	8,000	mm
Dimensiones del estante de capa de la zona*	650*570*32	mm
Tamaño de la bandeja	50.39	m ²
Número de bandejas	136	piezas
Potencia	90	kW
Energía	11	kW
Voltaje	380	V
Tiempo de congelación y secado	14 - 20	h
Peso	1,250	kg

Notas: * Las dimensiones del equipo: largo, ancho y alto (L*W*H, sus siglas en inglés).

Tabla 19. Dimensionamiento de todos los equipos involucrados en el proceso.

Equipos	Cantidad	Número de Lotes	Capacidad (kg/día)		Tiempo de operación (h)	Proceso	Dimensión (mm)
			Simulación	Mercado			
Secador al vacío	1	2	1,331	1,000	12	Discontinuo	1,924*1,720*1,513
Molino de martillos	1	12	1,232	240 - 3600	1	Continuo	580*460*1,035
Reactor estequiométrico	1	3	7,882	3,000	2.5	Discontinuo	1,500*1,600
Horno de secado	4	1	7,882	8,000	24	Discontinuo	1,600*1,400*1,530
Reactor	1	1	812	3,000	2.5	Discontinuo	1,500*1,600
Fluidos supercríticos	4	6	812	1,000	2	Continuo	7,800*7,000*4,500
Liofilización	2	1	936	500	14 a 20	Discontinuo	3,000*300*1,350

Notas: *Las dimensiones del equipo: largo, ancho y alto (L*W*H, sus siglas en inglés).

7.5 Factibilidad técnica

El bioproceso propuesto para la extracción de antocianinas a partir del bagazo del *Agave lechuguilla*, se muestra en la figura 15.



Figura 13. Diagrama de los equipos industriales del bioproceso propuesto.

Este proceso surge del dimensionamiento de equipos de la tabla 18. El proceso inicia con un secado al vacío de manera discontinua, seguido de un molino de martillos, después se realiza la hidrólisis enzimática en un reactor estequiométrico. Posteriormente, se realiza un segundo secado en un horno de secado, la extracción se realiza en un equipo industrial para la extracción de fluidos supercríticos, y finalmente, la liofilización. El proceso opera de manera discontinua, en estado estacionario por lotes. En la tabla 19 se muestran los precios de los equipos de la figura 15 y el costo total.

Tabla 20. Precios de los equipos involucrados en el bioproceso.

Equipos	Precios (\$USD)
Secador	9,530
Molino	1,200
Reactor estequiométrico	15,000
Horno de secado	8,800
Reactor (hidrólisis)	15,000
Extracción fluidos supercríticos	80,000
Liofilización	30,000
Total	159,530

8. DISCUSIÓN

8.1 Demanda del mercado de antocianinas

Una de las ofertas con mayor productividad en el mercado es el maíz morado en Perú, de acuerdo con los datos arancelarios del portal SIICEX, según la partida 320300 de colorantes naturales, Perú tiene una demanda mundial de antocianinas de 10,204 kg al año (Palaco 2018). Este dato es representativo en comparación con el dato obtenido para México con una demanda de colorantes naturales de origen vegetal de 251.76 kg/año. Esto se debe a que México no es un país productor de antocianinas, por lo que requiere importarlas de países como Estados Unidos o Perú; principalmente. Debido a ello, es necesario buscar alternativas para que México pueda producir su propia demanda. Las industrias potenciales de interés son la alimenticia, farmacéutica y cosmeceútica, para utilizar a las antocianinas como sustitución de colorantes sintéticos, principalmente de los colorantes rojo número 2 y 40 (Hallagan *et al.*, 1995; Lauro, 1991). Estos colorantes actualmente están prohibidos en algunos países como: Austria, Japón, Noruega y Suecia (Hallagan *et al.*, 1995; Lauro, 1991). Sin embargo, en México aún son utilizados ya que la FDA los sigue aprobando como consumibles. La Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO) advierte sobre los riesgos que representan, a la salud, el consumo de estos colorantes artificiales, por lo que recomienda consumir productos que contengan colorantes naturales (PROFECO, 2020).

Por lo tanto, proponer una planta de pequeña escala para la producción de antocianinas en México, es una buena estrategia para iniciar el abastecimiento de la demanda y cubrir las recomendaciones para la salud de los consumidores. Buscar fuentes de materia prima no sería un inconveniente, ya que se ha propuesto al bagazo del *Agave lechuguilla* como una fuente disponible. Se ha encontrado que este contiene compuestos polifenólicos como las antocianinas en un contenido total de hasta 103 µg/g con respecto a su peso seco (Morreeuw *et al.*, 2021a). Esta materia prima, puede ser una buena alternativa, ya que es un residuo agroindustrial que no es aprovechado. Éste, se encuentra biodisponible como un recurso subvalorado con compuestos activos naturales como los flavonoides (Morreeuw *et al.*, 2021a). Por lo tanto, el mercado propuesto es para las industrias alimenticias y cosmeceútica, como sustitución de los

colorantes sintéticos y para cubrir la demanda en la producción de colorantes naturales de origen vegetal.

La producción de antocianinas a partir del bagazo del *Agave lechuguilla*, funcionaría como un bioproceso pionero para producirlas en el país, comenzando con tecnologías de una planta de pequeña escala para evaluar la factibilidad en el mercado. Por lo que el proyecto busca cubrir tan solo el 10% de la demanda como un escenario conservador, ya que de acuerdo con la tabla 12, se produciría un total 0.1933 kg/día lo que equivale a 70.56 kg/año de antocianinas a partir del bagazo del *Agave lechuguilla*, esto representa más de la demanda propuesta de 67.8 kg de antocianinas al año.

8.2 Rendimiento obtenido de la simulación del bioproceso

El *Agave lechuguilla* promete ser una materia prima potencial y renovable para la obtención de compuestos bioactivos bajo el concepto de biorrefinería (Morreeuw *et al.*, 2021a). Con ello, este residuo puede ser un buen soporte para el desarrollo de productos comerciales de aprovechamiento de alto valor agregado. Se ha demostrado que el bagazo o *guishe* contiene compuestos bioactivos como los flavonoides, en los cuales se encuentran las antocianinas. Estas destacan por sus propiedades bioquímicas, como actividades antioxidantes, antibacteriales, antivirales, antiinflamatorias, anticancerígenas, antimutagénicas, antidiabéticas y hepatoprotectoras, principalmente (Kumar y Pandey, 2013). Debido a esta gran variedad de actividades, el mercado ha tenido un gran interés por estos compuestos, porque pueden considerarse como productos naturales para la industria alimenticia y farmacéutica, por tener un amplio espectro de efectos que promueven la salud (Brown, 1980; Pistelli y Giorgi, 2012). Por lo tanto, evaluar diferentes alternativas tecnológicas para la extracción de estos compuestos bioactivos, como son las antocianinas, es de vital importancia para darle un uso a biomasas residuales como es el bagazo del *Agave lechuguilla*.

Muy pocos son los estudios que se han realizado para obtener compuestos bioactivos a escala industrial a partir de esta materia prima. Uno de ellos fue de el de Díaz-Jiménez *et al.*, 2019 quienes evaluaron diferentes escenarios para la producción de saponinas, fitoquímicos, etanol y

biogás, principalmente. Partiendo de 1 tonelada de *guishe*, lograron obtener 104 kg de fitoquímicos mediante análisis de balances de masa con los resultados previos que obtuvieron en laboratorio. Sin embargo, para el proceso de extracción, utilizan metanol como disolvente, de los cuales las antocianinas no se ven favorecidas durante la extracción (Morreeuw *et al.*, 2021a). Díaz-Jiménez *et al.*, 2019 mencionan que la extracción requiere el uso de un disolvente específico para un compuesto específico; por lo tanto, es factible explorar diferentes alternativas ya que el *guishe* líquido podría contener varios flavonoides (Castillo *et al.*, 2010; Jasso de Rodríguez *et al.*, 2011; Méndez *et al.*, 2012). El estudio de esta simulación mostró que es posible alcanzar altos rendimientos en la extracción secuencial.

