



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LA MIXTECA

***“DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y VALIDACIÓN EXPERIMENTAL DE UN EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA A ESCALA LABORATORIO”***

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERO EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

**ULISES PEDRO MARTÍNEZ HERNÁNDEZ**

DIRECTORA DE TESIS:

**M.C. ALMA YADIRA SALAZAR GOVEA**

CO-DIRECTOR:

**DR. RAFAEL EUSTAQUIO RINCÓN**

HUAJUAPAN DE LEÓN, OAXACA, MÉXICO.

FEBRERO DE 2016.

Este trabajo se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos, ubicado en el edificio del Laboratorio de Productos Naturales y Alimentos de la Universidad Tecnológica de la Mixteca. La prueba de sellado de la celda de extracción se realizó en el Laboratorio de Propiedades Termodinámicas del Instituto Mexicano del Petróleo.

El proyecto se llevó a cabo gracias al financiamiento otorgado por parte del Convenio UTM-Productores de Agavaceae Oaxaqueña S.A. de C.V., ejercicio 2014. Así mismo se agradece la colaboración de la empresa Leyvitec Laboratorios, S.A. de C.V. quien, a través del Dr. Rafael Eustaquio Rincón, accedió al préstamo del equipo de medición para el control de variables del proceso que se utilizaron durante la realización de este trabajo.

## DEDICATORIA

### **A DIOS Y A LA VIRGEN DE JUEVILA**

*Por brindarme una segunda oportunidad y por interceder para que se me brindara esa segunda oportunidad, respectivamente, que me permitió estar aquí y realizar este trabajo.*

### **A MI MADRE**

*Por todo su amor y su cariño incondicional, por todas sus enseñanzas, por su motivación, por su apoyo, por su preocupación, por sus consentimientos, por sus regaños, por sus consejos, pero sobre todo por su grandísimo ejemplo de lucha y trabajo incansables para seguir adelante a pesar de todas las adversidades.*

### **A MI PADRE**

*Por todo su apoyo incondicional, por sus esfuerzos por ser más expresivo y cariñoso a pesar de que va en contra de su naturaleza. Por sus cálidos recibimientos al llegar a casa, por sus sabios consejos, pero sin lugar a dudas, por su extraordinario ejemplo de actuar como persona y como padre de familia, que me ha llevado a ser quien soy y como soy ahora.*

### **A MI HERMANA**

*Por su apoyo absoluto en todas las locuras que se me han ocurrido realizar, por ser mi confidente y nunca decirme no cuando le digo que tengo pensado hacer algo, pero siempre darme un consejo sobre ello. Por todo su apoyo moral, emocional y económico. Y finalmente por asumir su rol de hermana mayor y marcarme la pauta a seguir, siendo mi mayor ejemplo de superación profesional.*

### **EN FORMA CONJUNTA, A MIS PADRES**

*Porque aun con sus limitaciones, siendo personas que no tuvieron la oportunidad de estudiar, colocaron toda su fe, su confianza y sus esperanzas en mí y se esforzaron al máximo para otorgarme la oportunidad de estudiar una carrera profesional.*

### **Y EN FORMA GENERAL, A MI FAMILIA**

*Porque a pesar de todas las dificultades que hemos pasado, de todos los problemas graves que se han presentado, a los cuales no se les veía solución, supieron mantenerse unidos y apoyarse como lo que somos una familia y nunca dejaron de apoyarme. En estos momentos todo lo que soy se los debo a ustedes, por ello de todo corazón **MUCHAS GRACIAS.***

*“Si usas tu cerebro, aunque comas dulces no engordaras”. L. Lawliet - D.N.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la M.C. Alma Yadira Salazar Govea por todo su apoyo en todos los aspectos, por sus consejos, por sus recomendaciones y por todo su esfuerzo colocado a la realización de este trabajo, pero sobre todo por confiar en mí y aceptar ser mi directora de tesis.

Al Dr. Rafael Eustaquio Rincón, Coordinador de Laboratorios Aguas Abajo del Instituto Mexicano del Petróleo (IMP), por todo su apoyo incondicional y todas las facilidades y asesorías que nos brindó para realizar este trabajo.

A la Dra. Mirna Patricia Santiago Gómez por su apoyo y por el préstamo de las instalaciones y materiales del laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos para la realización de este trabajo.

Al ingeniero Polo y al ingeniero Josué del Instituto Mexicano del Petróleo, por su tiempo brindado para capacitarme en cuestiones técnicas y prácticas sobre corte, dobles y conexión de tubing, así como de conexión de válvulas y demás accesorios. De igual forma, a los ingenieros Salvador y Guillermo del mismo instituto por su ayuda para realizar las pruebas de sellado de la celda de extracción.

Al Ing. Marcelino Flores A. por su ayuda con el convertidor de voltaje para el medidor de flujo.

A don "Quique", técnico del taller de Plásticos de la Universidad Tecnológica de la Mixteca, por toda su ayuda en la construcción del baño de acrílico y todas las facilidades brindadas para trabajar en dicho taller.

A sarita, secretaria del Instituto de Agroindustrias, por toda su ayuda en los trámites administrativos relacionados con el desarrollo de la tesis, sobre todo con los trámites ante el almacén de suministros.

A mis revisores Dr. Carlos Alberto Palencia Sarmiento, Dra. Mirna Patricia Santiago Gómez y Dr. Rogelio Valadez Blanco por todo su tiempo invertido en la revisión de este documento y por sus consejos para la mejora del trabajo.

A todos los maestros que me impartieron clases a lo largo de toda la carrera por todas sus enseñanzas.

A todos mis compañeros de generación (en estricto orden de lista de acuerdo a sus apellidos) Juan, Yair, Rocio, Malinali, Sofía y Nadia porque de una u otra forma contribuyeron a que este objetivo fuera alcanzado. Y como mención especial a Malinali y Dalia, dos grandísimas personas que siempre me apoyaron en las buenas, en las no tan buenas y en las malas; dos personas que siempre estaban cuando les requería, ya fuese para ser escuchado o para recibir una charla de aliento o de regaño cuando era necesario, en síntesis, dos personas que se preocupaban por mi bienestar. A todos los nuevos amigos, de otras generaciones y universidades, surgidos durante el proyecto: Antonio, Francisco, Tenoch y Majo. Finalmente a todos mis amigos de la universidad de las diferentes carreras (cuyos nombres no mencionaré porque haría falta más espacio en la página para poder nombrarlos a todos) quienes hicieron llevadero el tiempo en la universidad.

## RESUMEN

En este trabajo se muestra el diseño y construcción de un equipo de extracción supercrítica a escala laboratorio y su validación experimental mediante la extracción del aceite esencial de hierbabuena (*Mentha Spicata L.*). La parte de construcción contempló el diseño y manufactura de un termocompresor de acero inoxidable T-316 con una capacidad de 6 litros, una celda de extracción de acero inoxidable T-316 con una capacidad de 700 mL y una celda de separación o separador de vidrio de borosilicato con una capacidad de 125 mL. Para la construcción de estos elementos se tomaron como base los diseños propiedad del Dr. Rafael Eustaquio Rincón y la manufactura se realizó en el taller de la empresa "Taller Mecánico Industrial Romano". La validación se realizó mediante la obtención y cuantificación de aceite esencial de *Mentha spicata L.* operando bajo los siguientes parámetros: 100 bar de presión, 30 mL/min de flujo promedio de CO<sub>2</sub>, un tiempo total de extracción de 240 minutos dividido en dos etapas: 60 minutos de etapa estática y 180 minutos de etapa dinámica con tres niveles de temperatura 35, 40 y 45 °C. Los rendimientos globales obtenidos, en base seca, fueron:  $0.347 \pm 0.015 \%$ ,  $0.237 \pm 0.011 \%$ ,  $0.190 \pm 0.000 \%$ , respectivamente. La comparación de resultados se llevó a cabo mediante un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor y dos pruebas de comparación de medias por pares: Tukey y Fisher obteniéndose una diferencia significativa entre los rendimientos globales. Todas las pruebas se realizaron en el software estadístico Minitab® 16.

# ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA .....	III
AGRADECIMIENTOS .....	IV
RESUMEN .....	V
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>CAPÍTULO I MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>3</b>
1.1 PROCESO DE EXTRACCIÓN .....	4
1.2 CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN .....	4
1.2.1 MÉTODOS CONVENCIONALES .....	5
1.2.2 MÉTODOS NO CONVENCIONALES .....	6
1.3 EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA .....	9
1.3.1 FLUIDO SUPERCRÍTICO .....	9
1.3.1.1 DEFINICIÓN.....	9
1.3.1.2 CARACTERÍSTICAS DE LOS FLUIDOS SUPERCRÍTICOS .....	12
<b>A) SOLUBILIDAD.....</b>	<b>15</b>
<b>B) VISCOSIDAD.....</b>	<b>17</b>
<b>C) DIFUSIÓN.....</b>	<b>18</b>
<b>D) CONSTANTE DIELECTRICA.....</b>	<b>19</b>
1.3.2 EQUIPO Y PROCESO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA .....	20
1.3.3 CLASIFICACIÓN DE LOS PROCESOS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA DE ACUERDO AL MODO DE OPERACIÓN .....	22
1.3.4 ADICIÓN DE CO-DISOLVENTES.....	23
1.4 CONSIDERACIONES GENERALES PARA LA CONSTRUCCIÓN DE EQUIPOS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA .....	25
1.4.1 INSTRUMENTACIÓN Y MEDICIÓN .....	25
1.4.1.1 APLICACIÓN DE LOS SISTEMAS DE MEDICIÓN .....	25
1.4.1.2 MEDICIÓN DE LA TEMPERATURA.....	25
<b>A) SENSORES DE EFECTO TERMOELÉCTRICO (TERMOPARES).....</b>	<b>27</b>
1.4.1.3 MEDICIÓN DE LA PRESIÓN .....	28
1.4.1.4 MEDICIÓN DE ALTA PRESIÓN (MAYOR A 7 000 BAR).....	29

1.4.1.5 MEDICIÓN DE FLUJO. ....	30
<b>A) VELOCIDAD DE FLUJO DE VOLUMEN. ....</b>	<b>30</b>
1.4.2 COMPRESIÓN DE GASES. ....	31
1.4.2.1 ELECCIÓN DEL COMPRESOR. ....	32
<b>COMPRESORES RECIPROCANTES. ....</b>	<b>33</b>
1.4.3 PÉRDIDAS DE PRESIÓN. ....	34
1.4.3.1 PÉRDIDAS POR FRICCIÓN. ....	36
1.4.3.2 PÉRDIDAS EN VÁLVULAS Y ACCESORIOS. ....	37
1.4.4 COMPORTAMIENTO PVT DE SUSTANCIAS PURAS. ....	38
<b>CAPÍTULO II ESTADO DEL ARTE. ....</b>	<b>40</b>
2.1 APLICACIONES DE LA EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA. ....	41
2.2 APLICACIONES EN ALIMENTOS. ....	41
2.3 ASPECTOS TÉCNICOS DE LA EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA. ....	44
2.3.1 ELEMENTOS EMPLEADOS EN EQUIPOS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA. ....	44
2.3.2 MATERIALES EMPLEADOS EN EQUIPOS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA. ....	46
2.4 MENTA VERDE ( <i>MENTHA SPICATA L.</i> ). ....	46
2.4.1 EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA DE ACEITE ESENCIAL DE MENTA. ....	47
<b>CAPÍTULO III JUSTIFICACIÓN. ....</b>	<b>49</b>
<b>CAPÍTULO IV OBJETIVOS. ....</b>	<b>51</b>
OBJETIVO GENERAL. ....	52
OBJETIVOS ESPECÍFICOS. ....	52
<b>CAPÍTULO V METODOLOGÍA. ....</b>	<b>53</b>
5.1 MATERIALES. ....	54
5.1.1 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES. ....	54
5.2 DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y ENSAMBLADO DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA. ....	55
5.2.1 CONFIGURACIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA. ....	56
5.2.2 ACCESORIOS DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA. ....	56
5.2.2.1 SISTEMA DE COMPRESIÓN. ....	56
5.2.2.2 SISTEMA DE CALEFACCIÓN. ....	57
5.2.2.3 SISTEMA DE REGULACIÓN DE FLUJO. ....	57

5.2.2.4 SISTEMA DE CONTROL.....	58
5.2.2.5 SISTEMA DE RECOLECCIÓN O SEPARACIÓN.....	59
5.2.3 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL TERMOCOMPRESOR Y LA CELDA DE EXTRACCIÓN.....	59
5.2.4 ADQUISICIÓN DE EQUIPOS Y ACCESORIOS.....	59
5.2.5 CONSTRUCCIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA Y PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO.....	60
5.2.5.1 CALIBRACIÓN DEL BAÑO DE ACRÍLICO.....	60
5.2.5.2 PRUEBA DE SELLADO DE LA CELDA DE EXTRACCIÓN (CE).....	60
5.3 EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE <i>MENTA SPICATA L.</i> ....	61
5.3.1 PRETRATAMIENTO DE LA MUESTRA. ....	62
5.3.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.....	65
5.3.2 EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HIERBABUENA.....	65
5.3.2.1 EXTRACCIÓN SOXHLET. ....	65
5.3.2.1 EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.....	66
<b>CAPÍTULO VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>67</b>
6.1 CONFIGURACIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.....	68
6.2 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL TERMOCOMPRESOR Y LA CELDA DE EXTRACCIÓN.....	69
6.3 CONSTRUCCIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA Y PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO.....	70
6.3.1 CALIBRACIÓN DEL BAÑO DE ACRÍLICO.....	70
6.3.2 PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.....	71
6.4 EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE <i>MENTHA SPICATA L.</i> ....	73
6.4.1 PROCESO DE SECADO.....	73
6.4.2 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.....	74
6.4.3 EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HIERBABUENA.....	74
6.4.3.1 EXTRACCIÓN SOXHLET. ....	74
6.4.3.2 EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.....	75
6.4.4 AGOTAMIENTO PARCIAL DE LA MUESTRA DE HIERBABUENA.....	79
<b>CAPÍTULO VII CONCLUSIONES.....</b>	<b>81</b>
<b>CAPÍTULO VIII PERSPECTIVAS.....</b>	<b>83</b>
<b>APÉNDICES .....</b>	<b>85</b>



APÉNDICE A. DIVERSOS TIPOS DE VÁLVULAS Y ACCESORIOS Y SUS VALORES REPRESENTATIVOS DE K.....	86
APÉNDICE B. PLANOS EN 2D DE LA CELDA DE EXTRACCIÓN Y SUS PIEZAS.....	87
APÉNDICE C. REPRESENTACIÓN EN 3D DE LA CELDA DE EXTRACCIÓN Y SUS PIEZAS.....	92
APÉNDICE D. REPRESENTACIÓN EN 2D DEL TERMOCOMPRESOR Y SUS PIEZAS.....	93
APÉNDICE E. REPRESENTACIÓN EN 3D DEL TERMOCOMPRESOR Y SUS PIEZAS. ....	95
APÉNDICE F. CÁLCULOS DE CAÍDA DE PRESIÓN.....	96
APÉNDICE G. MANUAL DE PROCEDIMIENTO PARA EL PROCESO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA. .....	100
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>105</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIG. 1. DIAGRAMA DE FASES P-T.....	10
FIG. 2. DIAGRAMA DE FASES P-T. T, PUNTO TRIPLE; C, PUNTO CRÍTICO.....	11
FIG. 3. PROPIEDADES GENERALES DE LOS FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (LUQUE DE CASTRO <i>ET AL.</i> , 1994).....	13
FIG. 4. VARIACIÓN DE LA DENSIDAD DEL CO <sub>2</sub> EN FUNCIÓN DE LA PRESIÓN Y TEMPERATURA (MUKHOPADHYAY, 2000). .....	14
FIG. 5. DEPENDENCIA DE LA VISCOSIDAD CON LA PRESIÓN PARA EL CO <sub>2</sub> A DIFERENTES TEMPERATURAS. INSERCIÓN: PRIMER PLANO CERCA DEL PUNTO CRÍTICO (STEPHAN Y LUCAS, 1979).....	17
FIG. 6. DEPENDENCIA DE LA DIFUSIVIDAD CON LA TEMPERATURA A DIFERENTES PRESIONES PARA UN SOLUTO EN CO <sub>2</sub> (REID <i>ET AL.</i> , 1977).....	19
FIG. 7. INFLUENCIA DE LA PRESIÓN EN LA CONSTANTE DIELECTRICA Y DENSIDAD DEL CO <sub>2</sub> SUPERCRÍTICO A TEMPERATURA AMBIENTE (LUQUE DE CASTRO <i>ET AL.</i> , 1993).....	20
FIG. 8. DIAGRAMA DE LOS COMPONENTES BÁSICOS DE UN SISTEMA DE SFE (AZMIR <i>ET AL.</i> 2013). .....	21
FIG. 9. CO-DISOLVENTES MÁS EMPLEADOS EN SFE EN MATRICES VEGETALES, BASADO EN UN TOTAL DE 166 PUBLICACIONES DE UNA BASE DE DATOS (DE MELO <i>ET AL.</i> , 2014) .....	24
FIG. 10. DIAGRAMA DE UN DISPOSITIVO DE MEDICIÓN DE ALTA PRESIÓN (MORRIS, 2001). .....	29
FIG. 11. DISPOSITIVOS DE OBSTRUCCIÓN: (A) ORIFICIO EN PLACA; (B) VENTURI; (C) BOQUILLA DE FLUJO; (D) TUBO DE DALL, (MORRIS, 2001). .....	30
FIG. 12. CLASIFICACIÓN GENERAL DE LOS COMPRESORES. PERRY <i>ET AL.</i> , 2001.....	32
FIG. 13. GRÁFICA DE ALCANCES DE COMPRESOR, BASADO EN LA GAMA OPERACIONAL DE LOS TIPOS COMERCIALES INDICADOS (PERRY <i>ET AL.</i> , 2001). .....	33
FIG. 14. PISTÓN OPUESTO DE ACCIÓN SIMPLE, DE DOS ETAPAS, EN UN CILINDRO DEL TIPO DE ETAPA SIMPLE (PERRY <i>ET AL.</i> , 2001). .....	34
FIG. 15. FACTORES DE FRICCIÓN DE FANNING (BASADO EN MOODY, 1944).....	38
FIG. 16. DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA CONSTRUCCIÓN DEL EQUIPO DE SFE.....	55
FIG. 17. PRUEBA DE SELLADO DE LA CELDA DE EXTRACCIÓN. ....	61
FIG. 18. DIAGRAMA DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE MENTA. ....	62
FIG. 19. LOTE DE HIERBABUENA. ....	63
FIG. 20. HOJAS EN MAL ESTADO QUE FUERON RETIRADAS.....	63
FIG. 21. ALTURA A LA QUE SE REALIZÓ EL CORTE DE TALLOS DE MAYOR GROSOR.....	64
FIG. 22. DIAGRAMA DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA DISEÑADO. ....	68

FIG. 23. EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA CONSTRUIDO. IZQUIERDA, VISTA COMPLETA. DERECHA, VISTA PARTE SUPERIOR. ....	69
FIG. 24. GRÁFICAS DE LA CALIBRACIÓN DEL BAÑO TÉRMICO Y ACRÍLICO.....	71
FIG. 25. ENFRIAMIENTO DEL TERMOCOMPRESOR PARA SU LLENADO. ....	72
FIG. 26. SECUENCIA DE LA ETAPA DE EXTRACCIÓN. ....	73
FIG. 27. ACEITE ESENCIAL DE HIERBABUENA EXTRAÍDO CON CO <sub>2</sub> SUPERCRÍTICO. ....	77
FIG. 28. GRÁFICA DE LA CORRIDA DE AGOTAMIENTO DE LA EFS DE ACEITE ESENCIAL DE HIERBABUENA.....	80

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. VALORES CRÍTICOS ( $T_c, P_c, \rho_c$ ) DE ALGUNOS COMPUESTOS. ....	11
TABLA 2. PROPIEDADES COMPARATIVAS DE GASES, LÍQUIDOS Y FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (LUQUE DE CASTRO <i>ET AL.</i> , 1994) .....	13
TABLA 3. PODER DISOLVENTE MÁXIMO DE ALGUNOS FLUIDOS. (BRÉCHIGNAC <i>ET AL.</i> , 2007). ....	15
TABLA 4. ÓRDENES DE MAGNITUD DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE FLUIDOS EN DIFERENTES ESTADOS (BRÉCHIGNAC <i>ET AL.</i> , 2007).....	18
TABLA 5. TERMOPARES Y SUS PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS (MORRIS, 2001).....	27
TABLA 6. VALORES DE ASPEREZA SUPERFICIAL PARA VARIOS MATERIALES (ADAPTADO DE PERRY <i>ET AL.</i> , 2001). ....	37
TABLA 7. APLICACIONES DE LA SFÉ EN EL ÁREA DE ALIMENTOS. ....	43
TABLA 8. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LA EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE HIERBABUENA.....	65
TABLA 9. CALIBRACIÓN DE BAÑO TÉRMICO Y ACRÍLICO. ....	70
TABLA 10. PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LA HIERBABUENA. ....	74
TABLA 11. RENDIMIENTOS DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE HIERBABUENA POR EL MÉTODO SOXHLET. ....	75
TABLA 12. RENDIMIENTOS DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE HIERBABUENA POR EL MÉTODO DE EFS. ....	75
TABLA 13. RESULTADOS DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITE DE HIERBABUENA REPORTADO POR ANSARI Y GODARZANIA, 2012.....	77
TABLA 14. RESULTADOS DE LA CORRIDA DE AGOTAMIENTO DE LA EFS DE ACEITE ESENCIAL DE HIERBABUENA. ....	79

## ABREVIATURAS

### SIGLAS EN INGLÉS

SIGLA	SIGNIFICADO
EPA	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América
EAU	Extracción asistida por ultrasonido
PEF	Extracción asistida por campos eléctricos pulsantes
EAAE	Extracción enzimática acuosa asistida
EACP	Extracción enzimática asistida por prensado
MAE	Extracción asistida por microondas
PFE	Extracción por fluidos presurizados
FDA	Agencia de drogas y alimentos
SFE	Extracción con fluidos supercríticos
EFSA	Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos

### ABREVIATURAS GENERALES

SIMBOLO	DEFINICIÓN
V	Volt
$T_c$	Temperatura crítica
$P_c$	Presión crítica
$\rho_c$	Densidad crítica
$P_r$	Presión reducida (adimensional)
$\rho_r$	Densidad reducida (adimensional)
$\rho_{liq}$	Densidad estándar de un fluido en estado líquido
$\delta_f$	Poder disolvente
$\delta_s$	Solubilidad de un soluto en un líquido
G	Constante de atracción molar
$\Delta H_r$	Calor de vaporización del soluto
M	Masa molar

$R$	Constante de los gases ideales
$D$	Coefficiente de difusión
$V$	Volumen
$G$	Velocidad másica
$g$	Aceleración de la gravedad
$H$	Entalpía específica
$J$	Equivalente mecánico del calor
$S$	Entropía específica
$U$	Energía interna
$v$	Velocidad lineal
$z$	Altura por encima de cualquier plano arbitrario de referencia horizontal
$F$	Pérdida por fricción
$D$	Diámetro de un ducto
$L$	Longitud de un ducto
$f$	Factor de fricción de Fanning
$N_{Re}$	Número de Reynolds
$\varepsilon$	Aspereza de la superficie interna de un canal
$L_e$	Longitud equivalente de tubería recta
$K$	Cantidad de cargas de velocidad perdidas en una tubería
$\text{CO}_2$	Dióxido de carbono
$\tilde{V}$	Volumen molar
$n$	Número de moles

## INTRODUCCIÓN.

La extracción con disolventes orgánicos es uno de los métodos más antiguos de separación y por ello se le considera que data de la era paleolítica (Herrero *et al.*, 2010). Esta ciencia de extracción ha presentado un gran desarrollo a lo largo del tiempo con avances importantes en la comprensión de la solvatación y de las propiedades de líquidos empleados en los procesos de extracción. Simultáneamente ha ido creciendo la aplicación industrial de la extracción con disolventes orgánicos. Sin embargo el uso masivo a gran escala de disolventes orgánicos, en una amplia gama de industrias, representa una grave amenaza para el medio ambiente. Ante ésta problemática se introdujo el Protocolo de Montreal en 1987 con el objetivo de restringir el uso de disolventes que dañen el medio ambiente. Como consecuencia se ha incrementado la búsqueda de nuevas tecnologías de extracción también llamadas no convencionales. Una de ellas es la extracción con fluidos supercríticos o extracción supercrítica (SFE por sus siglas en inglés) (Herrero *et al.*, 2010).

Un fluido supercrítico se define como cualquier sustancia que está por encima de su temperatura crítica y presión crítica (Hedrick *et al.*, 1992). En estas condiciones las propiedades de un fluido cambian radicalmente. Por encima del punto crítico se forma un fluido homogéneo que presenta características tanto de líquido como de gas. Por ejemplo, la densidad se asemeja a la de un líquido en tanto que la viscosidad es semejante a la de un gas. La combinación de estas propiedades es lo que le provee al fluido supercrítico la capacidad de actuar como disolvente. Se han estudiado gran variedad de fluidos supercríticos con la finalidad de emplearlos como disolventes. Sin embargo, ha sido el CO<sub>2</sub> el más utilizado ya que presenta ciertas ventajas sobre otros fluidos estudiados (agua, etanol, metano, etc.). Aunque es de destacar que el CO<sub>2</sub> presenta una desventaja, su baja polaridad, la cual es solventada con la adición de un co-disolvente, siendo el etanol el más utilizado. La extracción supercrítica presenta ciertas ventajas en comparación con los métodos tradicionales. Las principales son: es una tecnología más selectiva en cuanto a los analitos que extrae; se obtienen analitos más puros, es decir, con menores trazas de agente disolvente; permite la extracción de compuestos termolábiles y es considerada una tecnología verde dado que no causa daño tan severo al medio ambiente (disminución de la capa de ozono) en comparación con los disolventes orgánicos.

La extracción con fluidos supercríticos es una tecnología que ha sido aplicada en diversas áreas de investigación como son los productos naturales, la farmacéutica, el medio ambiente y los alimentos, siendo esta última área donde se presenta el uso más extendido de la SFE, donde se ha empleado para la obtención de analitos contenidos en matrices tanto líquidas, como el caso de la extracción de polifenoles de vino de arroz (Wu *et al.*, 2009), como en matrices sólidas como el caso de la extracción de  $\alpha$ -tocoferol de semillas de uva (Bravi *et al.*, 2007). Sin embargo, en la actualidad el mayor interés se ha dado por la extracción de aceites esenciales de una gran diversidad de fuentes debido a su amplia aplicación para la elaboración y preservación de alimentos. Un ejemplo de ello es la planta llamada *Mentha spicata L.*, también conocida como menta verde o hierbabuena, que es una planta con aroma fragante que se emplea comúnmente para decoración de platillos. En la elaboración de alimentos procesados, el aceite esencial de menta es empleado para elaborar bebidas, gelatinas, jarabes, helados, dulces, aderezos, yogurts, gomas de mascar entre otros. En lo que respecta a la conservación se han reportado que el aceite esencial de menta verde posee propiedades antimicrobianas contra diversas cepas de bacterias Gram-positivo y Gram-negativo (Sivropoulou *et al.*, 1995), *Staphylococcus aureus* y *E. coli* (Torres *et al.*, 1996). También es empleado como estabilizador de aceite de diversas semillas dado que posee propiedades antioxidantes.

Con base en lo anterior, el objetivo de este proyecto fue construir un equipo de extracción supercrítica a escala laboratorio en el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos ubicado en el edificio del Laboratorio de Productos Naturales y Alimentos de la Universidad Tecnológica de la Mixteca, y validar su funcionamiento con la extracción del aceite esencial de *Mentha spicata L.* Aunado a que la construcción del equipo pone al alcance de los alumnos y de los profesores-investigadores de la universidad una tecnología emergente que solo es posible encontrar en pocos centros de investigación.



# **CAPÍTULO I**

## **MARCO TEÓRICO**

## 1.1 PROCESO DE EXTRACCIÓN.

La extracción puede ser definida como el método por el cual se lleva a cabo la remoción o separación de un material soluble a partir de un residuo insoluble, ya sea líquido o sólido, mediante un tratamiento con un disolvente (Sapkale *et al.*, 2010). El fundamento de dicho proceso se sustenta en el fenómeno de transferencia de masa, el cual a su vez depende de diversas variables, siendo una de las principales la velocidad de difusión del soluto a través de la capa límite del líquido en la interfase (Sapkale *et al.*, 2010)

A lo largo de la historia se han desarrollado numerosas técnicas enfocadas a la extracción de compuestos de interés. Todas estas técnicas poseen algunos objetivos en común (Smith, 2003):

- a) Extraer compuestos bioactivos específicos de muestras complejas.
- b) Aumentar la selectividad de los métodos de extracción.
- c) Aumentar la sensibilidad de los análisis mediante el aumento de la concentración de compuestos específicos.
- d) Convertir los compuestos bioactivos a formas más adecuadas para su detección y separación.
- e) Proporcionar un método fuerte y reproducible, que es independiente de las variaciones en la matriz de la muestra.

Todos los métodos de extracción hacen uso del mismo conjunto básico de conceptos para concentrar el analito o analitos de forma selectiva en una de las fases. La distribución del analito en alguna de las dos fases depende de factores como la constante de equilibrio, la temperatura, el pH y los volúmenes relativos de ambas fases. La tasa de extracción se basa en la cinética de migración y por lo tanto se rige por la temperatura y los fenómenos de transporte (Smith, 2003).

## 1.2 CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.

A pesar de que todos los métodos de extracción trabajan bajo el mismo conjunto básico de conceptos, entre sus metodologías presentan particularidades que los diferencian. En base a estas particularidades algunos autores presentan propuestas de clasificación de los métodos de extracción. En general los métodos de extracción se dividen en dos tipos: sólido-líquido y líquido-

líquido. Sin embargo algunos otros autores presentan propuestas diferentes como la realizada por Azmir *et al.*, (2013) quien agrupa a los métodos de extracción en dos categorías: métodos convencionales y métodos no convencionales.

### 1.2.1 MÉTODOS CONVENCIONALES.

Son también denominados métodos o técnicas clásicos. La mayoría de éstos están basados en el uso de diferentes disolventes que son empleados en combinación con la aplicación de calor y/o un proceso de mezclado. Estos métodos clásicos son:

- 1.- Extracción Soxhlet.
- 2.- Maceración.
- 3.- Hidrodestilación.

En la extracción Soxhlet se utiliza un equipo con el mismo nombre. Dicho equipo fue propuesto por el químico alemán Franz Ritter von Soxhlet (1879), quien lo diseñó principalmente para la extracción de lípidos. En esta metodología una pequeña cantidad de muestra seca se coloca en un dedal. Éste a su vez se coloca dentro de un matraz de destilación el cual contiene el disolvente. Cuando el nivel de desbordamiento es alcanzado, el disolvente contenido en el dedal es aspirado por un sifón quien lo vierte nuevamente al matraz de destilación. Esta solución contiene los solutos extraídos de la matriz. Él o los solutos extraídos se quedan en el matraz de destilación, mientras que el disolvente retorna nuevamente hacia el dedal que contiene la muestra. Este proceso se repite varias veces hasta que la extracción se completa (Azmir *et al.*, 2013).

Por otra parte, la maceración ha sido utilizada por muchos años para la preparación casera de tónicos ya que es una forma económica de obtener aceites esenciales y preparaciones medicinales. Ésta consta de varios pasos. El primero de ellos es la molienda de la muestra hasta obtener pequeñas partículas, aumentando de esta manera la superficie de contacto entre la muestra y el disolvente. El segundo paso es en sí el proceso de extracción en donde el disolvente adecuado es colocado en un recipiente junto con la muestra molida. Tras permanecer cierto

tiempo en contacto se procede con el tercer paso, el cual consiste en separar el disolvente de la muestra sólida. El proceso se lleva a cabo mediante una filtración (Azmir *et al.*, 2013).

En cuanto a la hidrodestilación hay tres tipos: destilación de agua, destilación de vapor y agua; y destilación directa de vapor (Vankar, 2004). En la hidrodestilación las muestras se empacan en un compartimiento fijo. Posteriormente se añade agua en cantidad suficiente y ésta se lleva a ebullición. Una alternativa es la inyección directa de vapor sobre la muestra. El agua caliente y el vapor actúan como los disolventes que liberan el compuesto activo de la muestra que lo contiene. Un enfriamiento indirecto con agua condensa la mezcla de vapor de agua y compuesto extraído. La mezcla condensada fluye desde el condensador hacia un separador en donde el agua y el compuesto extraído son separados (Silva *et al.*, 2005). Éste método de extracción implica tres principales procesos físico-químicos: la solubilización, la hidrólisis y la descomposición por el calor. A una temperatura de extracción alta, algunos componentes volátiles se pueden perder. Éste es el principal inconveniente de éste método para la extracción de compuestos termolábiles (Azmir *et al.*, 2013).

### **1.2.2 MÉTODOS NO CONVENCIONALES.**

A pesar de ser ampliamente usados, los métodos convencionales presentan algunos retos que hay que superar. Los principales son: tiempos de extracción largos, requerimiento de disolventes costosos y altamente puros, evaporación de grandes cantidades de disolvente, baja selectividad de extracción (tendencia a extraer simultáneamente compuestos de diversos tipos), descomposición de compuestos termolábiles, uso de disolventes potencialmente cancerígenos y agresivos con el medio ambiente (Luque de Castro y García-Ayuso, 1998). A pesar de esto son sugeridos por la AOAC para la cuantificación del extracto total debido a su elevado poder de disolución que redundaría en un elevado rendimiento de extracción. Con el fin de superar los retos que presentan los métodos convencionales se han introducido nuevas y prometedoras técnicas de extracción. Las principales son:

- 1.- Extracción asistida por ultrasonido.
- 2.- Extracción asistida por campos eléctricos pulsantes.
- 3.- Extracción enzimática asistida.

4.- Extracción asistida por microondas.

5.- Extracción de líquidos a presión.

6.- Extracción con fluidos supercríticos.

Algunas de estas técnicas son consideradas como “técnicas verdes” ya que cumplen con las normas establecidas por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (EPA, por sus siglas en inglés).

*La extracción asistida por ultrasonido* (UAE por sus siglas en inglés) se fundamenta en el fenómeno de cavitación que es generado por la expansión y contracción que producen las ondas ultrasónicas al pasar a través de algún medio. En este proceso se genera una gran cantidad de energía que se utiliza en el proceso de extracción (Azmir *et al.*, 2013). El principal beneficio de la EAU ha sido observado en muestras sólidas de plantas ya que la energía generada por las ondas ultrasónicas facilita la lixiviación de compuestos orgánicos e inorgánicos (Herrera y Luque de Castro, 2005). La EAU involucra dos fenómenos físicos principales: a) la difusión del disolvente a través de la célula y b) lavado del contenido de la célula tras haber fragmentado sus paredes (Mason *et al.*, 1996). Las ventajas de la EAU como técnica no convencional y emergente son la reducción en el tiempo de extracción, la energía utilizada y la cantidad de disolvente empleado (Chemat *et al.*, 2008).

Por otra parte, la *extracción asistida por campos eléctricos pulsantes* (PEF por sus siglas en inglés) se fundamenta en destruir la estructura de la membrana celular para aumentar la extracción. Una célula viva es suspendida dentro de un campo eléctrico. Esto genera que las moléculas que forman parte de la estructura de la membrana se separen debido a la naturaleza dipolar de dichas moléculas. Cuando se supera un nivel crítico de potencial transmembranal cercano a 1 V se genera una repulsión formándose poros en las áreas más débiles de la membrana, aumentando así drásticamente la permeabilidad de ésta (Bryant y Wolfe, 1987). La PEF tiene la capacidad de aumentar la transferencia de masa, con lo cual se mejora el proceso de extracción y se disminuye el tiempo de extracción. Aunado a esto la PEF puede reducir al mínimo la degradación de compuestos sensibles al calor (Ade-Omowaye *et al.*, 2001).

Así mismo, en la *extracción enzimática asistida* se hace uso de enzimas específicas como celulasas,  $\alpha$ -amilasas y pectinasas para romper la pared celular y propiciar la hidrólisis de

polisacáridos y cuerpos lipídicos estructurales con la finalidad de mejorar el proceso de extracción (Rosenthal *et al.*, 1996 y Singh *et al.*, 1999). Esta tecnología maneja dos enfoques principales: extracción enzimática acuosa asistida (EAAE por sus siglas en inglés) y extracción enzimática asistida por prensado en frío (EACP por sus siglas en inglés), (Latif y Anwar, 2009). Niranjani y Hanmoungjai (2004) reconocen varios factores clave para llevar a cabo la extracción enzimática asistida. Estos son la composición y concentración de la enzima, tamaño de partícula de las muestras, la relación sólido-agua y el tiempo de hidrólisis.

En cuanto a la *extracción asistida por microondas* (MAE, por sus siglas en inglés) Alupuli *et al.*, (2012) indican que esta técnica involucra tres pasos secuenciales básicos. El primero de ellos es la separación de los solutos contenidos en los sitios activos de la matriz por efecto del aumento de temperatura y presión. El segundo paso involucra la difusión del disolvente a través de la matriz. El tercer y último paso consiste en la separación de los solutos del disolvente. Las principales ventajas de éste método de extracción son: calentamiento más rápido, reducción del gradiente térmico, tamaño del equipo, tiempo de extracción y aumento del rendimiento de extracción (Cravotto *et al.*, 2008).

Por último, el método de *extracción por líquidos presurizados* es conocido por varios otros nombres siendo los principales: extracción por fluidos presurizados (PFE), extracción con fluidos acelerados (ASE), extracción con disolventes mejorados (ESE) y extracción con disolventes altamente presurizados (HSPE) (Nieto *et al.*, 2010). El fundamento de PFE es mantener en estado líquido el disolvente aun sobre su punto de ebullición normal. Esto facilita el proceso de extracción (Azmir *et al.*, 2013). Esta técnica emplea pequeñas cantidades de disolvente debido a que la combinación de elevada presión y temperatura promueven la aceleración del proceso de extracción. La alta temperatura de extracción propicia el aumento de la solubilidad del analito al mejorar tanto la solubilidad como la velocidad de transferencia de masa, como consecuencia de la disminución de la viscosidad y tensión superficial de los disolventes (Ibañez *et al.*, 2012).

La extracción con fluidos supercríticos será tratada detalladamente en las secciones siguientes.

### 1.3 EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.

La aplicación de fluidos supercríticos para la extracción inició con Hannay y Hogarth en 1879 y sus primeras observaciones de la disolución de solutos en fluidos supercríticos (SCF por sus siglas en inglés) introduciendo a estos como un nuevo medio disolvente (Herrero *et al.*, 2010). Por otra parte, Zosel en 1964 presentó una patente para descafeinar el café empleando para ello fluidos supercríticos (Azmir *et al.*, 2013). Es a partir de esta fecha que este método de extracción ha despertado un amplio interés científico y ha sido utilizado con éxito en aplicaciones medioambientales, farmacéuticas, polimerización y análisis de alimentos (Zougagh *et al.*, 2004).