Por otra parte, para la producción de antocianinas, se han mostrado diferentes escenarios que evalúan la extracción a escala industrial mediante la simulación de procesos. Utilizan diferentes materias primas, principalmente derivadas del maíz azul por su alto contenido en antocianinas. Entre las tecnologías que se destacan, es el secado, la molienda, hidrólisis y extracción. En el proceso de extracción son muchos los trabajos que extraen antocianinas con equipos de lecho fluidilizado o por múltiples etapas en un solo tanque o reactor (Kurambhatti *et al.*, 2020, 2021). Se han llegado a extraer cantidades de hasta 1,113 Ton de maíz morado/día o 1,779 Ton/año cuando es extraída en soluciones ácidas a base de agua (Kurambhatti *et al.*, 2020, 2021). Estos datos son prometedores con comparación con los datos obtenidos por Díaz-Jiménez *et al.*, 2019 para el *guishe*. Sin embargo, cabe destacar que el maíz morado está constituido principalmente de antocianinas por la pigmentación que contiene, y que su cultivo se utiliza principalmente para la industria alimenticia. Mientras que, el *guishe*, es un residuo que es desaprovechado, y la extracción de antocianinas podría satisfacer diferentes industrias del mercado.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la tabla 12 de los balances de masa, el rendimiento global de la producción de antocianinas fue del 0.1933 kg/día, este resultado representa un valor bajo con respecto a otros trabajos a partir de otras fuentes de materia prima. Sin embargo, de acuerdo con la demanda que se quiere satisfacer, el análisis de factibilidad técnica muestra que la producción de antocianinas es conveniente a partir del bagazo del *Agave lechuguilla*, para satisfacer la demanda de 67.8 kg de antocianinas al año. De los trabajos que se han realizado análisis de factibilidad para la extracción de antocianinas, se encuentra el de

Dávila *et al.*, 2017 quienes evaluaron el contenido de antocianinas utilizando la extracción de fluidos supercríticos del bagazo de la mora. Ellos obtuvieron 126.4 mg/kg de biomasa, mayor a lo que se obtuvo del bagazo del *Agave lechuguilla* con una cantidad de 0.144 mg de antocianinas por kilogramo de biomasa fresca. Esta concentración menor se debe a la cantidad de antocianinas que contiene el bagazo inicialmente en su composición bioquímica. Sin embargo, hay que considerar que el bagazo es una materia prima que puede ser aprovechada debido a que no tiene un uso, y es desechada a campo abierto, mientras que la mora, es parte del consumo humano, por lo que también compete para la industria alimenticia. De igual manera, Dávila *et al.*, 2017, mencionan que la producción puede aumentar si se agrega la tecnología de fluidos supercríticos asistida por ultrasonido, aumentando hasta un 9.87 mg de compuestos fenólicos por gramo de bagazo de mora (Pasquel Reategui *et al.* 2014). Por lo que sería una buena alternativa probar esta tecnología con el bagazo del *Agave lechuguilla*. Por otra parte, Caballero Galván *et al.*, 2017, realizaron la extracción de antocianinas mediante simulación en Aspen plus de fluidos supercríticos, y obtuvieron rendimientos de 0.098 a 0.145 kg de antocianinas por kilogramo de materia prima (pulpa de mora). En comparación con lo que se obtiene en el bioproceso empleando la misma tecnología, el rendimiento fue de 0.1445 mg de antocianinas por kilogramo de bagazo, esto demuestra que el guishe puede competir con otras materias primas como una alternativa para la producción de antocianinas a partir de residuos agroindustriales.

Por otro lado, Cerón *et al.*, 2012, realizaron un análisis de factibilidad técnica de la extracción, de antocianinas, con fluidos supercríticos a partir de los frutos de Andes Berr (*Rubus glaucus Benth*). Ellos demostraron que a presiones superiores a los 140 bar aumentan significativamente los rendimientos de extracción de las antocianinas, pero también el consumo energético del proceso (Cerón *et al.*, 2012). De igual manera, mostraron que la solubilidad de las antocianinas en el CO₂, es un parámetro importante que influye en el rendimiento de la extracción. De hecho, tanto la solubilidad como el rendimiento de antocianina en el fluido aumentan cuando se usa un co-disolvente como el etanol (Figura 10). Cuando el proceso se lleva a cabo con solo CO₂, se necesitan presiones más altas para lograr la misma solubilidad que se obtiene cuando se agrega etanol como co-disolvente (Cerón *et al.*, 2012). Esto demuestra que para extraer las antocianinas es necesario el uso de co – disolventes como el etanol para mejorar la solubilidad

de la molécula apolar y realizar el proceso de separación. El etanol al ser un disolvente polar, no tóxico, permitirá que el producto tenga una mayor diversidad de aplicaciones industriales (Cerón *et al.*, 2012). Además, que el etanol se elimina fácilmente de la solución extraída por sublimación durante el proceso de liofilización. Respecto a la proporción del co-disolvente, la mezcla etanol/agua (70/30, v/v) es la más eficiente para la obtención de compuestos bioactivos de bagazo de agave, debido a que aumenta la permeabilidad de las membranas favoreciendo la transferencia de masas (Santos-Zea *et al.*, 2012).

En cuanto al rendimiento de antocianinas, Cerón *et al.*, 2012 obtuvieron 85.4 mg de antocianinas por cada kilogramo de peso fresco de frutos Andes Berry, en un periodo de 1 hora. Este valor es alto en comparación con nuestro bioproceso que se obtiene 0.0060 mg de antocianinas por cada kilogramo de bagazo, en peso fresco, durante un periodo de 1 hora. Esto, considerando un proceso continuo de acuerdo con el dimensionamiento del equipo para la extracción con fluidos supercríticos. Asimismo, mencionan que la presurización de 141 bar que fue la presión utilizada para la extracción, creó espacios vacíos dentro de la materia prima que favorece una adsorción/absorción más rápida del disolvente (Cardona *et al.*, 2007). Por lo tanto, los resultados obtenidos en el bioproceso, muestran que a mayor presión (250 bar), la concentración de antocianinas aumenta, obteniendo rendimientos de hasta 70.55 kg de antocianinas al año, suficientes para satisfacer la demanda del mercado. Sin embargo, en comparación con los datos obtenidos por Cerón *et al.*, 2012 y Dávila *et al.*, 2017 para los frutos *Andes Berry* y el bagazo de la mora, respectivamente, la cantidad inicial de antocianinas que entra al bioproceso es menor con respecto a los frutos que se esperan tendrán mayor contenido de antocianinas.

Por otra parte, Osorio *et al.*, 2007 extrajeron antocianinas monoméricas también de frutos *Andes Berry* usando también etanol como disolvente. Ellos obtuvieron rendimientos de 62.81 mg/kg de fruta fresca, durante un periodo de 24 horas. Esto indica que el uso de etanol como disolvente mejora la fluidez de las antocianinas y por lo tanto los rendimientos son mayores. No obstante, es necesario evaluar si estos periodos de tiempo se ven favorecidos con respecto a la estabilidad de la molécula y sus propiedades antioxidantes. Asimismo, mencionan que el proceso de extracción líquida de fluidez mejorada con extracción supercrítica, mejora los

rendimientos en un 59.3% en comparación con el proceso tradicional. Por lo que pudiera ser una alternativa al bioproceso propuesto, utilizar extracción de fluidez mejorada ya que este, tiene las ventajas de generar mayores productividades y menores niveles de degradación de los compuestos debido al menor tiempo que el extracto está en contacto con el disolvente. Considerando también que genera beneficios energéticos considerables (Cerón *et al.*, 2012). Será necesario entonces, hacer una propuesta con esta tecnología para analizar si los rendimientos aumentan aunado a la extracción de fluidos supercríticos.

Por lo tanto, los valores de productividad obtenidos en el bioproceso de 70.55 kg de antocianinas al año, muestran que este rendimiento es factible técnicamente a escala industrial. Será necesario entonces, realizar el bioproceso en escala piloto para evaluar si los rendimientos aumentan, disminuyen o se asemejan a la simulación propuesta. En cuanto a los rendimientos obtenidos en comparación con los resultados para los frutos, esto es de esperarse, ya que el bagazo es un residuo que promete tener un contenido de flavonoides (Morreeuw *et al.*, 2021a) y que, por lo tanto, su valorización es necesario evaluar si se pretende darle un uso a esta biomasa no aprovechada. Además, que los frutos compiten también en la industria alimenticia y esto disminuye la extracción de antocianinas potenciales a comercializar, entonces, el bagazo puede ser una alternativa para satisfacer la demanda del mercado de antocianinas en México, si se llega a aprovechar todo el guishe que es desperdiciado al año.

Por otra parte, otros de los factores que afectan el rendimiento de la extracción de antocianinas, es la cantidad inicial en la composición bioquímica de la muestra, en este caso del bagazo del *Agave lechuguilla*, ya que, al obtener una baja composición de antocianinas relativas en comparación con otras frutas, la productividad disminuye. De igual manera, la suma de las operaciones unitarias al bioproceso y la liberación de antocianinas en la corriente de residuo afecta en la pérdida de antocianinas durante el proceso. Sin embargo, una extracción del 70% es un valor considerable a escala industrial (Cerón *et al.*, 2012).

Finalmente, las tecnologías empleadas para la extracción de antocianinas, demuestran ser ideales para mantener sus propiedades y por lo tanto su actividad. Por ejemplo, el secado al vacío y la liofilización, ayudaron a mantener la concentración de antocianinas sin que disminuye

su capacidad antioxidante, ya que, si estas se encuentran expuestas al sol, afectan estas propiedades (Morreeuw *et al.*, 2021b). Por lo tanto, será necesario conservar el guishe en la sombra para ayudar a que los flavonoides no se degradan antes de ingresar al bioproceso, esto aumentaría la concentración final de antocianinas (Morreeuw *et al.*, 2021b). En general, los factores externos afectan el contenido de polifenoles y los perfiles generales de composición de las plantas (Lachman *et al.*, 2011; Bolling *et al.*, 2010). Por ello, la importancia de utilizar tecnologías que permitan conservar las antocianinas y sus actividades antioxidantes. Así como conservar la temperatura menor a 60 °C durante todo el proceso. Esto debido a que se ha demostrado que al aumentar la temperatura hasta 85 °C, las antocianinas son degradadas afectando su actividad, por lo tanto, temperaturas de 40 °C es adecuada para mantener la estabilidad de la molécula. Esto demuestra, que la hidrólisis y la extracción de fluidos supercríticos favorecieron la extracción de antocianinas (Morreeuw *et al.*, 2021b). A pesar de que el software Aspen plus no cuenta como tal con un equipo detallado para la extracción de fluidos supercríticos, esto indica que el rendimiento final de las antocianinas pudo ser mayor.