#### 1.3.1 FLUIDO SUPERCRÍTICO.

##### 1.3.1.1 DEFINICIÓN.

En 1822 Cagniar de la Tour descubrió el punto crítico. El significado preciso de este punto fue establecido por el físico irlandés Thomas Andrews, cuando definió el punto crítico como el punto final de la curva de coexistencia líquido-vapor (Bréchnignac *et al.*, 2007). En otras palabras el punto crítico de una sustancia pura se define como la máxima presión y temperatura a la que puede existir la sustancia en el equilibrio líquido-vapor. A temperaturas y presiones por encima de este punto, se forma un solo fluido homogéneo, que se conoce como fluido supercrítico (Fig. 1). La región que existe a temperaturas y presiones mayores que las críticas ( $T_c$  y  $P_c$ ), también llamada región de fluido supercrítico, se representa en la Figura 1 por la región sombreada y delimitada por las líneas continuas, las cuales no representan fronteras de fase, sino más bien los límites establecidos por un líquido y un gas (Smith *et al.*, 2007). El fluido supercrítico se produce por calentamiento de un gas por encima de su temperatura crítica o la compresión de un líquido por encima de su presión crítica (Nahar y Sarker, 2005).

Hedrick *et al.*, (1992) postulan que un fluido supercrítico se define como cualquier sustancia que está por encima de su temperatura crítica y presión crítica. La temperatura crítica es la temperatura más alta a la que un gas se puede convertir en un líquido mediante el aumento de la presión. La presión crítica es la presión más alta a la que un líquido se puede convertir en un gas tradicional por un aumento en la temperatura del líquido. Lo anterior se puede corroborar haciendo uso de la Figura 1 en donde se representa el punto crítico de una sustancia. A dicho

punto le corresponde una temperatura ( $T_c$ ) y presión ( $P_c$ ) específicos, que también son específicos para cada sustancia. Si se parte del punto crítico (en donde coexisten en equilibrio el estado líquido y gas) y se eleva la presión en cierta cantidad, manteniendo la temperatura constante, se favorece el estado líquido (punto L). En cambio, aumentando la temperatura y dejando la presión constante se favorece el estado gaseoso (punto N). Esto último se puede realizar al encontrarse operando en la frontera de la región supercrítica. Sin embargo, si tanto la presión como la temperatura se incrementan, se estará rebasando dicha frontera y se obtendrá un fluido supercrítico (punto M). De tal manera que por encima de la presión crítica y temperatura crítica, las propiedades de gas y líquido se vuelven idénticas, al grado de que no es posible distinguir cada una de estas fases.

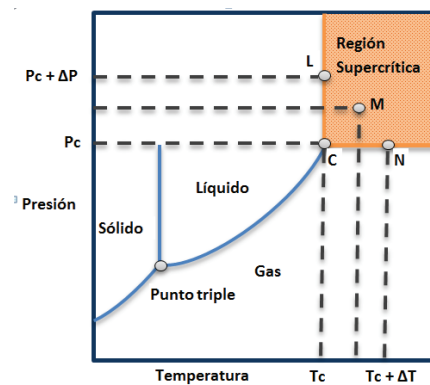


Fig. 1. Diagrama de fases P-T

El diagrama de fases de presión-temperatura de una sustancia se utiliza para indicar los límites de las regiones de los estados sólido, líquido y gas. La transición de uno de estos estados a otro se refleja por un cambio en la densidad de la sustancia (Fig. 2). Estos tres estados de la materia coexisten en equilibrio en el punto triple (T), que se forma por la intersección de las curvas de vaporización, licuefacción y sublimación. El otro extremo que limita la curva de vaporización define el punto crítico, más allá del cual el fluido es tan denso como un líquido mientras conserva ciertas propiedades de un gas (Bréchnignac *et al.*, 2007).



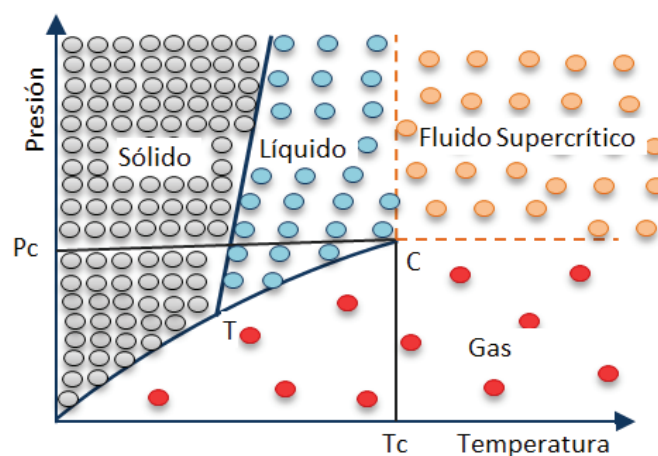


Fig. 2. Diagrama de fases P-T. T, punto triple; C, punto crítico.

En la Tabla 1 se muestran los valores de temperatura y presión que definen el punto crítico de varios compuestos comunes. Así mismo se indica el valor de la densidad que presenta cada compuesto al alcanzar este estado (Vargaftik, 1975).

Tabla 1. Valores críticos ( $T_c, P_c, \rho_c$ ) de algunos compuestos.

Compuesto	$T_c$ (°C)	$P_c$ (bar)	$\rho_c$ (Kg/m <sup>3</sup> )
CO <sub>2</sub>	31.2	73.8	468
NO <sub>2</sub>	36.4	72.4	457
NH <sub>3</sub>	132.4	112.9	235
H <sub>2</sub> O	374.1	22.1	317
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	9.5	50.6	220
C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	32.5	49.1	212
C <sub>3</sub> H <sub>8</sub>	96.8	42.6	225
C <sub>5</sub> H <sub>12</sub>	196.6	33.7	232
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	279.9	40.3	270
C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	289.5	49.2	304
C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>	320.8	40.5	290
CH <sub>4</sub> O	240	79.5	275
C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	243.1	63.9	280

Tabla 1. Continuación.

Compuesto	T <sub>c</sub> (°C)	P <sub>c</sub> (bar)	ρ <sub>c</sub> (Kg/m <sup>3</sup> )
C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	235.6	53.7	274
C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	235	47.6	273

De los compuestos mostrados en la Tabla 1, el CO<sub>2</sub> supercrítico es el más utilizado en procesos de extracción supercrítica debido a su alta difusividad combinada con su alto poder disolvente. Otra ventaja es que a temperaturas y presiones ambientales el CO<sub>2</sub> es gaseoso, lo que hace que la recuperación del analito sea fácil y libre de disolvente. En el campo de los alimentos y productos naturales, la capacidad del CO<sub>2</sub> de funcionar a bajas temperaturas utilizando un medio no oxidante es sumamente importante ya que esto permite la extracción de compuestos termolábiles o fácilmente oxidables (Mendiola *et al.*, 2007). El principal inconveniente del CO<sub>2</sub> supercrítico es su baja polaridad, lo cual puede remediarse haciendo uso de modificadores polares (co-disolventes) para cambiar la polaridad del fluido supercrítico y aumentar su poder de solvatación del compuesto o compuestos de interés (Herrero *et al.*, 2010). Otro aspecto que debe considerarse es que para obtener un fluido supercrítico es necesario alcanzar una elevada presión. Para este fin debe emplearse un equipo o sistema de presurización de elevada eficiencia, el cual requiere un suministro energético elevado para su funcionamiento.

### **1.3.1.2 CARACTERÍSTICAS DE LOS FLUIDOS SUPERCRÍTICOS.**

Cerca del punto crítico las propiedades de los fluidos cambian radicalmente. El fluido supercrítico se vuelve mucho más compresible que el fluido gaseoso y mucho más denso que el fluido líquido. De manera general se establece que las propiedades de un fluido supercrítico son intermedias entre las de un gas y un líquido (Hedrick *et al.*, 1992). En la Tabla 2 se muestra un comparativo de algunas propiedades de un fluido en su estado supercrítico con las de su estado gaseoso y líquido. Las propiedades que presentan estos fluidos son ajustables mediante la manipulación y control de la presión y temperatura para favorecer ya sea las características del gas o del líquido. En la Figura 3 se presenta un esquema de las propiedades generales de un fluido supercrítico.

Tabla 2. Propiedades comparativas de gases, líquidos y fluidos supercríticos (Luque de Castro *et al.*, 1994)

	Densidad ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ )	Difusividad ( $\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ )	Viscosidad ( $\text{g}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ )
<b>Gas</b>	1000	$1 \times 10^{-5}$	0.001
<b>Líquido</b>	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^{-9}$	0.05 – 0.1
<b>Fluido supercrítico</b>	$1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$	$1 \times 10^{-7}$	0.005 – 0.1

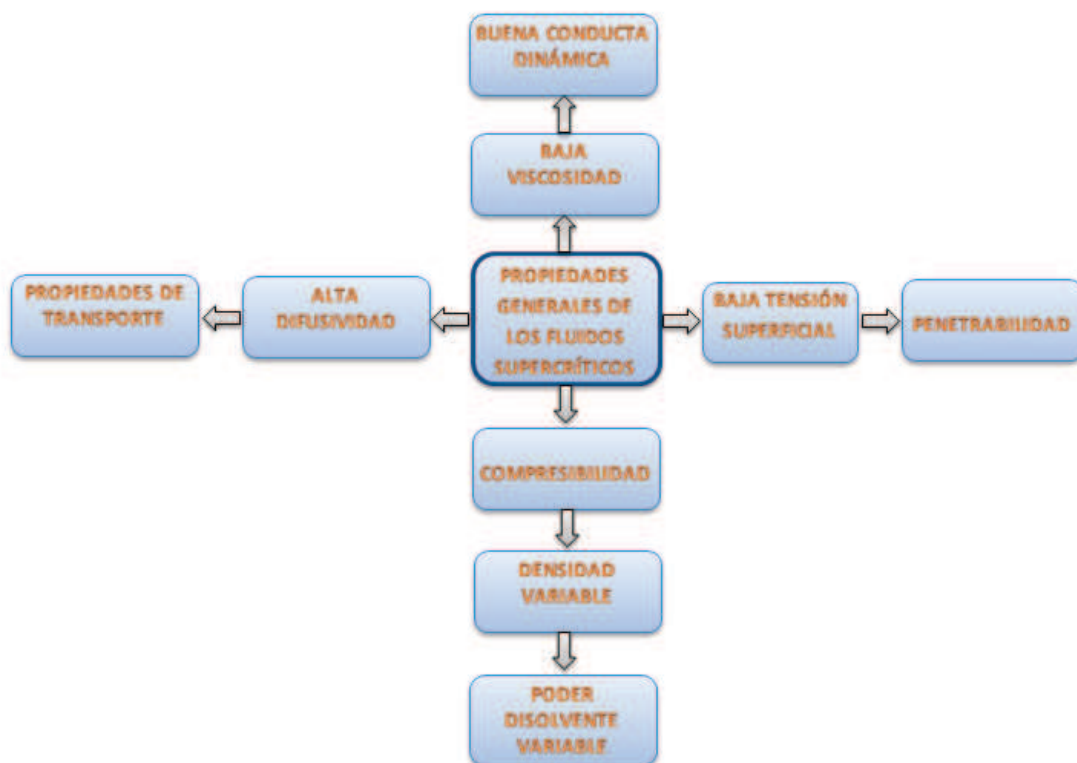


Fig. 3. Propiedades generales de los fluidos supercríticos (Luque de Castro *et al.*, 1994).

Conforme un fluido se acerca a su punto crítico la diferencia de densidad entre los estados líquido y gas se reduce hasta alcanzar un valor de cero al llegar a dicho punto (Bréchnac *et al.*, 2007). Los efectos de la presión y temperatura sobre la densidad también se ven alterados. En la

Figura 4 se presenta el efecto de la presión y la temperatura sobre la densidad  $\rho$  del dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ). El diagrama muestra la existencia de una región cercana al punto crítico en la que un ligero cambio en la presión puede inducir un cambio grande en la densidad. El efecto de la temperatura produce un efecto mucho menor sobre la densidad, un aumento considerable de temperatura generalmente no desencadena un aumento de la densidad. El comportamiento especial de esta propiedad acarrea consecuencias importantes para el comportamiento de los fluidos supercríticos, en particular, en la solubilidad, viscosidad y difusión de estos (Bréchnignac *et al.*, 2007).

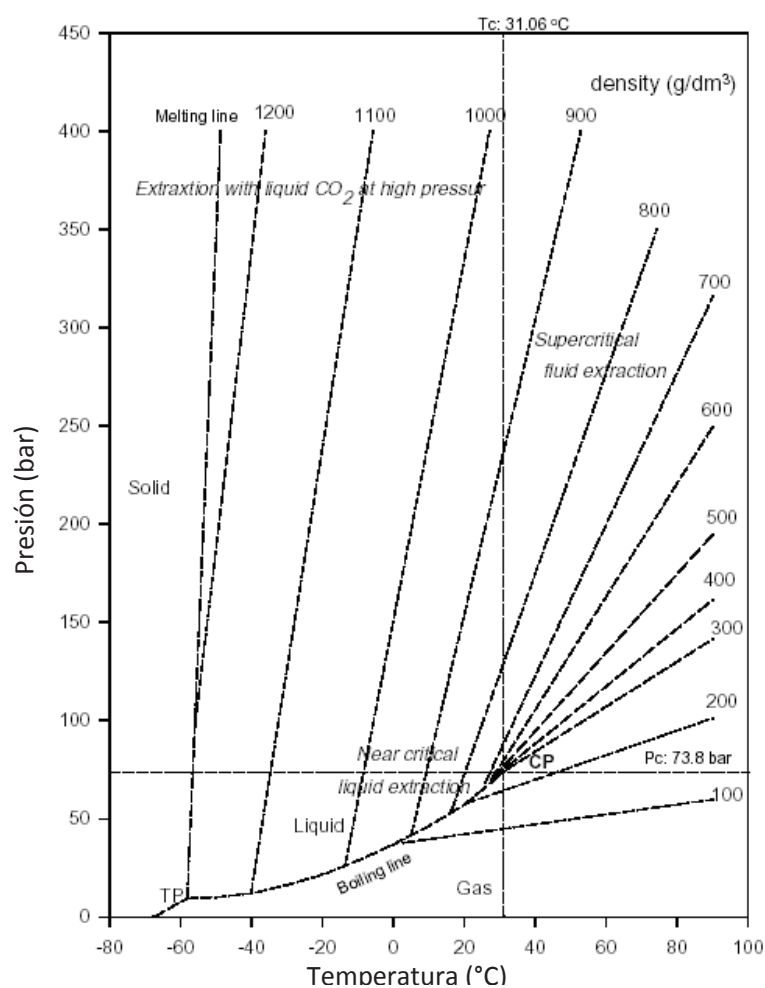


Fig. 4. Variación de la densidad del  $\text{CO}_2$  en función de la presión y temperatura (Mukhopadhyay, 2000).

**A) SOLUBILIDAD.**

La capacidad de un fluido para solubilizar un compuesto dado, depende de ciertas interacciones que se presentan, siendo las principales, interacciones dipolo-dipolo, puentes de hidrógeno y algunas veces reacciones de acomplejamiento por transferencia de carga (Carles, 1995). El poder disolvente de un fluido supercrítico depende del estado físico del fluido definido por la densidad, presión y temperatura, y también por su estado químico determinado por su polaridad, propiedades ácido-base, y la tendencia de formar puentes de hidrogeno. El poder de disolución  $\delta_f$  de estos fluidos a una temperatura y presión dadas (cercanas al punto crítico) puede expresarse de la siguiente forma (Giddings *et al.*, 1968):

$$\delta_f = 1.25P_c^{1/2} \frac{\rho_c(P,T)}{\rho_{liq}} \quad \text{Ec. 1}$$

donde  $P_c$  es la presión crítica del fluido en atmosferas,  $\rho_c$  es la densidad del fluido en g/ml (a una cierta presión y temperatura por encima de las críticas) y  $\rho_{liq}$  es la densidad estándar del fluido en estado líquido dado también en g/ml. Asumiendo una densidad del líquido de 0.92 g/mL y del fluido supercrítico es 0.46 g/mL (para CO<sub>2</sub> cuya  $P_c = 72.83$  atm),  $\delta_f$  puede ser estimada en un valor igual a  $5.34 \text{ (cal/mL)}^{1/2}$ . Con un incremento en  $\rho_c$ ,  $\delta_f$  se incrementará hasta alcanzar un valor máximo de  $10.7 \text{ (cal/mL)}^{1/2}$  cuando  $\rho_c$  alcanza el valor de  $\rho_{liq}$ . Cabe resaltar que las densidades similares a las de los líquidos son rápidamente alcanzadas con pequeños incrementos de la presión en el intervalo de 0.7 a 2 veces la presión crítica (Hedrick *et al.*, 1992). En la ecuación 1, el término  $1.25P_c^{1/2}$  cuantifica el estado químico del fluido, en tanto que el término  $\rho_c/\rho_{liq}$  cuantifica el estado físico. En la Tabla 3 se muestran los valores máximos de poder disolvente de varios fluidos. Dichos valores corresponden a los máximos valores de poder de disolución que se pueden alcanzar a presiones elevadas, cuando  $\rho_c = \rho_{liq}$ .

Tabla 3. Poder disolvente máximo de algunos fluidos. (Bréchnignac *et al.*, 2007).

Fluido	$\delta_f \text{ (cal/cm}^3)^{1/2}$
CH <sub>3</sub> OH	14.4
NH <sub>3</sub>	13.2
CO <sub>2</sub>	10.7
N <sub>2</sub> O	10.6

Como se observa, el poder disolvente de un fluido supercrítico es directamente proporcional a la densidad del fluido. Para alcanzar una mayor densidad en el fluido, generalmente se recurre a trabajar con presiones elevadas (por encima de la crítica) y no a temperaturas elevadas ya que el efecto de la presión y la temperatura sobre la densidad de un fluido supercrítico es similar a lo que ocurre con el estado gaseoso y líquido. Para un fluido en estado gaseoso un incremento de su presión genera una disminución del volumen molar y por tanto un aumento de su densidad. Lo opuesto ocurre cuando se genera un incremento de la temperatura. Para el caso del estado líquido, al considerarse prácticamente incompresible, la presión no tiene efecto significativo sobre la densidad, en tanto que la temperatura sí. Sin embargo el efecto sobre la densidad tiene el mismo comportamiento que en el estado gaseoso (Smith *et al.*, 2007).

La solubilidad de un soluto en un líquido se puede predecir usando la teoría del poder disolvente, en la cual un soluto puede llegar a ser más soluble cuando sus parámetros de solubilidad se acercan a los de los disolventes. Para un soluto no polar, Small (1953) introduce el parámetro de solubilidad  $\delta_s$  dado por

$$\delta_s = \frac{\rho}{M} (\Delta H_r - RT) = \frac{\rho}{M} \sum G \quad \text{Ec. 2}$$

Donde  $\Delta H_r$  es el calor de vaporización del soluto (cal/mol), G es la constante de atracción molar,  $\rho$  es la densidad del fluido (g/ml), M es la masa molar (g/mol), R es la constante del gas ideal y T es la temperatura.

Por otra parte, la diferencia de presión de vapor a presión atmosférica entre el CO<sub>2</sub> y los solutos típicos es considerablemente más grande que la de los sistemas líquido-soluto. Esta característica representa la facilidad con la que el soluto disuelto se puede separar del CO<sub>2</sub> supercrítico tras la descompresión, en contraste con los sistemas líquido-solutos (Hedrick *et al.*, 1992).

## B) VISCOSIDAD.

La viscosidad es un parámetro que refleja el grado en el que una molécula es capaz de moverse en un entorno que contiene a otras moléculas. En un líquido, la viscosidad disminuye al aumentar la temperatura, ya que ciertos enlaces que contribuyen a su cohesión se rompen. La viscosidad de un fluido supercrítico oscila en un rango de  $10^{-4}$  a  $10^{-3}$  Pa.s. Estos valores son más altos que los que se presentan en los gases y de 10 a 100 veces menores que la viscosidad en su estado líquido. Por lo tanto, el coeficiente de difusión de un soluto es mayor en un fluido supercrítico que en un líquido (Bréchnignac *et al.*, 2007). En la Figura 5 se observa la dependencia que presenta la viscosidad con la presión para el caso del  $\text{CO}_2$  a diferentes temperaturas. En la región cercana al punto crítico se puede observar como la viscosidad varía rápidamente con los cambios de presión (Bréchnignac *et al.*, 2007).

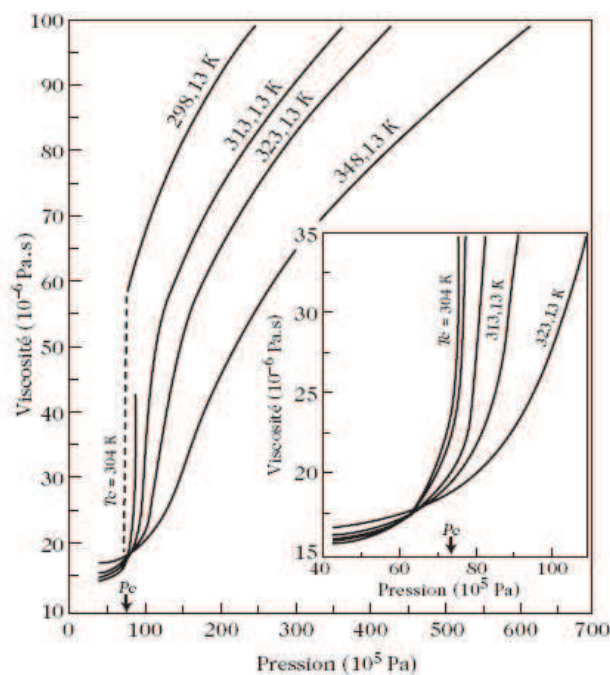


Fig. 5. Dependencia de la viscosidad con la presión para el  $\text{CO}_2$  a diferentes temperaturas.  
Inserción: primer plano cerca del punto crítico (Stephan y Lucas, 1979).

**C) DIFUSIÓN.**

Cercano a la región crítica, al igual que con los parámetros ya descritos, los fluidos supercríticos presentan propiedades de transporte intermedias entre las de un gas y un líquido (Bréchnignac *et al.*, 2007). Como muestra de ello, en la Tabla 4 se enlistan los órdenes de magnitud del coeficiente de difusión para líquidos, gases y fluidos supercríticos. En estos últimos, se presentan dos mecanismos de transporte para los solutos: convección y difusión. Durante una transformación física o química, a menudo surgen gradientes de temperatura y concentración los cuales modifican la composición local. Después los solutos se difunden desde las regiones más concentradas a las menos concentradas, atendiendo a los gradientes de concentración. El transporte de masa por convección es favorecido por las vibraciones térmicas, las cuales son más significativas en regiones cálidas, induciendo así el movimiento de las moléculas hacia las zonas más frías (Bréchnignac *et al.*, 2007). En la Figura 6 se presentan los valores de difusividad de un soluto en CO<sub>2</sub> supercrítico, líquido y gaseoso. Obsérvese que en la región supercrítica la difusividad incrementa cuando la presión cae y la temperatura se eleva.

Tabla 4. Órdenes de magnitud del coeficiente de difusión de fluidos en diferentes estados (Bréchnignac *et al.*, 2007).

	<b>Gas</b>	<b>Fluido supercrítico</b>	<b>Líquido</b>
<b>Coeficiente de difusión, D (cm<sup>2</sup>s<sup>-1</sup>)</b>	1 – 4 X 10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-4</sup> – 10 <sup>-3</sup>	0.2 – 2 X 10 <sup>-5</sup>



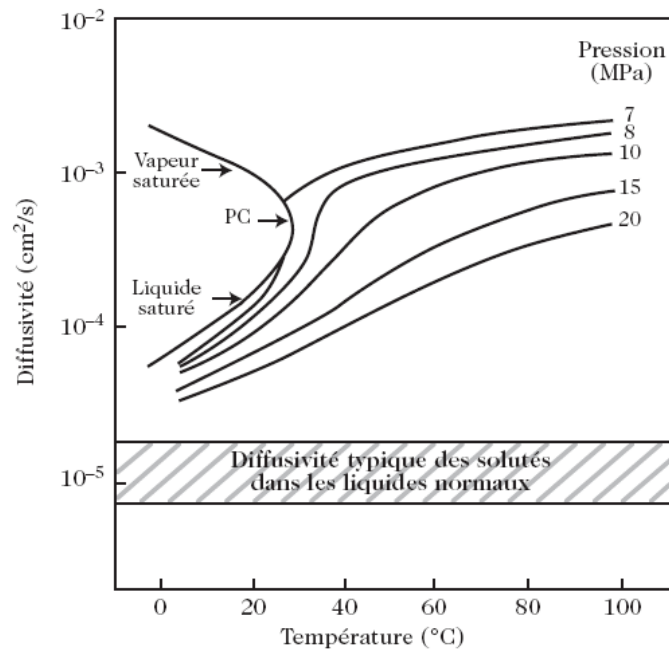


Fig. 6. Dependencia de la difusividad con la temperatura a diferentes presiones para un soluto en CO<sub>2</sub> (Reid *et al.*, 1977).

#### D) CONSTANTE DIELECTRICA.

Una de las propiedades fisicoquímicas más importantes para predecir la solubilidad de un determinado fluido es la constante dieléctrica (Luque de Castro *et al.*, 1993). El CO<sub>2</sub> posee una constante dieléctrica relativamente baja por lo que la gama de solutos que puede extraer está limitada, especialmente para especies iónicas (Togill *et al.*, 2014). Sin embargo, en la región crítica, la constante dieléctrica del CO<sub>2</sub> se ve alterada presentando un comportamiento similar a la densidad. Como lo muestra la Figura 7 un aumento de la presión a temperatura constante genera un aumento de la constante dieléctrica. En un estado muy denso (200 bar y 40°C) el CO<sub>2</sub> posee una constante dieléctrica de aproximadamente 1.5, por lo que puede compararse con un disolvente muy polar, adecuado para disolver compuestos polares (Luque de Castro *et al.*, 1993).

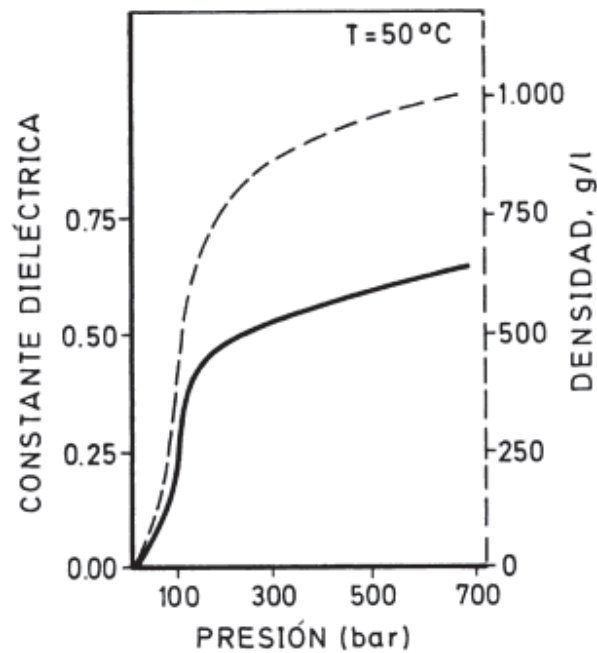


Fig. 7. Influencia de la presión en la constante dieléctrica y densidad del CO<sub>2</sub> supercrítico a temperatura ambiente (Luque de Castro *et al.*, 1993).

### 1.3.2 EQUIPO Y PROCESO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.

El método de extracción supercrítica es considerado una tecnología emergente en el campo de la extracción de compuestos. En la actualidad el principal fluido supercrítico empleado como disolvente es el CO<sub>2</sub>. El dióxido de carbono es barato, poco agresivo con el medio ambiente y generalmente reconocido como seguro por la Agencia de Drogas y Alimentos (FDA por sus siglas en inglés) y la Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos (EFSA por sus siglas en inglés) (Herrero *et al.*, 2010). Un sistema básico de extracción con fluidos supercríticos (EFS) se compone en general de las siguientes partes (Azmir *et al.*, 2013):

- a) Un tanque de fase móvil.
- b) Una bomba para presurizar el gas.
- c) Una celda de co-disolvente, en su caso.
- d) Una bomba de co-disolvente, en su caso.
- e) Un sistema de control de temperatura que contienen a la celda de extracción.

- f) Un controlador para mantener la presión dentro del sistema
- g) Una celda de recepción o captura.

Por lo general algunos otros implementos como el medidor de flujo o el de gas seco/húmedo se pueden incluir dentro del sistema (Pronyk y Mazza, 2009). En la Figura 8 se muestra un diagrama de un sistema típico de EFS en donde se identifican los elementos ya mencionados.

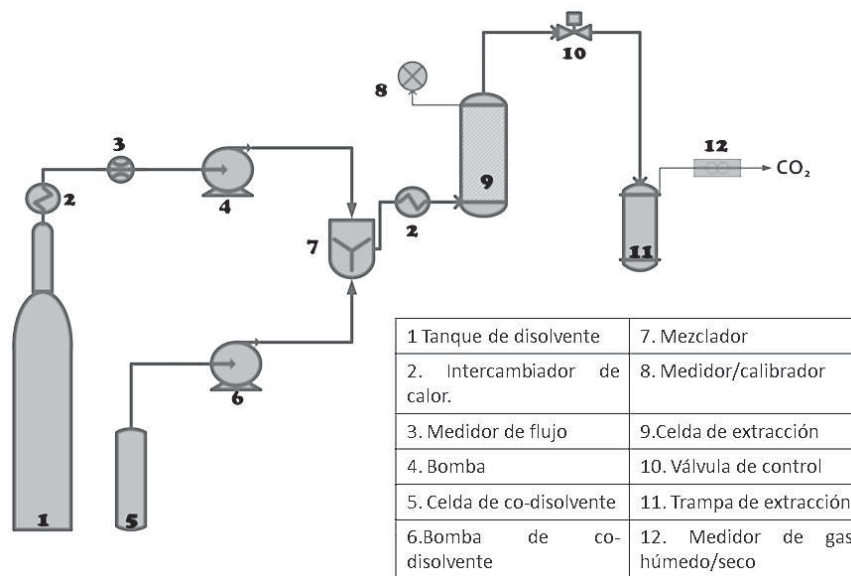


Fig. 8. Diagrama de los componentes básicos de un sistema de SFE (Azmir *et al.* 2013).

Los pasos fundamentales del proceso de extracción supercrítica, de acuerdo al esquema mostrado en la Figura 8 son los siguientes:

- 1) El disolvente gaseoso contenido en el tanque (1) se hace circular hacia un sistema de enfriamiento también llamado chiller (2) para provocar la transición del disolvente a su estado líquido.
- 2) El disolvente en estado líquido es presurizado hasta alcanzar la presión deseada empleando para ello una bomba de alta eficiencia (4).
- 3) El disolvente líquido presurizado se suministra en la celda de extracción (9) en donde previamente se deposita la matriz que contiene el compuesto o compuestos que se desea extraer.

- 4) La celda de extracción está provista de un sistema de calentamiento (baño térmico o enchaquetado) que le permite alcanzar la temperatura interna necesaria para convertir al disolvente presurizado en un fluido supercrítico.
- 5) Tras estar en contacto el fluido supercrítico con la matriz, se obtiene una mezcla fluido supercrítico-compuesto(s) de interés.
- 6) La mezcla de fluido supercrítico-compuesto(s) de interés se hace circular hacia la celda de separación o separador (11) en donde la mezcla es despresurizada generando la separación del fluido supercrítico y el compuesto(s) de interés por diferencia de densidades.
- 7) En la última etapa, por efecto de la despresurización, el fluido supercrítico sufre una transición al estado gaseoso, lo que facilita la separación del CO<sub>2</sub> de la mezcla proveniente de la celda de extracción.

Existen variantes del proceso de extracción en donde en lugar de utilizar un chiller para llevar al disolvente a un estado líquido y después presurizarlo, se omite la presencia de éste implemento y el disolvente en estado gaseoso es comprimido hasta alcanzar la presión deseada, empleando un compresor de alta eficiencia, para después ser inyectado en la celda de extracción y continuar con el proceso de extracción. Como ejemplo de ésta variante se tiene lo realizado por Gutiérrez-Lara *et al.*, (2013) quienes emplearon un equipo de extracción supercrítica que poseía un compresor para la obtención de aceite esencial de amaranto. Otro ejemplo similar es el de Davarnejad *et al.*, (2008) quienes utilizaron un equipo de extracción supercrítica provisto de un compresor para la extracción de  $\beta$ -caroteno a partir de aceite crudo de palma.

### **1.3.3 CLASIFICACIÓN DE LOS PROCESOS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA DE ACUERDO AL MODO DE OPERACIÓN.**

La extracción supercrítica se puede llevar a cabo mediante el empleo de un modo estático, dinámico o un modo estático-dinámico acoplado (Hedrick *et al.*, 1992). Una extracción en modo estático hace referencia a un proceso en donde se utiliza una cantidad fija de fluido para interactuar con el sistema compuesto-matriz. El proceso consiste en presurizar el recipiente que contiene la matriz con el fluido. De esta manera se aprovecha la alta difusividad del fluido

supercrítico para acceder al sistema analito-matriz (Hedrick *et al.*, 1992). Uno de los problemas experimentales encontrados con una extracción estática es que puede no ser exhaustiva debido a que el fluido supercrítico puede llegar a saturarse completamente con el analito.

En el caso de la extracción dinámica, el fluido supercrítico se hace pasar continuamente a través del sistema compuesto-matriz. Éste proceso es más exhaustivo que la extracción estática porque el fluido supercrítico libre del compuesto está siempre en contacto con la muestra. El inconveniente en este tipo de extracción es que se utilizan grandes cantidades de fluido (Hedrick *et al.*, 1992).

Finalmente se tiene la combinación de los dos modos anteriores. El proceso comienza siendo estático y culmina siendo dinámico. Este procedimiento generalmente se emplea cuando se requiere que un compuesto se difunda a la superficie de la matriz para poder ser extraído. Al inicio no se genera flujo neto del fluido supercrítico dentro del sistema. Pasado un cierto tiempo el sistema se pone en modo dinámico mediante la apertura de válvulas permitiendo la entrada de fluido supercrítico libre de analito y la salida del fluido saturado (Hedrick *et al.*, 1992). De estos tres modos de operación, la extracción dinámica es la más empleada (Stahl *et al.*, 1988 y Bartle *et al.*, 1990).

#### **1.3.4 ADICIÓN DE CO-DISOLVENTES.**

Con respecto al uso de modificadores, la Figura 9 muestra un recuento estadístico de los co-disolvente más utilizados. La razón principal de la adición de un segundo disolvente a la fase crítica se sustenta en mejorar la afinidad para solubilizar solutos polares con el CO<sub>2</sub> supercrítico; por ello, cada día se vuelve más común el empleo de co-disolventes en la experimentación con fluidos supercríticos. De Melo *et al.*, (2014) reportan que de un total de 441 artículos y publicaciones revisadas, el 38% hace mención del uso de CO<sub>2</sub> supercrítico modificado con un co-disolvente, siendo dominado por el empleo de etanol en un 53% de los trabajos que involucran extracciones con co-disolventes. El etanol es un disolvente inocuo tanto para la salud humana como para el medio ambiente lo que le proporciona una gran ventaja frente a otros disolventes como el metanol, particularmente cuando se trata de aplicaciones en el área de los alimentos, la industria cosmética y farmacéutica (De Melo *et al.*, 2014). Además de lo ya mencionado, el etanol

es una sustancia altamente polar lo cual significa que una pequeña adición puede aumentar significativamente la polaridad del disolvente supercrítico (Reid *et al.*, 2001).

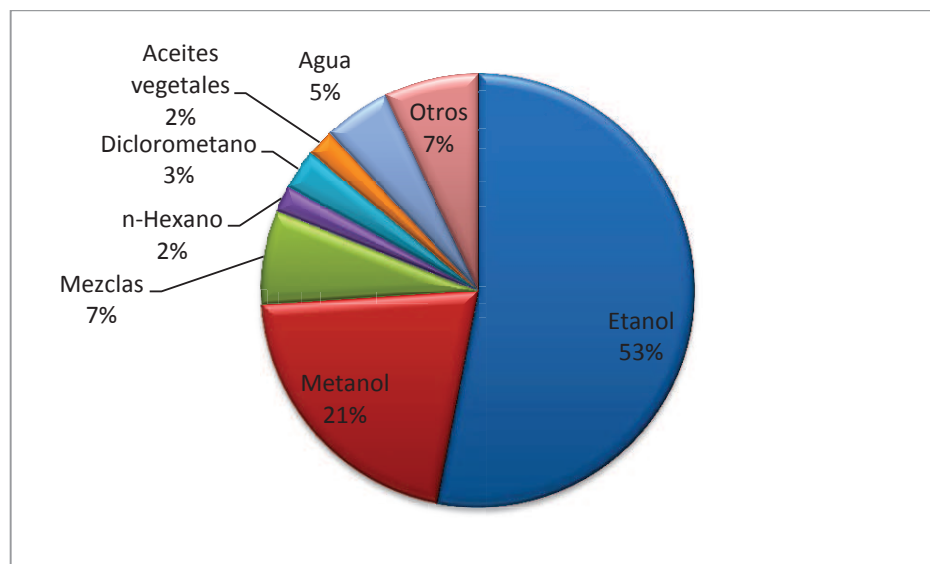


Fig. 9. Co-disolventes más empleados en SFE en matrices vegetales, basado en un total de 166 publicaciones de una base de datos (De Melo *et al.*, 2014)

Un aspecto a resaltar del trabajo con fluidos supercríticos asistidos con co-disolventes es su aplicación de dos formas distintas. El procedimiento más convencional consiste en mezclar el CO<sub>2</sub> con el co-disolvente en porciones fijas en el transcurso del tiempo. Para ello se requiere de una bomba y una línea de alimentación independientes para cada fluido. La otra alternativa consiste en impregnar la matriz con el co-disolvente al inicio del procedimiento, seguido de la extracción empleando solamente CO<sub>2</sub> supercrítico. Mientras que el primer procedimiento se caracteriza en términos de la proporción de co-disolvente empleado en la mezcla, la segunda se describe por la cantidad total de co-disolvente impregnado (De Melo *et al.*, 2014).

## **1.4 CONSIDERACIONES GENERALES PARA LA CONSTRUCCIÓN DE EQUIPOS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.**

### **1.4.1 INSTRUMENTACIÓN Y MEDICIÓN.**

Los procesos modernos de producción requieren límites de precisión cada vez más estrechos con costos de producción bajos, por lo que es importante el uso de instrumentos de medición más precisos y baratos (Morris, 2001).

#### ***1.4.1.1 APLICACIÓN DE LOS SISTEMAS DE MEDICIÓN.***

Hoy en día la aplicación de los instrumentos de medición puede ser clasificada en tres áreas básicas: regulación del comercio, monitoreo de funciones y control de sistemas de retroalimentación automáticos. En los procesos de ingeniería, el área básica de interés es el monitoreo de funciones. Estos instrumentos de medición proporcionan información que permite determinar las acciones acordes a tomar. Por ejemplo, en un proceso químico, el progreso de las reacciones químicas se indica mediante la medición de las temperaturas y presiones en diversos puntos. Estas mediciones permiten al operador determinar el suministro de energía que se debe proveer a los calentadores, los flujos de agua de refrigeración, la posición de las válvulas, etc. (Morris, 2001).

#### ***1.4.1.2 MEDICIÓN DE LA TEMPERATURA.***

Los instrumentos para medir la temperatura se pueden dividir de acuerdo al principio físico con el que operan. Los principios utilizados son (Morris, 2001):

- El efecto termoeléctrico.
- Cambio de resistencia.
- Sensibilidad equipos semiconductores.
- Emisión de calor por radiación.

- Termografía.
- La expansión térmica.
- Cambio de frecuencia de resonancia.
- Sensibilidad de dispositivos de fibra óptica.
- Termometría acústica.
- Cambio de color.
- Cambio de estado del material.