8.2.1 Balances de energía

En cuanto al consumo de energía, el secador resultó tener el mayor gasto energético. Esto se explica por el hecho de que necesita evaporar la mayor cantidad de agua que ingresa del reactor después de realizar la hidrólisis, por lo tanto, es necesario integrar energía al sistema, elevando la temperatura y obteniendo mayor gasto energético (Himmelblau, 1997). La estimación del consumo de energía se realizó con base en los datos de simulación de la energía térmica requerida por el intercambiador de calor y el reactor estequiométrico. El paso de pretratamiento de CO₂ (es decir, el aumento de presión y temperatura para alcanzar las condiciones operativas) consume un total de energía del 41.71 kW, lo que representa al compresor quien realiza este proceso.

No obstante, el proceso de liofilización consume otra parte de energía al sistema de 10.48 kW en comparación con las etapas de pretratamiento a excepción del segundo secado. Además, es importante considerar el tiempo de operación, ya que este es un factor importante en todo el

proceso. Esta consideración puede ser importante en términos de los costos totales del proceso y el consumo energético total (Cerón *et al.*, 2012).

8.3 Factibilidad técnica

La producción de antocianinas a partir del bagazo del *Agave lechuguilla* puede ser una alternativa para mejorar el manejo de este residuo agroindustrial. Su rendimiento de 0.1933 kg/día representa una buena producción para iniciar un escalamiento del proceso y una posible comercialización para satisfacer solo el 10% de la demanda del mercado. Sin embargo, será necesario evaluar diferentes tecnologías o escenarios para aumentar la productividad o producir otros productos de alto valor agregado como son la cantidad total de flavonoides. Como un dato alentador, el capital de inversión parecer ser un buen dato para llevar a cabo el bioproceso a escala industrial. Esto debido, a que existen empresas productoras de antocianinas que contienen altos capitales de inversión para llevar a cabo el proceso. Por ejemplo, Kurambhatti *et al.*, 2020 obtuvieron 1113 Ton maíz morado/día extrayendo antocianinas a base de agua, ocuparon un costo de capital entre 97.4 y 101.4 millones de dólares, más altos que los procesos convencionales de extracción. De igual manera, Kurambhatti *et al.*, 2021, evaluaron la extracción de antocianinas con ácido diluido y agua, obteniendo un rendimiento total de 1779 Ton/año a partir del maíz morado. Sus costos de inversión fueron de 444.8 millones de dólares. Esto demuestra que, a altas productividades, aumenta los costos de capital, y, los procesos de operación son más complejos.

De la misma manera, Dávila *et al.*, 2017 realizaron un análisis de factibilidad técnica para evaluar el bagazo de la mora, ellos obtuvieron rendimientos de 124 mg/kg de bagazo, extrayendo antocianinas a partir de la tecnología de extracción con fluidos supercríticos. Los costos de inversión son de 14,087,822 dólares al año. A pesar de tener altos rendimientos, los costos de inversión también son importantes. Por otra parte, Ochoa *et al.*, 2020, realizaron un análisis de factibilidad técnica para evaluar la raíz ñame morado (*Dioscorea alata*). Ellos realizaron extracción asistida por ultrasonido (UAE), de los cuales obtuvieron mejores rendimientos cuando obtenían extractos etanólicos con antocianinas. El rendimiento total obtenido fue de 1.44 mg, y mencionan que el costo de inversión disminuyo de 950 a 124

dólares/kg de antocianinas, cuando la capacidad del extractor aumentó de 5 L a 500 L. Por lo tanto, mencionan que el proceso es económicamente factible cuando el precio de venta es superior a US\$170/kg. Entonces, será necesario evaluar este escenario como una alternativa para aumentar la productividad de las antocianinas utilizando como materia prima al bagazo del *Agave lechuguilla*.

Por otro lado, con los resultados de la tabla 18 del dimensionamiento de los equipos, demuestra que el bioproceso que se está proponiendo para la producción de antocianinas, es factible a escala comercial, ya que los equipos se encuentran en el mercado. A pesar de, la relativamente baja productividad, hoy en día, producir antocianinas es costoso por la disponibilidad de materia prima. Consecuentemente, el bagazo es una buena alternativa como sustituto para ayudar abastecer la demanda regional, ya que con estos rendimientos no se pretende cubrir el 100% de la demanda del mercado de antocianinas.

A pesar de ello, una de las ventajas que presenta el proyecto es que se encuentra en el nivel 5 de acuerdo con los niveles TRL (Anexo 3). Estos criterios, engloban la madurez tecnológica de un proceso. El sistema de evaluación de madurez tecnológica (TRL, por sus siglas en inglés) ayuda a definir el nivel de un proyecto de investigación o el desarrollo de creaciones de innovación. Este concepto se originó en la NASA como una herramienta de apoyo para la planificación de tecnologías espaciales, después, lo adoptó el Ministerio de Defensa de los Estados Unidos, como un parámetro de medida obligatorio para medir la madurez tecnológica (Graettinger, 2002; Homeland Security Studies and Analysis Institute, 2009). Los niveles constituyen un sistema de medida que permite evaluar el grado de madurez de una tecnología en particular, con el fin de mejorar el tiempo de transición a un programa de desarrollo de productos o establecer comparaciones de madurez entre diferentes tecnologías (Graettinger, 2002; Olguin 2018). El nivel 5, que es donde se encuentra el bioproceso de este trabajo, es el nivel donde se valida el producto en un entorno real. Ya que fue valorado en el laboratorio, y cumple con las condiciones previstas, se garantiza que tiene un buen funcionamiento o resultados de la solución tecnológica. Se cuenta con un prototipo inicial claro y con un análisis de costos para determinar si el proyecto tiene un potencial industrial (Olguin, 2018).

Así, el bioproceso es factible a escala piloto, a escala comercial será necesario seguir evaluando alternativas de operación, de tecnologías y económicas. Sin embargo, es necesario considerar que los costos de capital son relativamente bajos en comparación con otros proyectos, será necesario entonces, hacer un análisis de mercado en cuanto a proyecciones por año, para observar si los rendimientos satisfacen la inversión inicial. Además, de seguir buscando alternativas para el aprovechamiento del bagazo en la producción de compuestos bioactivos, incluidas las antocianinas, mediante el análisis de diferentes escenarios.

9. CONCLUSIONES

La producción de antocianinas a partir del bagazo del *Agave lechuguilla* es factible técnicamente a escala piloto. Esto, debido a que el agave representa una alternativa para ser aprovechado por su gran distribución territorial y su potencial producción en la extracción de fibras naturales. Todo este residuo agroindustrial que se desecha, puede ser aprovechado no solo para la producción de antocianinas, sino también para producir otros compuestos de interés de alto valor agregado.

Los rendimientos obtenidos demuestran que el bioproceso es factible llevarlo a cabo para satisfacer el 10% de la demanda del mercado. Otras de las alternativas que se pueden realizar para aumentar aún más la productividad de antocianinas es, cambiar algunas operaciones unitarias propuestas, evaluar diferentes escenarios o mejorar una tecnología empleada. También, producir sólo flavonoides totales como compuestos finales, lo cual obtendría mayores rendimientos.

Una de las ventajas que presenta el bagazo es el volumen que se produce, de hasta 4518 Ton/año. Esto lo pone en delantera con respecto a otras plantas que contienen antocianinas, debido a la baja disponibilidad que hay de materia prima ya explotada, como es el caso del maíz morado, o la falta de terreno para ser cultivado en condiciones óptimas para la planta. El agave, al tener una amplia distribución geográfica y una alta eficiencia en ausencia de agua, al crecer en tierras demasiado áridas, lo pone en mejoría con respecto a otras materias primas.

Por otra parte, será necesario realizar un análisis de factibilidad económico y ambiental, para evaluar los costos de operación, inversiones e intereses, entre otros. En cuanto al análisis ambiental es importante evaluar el impacto que podría generar este proceso.

Finalmente, con los resultados obtenidos en cuanto al rendimiento, el consumo energético y el dimensionamiento de los equipos, el bioproceso cubre el 10% de la demanda como se tenía contemplado inicialmente. Los equipos industriales propuestos en el dimensionamiento de equipos ayudarán a satisfacer esta demanda. Sin embargo, será necesario realizar un análisis

económico para evaluar costos de producción con respecto a la cantidad de antocianinas que se están obteniendo, así como el valor del gasto de energía de los equipos empleados.

Finalmente, este prototipo se pudiera llevar a escala piloto a las regiones donde se encuentran los lechuguilleros para abastecer la demanda no solo la demanda regional, sino nacional. Con esta estrategia, se puede incentivar apoyar económicamente a las regiones lechuguilleras del país, con la creación de empleos y la promoción de mejores infraestructuras sociales. Se necesitará entonces, análisis técnico-económicos- ambiental más profundos para considerar la función de compromiso entre el consumo de energía y los rendimientos de antocianinas. Así como la importancia de evaluar diferentes escenarios para aprovechar los residuos y obtener otros compuestos.