Basado en los principios ya descritos, los principales dispositivos para medir la temperatura son: los termopares, los termistores, los transistores y los instrumentos tradicionales dentro de los que se encuentran termómetros de vidrio, bimetálicos y de presión. Los termopares operan bajo el principio de que cuando dos metales diferentes cualesquiera están conectados entre sí, una fem (fuerza electromotriz que genera una diferencia de potencial que se mide en voltios), que es una función de la temperatura, se genera en la unión de los metales (Morris, 2001). Estos dispositivos poseen una sensibilidad de medición entre 10 y 80  $\mu\text{V}/^\circ\text{C}$ , con errores que rondan valores entre  $\pm 0.5\%$  y  $\pm 0.75\%$  y rangos de medición que van de  $-200^\circ\text{C}$  a  $2300^\circ\text{C}$ . En general, los termopares son relativamente baratos de manufacturar. Sin embargo tienden a perder exactitud en la medición con el paso del tiempo y en muchas aplicaciones su rendimiento se ve diezmado por efecto de la contaminación producto del ambiente de trabajo. Por su parte los termistores son dispositivos que operan bajo el principio físico de la variación de la resistencia de un material con la temperatura (Morris, 2001). Son fabricados principalmente de 4 metales: platino, níquel, cobre y tungsteno, siendo los termistores de platino los que presentan mejores características con un error de medición de aproximadamente  $\pm 0.4\%$  en un rango de temperatura comprendido entre  $-200$  y  $40^\circ\text{C}$ . En general, los intervalos de medición de estos dispositivos se ubican dentro de  $-270$  a  $1100^\circ\text{C}$ . En comparación con los termopares, estos dispositivos presentan un costo más elevado.

En lo que respecta a los transistores, éstos poseen la ventaja de ser económicos pero una dificultad que afecta su uso es la necesidad de proporcionarles una fuente de alimentación externa al sensor. La desventaja es que tienen un rango de medición limitado que va de  $-50^\circ\text{C}$  a  $150^\circ\text{C}$ . Su rango de error es de  $\pm 3\%$  lo que también limita su campo de acción (Morris, 2011). Con respecto a los termómetros de líquido de vidrio, además del material del que están elaborados, la



desventaja que poseen es que el proceso de lectura del menisco introduce algunos errores de medición con un error cercano a  $\pm 1\%$ . A pesar de ello encuentran aplicación en la industria para medir temperaturas en un rango de  $-200$  hasta  $1500\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Los termómetros bimetálicos son utilizados para medir temperaturas entre  $-75$  hasta  $1500\text{ }^{\circ}\text{C}$ . El error en la exactitud de la medición en los mejores equipos de este tipo puede ser menor a  $\pm 0.5\%$ , aunque suelen ser dispositivos costosos. Finalmente, están los termómetros de presión que pueden ser utilizados para medir temperaturas en el rango de  $-250\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $2000\text{ }^{\circ}\text{C}$  con una inexactitud cercana a  $\pm 0.5\%$  (Morris, 2001); sin embargo, estos dispositivos han sido reemplazados por otros dispositivos como los termopares o los transductores.

#### A) SENSORES DE EFECTO TERMOELÉCTRICO (TERMOPARES).

Dadas sus características, estos dispositivos son los más empleados en la industria para la medición de la temperatura. Existen cinco tipos principales de termopares estándar de metal los cuales son: cromo-constantán (tipo E), hierro-constantán (tipo J), cromel-alumel (tipo K), nicrosil-nisil (tipo N) y cobre-constantán (tipo T) (Morris, 2001). En la Tabla 5 se resumen las principales características de estos tipos de termopares.

Tabla 5. Termopares y sus principales características (Morris, 2001)

TIPO	SENSIBILIDAD DE MEDICIÓN ( $\mu\text{V}/^{\circ}\text{C}$ )	ERROR ( $\pm\%$ )	RANGO DE MEDICIÓN ( $^{\circ}\text{C}$ )	OBSERVACIONES
<b>Cromel-Constantán (E)</b>	80	0.5	-200 a 900	Soportan ambientes oxidantes. Reducción de rendimiento y vida de uso en atmosferas reductoras.
<b>Hierro-Constantán (J)</b>	60	0.75	-150 a 1000	Poca afectación de rendimiento por atmosferas oxidantes o reductoras.
<b>Cobre-Constantán (T)</b>	60	0.75	Bajo cero hasta 200	Pueden ser utilizados en atmosferas oxidantes o reductoras hasta $350\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
<b>Cromel-Alumel (K)</b>	45	0.75	700 a 1200	Soportan ambientes oxidantes. Reducción de rendimiento y vida de uso en atmosferas reductoras.

Tabla 5. Continuación...

TIPO	SENSIBILIDAD DE MEDICIÓN ( $\mu\text{V}/^\circ\text{C}$ )	ERROR ( $\pm \%$ )	RANGO DE MEDICIÓN ( $^\circ\text{C}$ )	OBSERVACIONES
<b>Nicrosil-Nisil (N)</b>	40	0.75	700 a 1200	Mismo efecto que para los tipos Cromel-Alumel pero con un periodo de estabilidad y vida tres veces mayor.
<b>Platino (tipo R) Platino-Rodio (tipo S)</b>	10	0.5	Hasta 1500	Costo elevado. No útiles en atmosferas reductoras
<b>Tungsteno y Tungsteo-Renio</b>	20	0.5	Hasta 2300	No útiles en atmosferas oxidantes ni reductoras.

#### 1.4.1.3 MEDICIÓN DE LA PRESIÓN.

En la mayoría de las aplicaciones el rango de presión medible oscila entre 1.013 bar (presión atmosférica) hasta 7000 bar, que se considera un rango de presión normal, dentro de lo cual existe un gran número de dispositivos de medición (Morris, 2001). Los dispositivos para medir la presión en un proceso pueden ser divididos en tres grupos, basados en el método que utilizan para realizar la medición. El primer grupo incluye a los dispositivos que se basan en la medición de la altura de una columna de líquido; en el segundo grupo se encuentran los que se basan en la distorsión de una cámara de presión elástica y finalmente en los del tercer grupo se utilizan sensores de tipo eléctrico.

Dentro del segundo grupo de clasificación se encuentran tres tipos principales de dispositivos los cuales son: dispositivos de tubo de Bourdon, dispositivos de fuelle y dispositivos de diafragma (Perry *et al.*, 2001). El manómetro de presión de tubo de Bourdon con resorte en C, es uno de los dispositivos con mayor aplicación ya que pueden medir una amplia variedad de intervalos de presión (que van desde presiones inferiores a la atmosférica hasta superiores a 700 MPa). Así mismo se fabrican con diferentes estilos de receptáculos, tamaños de carátula y materiales de construcción. Dichos materiales se seleccionan en base a la presión que se pretende medir, la resistencia a la corrosión que pueda generar el material del proceso y el efecto de la temperatura en la calibración del dispositivo. Generalmente este tipo de dispositivos no debe

emplearse a temperaturas superiores a 65 °C, a menos que se trate de manómetros diseñados específicamente para soportar una mayor temperatura sin afectar su funcionamiento.

Los dispositivos de diafragma suelen clasificarse en dos tipos principales: aquellos que utilizan la característica elástica del diafragma y los que emplean un resorte u otro elemento elástico. En general estos dispositivos se emplean para los mismos fines que los medidores de Bourdon, aunque no se emplean para presiones elevadas. Su intervalo de medición va desde fracciones de pulgada de agua hasta aproximadamente 206.8 KPa manométricas.

#### 1.4.1.4 MEDICIÓN DE ALTA PRESIÓN (MAYOR A 7 000 BAR).

La medición de presiones elevadas (superiores a 7 000 bar) requiere de dispositivos especiales. Generalmente se lleva a cabo eléctricamente mediante el monitoreo del cambio de resistencia de cables fabricados con materiales especiales (Morris, 2001). Estos materiales poseen una resistencia-presión característica lo suficientemente lineal y sensible. Los más comunes son manganina y aleaciones de cromo-oro. Una bobina de alambre de alguno de estos materiales es colocada y sellada dentro de un fuelle flexible el cual está lleno de queroseno, como se muestra en la Figura 10. Una presión desconocida es aplicada en uno de los extremos del fuelle, el cual a su vez transmite la presión hacia la bobina. La presión aplicada es cuantificada por la medición de la resistencia de la bobina. Presiones superiores a 30 000 bar pueden ser medidas por dispositivos con alambres de manganina con una incertidumbre de  $\pm 0.5\%$ .

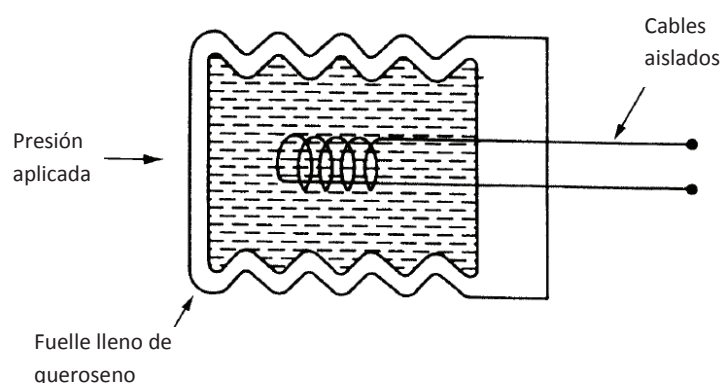


Fig. 10. Diagrama de un dispositivo de medición de alta presión (Morris, 2001).

#### 1.4.1.5 MEDICIÓN DE FLUJO.

Para realizar la medición de la velocidad a la cual un fluido fluye a través de un tubo cerrado, se tienen dos alternativas: medir la tasa de flujo de masa o la tasa de flujo de volumen. Lo más recomendable y preciso es la medición de la tasa de masa, ya que a diferencia del volumen, ésta no varía (Morris, 2001).

#### A) VELOCIDAD DE FLUJO DE VOLUMEN.

Es una forma apropiada de cuantificación del flujo de materiales que se encuentran en estado gaseoso, líquido o semi-líquido. Los materiales en estos estados suelen ser transportados en tuberías. Existen varios instrumentos que pueden ser utilizados para medir la velocidad de flujo de volumen (Morris, 2001).

#### MEDIDORES DE DIFERENCIAL DE PRESIÓN (TIPO OBSTRUCCIÓN).

Un tipo de dispositivos de medición de flujo son los denominados medidores de presión diferencial o de tipo obstrucción, dentro de los cuales encontramos a dispositivos de orificio en placa, el tubo de Venturi, boquilla de flujo y el tubo de flujo de Dall (Figura 11) (Morris, 2001).

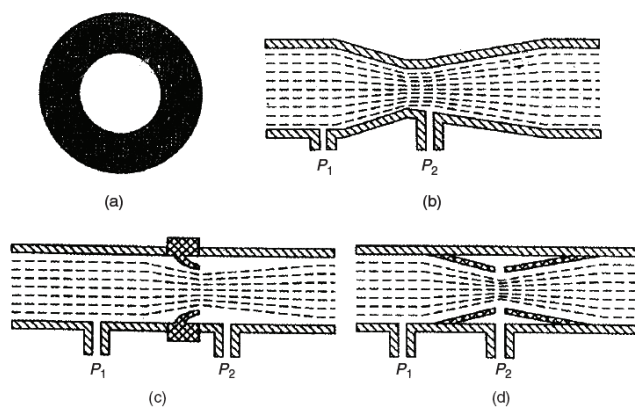


Fig. 11. Dispositivos de obstrucción: (a) Orificio en placa; (b) Venturi; (c) Boquilla de flujo; (d) Tubo de Dall, (Morris, 2001).

Los dispositivos de orificio en placa son baratos, simples y están disponibles en un amplio rango de tamaños. Una de sus limitaciones es su error típico de al menos  $\pm 2\%$  que puede alcanzar valores cercanos a  $\pm 5\%$ . Por otro lado generan pérdidas de presión entre 50 a 90 % de la

magnitud de la diferencia de presiones ( $p_1 - p_2$ ) (Morris, 2001). En lo que respecta a los tubos de Venturi presentan una incertidumbre en la medición de  $\pm 1\%$ . Sin embargo tienen costos mayores que los otros tipos de dispositivos por su complejo proceso de fabricación. Las pérdidas de presión con estos dispositivos van del 10 al 15 % de la diferencia de presiones ( $p_1 - p_2$ ) (Morris, 2001). Por otro lado los tubos de flujo de Dall presentan incertidumbres de medición de  $\pm 1.5\%$  con pérdidas de presión del 5 % de la diferencia de presiones. Una ventaja de estos dispositivos es que son de longitud más corta, lo que propicia que su inserción dentro de la línea de flujo sea más fácil. Finalmente, las boquillas de flujo son los dispositivos más económicos, pero tienen pérdidas de presión entre 30 al 50 % de la diferencia de presiones ( $p_1 - p_2$ ) (Morris, 2001).

Otro tipo de medidores de flujo son los denominados medidores de flujo de área variable, también llamados rotámetros. La inexactitud de este tipo de dispositivos es normalmente de  $\pm 5\%$ , aunque existen dispositivos más costosos con valores de inexactitud menores a  $\pm 0.5\%$ . En cuanto a los caudalímetros de desplazamiento positivo, los dispositivos más económicos de este tipo tienen una inexactitud de aproximadamente  $\pm 2\%$ , la cual puede disminuir conforme aumenta el costo hasta valores cercanos a  $\pm 0.5\%$ . Estos dispositivos no requieren mantenimiento continuo y son de larga duración, aunque suelen generar ligeras pérdidas de presión (Morris 2001).

Por último se tiene a los medidores de flujo de turbina cuyo error puede ser sumamente bajo, cercano a  $\pm 0.2\%$  aunque presentan un inconveniente ya que generan demasiado error en medición de flujos que tienen una segunda fase (por ejemplo un líquido que contiene cierto porcentaje de aire) alcanzando valores cercanos a 50 % de error cuando esta situación se presenta (Morris, 2001).

#### **1.4.2 COMPRESIÓN DE GASES.**

Como se comentó anteriormente, para alcanzar el estado supercrítico de un fluido es necesario llevar a éste por encima de su temperatura y presión crítica, siendo la presión crítica la más difícil de alcanzar. Una forma de superar la presión crítica es comprimiendo un gas. Existe una amplia variedad de equipos denominados compresores que cumplen con esa función y la forma de elegir el más adecuado se describe a continuación.

### 1.4.2.1 ELECCIÓN DEL COMPRESOR.

Existe una amplia variedad de compresores que han sido clasificados, de manera general, en distintas categorías en base a su principio de funcionamiento (Figura 12). Para la elección más satisfactoria de un equipo de compresión de gases se deben considerar varios factores. Los principales son: la velocidad de flujo (gasto), la carga o presión, las limitaciones de temperatura, el método de sellado, el método de lubricación, el consumo de potencia, las posibilidades de mantenimiento y el costo (Perry *et al.*, 2001). La gráfica de la Figura 13 es una herramienta útil para definir el intervalo de operación de los tipos más comunes de equipos de compresión de gases.

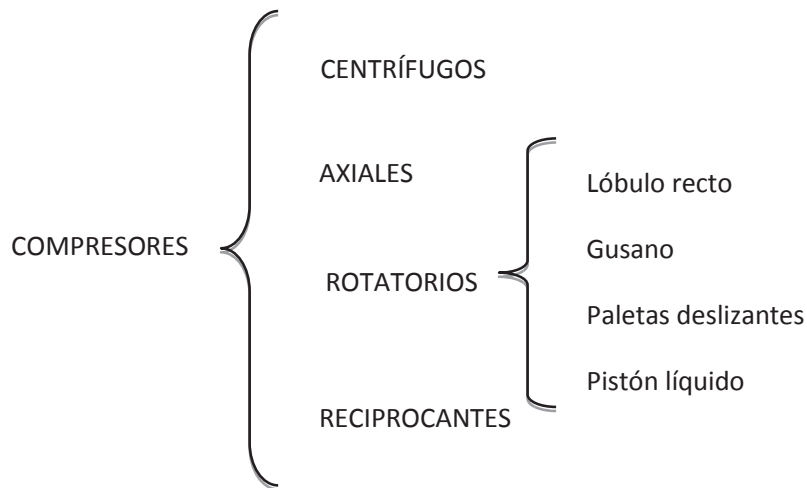


Fig. 12. Clasificación general de los compresores. Perry *et al.*, 2001.

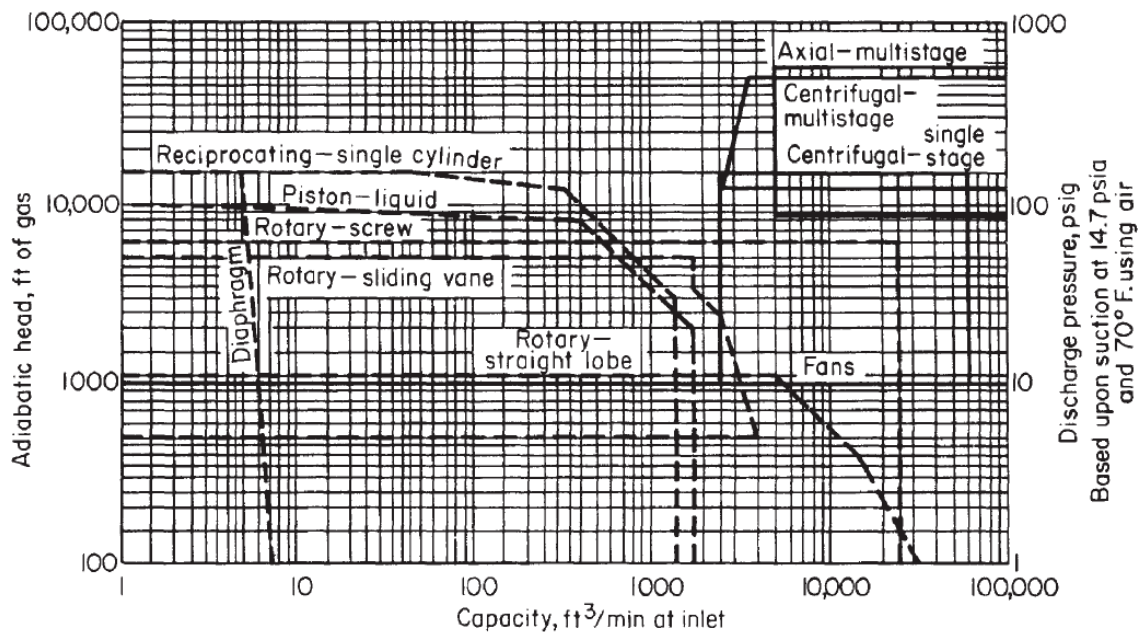


Fig. 13. Gráfica de alcances de compresor, basado en la gama operacional de los tipos comerciales indicados (Perry *et al.*, 2001).

### COMPRESORES RECIPROCANTES.

Existen dos tipos de compresores denominados centrífugos y rotatorios, sin embargo para el manejo de presiones elevadas ninguno de estos equipos presenta una eficiencia de presión similar a los compresores reciprocantes. Los compresores centrífugos al igual que los rotatorios presentan elevaciones de hasta varios centenares de KPa, sin alcanzar valores mayores a 1000 KPa, que es un valor aproximadamente 20 veces menor a las presiones que se pueden obtener con los compresores reciprocantes (Perry *et al.*, 2001). Este comportamiento se puede apreciar en la Figura 13 en donde se aprecia que la línea que describe el funcionamiento de los compresores reciprocantes es la que entrega las mayores presiones de descarga en un amplio rango de capacidades de flujo.

Es posible encontrar compresores reciprocantes o de movimiento alternativo de etapas simples o de etapas múltiples (Figura 14). El número de etapas se ve determinado por la razón de compresión  $p_2/p_1$ . La razón de compresión por etapa se ve limitada en general a cuatro. Habitualmente la razón de compresión máxima se determina por la temperatura máxima permisible en la descarga del gas (Perry *et al.*, 2001). Los compresores de aire de acción simple,

enfriados ya sea por agua o aire, existen en tamaños de hasta 75 kW (100 hp), que se pueden obtener con una, dos, tres o cuatro etapas, para presiones de hasta 24 MPa.