10. LITERATURA CITADA

- Abdel-Aal E-S. y Hucl P. (1999). A Rapid Method for Quantifying Total Anthocyanins in Blue Aleurone and Purple Pericarp Wheats. *Cereal Chemistry*, 76 (3): 350-354. doi: 10.1094/CHEM.1999.76.3.350
- Adeyi, O., Adeyi, A.J., Oke, E.O., Okolo, B.I., Olalere, A.O., Otolorin, J.A. y Taiwo, A.E. (2021). Techno-economic and uncertainty analyses of heat- and ultrasound-assisted extraction technologies for the production of crude anthocyanins powder from *Hibiscus sabdariffa* calyx. *Cogent Engineering*, 8(1). doi: 10.1080/23311916.2021.1947015.
- Aguilera Ortíz M., Reza Vargas M.C., Chew Madinaveitia R.G. y Meza Velázquez J.A. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 8 (2): 16-22. doi: 10.18633/bt.v13i2.81.
- Aguirre Rivera. J. R. (1983). Enfoques para el estudio de las actividades agrícolas en el Altiplano Potosino-Zacatecano. En: J. T. Molina G. (Ed.) Recursos agrícolas de zonas áridas y semiáridas de México. Colegio de Postgraduados. Centro Regional para Estudios de Zonas Áridas y Semiáridas. San Luis Potosí, México.
- Almaraz-Abarca, N., González-Elizondo, M.D.S., Campos, M.D.G., Ávila-Sevilla, Z.E., Delgado-Alvarado, E.A. y Ávila-Reyes, J.A. (2013a). Variability of the foliar phenol profiles of the *Agave victoriae-reginae* complex (Agavaceae). *Botanical Sciences*, 91 (3): 295–306. doi: 10.17129/botsci.9.
- Almaraz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E.A., Avila-Reyes, J., Uribe-Soto, J. y Gonzalez- Valdez, L. (2013b). The phenols of the genus *Agave* (Agavaceae). *Journal of Biomaterial and Nanotechnology*, 3A (4), 9-16. doi: 10.4236/jbnb.2013.43A002.
- Anguiano-Sevilla, L.A., Lugo-Cervantes, E., Ordaz-Pichardo, C., Rosas-Trigueros, J.L. y Jaramillo-Flores, M.E. (2018). Apoptosis induction of *Agave lechuguilla* Torrey extract on human lung adenocarcinoma cells (SK-LU-1). *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (12), 3795. doi: 10.3390/ijms19123765
- Antunes-Ricardo, M., Gutierrez-Urbe, J.A. y Guajardo-Flores, D. (2017). Extraction of isorhamnetin conjugates from *Opuntia ficus-indica* (L.) mill using supercritical fluids. *The Journal of Supercritical Fluids*, 119: 58-63. doi: 10.1016/j.supflu.2016.09.003
- Aspen Technology, Inc. (2012). Aspen ICarus Reference Guide. Icarus Evaluation Engine (IEE). USA: Aspen Technology, Inc.
- Babu, B.V. (2004). Process Plant Simulation. 1^a ed. Chap 13 India. Oxford, University Press. ISBN: 0 – 19-566805-7.
- Badui D.S. (1987). Química de los Alimentos, Tercera Edición, Alambra Mexicana, México.
- Badui D. S. (2006). Química de los Alimentos. Editorial Pearson Educación, México.
- Barba, F., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A. y Orlie, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery waste and byproducts: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 49, 96-109. doi: 10.1016/j.tifs.2016.01.006
- Barriada-Bernal, L.G., Almaraz-Abarca, N., Delgado-Alvarado, E.A., Gallardo-Velázquez, T., Ávila-Reyes, J.A., Torres-Morán, M.I., González-Elizondo, M.S. y Herrera-Arrieta, Y. (2014). Flavonoid composition and antioxidant capacity of the edible flowers of *Agave durangensis* (Agavaceae). *CyTA-Journal of Food*, 12(2), 105-114. doi: 10.1080/19476337.2013.801037

- Berlanga, R.C.A., González L.L.A. y Franco L.H. (1992). Metodología para la evaluación y manejo de lechuguilla en condiciones naturales. Folleto Técnico Núm. 1. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, SARH. Saltillo, Coah. 21 p.
- Blando, N. J. L. y Baca, M.S. (2001). Determinación del potencial productivo de la lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) en el municipio de San Juan de Guadalupe, Durango. *Revista Chapingo, Serie Zonas Áridas*. pp. 100-105.
- Boo, H. O., Hwang, S. J., Bae C. S., Park S. H., Heo B.G. y Gorinstein S. (2012). Extraction and characterization of some natural plant pigments. *Industrial Crops and Products*, 40: 129-135. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.02.042
- Bolling, B.W, Dolnikowski, G., Blumberg, J.B. y Chen, C.Y.O. (2010). Polyphenol content and antioxidant activity of California almonds depend on cultivar and harvest year. *Food Chemistry*, 122 (3): 819–825. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.03.068
- Bridgers, E.N., Chinn, M.S. y Truong, V.D. (2010). Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweetpotatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. *Industrial Crops and Products*, 32 (3): 613–620. doi: 10.1016/j.indcrop.2010.07.020
- Brown, J. P. (1980). A review of the genetic effects of naturally occurring flavonoids, anthraquinones and related compounds. *Mutation Research*, 75 (3): 243-277. doi: 10.1016/0165-1110(80)90029-9.
- Brunner, G. (2013). Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes (Vol. 4). Springer Science & Business Media.
- Buchert, J., Koponen, J. M., Suutarinen, M., Mustranta, A., Lille, M., Törrönen, R., y Poutanen, K. (2005). Effect of enzyme-aided pressing on anthocyanin yield and profiles in bilberry and blackcurrant juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85 (15): 2548-2556. doi: 10.1002/jsfa.2284
- Burciaga, M.O.U.M., Quiroz, M.D.C., Arreola, I.O.M. y Saltillo, I.D.C.E. (2011). Caracterización y Selección de Sitios Para Plantaciones de Lechuguilla (*Agave Lechuguilla* Torr.) en el Estado de Coahuila. Available online: <http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Publicaciones/886.pdf>.
- Caballero Galván, S., A., Orrego, C., Ariel Cardona, C. y Eduardo Orrego Alzate, C. (2020). Economic assessment of polyphenolic compounds production at different purities and applications. *Exploitation of Agroindustrial Residues View project*. <https://www.researchgate.net/publication/330369288>
- Camire, E.M., Chaovanalikit, A., Dougherty, P.M., Briggs, J. (2002). Blueberry and Grape Anthocyanins as Breakfast Cereal Colorants. *Journal Food Science*, 67 (1): 438-441. doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb11425.x
- Cardona, C.A., Gallego, L.C. y Solano Arias, P. A. (2007). Introducción a las operaciones de separación no convencionales. Primera edición. Proyecto ARCANO Manizales. Colombia
- Cardona Alzate, C.A. y Sanchez Toro, O.J. (2006). Energy consumption analysis of integrated flowsheets for production of fuel ethanol from lignocellulosic biomass. *Energy*, 31 (13): 2447–2459. doi: 10.1016/j.energy.2005.10.020
- Carmona, J., Morales-Martinez, T., Mussatto, S., Castillo-Quiroz, D., y Rios-Gonzales, L. (2017). Propiedades químicas, estructurales y funcionales de la Lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.). *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 8(42): 100-122. ISSN: 2007-1132
- Castañeda, A. y Guerrero, J.A. (2015). Pigmentos en frutas y hortalizas rojas: Antocianinas. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 9:25-33.

- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, L., Paez-Hernández, E., Rodríguez, J. A. y Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical Studies of Anthocyanins: a review. *Food Chemistry*, 113 (4):859-871. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.09.001
- Castillo Rogel, O.E., Ramírez García, F.J. y Sigüenza Flores, P.R. (2019). Modelación y simulación de procesos de transferencia de masa en ingeniería química. Tesis de Licenciatura. Universidad de El Salvador. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Escuela de Ingeniería Química e Ingeniería de alimentos. Ciudad Universitaria. El Salvador.
- Castillo, Q. D. y Berlanga Reyes, C. A. (2005). Establecimiento y manejo de plantaciones de lechuguilla. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Saltillo. Desplegable para productores Núm. 2. 2 p.
- Castillo-Quiroz, D., Berlanga-Reyes, C., and Cano-Pineda, A. (2005). Establecimiento y aprovechamiento de Lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.). Comisión Nacional Forestal-Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México.
- Castillo, Q.D., Berlanga Reyes, C.A., Pando, M.M. y Cano, P.A. (2008). Regeneración del cogollo de *Agave lechuguilla* Torr., de cinco procedencias bajo cultivo. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 33 (103): 27-40.
- Castillo, F., Hernández, D., Gallegos, G., Mendez, M., Rodríguez, R., Reyes, A. y Aguilar, C.N. (2010). In vitro antifungal activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against *Rhizoctonia solani* Kühn. *Industrial Crops and Products*, 32 (3): 324–328. doi: 10.1016/j.indcrop.2010.05.013.
- Castillo, Q.D., Mares, A.O. y Villavicencio, G.E.E. (2011). Lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) planta suculenta de importancia económica y social de las zonas áridas y semiáridas de México. *Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas*, 8 (2): 6-9.
- Castillo, Q. D., Sáenz, R. J. T., Narcia, V. M. y Vázquez R. J. A. (2013). Propiedades físico-mecánicas de la fibra de *Agave lechuguilla* Torr. de cinco procedencias bajo plantaciones. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 4: 78-91.
- Centro de Comercio Internacional (ITC). (2017). *Trade Map*. Disponible en: <http://www.trademap.org/Index.aspx?lang=es> [Consulta: 30 junio 2021]
- Cerón, I.X., Higueta, J.C. y Cardona, C.A. (2012). Design and analysis of antioxidant compounds from Andes Berry fruits (*Rubus glaucus* Benth) using an enhanced-fluidity liquid extraction process with CO₂ and ethanol. *Journal of Supercritical Fluids*, 62: 96–101. doi: 10.1016/j.supflu.2011.12.007
- Dávila, J.A., Rosenberg, M. y Cardona, C.A. (2017). A biorefinery for efficient processing and utilization of spent pulp of Colombian Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth.): Experimental, techno-economic and environmental assessment. *Bioresource Technology*, 223: 227–236. doi: 10.1016/j.biortech.2016.10.050
- De la Cerda Suárez, P.C. (2012). Caracterización y aprovechamiento del residuo del tallado de *Agave lechuguilla* Torrey (guishe). Tesis para obtener el título de ingeniero. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. 63 pp.
- De la Garza de la P.F. (1985). Comercialización y costos de producción del *ixtle* de lechuguilla. *Boletín Divulgativo* Núm. 73. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, SARH. México, D. F. 37 p.
- De Pascual-Teresa, S. y Sanchez-Ballesta, M. T. (2008). Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemistry Reviews*, 7: 281–299. doi: 10.1007/s11101-007-9074-0.