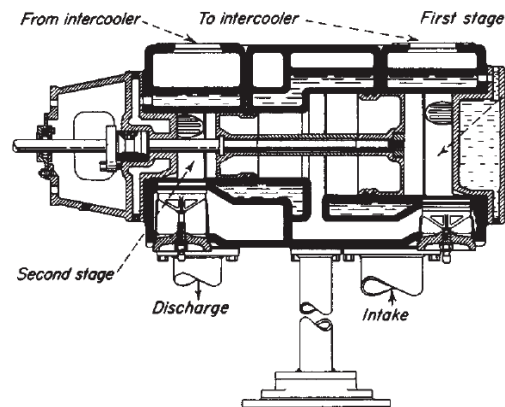


Fig. 14. Pistón opuesto de acción simple, de dos etapas, en un cilindro del tipo de etapa simple (Perry *et al.*, 2001).

Para el trabajo con sistemas de extracción con fluidos supercríticos generalmente se utilizan compresores recíprocos de alta eficiencia, dadas las características ya descritas. Uno de estos tipos de compresores es llamado comercialmente como *booster* o *reforzadores de presión de gas impulsados por aire* con rangos de operación de compresión de gas que van desde las 1500 psi hasta las 25 000 psi (de acuerdo al manual “REFORZADOR: series GB & GBD reforzadores de presión de gas y sistemas impulsados por aire” de la empresa SC HYDRAULIC ENGINEERING CORPORATION).

### 1.4.3 PÉRDIDAS DE PRESIÓN.

En esta sección se abordaran los principios para la determinación de las pérdidas de presión que se presentan al transportar un fluido a través de una tubería.

Considerando una unidad de peso de fluido en un sistema de flujo, se establecen las siguientes variables:  $G$  como la velocidad másica,  $g$  como la aceleración de la gravedad,  $g_c$  como una constante dimensional,  $H$  como la entalpía específica,  $J$  como el equivalente mecánico del calor,  $p$  como la presión estática absoluta,  $S$  como la entropía específica,  $U$  como la energía interna específica,  $v$  como la velocidad lineal;  $V$  como el volumen específico y  $z$  como la altura por encima



de cualquier plano arbitrario de referencia horizontal. Así pues la energía potencial relativa al nivel de referencia elegido es  $zg/g_c$ , la energía cinética total es  $v^2/2g_c$  y la energía total de la unidad de peso de fluido es  $(JU + zg/g_c + v^2/2g_c)$ , en donde las unidades de energía específica son J/Kg. Para un flujo estacionario del fluido no se tiene acumulación o pérdida de la energía del sistema y la energía total del mismo se alterará solo agregando o quitando calor de éste o aplicando cualquier trabajo externo sobre el sistema. Así se tiene la siguiente expresión (Perry *et al.*, 2001).

$$\left(JU_2 + \frac{z_2g}{g_c} + \frac{v_2^2}{2g_c}\right) - \left(JU_1 + \frac{z_1g}{g_c} + \frac{v_1^2}{2g_c}\right) = JQ + W \quad \text{Ec. 3}$$

En donde los subíndices 1 y 2 indican las condiciones en la entrada y salida, respectivamente;  $Q$  es el calor agregado, expresado en J/Kg;  $W$  es el trabajo externo neto expresado en N·m/Kg. El término  $W$  se subdivide de acuerdo a la siguiente ecuación (Perry *et al.*, 2001):

$$W = p_1V_1 - p_2V_2 + W_e \quad \text{Ec. 4}$$

En la cual  $W_e$  es el trabajo proporcionado por una fuerza externa, pudiendo ser generado por una turbina o una bomba. Si se combinan las ecuaciones 3 y 4 se obtiene la siguiente relación:

$$JU_1 + \frac{z_1g}{g_c} + \frac{v_1^2}{2g_c} + p_1V_1 + JQ + W_e = JU_2 + \frac{z_2g}{g_c} + \frac{v_2^2}{2g_c} + p_2V_2 \quad \text{Ec. 5}$$

La ecuación 5 expresa la primera ley de la termodinámica y se le denomina comúnmente como *Balance Global de Energía del Teorema de Bernoulli* (Perry *et al.*, 2001). Los términos de energía cinética de las ecuaciones antes citadas se aplican estrictamente sólo cuando la velocidad a través de una sección transversal es uniforme. Si consideramos a  $H$  ( $U + pV/J$ , J/Kg), la entalpía específica, la ecuación 5 se transforma a una forma conveniente para emplearse con vapor u otros fluidos para los que las propiedades térmicas se encuentran tabuladas o son accesibles de calcularse como sigue (Perry *et al.*, 2001):

$$(z_1 - z_2)(g/g_c) + J(H_1 - H_2) + JQ + W_e = (v_2^2 - v_1^2)/2g_c \quad \text{Ec. 6}$$

Para flujos adiabáticos y sin fricción a través de una boquilla horizontal, la ecuación anterior se reduce a

$$J(H_1 - H_2) = \frac{G^2(v_2^2 - v_1^2)}{2g_c} \quad \text{Ec. 7}$$

La presencia de fricción provoca que el proceso se torne irreversible, de donde  $JTdS = JdQ + dF$ , en la que  $F$  representa la pérdida por fricción en N·m/Kg. Tomando en cuenta este factor de fricción y al proceso como irreversible, la ecuación 6 se transforma en

$$\frac{z_1 g}{g_c} + \frac{v_1^2}{2g_c} - \int_1^2 V dp - F + W_e = \frac{z_2 g}{g_c} + \frac{v_2^2}{2g_c} \quad \text{Ec. 8}$$

En el caso de transporte de líquidos, la integral se reduce a  $(p_2 - p_1)V$  donde  $V$  es prácticamente constante.

Se debe establecer una distinción entre la caída de presión y las pérdidas por fricción. La caída de presión representa una conversión de energía de presión en cualquier otra forma de energía, mientras que las pérdidas por fricción representan una pérdida neta de la energía total de trabajo disponible que caracteriza al fluido (Perry *et al.*, 2001). En general se establecen dos métodos para evaluar la caída general de presión de un sistema si se recurre a varias resistencias en serie. En el primer método se considera el cálculo de la caída de presión de cada resistencia individual, tomando en cuenta el signo algebraico correspondiente y luego sumando todos los términos que componen el sistema. En el segundo método se calcula la pérdida por fricción de cada resistencia individual, para después realizar la suma de todos los términos particulares y la aplicación de la ecuación 8 para obtener la caída de presión general.

#### 1.4.3.1 PÉRDIDAS POR FRICCIÓN.

La pérdida por fricción  $F$  en energía específica se expresa mediante la *ecuación de Fanning* o *Darcy* (Ec. 9) para flujos estacionarios en tuberías circulares uniformes que se encuentran llenas de líquido en condiciones isotérmicas con un comportamiento laminar.

$$F = \left(\frac{4fL}{D}\right) \frac{V^2}{2g_c} = \left(\frac{4fL}{D}\right) hv = \left(\frac{4fL}{D}\right) \frac{G^2}{2g_c \rho^2} = \frac{32fLw^2}{\pi^2 \rho^2 g_c D^5} = \frac{32fLq^2}{\pi^2 g_c D^5} \quad \text{Ec. 9}$$

Donde  $D$  es el diámetro del conducto;  $L$  es la longitud del ducto;  $\rho$  la densidad del fluido;  $V$  la velocidad del fluido;  $hv$  la carga de velocidad ( $V^2/2g_c$ );  $G$  es la velocidad másica;  $w$  gasto en

peso del fluido;  $q$  el gasto volumétrico;  $g_c$  una constante dimensional;  $f$  el factor de fricción de Fanning. Así la caída de presión es  $\Delta p = F\rho$  (Perry *et al.*, 2001).

El factor de fricción de Fanning  $f$  es una función del número de Reynolds  $N_{Re}$  y la aspereza de la superficie interna del canal,  $\epsilon$ . Una correlación que se emplea frecuentemente es una gráfica del factor de fricción de Fanning (Figura 15) en función del número de Reynolds y la aspereza relativa  $\epsilon/D$ , donde  $\epsilon$  representa la aspereza de la superficie de la tubería que varía según el tipo de material (Tabla 6) y  $D$  es el diámetro interno de la tubería.

Tabla 6. Valores de aspereza superficial para varios materiales (Adaptado de Perry *et al.*, 2001).

MATERIAL	ASPEREZA DE SUPERFICIE $\epsilon$ , mm
Tubos estirados (latón, plomo, vidrio y similares)	0.00152
Acero comercial o hierro	0.0457
Hierro fundido asfalto	0.122
Hierro galvanizado	0.152
Hierro fundido	0.259
Duelas de madera	0.183-0.914
Concreto	0.305-3.05
Acero remachado	0.914-9.14

#### 1.4.3.2 PÉRDIDAS EN VÁLVULAS Y ACCESORIOS.

Las pérdidas por fricción en estos elementos se define como la cantidad de cargas de velocidad  $K$ , perdidas en una tubería del mismo tamaño, como sigue (Perry *et al.*, 2001):

$$K = \frac{\Delta F}{v^2/2g_c} \quad \text{Ec. 10}$$

Donde  $\Delta F$  es la sumatoria de las pérdidas menores por fricción (pérdida adicional a las pérdidas ocurridas a lo largo de la tubería del sistema);  $v$  es la velocidad promedio del fluido y  $g_c$  una constante dimensional. Se pueden obtener valores aproximados de  $L_e/D$  multiplicando a  $K$  por 45 en caso de líquidos similares al agua y por 55 en caso de gases similares al aire (Perry *et al.*, 2001).

En el Apéndice A se presentan valores representativos de  $K$  para varias clases de válvulas y accesorios.

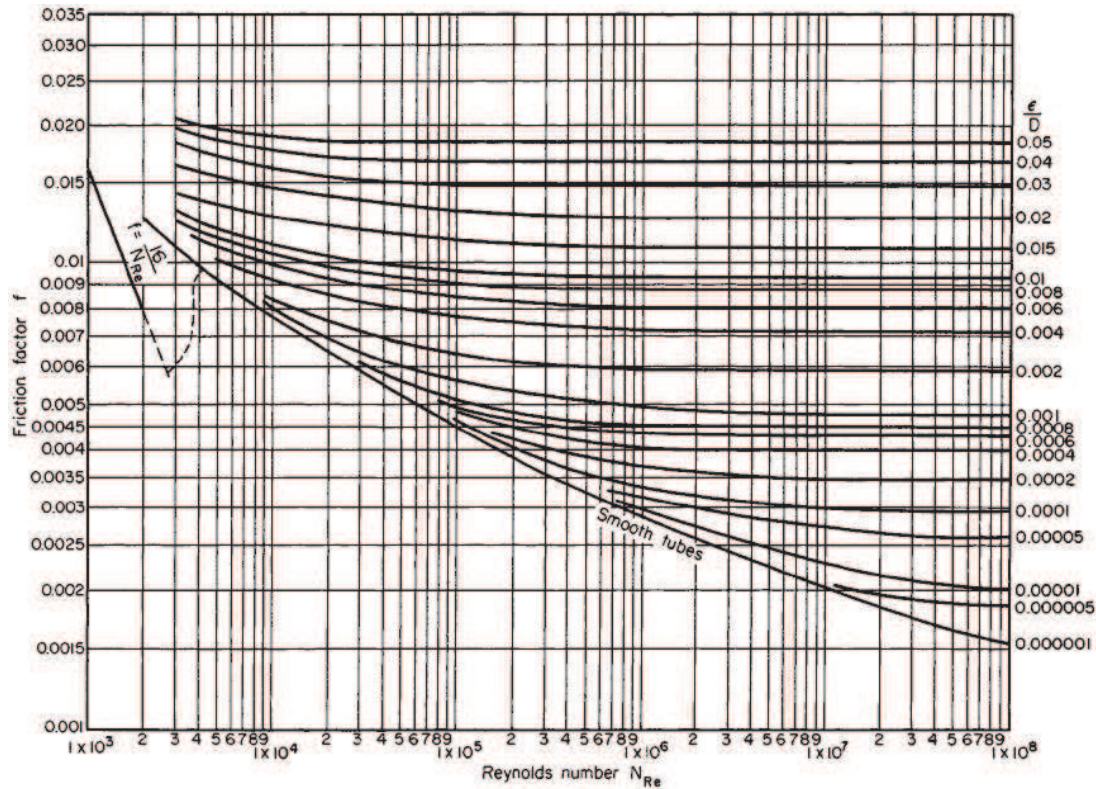


Fig. 15. Factores de fricción de Fanning (Basado en Moody, 1944).

#### 1.4.4 COMPORTAMIENTO PVT DE SUSTANCIAS PURAS.

Para sustancias que se encuentran en una sola fase se establece una relación que conecta a  $P$ ,  $V$  y  $T$ , la cual se expresa de manera analítica mediante  $f = (P, V, T) = 0$ . Una relación así se conoce como ecuación de estado PVT. Dicha ecuación relaciona la presión, el volumen molar o específico y la temperatura para un fluido homogéneo puro en estado de equilibrio (Smith *et al.*, 2007). Una ecuación de estado puede resolverse para cualquiera de las tres cantidades,  $P$ ,  $V$ ,  $T$ , como una función de las otras dos. La ley del gas ideal,  $PV = nRT$ , es una relación entre las cuatro variables que describen el estado de cualquier gas. Las variables de esta ecuación se dividen en dos clases:  $n$  y  $V$  son variables extensivas (proporcionales a la masa del sistema) mientras que  $P$  y  $T$  son intensivas (no proporcionales a la masa del sistema) (Castellan, 1998). Dividiendo a  $V$  por  $n$  obtenemos a  $\tilde{V}$ , el volumen por mol:

$$\tilde{V} = \frac{V}{n} = \frac{RT}{P} \quad \text{Ec.11}$$

De esta manera la ley de los gases queda como una relación entre variables intensivas: presión, volumen molar y temperatura. Si se despeja la relación para la temperatura en función del volumen molar, se obtiene una expresión como la mostrada en la siguiente ecuación.

$$P = \frac{RT}{\tilde{V}} \quad \text{Ec. 12}$$

Si ahora se mantiene constante el volumen molar y con R como constante, se observa que la presión tiene una relación directamente proporcional con la temperatura, es decir, si se incrementa la temperatura se incrementa la presión, y viceversa. Así pues si se cuenta con un recipiente rígido no deformable que contiene una cantidad fija de gas, se puede aumentar o disminuir su presión, aumentando o disminuyendo su temperatura.

# **CAPÍTULO II**

## **ESTADO DEL ARTE**

## 2.1 APLICACIONES DE LA EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.

En la actualidad la tecnología supercrítica es cada vez más utilizada en la industria. Esto se debe a las excelentes propiedades de solvatación que presentan los fluidos supercríticos y la posibilidad de ajustar la capacidad de disolución por medio de un parámetro tan simple como la presión. Además de la facilidad de separación del fluido supercrítico del compuesto deseado, sometiéndolo a un proceso de expansión (Bréchignac *et al.*, 2007). Lo anterior ha llevado a varios autores a realizar propuestas de clasificación de las aplicaciones de esta tecnología. Así Bréchignac *et al* (2007) establecieron que a grandes rasgos es posible manejar dos tipos de aplicaciones: extracción - purificación y síntesis. Por su parte Herrero *et al.*, (2010), hacen referencia a una clasificación por campo de aplicación, siendo estos alimentos y productos naturales, farmacéutica y aplicaciones ambientales. Cabe destacar que en cada uno de estos campos de aplicación se ha trabajado con fluidos supercríticos tanto para realizar extracción-purificación como síntesis, aunque ésta última aplicación es mucho más reciente.

## 2.2 APLICACIONES EN ALIMENTOS.

Probablemente el uso más extendido de la EFS es en el campo de los alimentos. En los últimos años se han realizado investigaciones sobre una amplia variedad de muestras, tipos de materiales, compuestos de interés y procedimientos de aplicación (Herrero *et al.*, 2010). Un nuevo grupo de aplicaciones que se ha desarrollado incluye la extracción y fraccionamiento de hidratos de carbono empleando EFS. Esta técnica, que emplea CO<sub>2</sub> supercrítico, a primera vista no es la más recomendable dada la baja polaridad del disolvente. Sin embargo algunos autores han demostrado su utilidad empleando un co-disolvente para modificar la polaridad del CO<sub>2</sub> (Montañez *et al.*, 2007).

En la industria alimentaria los aceites vegetales crudos son ampliamente utilizados para un sinnúmero de aplicaciones. Antes de ser utilizados, estos aceites se someten a un proceso de refinación para eliminar las trazas de compuestos no deseados, producto de su proceso de extracción. Durante el proceso de refinamiento algunos compuestos de alto valor, contenidos en los aceites vegetales, suelen perderse. Mediante la utilización de la tecnología de EFS se ha obtenido un método de refinación que permite conseguir aceites vegetales enriquecidos con compuestos de

alto valor y particular interés. Eisenmenger y Dunford (2008), examinaron la composición química de aceite de germen de trigo comercial extraído con hexano y extraído mediante SFE con CO<sub>2</sub>. Este estudio mostró que los métodos utilizados para la extracción y refinación del aceite no tienen un efecto significativo sobre la composición de ácidos grasos del mismo. Los autores reportan que el aceite extraído con CO<sub>2</sub> supercrítico presentó un mayor contenido de tocoferol en comparación con el aceite extraído de forma convencional, mientras que el contenido de fosfolípidos fue mucho más bajo. Con estos datos concluyeron que el método de extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico podría eliminar la etapa de desgomado de los procesos de refinación de aceite comestible. Trabajos similares sobre procesos de refinamiento de aceites esenciales se han realizado con la obtención de aceite de café verde (De azevedo *et al.*, 2008), aceite de salvado de arroz (Chen *et al.*, 2008), y aceite crudo de palma (Davarnejad *et al.*, 2008).

La EFS ha sido aplicada también para eliminar compuestos no deseados de una matriz y resguardar algunos otros que sí sean de interés. Kim *et al.*, (2008) emplearon CO<sub>2</sub> supercrítico como disolvente con agua como co-disolvente para extraer selectivamente una gran cantidad de cafeína del té verde mientras permanecía una cantidad considerable de galato de epigallocatequina (EGCG por sus siglas en inglés) en el té verde. Los autores encontraron que las condiciones óptimas de extracción selectiva fueron 40 °C, 400 bar y 7 % en peso de agua como co-disolvente. En estas condiciones el rendimiento de la extracción de cafeína fue del 54 % en tanto que el rendimiento en la extracción de EGCG fue del 21 %. La selectividad de la extracción de cafeína/EGCG fue de 2.57. Los resultados obtenidos con la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico fueron comparados con la extracción con agua y etanol que son los disolventes convencionales que se utilizan en este proceso. La selectividad de cafeína/EGCG con agua fue de 0.88, mientras que con etanol fue de 0.24. Así los autores corroboraron la factibilidad de utilizar CO<sub>2</sub> supercrítico para la extracción selectiva de cafeína del té verde.

La aplicación de EFS se ha extendido a una gran variedad de procesos. Aceites esenciales, ácidos grasos y compuestos bioactivos se han extraído de frutas y hortalizas empleando esta tecnología. De igual manera ha resultado ser útil para determinar el perfil de ácidos grasos de fuentes animales o como pre-tratamiento para el análisis de compuestos volátiles de diferentes bebidas. En la Tabla 7 se resumen ejemplos de estas aplicaciones.



Tabla 7. Aplicaciones de la SFE en el área de alimentos.