- del Valle, J.M. (2014). Extraction of natural compounds using supercritical CO₂: Going from the laboratory to the industrial applications. *The Journal of Supercritical Fluids*, 96: 180 – 199. doi: 10.1016/j.supflu.2014.10.001
- del Valle, J.M. y Aguilera, J.M. (1999). High pressure CO₂ extraction. Fundamentals and applications in the food industry. *Food Science and Technology*, 5(1): 1-24. doi: 10.1177/108201329900500101
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A.R. y Paredes-López, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, betalains-characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Food Science and Nutrition*, 40 (3): 173-289. doi: 10.1080/10408690091189257
- Dewey L.H. (1965). Fibras vegetales y su producción en América. 3ª Ed. Agencia para el Desarrollo Internacional. México, D.F. 97 p.
- Díaz - Jiménez, L., Carlos-Hernández, S., Jasso de Rodríguez, D. y Rodríguez-García, R. (2019). Conceptualization of a biorefinery for guishe revalorization. *Industrial Crops & Products*, 138: 111441. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.06.004
- Durst, R. y Wrolstad, R.E. (2001). Separation and Characterization of Anthocyanins by HPLC. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 33-45. doi: 10.1002/0471142913.faf0103s00
- Eickmeier, W.G. y Adams, M.S. (1978). Gas exchange in *Agave lechuguilla* Torr. (Agavaceae) and its ecological implications. *The Southwestern Naturalist*, 23 (3): 473-485. doi: 10.2307/3670254
- Espínola Lozano, F. (2017). Tutorial de Aspen Plus. Introducción y modelos simples de operaciones unitarias. Universidad de Jaén. Edición ebook. ISBN: 978-84-9159-039-2.
- Espinosa, S. N. (2001). Procesamiento Supercrítico de Productos Naturales Modelado, Análisis y Optimización. Universidad Nacional del Sur. Tesis Doctoral en Ingeniería Química. Argentina.
- Fan, G., Han, Y., Gu, Z. y Gu, F. (2008). Composition and colour stability of anthocyanins extracted from fermented purple sweet potato culture. *LWT - Food Science and Technology*, 41 (8): 1412–1416. doi: 10.1016/j.lwt.2007.09.003
- Fennema, O.R. (2000). Química de los Alimentos, 2ª edición. Zaragoza: Acibria SA.
- Flores, F. J. D. y Perales, G. J. M. (1989). Primer reporte nacional de plagas asociadas a la lechuguilla *Agave lechuguilla* Torrey. *Agraria*, 5: 57-73.
- Font Quer, P. (1953). Diccionario de botánica. Labor. Barcelona, España. 1244 p.
- Francis, F.J. y Markakis, P.C. (1989). Food colorants: Anthocyanins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28 (4): 273–314. doi: 10.1080/10408398909527503
- García, A. V. (1995). Extracción con fluidos supercríticos: principios y aplicaciones al análisis de residuos de plaguicidas. In Residuos de plaguicidas. Pesticide residues. Instituto de Estudios Almerienses. 141-154 pp.
- García Cubas, D.R. y Campos Coronado M.J. (2021). Estudio de prefactibilidad de instalación de una planta de producción de antocianinas a partir del maíz morado (*Zea mays* L.). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Facultad de Ingeniería Química e Industrias Alimentarias. Escuela profesional de Ingeniería Química. Lambayeque, Perú.
- Garzón, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos. *Scielo, Acta Biológica Colombiana*, 13 (3): 27-36. ISSN: 0120-548X
- Gentry, H. S. (1982). Agaves of continental North America. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona. USA. 670 p.

- Gil, I.D., Guevara, L., García, J.L. y Leguizamón, A. (2011). Análisis y simulación de procesos en Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Facultad de Ingeniería. Primera edición. ISBN 978 – 958 – 719 – 910 -9.
- Gould, K., Davies, K. M., y Winefield, C. (2008). Anthocyanins: Biosynthesis, Functions, and Applications. Springer New York. ISBN: 978-0-387-77334-6. doi: 10.1007/978-0-387-77335-3
- Graettinger, C. P., Garcia, S., Siviy, J., Schenk, R.J. y Van Syckle, P. J. (2002). Using the Technology Readiness Levels scale to support technology management in the DoD's ATD/STO Environments. *Software Engineering Institute*. SPECIAL REPORT CMU/SEI-2002-SR-027. 27 p. doi: 10.1184/R1/6585833.v1
- Gregorio-Jáuregui, K.M., Cano-Cabrera, J.C., Iliná , A. y Martínez-Hernández, J.L. (2008). Perspectivas biotecnológicas de la lechuguilla (*Agave lechuguilla*). *Fitoquímicos sobresalientes del semidesierto mexicano*, 13: 179-192.
- Gross J. (1987). Pigments in fruits. Academic Press, London (GBR), 313: 59 – 85.
- Gutiérrez J.P., Benítez L., Ruiz L., Edrmann E. y Tarifa E. (2008). Simulación del proceso de endulzamiento de gas natural con aminos. Análisis del uso de diferentes simuladores, XXVI Congreso Interamericano de Ingeniería Química. 1-12 pp.
- Hallagan, J.B., Allen, D.C. y Borzelleca, J.F. (1995). The safety and regulatory status of food, drug and cosmetics colour additives exempt from certification. *Food and Chemical Toxicology*, 33 (6): 515 – 528. doi: 10.1016/0278-6915(95)00010-Y
- Haydary Juma. (2018). Chemical Process Design and Simulation: Aspen Plus and Aspen Hysys Applications. Chapter 4: Processes with Nonconventional Solids. doi.org/10.1002/9781119311478.ch14
- He, J. y Giusti, M.M. (2010). Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1: 163–187. doi: 10.1146/annurev.food.080708.100754
- Hernández, S.R., Lugo, C.E.C., Díaz, J.L. y Villanueva, S. (2005). Extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de *Agave lechuguilla* Torrey e-Genosis. 3 (11): 1 – 9. ISSN: 1665 – 5745
- Hernández, J. (2014). Estudio y caracterización de antocianinas en diferentes materiales vegetales y su estabilidad al procesado. Tesis Ph.D. Elche, España, Universidad Miguel Hernández de Elche. 129p.
- Hernández, V., Idárraga, Á. M., Cerón, I. X., Romero-García, J. M., Castro, E., Dávila, J. A., y Cardona, C. A. (2015). Análisis del proceso de extracción de antioxidantes del hueso de oliva. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, 13. ISSN: 1390-1869.
- Herrero M., A. Cifuentes, E. Iba.ez. (2006). Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae – a review. *Food Chemistry*. 98 (1): 136–148. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.05.058.
- Hollman, P.C.H. y Katan, M.B. (1997). Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 51(8), 305-310. doi: 10.1016/S0753-3322(97)88045-6
- Homeland Security Studies and Analysis Institute (HSSAI). (2009). Department of homeland security science and technology readiness level calculator. Final Report and User Manual. Department of Homeland Security Science and Technology Directorate. Arlington, VA.

- Hutchings, J.H. (1999). *Food Color and Appearance*. 2nd ed. Gaithersburg, Md. Aspen Publishers, Inc.
- Jasso de Rodríguez, D., Rodríguez García, R., Hernández Castillo, F., Aguilar González, C.N., Sáenz Galindo, A., Villarreal Quintanilla, J.A., Moreno Zuccolotto, L.E. (2011). In vitro antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan Desert plants against postharvest fruit fungi. *Industrial Crops and Products*, 34 (1): 960–966. doi: 10.1016/j.indcrop.2011.03.001.
- Junior, M. R. M., Leite, A. V., and Dragano, N. R. V. (2010). Supercritical fluid extraction and stabilization of phenolic compounds from natural sources—review (supercritical extraction and stabilization of phenolic compounds). *The Open Chemical Engineering Journal*, 4: 51-60. doi: 1874-1231/10
- King, R. P. (2001). *Modeling and simulation of mineral processing systems*, Butterworth and Heinemann, Oxford. ISBN: 0 – 7056-4884-8
- Kiran, E., Debenedetti, P. G. y Peters, C. J. (2012). *Supercritical fluids: fundamentals and applications*. Springer Science and Business Media. Vol. 366. Turkey. ISBN: 978-0-7923-6236-4
- Kittel C. (1969). *Física Térmica*. Editorial Reverté, S.A. Edición Original. New York, USA. ISBN: 84 – 291- 4076 – X.
- Kong J.M., Lian-Shia C., Ngoh-Khang G., Tett-Fat C., Brouillard R. (2003). Review. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64 (5): 923–933. doi: 10.1016/S0031-9422(03)00438-2
- Kopcak, U. y Mohamed, R. S. (2005). Caffeine solubility in supercritical carbon dioxide/co-solvent mixtures. *The Journal of Supercritical Fluids*, 34 (2): 209–214. doi: 10.1016/j.supflu.2004.11.016.
- mKopjar, M. y Piližota V. (2009). Copigmentation effect of phenolic compounds on red currant juice anthocyanins during storage. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 1 (2): 16-20.
- Kumar, S. y Pandey, A.K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*. 162750. doi: 10.1155/2013/162750
- Kurambhatti, C., Kumar, D., Rausch, KD., Tumbleson, ME. y Singh, V. (2020). Improving technical and economic feasibility of water based anthocyanin recovery from purple corn using staged extraction approach. *Industrial Crops and Products*, 158. doi: 10.1016/j.indcrop.2020.112976
- Kurambhatti, C., Kumar, D. and Singh, V. (2021). Technical and economic feasibility of an integrated ethanol and anthocyanin coproduction process using purple corn stover. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 15(3): 719–735. doi: 10.1002/bbb.2212
- Lachman, J., Hamouz, K., Orsák, M., Pivec, V., Hejtmankov, K., Pazderu, K., Dvorák, P. y Cepl, J. (2011). Impact of selected factors—cultivar, storage, cooking and baking on the content of anthocyanins in coloured-flesh potatoes. *Food Chemistry*, 133: 1107 – 1116. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.07.077
- Landbo, A.K., y Meyer, A. S. (2001). Enzyme-Assisted Extraction of Antioxidative Phenols from Black Currant Juice Press Residues (*Ribes nigrum*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (7): 3169-3177. doi: doi.org/10.1021/jf001443p
- Lauro GJ. (1991). A primer on Natural Colors. *J Am Assoc Cer Chem*. 36 (11): 949-953.
- Lewis, C. y Walker J. (1995). Effect of polysaccharide son the colour of anthocyanins. *Food Chemistry*, 54 (3): 315-319. doi: 10.1016/0308-8146(95)00026-F

- Li, H., Deng, Z., Zhu, H., Hu, C., Liu, R., Young, J. C., y Tsao, R. (2012). Highly pigmented vegetables: Anthocyanin compositions and their role in antioxidant activities. *Food Research International*, 46(1): 250–259. doi: 10.1016/j.foodres.2011.12.014
- Lucci, P., Saurina, J. y Núñez, O. (2017). Trends in LC-MS and LC-HRMS analysis and characterization of polyphenols in food. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 88: 1-24. doi: 10.1016/j.trac.2016.12.006
- Lock, S. (1997). Colorantes naturales. 1^{er} Edición. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. 274 pp.
- López-Romero, J. C., Ayala-Zavala, J. F., González-Aguilar, G. A., Peña-Ramos, E. A., y González-Ríos, H. (2018). Biological activities of Agave by-products and their possible applications in food and pharmaceuticals. In *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98 (7): 2461–2474. doi: 10.1002/jsfa.8738
- Magnusson, H. (2006). Process Simulation in Aspen Plus of an Integrated Ethanol and CHP plant. Tesis de maestría en Ingeniería en Energía. Departamento de Física aplicada y electrónica.
- Malah A.I. y Kamal I.M (2017). *Aspen Plus: chemical engineering applications*. New Jersey: John Wiley y Sons, Inc., Hoboken. ISBN 9781119293620.
- Márquez, A., Cazaurang, N., González, I., Colunga, G-M.P. (1996). Extraction of chemical cellulose from the fibers of *Agave lechuguilla* Torr. *Economic Botany* 50 (4):465-468.
- Marroquín, J.S., Borja, L.G., Velásquez, C.R. y De la Cruz, J.A. (1981). Estudio ecológico dasonómico de las zonas áridas del norte de México. Publicación Especial Núm. 2. 2^{da} Edición. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. México, D. F. 166 p.
- Mathews, F. P. (1937). Lechuguilla (*Agave lechuguilla*) poisoning in sheep, goat and laboratory animals. *Bulletin of Texas Agricultural Experiment Station*, 554: 1-36.
- Martinez, J.L. (2008). *Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds* (1^{er} edición). CRC Press. doi: 10.1201/9781420006513
- Martínez Sifuentes, V.H., Dávila, P.A.A., López Toledo, J., Salado Carbajal, M. y Rocha Uribe, J.A. (2000). *Simulación de Procesos en Ingeniería Química*. Plaza y Valdés Editores, México. ISBN: 968-856-755-8
- Mazza G. y Brouillard R. (1990). The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry*, 29 (4): 1097–1102. doi: 10.1016/0031-9422(90)85411-8
- Mazza, G., y Miniati, E. (1993). *Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains*. 1^{er} edición. CRC Press. doi: 10.1201/9781351069700
- McCleary, J.A. (1955). Lechuguilla or lecheguilla, a nomenclatura problem. *Saguaroland Bulletin* 9:80-81.
- Meireles, M.A.A. (2008). Extraction of bioactive compounds from Latin American plants. In: Martinez, J.L., *Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds*. CRC Press. Taylor y Francis Group. Boca Raton.
- Méndez, M., Rodríguez, R., Ruiz, J., Morales-Adame, D., Castillo, F., Hernández-Castillo, F.D., Aguilar, C.N., (2012). Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria. *Industrial Crops and Products*, 37 (1): 445–450. doi: 10.1016/j.indcrop.2011.07.017.
- Metodiewa, D., Kochman, A. y Karolczak, S. (1997). Evidence for antiradical and antioxidant properties of four biologically active N, N, diethylaminoethyl ethers of flavanone oximes: a comparison with natural polyphenolic flavonoid (rutin) action. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 41 (5): 1067 1075. doi: 10.1080/15216549700202141.

- Mierziak, J., Kostyn, K. y Kulma, A. (2014). Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*, 19 (10): 16240-16265. doi: 10.3390/molecules191016240
- Miller, N.J., Rice-Evans, C.A. (1997). The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry*, 60 (3): 331-337. doi: 10.1016/S0308-8146(96)00339-1
- Min-Sheng, S. y Po-Jung, Ch. (2007). Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry*, 104 (1): 182–187. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.11.021
- Misra, S., Varma, A. K., Das, S. K., Mani, D., y Biswas, S. (2018). Thermal controls of lamprophyre sill on hydrocarbon generation outlook of shale beds in Raniganj basin, India. *Journal of Natural Gas Science and Engineering*, 56: 536-548. doi: 10.1016/j.jngse.2018.06.028
- Morreeuw, ZP., Castillo-Quiroz, D., Ríos-González, L.J., Martínez-Rincón, R., Estrada, N., Melchor-Martínez, EM., Iqbal, HMN., Parra-Saldívar, R. y Reyes, AG. (2021). High throughput profiling of flavonoid abundance in *Agave lechuguilla* residue-valorizing under explored mexican plant. *Plants*, 10(4). doi: 10.3390/plants10040695
- Morreeuw, ZP., Ríos-González, L.J., Salinas-Salazar, C., Melchor-Martínez, EM., Ascacio-Valdés, JA., Parra-Saldívar, R., Iqbal, HMN. y Reyes, AG. (2021b). Early optimization stages of *Agave lechuguilla* bagasse processing toward biorefinement: Drying procedure and enzymatic hydrolysis for flavonoid extraction. *Molecules*, 26(23). doi: 10.3390/molecules26237292
- Narcia Velasco, M., Castillo Quiroz, D. Vazquez Ramos, J.A. y Berlanga Reyes, C.A. (2012). Turno técnico de la lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr.) en el noreste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 3(9): 81-88. ISSN: 2007 – 1132
- Navarrete A., Herrero, M., Martín, A., Cocero, M.J. y Ibáñez, E. (2011). Valorization of solid wastes from essential oil industry. *Journal of Food Engineering*, 104 (2): 196–201. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2010.10.033
- Nobel P.S. (1998). Los incomparables agaves y cactus. Trillas. México, D. F. 211 p.
- Nobel, P. y Quero, E. (1986). Environmental Productivity Indices for a Chihuahuan Desert Cam Plant, *Agave Lechuguilla*. *Ecology*, 67(1): 1-11. doi: 10.2307/1938497
- Oancea S., Stoia, M. y Coman, D. (2012). Effects of extraction conditions on bioactive anthocyanin content of *Vaccinium corymbosum* in the perspective of food applications. *Procedia Engineering*, 42: 489–495. doi: 10.1016/j.proeng.2012.07.440
- Olivares Hernández R. y Quintero Ramírez R. 2018. Problemas de ingeniería biológica. Primera edición. Universidad Autónoma Metropolitana. 436 p. Ciudad de México, México. ISBN: 978 – 607 – 28 – 1179 – 9.
- Olguin, JQ. (2018). Nivel de madurez tecnológico (TRL) de la tecnología de secado solar en México. REIA. 4: 65 – 69. ISSN: 2448 – 6817.
- Ontiveros, G.J.G., Cerna, C.E., María, Y., Fuentes, Y.M.O., Landeros, F.J., Flores, J.L., Aguirre, U.L.A. y Hernández, J.A.H. (2020). Insecticidal activity of plant extracts against whitefly nymphs *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in laboratory. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8 (1): 595–599.
- Orjuela Córdova S. y Sandoval Medina P. (2002). Guía del estudio de mercado para la evaluación de proyectos. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Económicas y Administrativas. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Comercial. Santiago, Chile.