MATRIZ	COMPUESTO	CONDICIONES DE EXTRACCIÓN	REFERENCIA
Semillas de granada	Aceites esenciales	CO <sub>2</sub> , 278.6 bar, 40°C, etanol como modificador (18 mL/100 g)	Abbasi <i>et al.</i> , 2008.
Semillas de nuez	Aceite	CO <sub>2</sub> , 400 bar, 50°C	Martínez <i>et al.</i> , 2008.
Semillas de durazno	Aceite esencial	CO <sub>2</sub> , 198 bar, 40°C, etanol como modificador al 5% mol	Sánchez <i>et al.</i> , 2009.
Zanahoria	Aceite esencial	CO <sub>2</sub> , 100 bar, 40 °C	Glišić <i>et al.</i> , 2007.
Semillas de uva	α-tocoferol	CO <sub>2</sub> , 250 bar, 80°C	Bravi <i>et al.</i> , 2007.
Harina de soya	Isoflavonas	CO <sub>2</sub> , 500 bar, 40°C + 7.8 % en masa etanol acuosos (80%v/v)	Zuo <i>et al.</i> , 2008.
Menta	Aceite esencial	CO <sub>2</sub> , 90 bar, 45°C	Ansari y Goodarznia, 2012.
Terrones de propóleo	Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinámico (DHCA)	CO <sub>2</sub> , 207 bar, 49.8 °C + 6% en peso de etilacetona.	Chen <i>et al.</i> , 2009.
Aceite de pescado	Ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docohexanoico (DHA)	Etano, 84 bar, 60°C.	Espinosa <i>et al.</i> , 2008.
Ron	Concentrado de aromas	CO <sub>2</sub> , 100 bar, 39.8 °C	García <i>et al.</i> , 2007
Vino y Whisky	etanol	CO <sub>2</sub> , 239 bar, 44.8 °C; 181 bar y 34.8 °C, respectivamente.	Fornari <i>et al.</i> , 2009
Vino de arroz	Polifenoles	CO <sub>2</sub> , 80 bar, 30 °C	Wu <i>et al.</i> , 2009
Tomate	Tocoferoles y fitoesteroles	CO <sub>2</sub> , 300 bar, 40 °C	Vági <i>et al.</i> , 2007

Tabla 6. Continuación....

MATRIZ	COMPUESTO	CONDICIONES DE EXTRACCIÓN	REFERENCIA
Tallos de té	Cafeína	CO <sub>2</sub> , 200 bar, 55 °C	Içen, H. y Gürü, M. 2009
Pupas de gusano de seda	Aceite	CO <sub>2</sub> , 200-300 bar, 35-45 °C	Wei <i>et al.</i> , 2009.
Semillas de amaranto	Escualeno	CO <sub>2</sub> , 150-200 bar, 40-70 °C	He <i>et al.</i> , 2003.
Chile	Capsaicina	CO <sub>2</sub> , 150 bar, 40°C	De Aguilar <i>et al.</i> , 2013.
Brócoli	Aminoácidos libres	CO <sub>2</sub> , 250 bar, 70°C	Arnaíz, <i>et al.</i> , 2012.
Chile rojo	Vitaminas	CO <sub>2</sub> , 240 bar, 60°C	Romo-Hualde <i>et al.</i> , 2012.
Mandarina	Nobiletina y tangeritina	CO <sub>2</sub> , 300 bar, 80°C + 13 % (v/v) etano acuoso (85% v/v).	Lee <i>et al.</i> , 2010.

## 2.3 ASPECTOS TÉCNICOS DE LA EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.

### 2.3.1 ELEMENTOS EMPLEADOS EN EQUIPOS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.

Al realizar una revisión bibliográfica de artículos científicos, generalmente los autores reportan el uso de equipos de extracción supercrítica de tipo comercial, para llevar a cabo dicho proceso. Por ello no es común encontrar una descripción de los elementos que conforman dichos equipos, y mucho menos las características de estos elementos. Por ejemplo en su trabajo de extracción de aceite de pupas de gusano de seda, Wei *et al.*, (2009) reportan el uso de un equipo que fue provisto por Nantong Hua'an Co. Ltd. (Modelo HA220-50-06, Jiangsu, China). En tanto que De Aguilar *et al.*, (2013) menciona el uso de un equipo Applied Separations, Spe-ed, Allentown, PA.

Sin embargo es posible encontrar algunas referencias en donde se presenta una sección para la descripción de los elementos que conforman a los equipos de extracción. Tal es el caso de la extracción de aminoácidos de variedades modificadas de maíz y soya por Bernal *et al.*, (2012)

quienes emplearon un equipo modular de manufactura “casera”. Dicho equipo estaba equipado con dos bombas inteligentes de doble pistón modelo PU-1586 para suministrar el CO<sub>2</sub> y el co-disolvente. Para enfriar la cabeza de la bomba de CO<sub>2</sub> a 0 °C los autores emplearon un baño termostático modelo Frigomix U de B. Braun (Melsungen, Germany). También emplearon una columna modificada con un calentador modelo CO-2056 plus. En la parte de instrumentación emplearon dos válvulas 7000 Rheodyne (Cotati, CA, USA) y dos válvulas NV-5272 NOVA Swiss (Cesson, France), así como un regulador de contrapresión BP-1580.81 y dos celdas de extracción de 5 y 20 mL, todo esto último de la marca Jasco (Tokio, Japón).

En otro trabajo en donde se extrajo selectivamente la cafeína del té verde, Kim *et al.*, (2008) reportan el uso de un equipo de extracción que consta de una celda de extracción de alta presión, un baño térmico de aire, un regulador de contrapresión, una bomba de disolvente de alta presión, entre otros. Los autores indican que la celda de extracción es de forma cilíndrica con un volumen interno de 230 mL. La bomba de disolvente fue manufacturada por Milton Roy (Modelo número MCP13D10BM, UK) con capacidad para soportar presiones de hasta 500 bar y producir un caudal de 10L/h. También indican que la temperatura del extractor se controló mediante el baño térmico de aire y que ésta fue regulada usando un termopar tipo K conectado a una grabadora multicanal (DR 240, Yokogawa, Japan).

Por otro lado, para la extracción de aceite esencial de semillas de durazno Sánchez *et al.*, (2009) mencionan el uso de un baño de agua SELECTA TECTRON modelo 3000543 para controlar la temperatura de la celda de extracción. Ellos indican que para el bombeo del disolvente emplearon una bomba ISCO modelo 260D. La medición de la presión se realizó empleando transductores de presión relativa DRUCK modelo DPI 260, en tanto que el flujo del disolvente fue medido con un medidor de flujo BROOKS modelo 5851E y regulado por una válvula Swagelok, SS-31RS4.

En lo que respecta a la extracción de ácidos grasos de larva de mosca común, Salazar-Govea (2008) indica el uso de un equipo de extracción conformado por válvulas para flujo de disolvente SWAGELOK; válvula de seguridad, SWAGELOK 493255, No. Serie: SS-4R3A con resistencia de 3000 a 4000 psi; válvula micrométrica WHITEY 316 SS-22RS4 con capacidad de 3000 psi; variacs STACO ENERGY, Modelo: 3PN 10108V, para control de voltaje en las cintas de calentamiento; compresor para laboratorio WHITEY 6394; manómetros de carátula chica de 2 ½” WIKA de 3000 y 4000 psi y manómetro de carátula grande MENSOR 16974 de 6 000 psi; termómetro digital CHUB-4 1529, Hart Scientific con resistencias de platino PLAMIC N30P305303 y

N33P301316 que soportan una temperatura máxima de 250°C; dedo frío HETO BIRKERØD DENMARK Type: CF3 No. 8202088 de -40 a +40 °C; baño térmico TAMSON, TV 4000 No. 96150 con control de temperatura; y medidor de vía húmeda (flujometro) PRECISION SCIENTIFIC, serie: 12AU11. Además de termocompresor de acero inoxidable con un diámetro de 13.1 cm, altura de 53 cm y una capacidad de 6 L, y una celda de extracción de acero inoxidable con dispersores con una capacidad de 200 ml, y celda de recolección de vidrio con serpentín.

### **2.3.2 MATERIALES EMPLEADOS EN EQUIPOS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.**

En muy pocas ocasiones se realiza la especificación de los materiales de los que se encuentran hechos los elementos que conforman a un equipo de extracción supercrítica. En la mayoría de las ocasiones los equipos, implementos y dispositivos que conforman un equipo de extracción son adquiridos de un proveedor comercial. Por ello los materiales que se emplean en la construcción de éstos elementos son materiales estándar de fabricación. Un caso excepcional se presenta con Ansari y Goodarznia (2012) quienes especifican que el equipo con el que realizaron la extracción de aceite esencial de menta está conformado por una bomba reciprocante, una carcasa, un tubo extractor, tuberías etc, contruidos todos de acero inoxidable 316. Además indican que el separador donde se recibe el extracto está construido de vidrio Pyrex.

Por otra parte, Hedrick *et al.*, (1992) mencionan que el material de construcción de las celdas de extracción y demás piezas deben de ser de acero inoxidable, dado que es un material químicamente inerte que además es altamente disponible en el mercado. También mencionan que en ocasiones se requiere colocar un sello a las celdas de extracción con el fin de que puedan operar a altas presiones, siendo dichos sellos fabricados de Kel-F o Teflón, dado que los sellos de goma de silicona suelen expandirse y pueden disolverse en algunos fluidos supercríticos.

### **2.4 MENTA VERDE (*mentha spicata L.*).**

La menta verde, conocida comúnmente como hierbabuena es una planta originaria del continente europeo, aunque en la actualidad se cultiva en toda Asia, Medio oriente y Estados Unidos. Es una planta ramificada con hojas perenes color verde brillante en forma de lanza y fuertemente dentadas. Sus flores son blancas de forma alargada y estrecha agrupadas en forma de

espigas. La planta crece rápidamente hasta alcanzar una altura que oscila entre 25 y 75 cm (Charles, 2013). Presenta un aroma muy fragante, fresco y dulce. Las partes de la planta que se aprovechan son las hojas, ya sea frescas o secas, y el aceite esencial. Las hojas secas son vendidas en diferentes presentaciones siendo estas en conjunto, como hojuelas, picadas o molidas. Las hojas frescas por su parte se utilizan ya sea crudas, cocidas o en puré. Finalmente, el aceite esencial es obtenido por destilación al vapor de la planta en etapa inicial de floración, parcialmente seca. El aceite es un líquido de color amarillo pálido que presenta un rendimiento de extracción cercano a 0.7 %. Se produce principalmente en Estados Unidos, Inglaterra, Francia, España, Rusia, India, China y Alemania (Charles, 2013).

El aceite esencial de menta verde posee propiedades antimicrobianas contra diversas cepas de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Sivropoulou *et al.*, 1995), *Staphylococcus aureus* y *E. coli* (Torres *et al.*, 1996). Por su parte Marinova y Yanishlieva (1997) encontraron que el extracto de menta verde en etanol era muy activo para retardar el proceso de oxidación para la estabilización del aceite de girasol. Mientras que Dorman *et al.*,(2003) observaron que extractos solubles en agua de menta verde y otras especies de menta mostraron actividades antioxidantes importantes estableciendo que el nivel de actividad identificada está fuertemente asociado con el contenido fenólico.

La menta verde se utiliza en té, bebidas, gelatinas, jarabes, helados y dulces. En algunas regiones de medio oriente se utiliza para preparar platillos típicos como son platos de cordero, salsa de menta y curri verde. Además se emplea en aderezos, salsas picantes, yogurt, bebidas frías y gomas de mascar (Charles, 2013).

#### **2.4.1 EXTRACCIÓN SUPERCÁRICA DE ACEITE ESENCIAL DE MENTA.**

Hay pocos estudios relacionados a la extracción de aceite esencial de menta empleando fluidos supercríticos. Uno de los trabajos es el realizado por Almeida *et al.*, (2012) quienes evaluaron los parámetros del proceso de extracción de compuestos volátiles de menta. Para ello los autores emplearon 15 g de muestra y un tiempo de extracción de 180 minutos. El diseño experimental que utilizaron estaba dividido en dos partes. La primera de ellas contempló el uso de CO<sub>2</sub> puro a 30, 40, y 50 ° C, a 100, 200, y 300 bar y a una velocidad de flujo de disolvente constante de 5.0 ± 0.5 g/min. La segunda parte involucró la adición de etanol y acetato de etilo en

concentraciones de 10 %, 15 % y 20 % como co-disolventes. Las condiciones de operación fueron 40 y 50 °C; 150, 200, y 230 bar de presión, y 0.9 g/min de mezcla de CO<sub>2</sub>/co-disolvente. Los resultados obtenidos fueron expresados como rendimiento global (relación entre el peso del aceite extraído y el peso de la muestra empleada). Los autores concluyeron que las condiciones óptimas de extracción fueron 50 °C y 300 bar con lo cual se obtuvieron el mayor rendimiento (2.38 % w/w).

Por su parte, Bimakr *et al.*, (2012) optimizaron el proceso de extracción de compuestos bioactivos y flavonoides de la menta empleando el método de superficies de respuesta. Ellos trabajaron a 40, 50 y 60 °C con presiones de 100, 200 y 300 bar adicionando etanol como co-disolvente en cantidades de 3, 6 y 9 g/min. Los resultados obtenidos fueron expresado como rendimiento global (masa del extracto entre masa de la muestra empleada). Con el empleo de la metodología de superficies de respuesta, los autores determinaron que las condiciones óptimas de extracción fueron 209.39 bar de presión, 50 °C y 7.39 g/min de co-disolvente. En los dos casos anteriores los máximos rendimientos se obtuvieron a presiones elevadas (superiores a 200 bar) y empleando un agente co-disolvente. Sin embargo, en algunos otros casos se reporta que es posible obtener buenos resultados empleando CO<sub>2</sub> puro (sin co-disolvente) a presiones menores, lo que genera un extracto de mayor calidad. Tal es el caso de Al-Marzouqui *et al.*, (2007) quienes trabajaron para optimizar el proceso de extracción para obtener aceite esencial de menta de alta calidad (más rico en compuestos de interés). Ellos encontraron que el más alto rendimiento de extracción se obtuvo en condiciones de 50 °C y 350 bar, sin embargo, el aceite de alta calidad se obtuvo a 30 °C y 150 bar.

A pesar de haber pocos reportes de la extracción de aceite esencial de menta con fluidos supercríticos, esta es una opción viable de trabajo dado que es una planta que se cultiva ampliamente y por tanto se encuentra disponible en mercados populares, además de ser de costo accesible. Aunado a ello, el aceite esencial de menta tiene una amplia aplicación en el área de alimentos, como se describió anteriormente. Se pudiese trabajar con una solución estándar, sin embargo por las características de éstas, específicamente su grado de pureza, tienden a ser muy costosas.

# **CAPÍTULO III**

## **JUSTIFICACIÓN**

El diseño y construcción de un equipo de extracción supercrítica a escala laboratorio pretende colocar al alcance de los alumnos de las licenciaturas y maestrías y de los profesores-investigadores, de la Universidad Tecnológica de la Mixteca, un equipo que permita aplicar una tecnología emergente que se encuentra en muy pocos centros de investigación, dado el elevado costo de los equipos comerciales. El contar con un equipo de extracción supercrítica permitirá desarrollar investigación en el área de alimentos, productos naturales, síntesis de compuestos, eliminación de residuos, purificación, esterilización y desarrollo de materiales. Además permitirá el desarrollo de proyectos de diversa índole, incluso con el objetivo del aprovechamiento de algún recurso de la región que desencadene en un beneficio académico, social e inclusive económico.



# **CAPÍTULO IV**

## **OBJETIVOS**

**OBJETIVO GENERAL.**

Construir un equipo de extracción supercrítica a escala laboratorio, provisto de una celda de compresión de gas (termocompresor), una celda de extracción y una celda de separación, con fines didácticos y de investigación.

**OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

1. Determinar la distribución y/o arreglo más adecuado del equipo de extracción supercrítica en base al arreglo propuesto por el Dr. Rafael Eustaquio Rincón.
2. Manufacturar bajo especificación las piezas que así lo requieran y construir el equipo de extracción supercrítica.
3. Calibrar los elementos de medición y control del equipo de extracción supercrítica.
4. Validar el funcionamiento del equipo mediante la cuantificación del rendimiento global de la extracción de aceite esencial de menta, empleando para ello la planta *Mentha spicata L.*

# **CAPÍTULO V**

# **METODOLOGÍA**

## 5.1 MATERIALES.

A continuación se presenta una descripción de los equipos, materiales, reactivos y soluciones empleados durante el desarrollo experimental.

Para determinar el peso del lote de hierbabuena antes y después del proceso de secado se utilizó una báscula TORREY de 20 kg de capacidad modelo MFQ20. En lo que respecta al peso de la muestra que se utilizó en el proceso de extracción soxhlet, se empleó una balanza analítica Sartorius BL210S y para pesar las muestras que se sometieron a EFS se utilizó una balanza analítica OHAUS EXPLORER EX324. El aceite obtenido de ambos procesos de extracción se almacenó en un refrigerador Torrey modelo VRD18. La recuperación del disolvente empleado en la extracción soxhlet se realizó mediante un evaporador rotatorio YAMATO modelo RE300.

Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico y consistieron en: Éter de petróleo marca J.T. Baker; hexano marca Reasol; 2,6-Di-tert-butil-4-metilfenol (BHT) marca Sigma-Aldrich.

### 5.1.1 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES.

*Éter de petróleo con BHT a 10 ppm:* se pesaron 10 mg de BHT y se disolvieron en 1 L de éter de petróleo.

*Hexano con BHT 10 ppm:* para preparar esta solución se pesó 1 mg de BHT y se disolvió en 100 mL de hexano.

## 5.2 DISEÑO, CONSTRUCCIÓN Y ENSAMBLADO DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.

El procedimiento que se empleó para la construcción del equipo de extracción supercrítica se describe a continuación, el cual está basado en el método general de diseño industrial, (Ulrich y Eppinger, 2004).

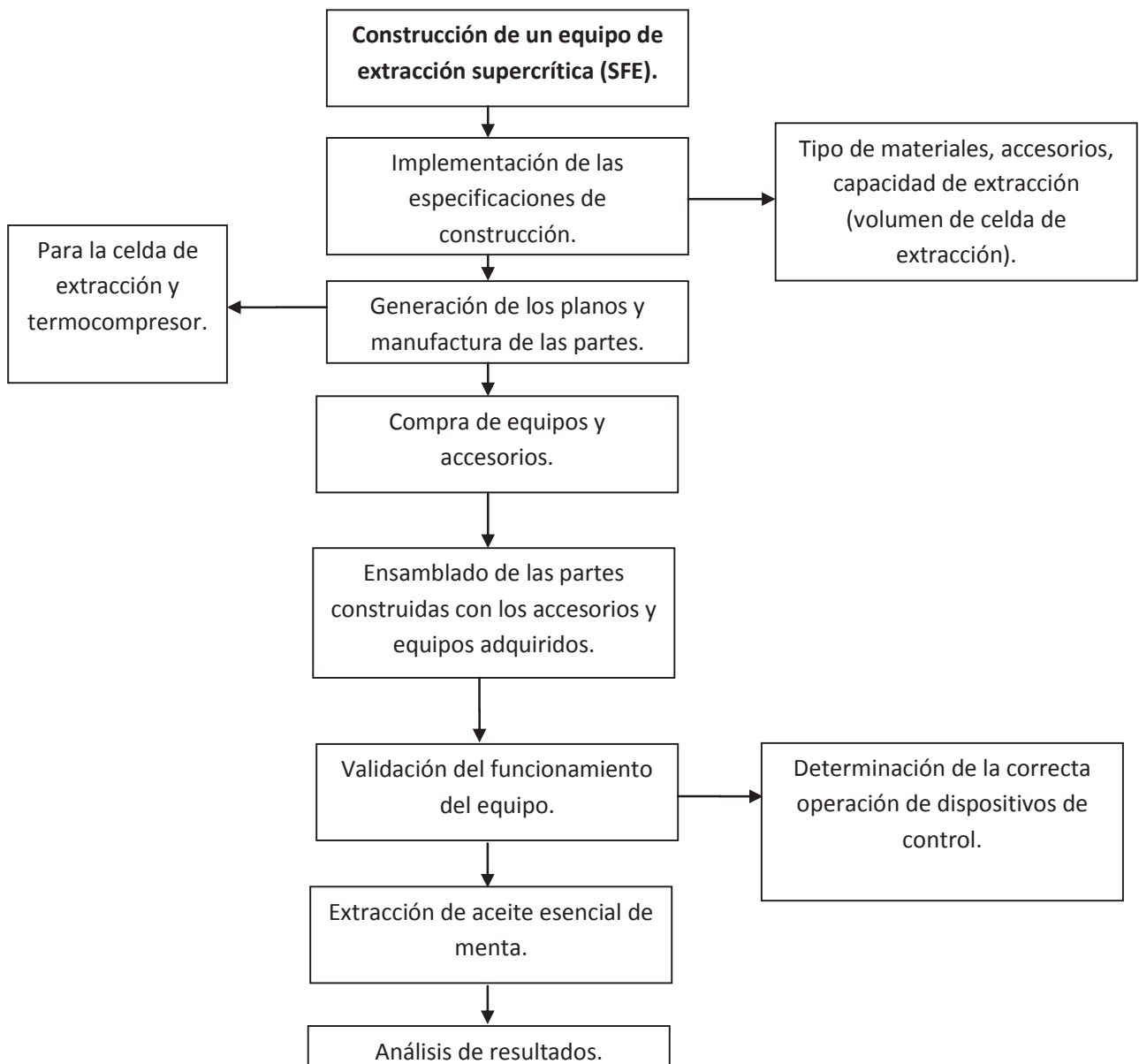


Fig. 16. Diagrama de flujo para la construcción del equipo de SFE.