- Orozco L.M., Nava C. R., Medina, T.J.G. y de Ja Cruz, J.A. (1977). Investigación silvoagropecuaria de las zonas áridas de México, campo experimental Noria de Guadalupe. Monografía Técnico-Científica, UAAAN 3:182-265.
- Ortiz-Mendez, O., Morales-Martinez, T., Rios-Gonzales, L., Rodriguez-de la Garza, J., Quintero, J., y Aroca, G. (2017). Bioethanol production from *Agave Lechuguilla* biomass pretreated by autohydrolysis. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2): 467-476. doi: 10.24275/rmiq/Alim825
- Osorio C., Franco, M.S., Castaño, M.P., González-Miret, M.L., Heredia, F.J. y Morales, A.L. (2007). Colour and flavour changes during osmotic dehydration of fruits. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8 (3): 353–359. doi: 10.1016/j.ifset.2007.03.009
- Palaco López W.J. 2018. Proyecto para instalación de una planta de procesamiento de maíz morado de la variedad Morado Canteño para la obtención y exportación de antocianinas 2018. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ingeniería Computación. Escuela profesional de Ingeniería Industrial. Universidad Católica San Pablo. Arequipa. Perú.
- Panche, A. N., Diwan, A. D. y Chandra, S. R. (2016). *Flavonoids: An overview. Journal of Nutrition Science*, 5: e47. doi: 10.1017/jns.2016.41
- Pando-Moreno, M., Eufrazio, O., Jurado, E. y Estrada, E. (2004). Post-harvest growth of lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torr., agavaceae) in northeastern Mexico. *Economic Botany*, 58(1): 78-82. doi: 10.1663/0013-0001(2004)058 [0078:PGOLAL]2.0.CO;2
- Pasquel Reategui, J.L., Fonseca Machado, A.P., Barbero, G.F., Rezende, C.A. y Martínez, J. (2014). Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus sp.*) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound. *The Journal of Supercritical Fluids*, 94: 223–233. doi: 10.1016/j.supflu.2014.07.019
- Peña – Rodríguez A., Pelletier-Morreeuw, Z., García-Luján, J., Rodríguez-Jaramillo, M.D.C., Guzmán-Villanueva, L., Escobedo-Fregoso, C., Tovar-Ramírez, D. y Reyes, A. G. (2020). Evaluation of *Agave lechuguilla* by-product crude extract as a feed additive for juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 51(4): 1336-1345. doi: 10.1111/are.14497
- Pereira, C.G. y Meireles, M.A.A. (2010). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. *Food Bioprocess Technology*, 3: 340–372. doi: 10.1007/s11947-009-0263-2.
- Pistelli L. y Giorgi I. (2012) Antimicrobial Properties of Flavonoids. In: Patra A. *Dietary Phytochemicals and Microbes*. Springer, Dordrecht. doi: 10.1007/978-94-007-3926-0_2
- Pollastri, S. y Tattini, M. (2011). Flavonols: Old compounds for old roles. *Annals of Botany*, 108 (7): 1225–1233. doi: 10.1093/aob/mcr234
- Potera, C., 2010. The artificial food dye blues. *Environ. Health Perspect*, 118(10): A428. doi: 10.1289/ehp.118-a428
- Prado, J.M. y Meireles, M.A.A. (2012). Production of valuable compounds by supercritical technology using residues from sugarcane processing. In Bergeron, C., Carrier, D.J., and Ramaswamy, S., Biorefinery co-products. Phytochemicals, primary metabolites and value-added biomass processing. John Wiley y Sons, Ltd. 133-152 pp.
- Prior R.L. y Wu., X. 2006. Anthocyanins: Structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Research*, 40 (10): 1014 – 1028. doi: 10.1080/10715760600758522.

- Procuraduría Federal del Consumidor. (2020). Informa Profeco sobre colorantes artificiales en los alimentos. Entre más industrializado un producto más químicos contiene. Disponible en: <https://www.gob.mx/profeco/prensa/informa-profeco-sobre-colorantes-artificiales-en-los-alimentos> [consulta: 27 de enero 2022]
- Puente-Garza, C., Meza-Miranda, C., Ochoa-Martinez, D., y Garcia-Lara, S. (2017). Effect of in vitro drought stress on phenolic acids, flavonoles, saponins, and antioxidant activity in *Agave salmiana*. *Plant Physiology an Biochemistry*, 115: 400-407. doi: 10.1016/j.plaphy.2017.04.012.
- Pulido P. R. 2004. Diseño de un método para la cuantificación de las existencias de fibra de lechuguilla (*Agave lechuguilla* Torrey) y la estimación de la producción en cuatro poblaciones del noreste de México. Tesis de Licenciatura. UANL. F. C. F. Linares, Nuevo León. 52 p.
- Quintero Suárez, J. A. 2011. Design and Evaluation of Fuel Alcohol Production from Lignocellulosic Raw Materials. Tesis de doctorado. Manizales: Universidad Nacional de Colombia.
- Quiroga, AG., Costa, ; A C. and Filho, ; R Maciel. (2010). Modelamiento y simulación de una serie de CSTR'S con alimentación distribuida para la hidrólisis enzimática de bagazo de caña. Revista ION. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga, Colombia. 23 (1): 13 – 19. ISSN: 0120-100X
- Ramírez Ortiz, M. E. (2015). *Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos*. OmniaScience. ISBN: 978-84-944229-2-8.
- Ramirez-Tortosa, C., Andersen, O.M., Gardner, P.T., Morrice, P.C., Wood, S.G., Duthie, S.J., Collins, A.R. y Duthie, G.G. (2001). Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E depleted rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 31 (9): 1033-1037. doi: 10.1016/S0891-5849(01)00618-9
- Redepenning, C., y Marquardt, W. (2016). Pinch-based Shortcut Method for the Conceptual Design of Adiabatic Absorption Columns. *American Institute of Chemical Engineers Journal*, 61(3): 1–15. doi: doi.org/10.1002/aic.15499
- Rein M. 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Academic dissertation. University of Helsinki. Department of Applied Chemistry and Microbiology Food Chemistry Division. Finlandia
- Renon, H. y Prausnitz J.M. (1968). Local Compositions in Thermodynamic Excess Functions for Liquid Mixtures. *AIChE Journal*, 14 (1): 135 – 144. doi: 10.1002/aic.690140124
- Reyes-Agüero, J.A., Aguirre-Rivera, J.R. y Peña - Valdivia C.B. (2000). Biología y aprovechamiento de *Agave lechuguilla* Torrey. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 67: 75-88. doi: 10.17129/botsoci.1626
- Rodríguez Flores M.F. (2016). Análisis técnico – económico de la producción de etanol carburante a partir de cogollos de *Agave lechuguilla*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila, México.
- Román Páez, M.A., Rivera Narváez, C.M., Cardona Bermúdez, L.M., Muñoz, L.M., Gómez, D.D., Passaro Carvalho, C. y Quinceno Rico, J.M. (2016). Guía de extracción por fluidos supercríticos: Fundamentos y Aplicaciones. Servicio Nacional de Aprendizaje – SENA. Rionegro – Antioquia. 48 pp
- Rzedowski, J. 1964. Botánica económica. En: Beltrán E. Las zonas áridas del centro y noreste de México y el aprovechamiento de sus recursos. Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables. México, D. F. 135-152 pp. doi: 10.17129/botsoci.1183

- Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski y colaboradores. 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán. 1406 pp. (Edición digital: INECOL 2010)
- Sahena, F., Zaidul, I.S.M., Jinap, S., Karim, A.A., Abbas, K.A., Norulaini, N.A.N. y Omar, A.K.M. (2009). Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review. *Journal of Food Engineering*, 95 (2): 240–253. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2009.06.026.
- Salinas M. Y., Soria R. J. y Espinosa T. E. (2010). Aprovechamiento y Distribución de Maíz Azul en el Estado de México. Disponible en www.sagarpa.gob.mx. [consulta: 20 julio 2021]
- Samanta, A., Das, G. y Das, S. (2011). Roles of flavonoids in plants. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6 (1): 12–35. ISSN: 0975-0525
- Santos-Zea, L., Gutiérrez-Urbe, J. A., y Benedito, J. (2019). Effect of ultrasound intensification on the supercritical fluid extraction of phytochemicals from *Agave salmiana* bagasse. *Journal of Supercritical Fluids*, 144: 98–107. doi: 10.1016/j.supflu.2018.10.013
- Santos-Zea, L., Leal-Díaz, A., Cortes-Ceballos, E. y Gutiérrez-Urbe, J. (2012). *Agave* (*Agave spp.*) and its traditional products as a source of bioactive compounds. *Current Bioactive Compounds*, 8: 1-14. doi: 10.2174/157340712802762410
- Seabra, I. J., Braga, M. E. M., Batista, M. T. y de Sousa, H. C. (2010). Effect of solvent (CO₂/ethanol/H₂O) on the fractionated enhanced solvent extraction of anthocyanins from elderberry pomace. *The Journal of Supercritical Fluids*, 54 (2): 145-152. doi: 10.1016/j.supflu.2010.05.001
- Sheldon S. (1980). Ethnobotany of *Agave lecheguilla* and *Yucca carnerosana* in Mexico's Zona Ixtlera. *Economic Botanical*, 34 (4): 376-390. doi: 10.1007/BF02858314
- Siller Juárez, D., Flores López, M.L., Sánchez-Robles, J.H., De la Cerda Suárez, P.C., Charles Rodríguez, A.V. y Díaz Jiménez, L. (2014). Variability of saponins concentration in guishe collected in different geographical areas and weather conditions. *Journal Chemistry Biochemistry*, 2: 105–115. doi: 10.15640/jcb.v2n2a5.
- Silva, S., Costa, E. M., Calhau, C., Morais, R. M. y Pintado, M. E. (2017). Anthocyanin extraction from plant tissues: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57 (14): 3072–3083. doi: 10.1080/10408398.2015.1087963
- Somavat, P. 2017. Evaluation and modification of processing techniques for recovery of anthocyanins from colored corn. Agricultural and Biological Engineering, PhD. University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, EU.
- Somavat, P., Kumar, D. y Singh, V. (2018). Techno-economic feasibility analysis of blue and purple corn processing for anthocyanin extraction and ethanol production using modified dry grind process. *Industrial Crops and Products*, 115: 78–87. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.02.015
- Soto-Vaca A., Gutiérrez, A., Losso, J. N., Xu, Z. y Finley, J. W. (2012). Evolution of phenolic compounds from color and flavor problems to health benefits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (27): 6658-6677. doi: 10.1021/jf300861c
- Strack D. y Wray V. (1989). 9 - Anthocyanins. *Methods in Plant Biochemistry*, 1: 325 – 356. doi: 10.1016/B978-0-12-461011-8.50015-9
- Suzuki, N. y Mittler, R. (2006). Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction. *Physiologia Plantarum*, 126 (1): 45- 51. doi: 10.1111/j.0031-9317.2005.00582.x
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2002). Secondary metabolites and plant defense. *Plant Physiology*. 3^{er} edición. Sinauer Associates. 283-308 pp.

- Tapas, A.R., Sakarkar, D. y Kakde, R. (2008). Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (3): 1089–1099. doi: 10.4314/tjpr.v7i3.14693
- Taylor, N.T., Davis, K.M., Abad, H., McClung, M.R. y Moran, M.D. (2017). Ecosystem services of the big bend region of the chihuahuan desert. *Ecosystem Services*, 27: 48–57. doi: 10.1016/j.ecoser.2017.07.017
- Timberlake, C.F. (1980). Anthocyanins-Occurrence, Extraction and Chemistry. *Food Chemistry*, 5(1): 69-80. doi: 10.1016/0308-8146(80)90065-5
- Tsimogiannis, D.I. y Oreopoulou, V. (2004). Free-radical scavenging and antioxidant activity of 5,7,3',4'- hydroxy-substituted flavonoids. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5 (4): 523-528. doi: 10.1016/j.ifset.2004.05.006
- Tsimogiannis, D., Samiotaki, M., Panayotou, G., y Oreopoulou, V. (2007). Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. *Molecules*, 12 (3): 593 – 606. doi: 10.3390/12030593
- Tropicos, (2021). Missouri Botanical Garden. Disponible en: <http://www.tropicos.org> [Consulta: 3 de junio 2021].
- Valencia, J.A. (2015). Diseño de un sistema electroforético en flujo libre para purificar antocianinas de col morada (*Brassica oleracea*). Tesis para obtener el grado de maestro en ciencias en bioprocesos. Unidad profesional interdisciplinaria de biotecnología. Instituto Politécnico Nacional. 93 pp.
- Vatai, T., Škerget, M. y Knez, Ž. (2009). Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. *Journal of Food Engineering*, 90 (2): 246-254. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2008.06.028
- Velásquez A. (2008). La tecnología de fluidos supercríticos, un proceso limpio para el sector industrial. *Producción Más Limpia*, 3(2).
- Wagner, G.J. (1982). Cellular and Subcellular Location in Plant Metabolism. Plenum Press. 1-45 pp.
- Wang H, Cao G, Prior RL. (1997). Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45 (2): 304-309. doi: 10.1021/jf960421t
- Wang S.Y. y Jiao H. (2000). Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11): 5677 – 5684. doi: 10.1021/jf000766i
- Wilska-Jeszka, J. y Korzuchowska, A. (1996). Anthocyanins and chlorogenic acid copigmentation - influence on the colour of strawberry and chokeberry juices. *Z Lebensm Unters Forch*, 203: 38–42 (1996). doi: 10.1007/BF01267767
- Wooley, R. y Putsche, V. (1996). Development of an ASPEN PLUS Physical Property Database for Biofuels Components. National Renewable Energy Laboratory. Colorado, EU.
- Yanez, J., Vicente, V. y Alcaraz, M. (2004). Cytotoxicity and Antiproliferative activities of several phenolic compounds against three melanocytes cell lines: Relationship between structure and activity. *Nutrition and Cancer*, 49(2): 191-199. doi: 10.1207/s15327914nc4902_11
- Youngson R. 2004. ¿Qué son los radicales libres? En: Antioxidantes y radicales libres. Editorial Acribia, Madrid. 15 – 29 pp.
- Zancan, K. C., Marques, M. O., Petenate, A. J., & Meireles, M. A. A. (2002). Extraction of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) oleoresin with CO₂ and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. *The Journal of supercritical fluids*, 24(1): 57-76. doi: 10.1016/S0896-8446(02)00013-X

- Zapién B. M. (1981). Evaluación de la producción de *Ixtle* de lechuguilla en cuatro sitios diferentes. En: 1ª Reunión Regional sobre Ecología, Manejo y Domesticación de las Plantas Útiles del Desierto. Publicación Especial No 31. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. SARH. México, D. F. México. 385-389 pp.
- Zapata L.M. (2014). Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria. Tesis doctoral. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. pp 248
- Zhang, W. y Furusaki, S. (1999). Production of Anthocyanins by Plant Cell Cultures. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 4: 231 – 252. doi: 10.1007/BF02933747
- Zhang, Y., Dube, M.A., McLean, D.D. y Kates, M. (2003). Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technological assessment. *Bioresource Technology* 89 (1): 1–16. doi: 10.1016/S0960-8524(03)00040-3

11. ANEXOS

Anexo 1. Condiciones del modelo HCOALGEN para calcular la entalpía y la densidad de los componentes no convencionales (Cenizas) de la corriente de entrada del bagazo. Se requiere tres atributos: PROXANAL (análisis aproximados), ULTANAL (análisis finales) y SULFANAL (análisis de azufre).

Elementos	PROXANAL	ULTANAL	SULFANAL
Humedad	0		
FC	0		
VM	0		
Cenizas	100	100	
Carbono		0	
Hidrogeno		0	
Cloro		0	
Sulfuro		0	
Oxigeno		0	
Pyritic			0
Sulfato			0
Orgánico			0

Anexo 2. Especificaciones en Aspen plus de las corrientes de los componentes involucrados

Componente	Corriente	Alias
Celulosa	Sólido	Celulosa
Hemicelulosa	Sólido	C ₅ H ₁₀ O ₅ -D ₂
Lignina	Sólido	Lignina
Pectinas	Sólido	C ₆ H ₁₀ O ₇
Antocianinas	Sólido	C ₁₅ H ₁₁ O ₇
Cenizas	No convencional	
Agua	Convencional	H ₂ O
Glucosa	Convencional	C ₆ H ₁₂ O ₆
Ácido galacturónico	Convencional	C ₆ H ₁₀ O ₇
Xilosa	Convencional	C ₅ H ₁₀ O ₅ -D ₂
Dióxido de carbono	Convencional	CO ₂
Etanol	Convencional	C ₂ H ₆ O ₂

Anexo 3. Niveles de madurez tecnológica (TRL). Tomado de Olguin, 2018.

Niveles de madurez tecnológica (TRL)	Descripción
TRL 1	Principios básicos observados y reportados
TRL 2	Concepto o tecnología formulados
TRL 3	Prueba de concepto
TRL 4	Validación a nivel de componentes en laboratorio
TRL 5	Validación de componente y/o disposición de los mismos en un entorno relevante
TRL 6	Modelo de sistema o subsistema o demostración de prototipo en un entorno relevante
TRL 7	Demostración de sistema o prototipo en un entorno real
TRL 8	Sistema completo y certificado a través de pruebas y demostraciones
TRL 9	Sistema probado con éxito en entorno real