### **5.2.1 CONFIGURACIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.**

La configuración del equipo de extracción supercrítica está basada en el arreglo utilizado por Salazar-Govea (2008), cuyos elementos principales son: un cilindro comercial de CO<sub>2</sub>, válvulas para el paso del fluido (de bola y aguja), una válvula de seguridad, una válvula micrométrica, manómetros de carátula, un compresor, un termocompresor, dos reóstatos, un termómetro digital, un dedo frío, un baño térmico, una celda de extracción, una celda de recolección, un medidor de vía húmeda y una probeta.

### **5.2.2 ACCESORIOS DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.**

A continuación se describen los accesorios que conforman el equipo de extracción supercrítica, así como las especificaciones y características de cada uno de éstos. Dichos accesorios fueron agrupados en categorías que indican las funciones básicas que desempeñan dentro del equipo.

#### ***5.2.2.1 SISTEMA DE COMPRESIÓN.***

Se encuentra conformado por un cilindro termocompresor de acero inoxidable y por una cinta de calefacción ajustable de caucho de silicona con termostato de regulación, de 2.5 metros de longitud, 1" de ancho, y que opera a 120 V. Además el sistema incluye un control de termostato ajustable de 50 a 425 °F (10 a 218 °C), con temperatura máxima de 450 °F (232°C), marca BRISKHEAT. El termocompresor es alimentado directamente del cilindro de CO<sub>2</sub> y una vez lleno, se coloca la cinta de calentamiento alrededor del termocompresor y se realiza un calentamiento gradual, hasta alcanzar la presión de operación.

### **5.2.2.2 SISTEMA DE CALEFACCIÓN.**

Este sistema está integrado por dos baños. El primero es un baño térmico marca POLYSCIENCE, modelo 107 100643, con controlador de temperatura, sistema de programación de 3 temperaturas y dos velocidades de recirculación de agua. Se utilizó para regular la temperatura del agua que alimenta al baño de acrílico.

El segundo es un baño de acrílico de 20 x 20 x 30 cm fabricado con paredes de acrílico de 6 mm de grosor y con estructura de metal. Dentro del baño se colocó la celda de extracción y el serpentín por el que circula el CO<sub>2</sub> antes de ingresar a la celda de extracción y estar en contacto con la muestra que contiene al compuesto a extraer. El baño es alimentado con agua que se hace recircular hacia el baño térmico para mantener constante la temperatura del agua y controlar la temperatura del CO<sub>2</sub> supercrítico.

### **5.2.2.3 SISTEMA DE REGULACIÓN DE FLUJO.**

Para la regulación del flujo se emplearon los siguientes elementos. La regulación del paso del CO<sub>2</sub> se realizó empleando válvulas de bola marca HAM-LET de 1/4" OD de acero inoxidable 316 SS, con asiento de KEL-F, PMW 6000 PSI. Para la regulación del flujo de CO<sub>2</sub> se emplearon válvulas de aguja marca HAM-LET de 1/4" OD de acero inoxidable 316 SS, con asientos de teflón, con una presión máxima de trabajo de 5000 psi y una temperatura máxima de trabajo de 232 °C y con bonete integrado. Como medida de seguridad se colocaron dos válvulas de seguridad en los elementos que operan con la mayor presión (termocompresor y celda de extracción). Dichas válvulas son marca HAM-LET de 1/4" OD de acero inoxidable 316 SS, con O'rings de fluorocarbono, con resorte ajustable de 5000-6000 psi.

Para regular y controlar la presión del CO<sub>2</sub> que es suministrado a la celda de extracción se colocó a la entrada de ésta un regulador de presión (RP) industrial de acero inoxidable, serie KPP, con regulación de presión de 0-3000 psig, y una presión máxima de operación de 4000 psig, con conexiones de entrada y salida de 1/4" NPTH.

Con la finalidad de regular y controlar la presión dentro de la celda de extracción se instaló, a la salida de la celda, un regulador de contra-presión (RCP) industrial de acero inoxidable 316L, con regulación de presión de 0 a 5075 psig y una presión máxima de operación de 5800 psig, con conexiones de entrada y salida de 1/4" NPT, con sellos de fluorocarbono FKM y asiento de PCTFE.

#### **5.2.2.4 SISTEMA DE CONTROL.**

Este sistema está conformado por un manómetro seco de acero inoxidable marca DEWIT, con carátula de 2 ½" y conexión inferior de 1/4" NPT macho, con capacidad de 0 a 1000 psig, que se colocó a la salida del cilindro comercial de CO<sub>2</sub> para registrar la presión de dicho cilindro y establecer cuando deberá ser recargado.

Se emplearon también manómetros secos de acero inoxidable marca DEWIT, con carátula de 2 ½" y conexión inferior de 1/4" NPT macho, con capacidad de 0 a 5000 psig, los cuales se colocaron en el termostato, a la salida del regulador de presión y en el regulador de contra presión para registrar las presiones de operación de estos elementos en cada corrida.

Para la regulación del flujo de la mezcla de CO<sub>2</sub>-compuesto extraído que ingresa a la celda de separación se empleó una válvula de microregulación marca FITOK, de 1/4" OD, fabricada en acero inoxidable 316 SS, con soporte de presión de hasta 5000 psi.

Finalmente, para monitorear la presión y la temperatura de operación y controlar estos dos parámetros se utilizaron dos elementos. Para la medición de la presión se conectó directamente a la celda de extracción un indicador digital de presión y para la medición de la temperatura se conectó al baño deacrílico un indicador digital de temperatura. El indicador digital de presión de la marca AMETEK (CRISTAL) VISION, modelo 365190, con presión máxima de 3000 psi y el indicador digital de temperatura de la marca AMETEK (CRISTAL) VISION, modelo 363487, con resolución de centésimas de grado y dos sensores de temperatura (termopares) de distinto tamaño.



#### **5.2.2.5 SISTEMA DE RECOLECCIÓN O SEPARACIÓN.**

Para llevar a cabo la recolección del aceite de hierbabuena se empleó una celda de recolección de vidrio de borosilicato (pyrex) con un brazo de entrada de 3/8" OD, un brazo de salida de 1/4" OD, ambos brazos con la boca roscada y un serpentín a la entrada de la celda.

#### **5.2.3 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL TERMOCOMPRESOR Y LA CELDA DE EXTRACCIÓN.**

El diseño del termocompresor y de la celda de extracción se tomó del establecido por Eustaquio-Rincon *et al.* (2010), en el cual el termocompresor contempla una sola pieza de forma cilíndrica con una tapa de un extremo y una tapa ciega para el otro extremo. Por su parte, la celda de extracción involucra tres piezas: el cuerpo en sí de la celda de extracción (el cual también es de forma cilíndrica), una tapa con dos conexiones y una brida de dos piezas. El termocompresor se construyó con una capacidad de 6 L, en tanto que la celda de extracción tiene una capacidad de 700 mL. La construcción de ambas piezas se llevó a cabo en los talleres de la empresa "*Taller Mecánico Industrial Romano*" ubicado en la Ciudad de México, D.F.

#### **5.2.4 ADQUISICIÓN DE EQUIPOS Y ACCESORIOS.**

Las válvulas, manómetros y accesorios como codos, uniones te, uniones rectas y demás, fueron adquiridos con la empresa STL TUBE FITTINGS S.A. de C.V. de la ciudad de México, Distrito Federal.

En lo que respecta al regulador de presión industrial (RP) y al regulador de contra-presión industrial (RCP), éstos se adquirieron con la empresa FLUSISTEMAS, S. de R.L. de C.V. ubicados en Tlalnepantla Estado de México, distribuidor SWAGELOK en México.

## **5.2.5 CONSTRUCCIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA Y PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO.**

Una vez que se contó con todas las piezas y accesorios requeridos se procedió a la construcción del equipo en el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos, ubicado en el edificio del Laboratorio de Productos Naturales y Alimentos, de la Universidad Tecnológica de la Mixteca (UTM). Con el equipo construido se realizaron pruebas preliminares de funcionamiento para identificar posibles fugas y verificar que se alcanzaran las condiciones de presión y temperatura requeridas.

### **5.2.5.1 CALIBRACIÓN DEL BAÑO DE ACRÍLICO.**

La calibración consistió en determinar la temperatura a la que se debe programar el baño térmico para alcanzar la temperatura de operación en el baño de acrílico, que contiene a la celda de extracción. Para ello se conectó el baño térmico al de acrílico para hacer recircular el agua. Dentro del baño de acrílico se colocó el termopar del indicador digital de temperatura para registrar la temperatura que se alcanzaba en dicho baño. Se programó una temperatura específica en el baño térmico y se esperó a que la temperatura del baño de acrílico se estabilizara. Una vez ocurrido esto se tomó la lectura de la temperatura del baño de acrílico y se aumentó la temperatura del baño térmico 0.2 °C. El proceso se repitió hasta que en el baño de acrílico se alcanzara la temperatura de operación deseada. Las temperaturas de operación calibradas fueron: 35, 38 y 45 °C

### **5.2.5.2 PRUEBA DE SELLADO DE LA CELDA DE EXTRACCIÓN (CE).**

Antes de realizar las corridas experimentales se realizó una prueba para evaluar el sellado de la celda de extracción y verificar que no presentara fugas. Este procedimiento se realizó en el laboratorio de Propiedades Termodinámicas del Instituto Mexicano del Petróleo (IMP) en la ciudad de México D.F. Habiendo establecido que la presión a la que se estaría trabajando con la celda sería de 1500 psi aproximadamente, la presión de prueba se fijó en 3000 psi. Para llevar a cabo la prueba, la CE se introdujo dentro de un baño de agua que cubrió por completo la celda. La

válvula de salida se cerró y a la entrada de la celda de extracción se conectó la salida de un compresor booster. Se midió la presión dentro de la celda de extracción con un manómetro de caratula de 5000 psi. El fluido de prueba utilizado fue nitrógeno. Con la válvula de entrada abierta se accionó el booster hasta alcanzar las 3000 psi en el manómetro. A partir de ese momento se cerró la válvula de paso que conectaba el booster con la CE y se contabilizaron 30 minutos. Durante este tiempo se verificó que la presión dentro de la CE no disminuyera. A manera de control visual se verificó también que no se presentaran burbujas dentro del baño de agua. Al concluir los 30 minutos y tras verificar que la presión del manómetro no decayó y que no hubo presencia de burbujas en el baño de agua, se despresurizó la celda, concluyendo como exitosa la prueba de sellado.



Fig. 17. Prueba de sellado de la celda de extracción.

### 5.3 EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE *Mentha Spicata L.*

El proceso de extracción del aceite esencial a partir de la planta *Mentha Spicata L.* se realizó como se describe en el siguiente diagrama.

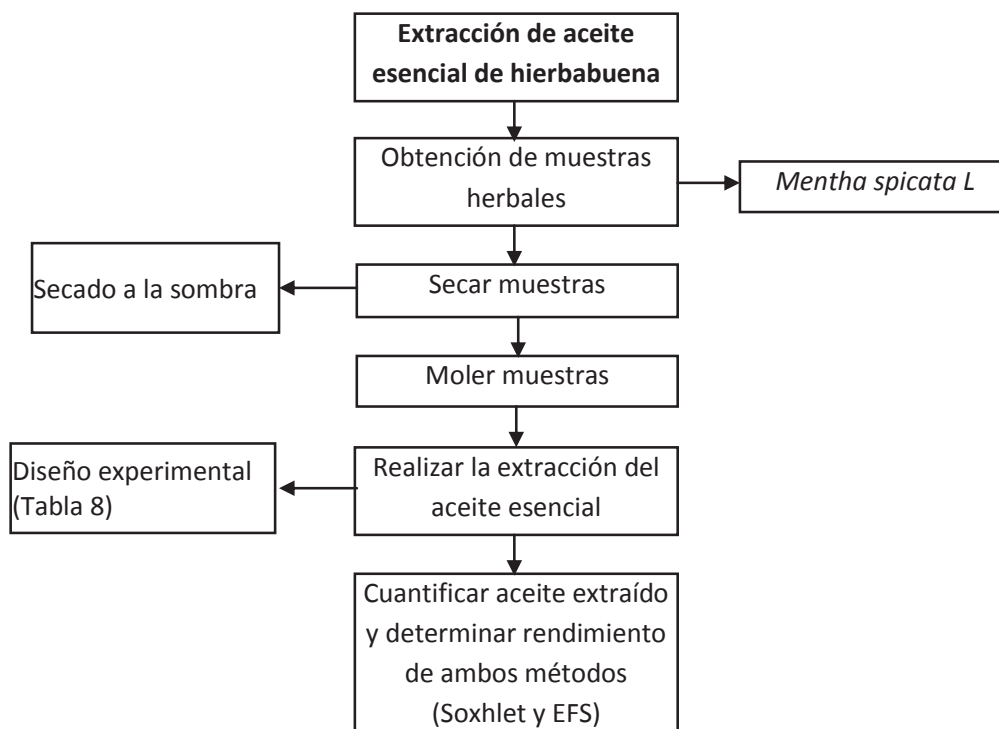


Fig. 18. Diagrama del proceso de extracción de aceite esencial de menta.

### 5.3.1 PRETRATAMIENTO DE LA MUESTRA.

El pretratamiento consistió en un proceso de secado y molido. Se adquirió un lote de hierbabuena en el mercado Ignacio Zaragoza de la ciudad de Huajuapán de León, el cual presentaba un aroma muy fragante y apariencia fresca sin presencia de botones florales, ya que fueron recolectadas en una etapa temprana de crecimiento. El lote de hierbabuena se sometió a un proceso de limpieza manual para retirar las hojas en mal estado (ya sean maltratadas o en una etapa avanzada de madurez). Los tallos de mayor grosor se cortaron hasta la altura en la cual se encontraban los brotes de las primeras hojas (Fig. 19 a 21). Enseguida se realizó un lavado manual para retirar los restos de tierra y materia extraña presentes en las muestras de hierbabuena.



Fig. 19. Lote de hierbabuena.



Fig. 20. Hojas en mal estado que fueron retiradas.



Fig. 21. Altura a la que se realizó el corte de tallos de mayor grosor.

El proceso de secado se realizó por un método que se denominó secado a la sombra. Las muestras de hierbabuena se colocaron sobre mallas de acero con una base de madera de 50 x 40 x 4 cm las cuales fueron alojadas dentro del Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos a temperatura ambiente en una zona donde no estuviera en contacto directo con los rayos del sol. En total se colocaron 8 mallas, tomando a una de éstas como control para ser pesada y determinar el momento en que se obtuviera un peso constante de la muestra, lo que indicaría la finalización del proceso de secado. Diariamente se giraban las muestras de las mallas para que la muestra que estuviera en la parte inferior quedara ahora en la parte superior. También diariamente se realizó el pesado de la malla control. En total se colocaron 1.950 kg de muestra fresca y el proceso culminó a los 12 días.

Las muestras de hierbabuena secas se sometieron a un proceso de molienda empleando un molino de tornillo sinfin. Se molió toda la muestra incluyendo tallos y hojas. Una vez molidas, las muestras fueron tamizadas empleando un tamiz número 4 (4760  $\mu\text{m}$ ) y colocadas dentro de recipientes de plástico con tapa roscada. Los recipientes se almacenaron en un refrigerador marca TOR REY a 5 °C hasta el momento de su uso.

### 5.3.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.

Se realizó la determinación de humedad de las muestras frescas del lote de hierbabuena para obtener un dato de referencia de la humedad de la hierbabuena a utilizar. La determinación se realizó por el método de secado en un horno (*FELISA*) a 105 °C colocando tres muestras diferentes: solo hojas, solo tallos y hojas más tallos (en proporción 50-50 % en peso). Se pesaron las muestras en una balanza analítica antes del iniciar el procedimiento y después cada hora hasta que no se observó variación en el peso de las muestras. Cada una de las determinaciones se realizó por triplicado.

### 5.3.2 EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HIERBABUENA.

Para realizar la extracción del aceite esencial de hierbabuena se emplearon dos métodos: extracción Soxhlet y extracción con fluidos supercríticos (CO<sub>2</sub> supercrítico). Se estableció el siguiente diseño experimental (Tabla 8) considerando al rendimiento como variable de respuesta.

Tabla 8. Diseño experimental para la extracción de aceite esencial de hierbabuena.

Extracción Soxhlet	Extracción Supercrítica			
	Temperatura (°C)	Presión: 100 bar		
R <sub>1</sub>	35	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
R <sub>2</sub>	40	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
R <sub>3</sub>	45	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>

R<sub>n</sub>= rendimiento de la corrida n-ésima.

#### 5.3.2.1 EXTRACCIÓN SOXHLET.

La extracción del aceite esencial de hierbabuena por el método Soxhlet se llevó a cabo empleando la metodología establecida por la AOAC, generando una variante, el empleo de 150 mL de éter de petróleo con BHT al 0.001% como disolvente durante el proceso de extracción. Se homogeneizó la muestra de hierbabuena molida y se pesaron aproximadamente 5 g de muestra en una balanza analítica. La muestra se colocó dentro de cartuchos de celulosa en un equipo de extracción soxhlet marca KIMAX modelo 240771 de 250 mL o 40 mm, manteniendo a reflujo

durante 4 horas. Pasado este tiempo el éter de petróleo se recuperó empleando un rotavapor. Los matraces fueron pesados en una balanza analítica para determinar el rendimiento mediante la siguiente fórmula.

$$\text{Rendimiento global} = \frac{\text{cantidad de aceite esencial extraído}}{\text{Cantidad de muestra empleada(b.s.)}} \quad \text{Ec. 13}$$

Una vez determinado el rendimiento se recuperó el aceite esencial extraído empleando 10 mL de hexano con BHT al 0.001%. Se realizaron varios lavados con 1 mL de Hexano-BHT procurando arrastrar todo el aceite contenido en los matraces. El aceite extraído se almacenó en frascos ámbar a 5 °C.

#### **5.3.2.1 EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.**

Esta extracción se realizó con el equipo construido a tres temperaturas diferentes: 35, 40 y 45 °C, manteniendo la presión constante en 100 bar. La muestra de hierbabuena seca y molida fue homogeneizada previa a su pesado. Posteriormente se pesó 25 g de muestra en una balanza analítica y se colocó dentro de la celda de extracción. Antes de realizar la extracción del aceite, se pesó el sistema completo de recolección compuesto por la celda de recolección, las tapas y las mangueras de entrada y salida. Al finalizar el proceso de extracción nuevamente se pesó el sistema de recolección que contenía el aceite extraído. Por diferencia de peso se determinó la cantidad total de aceite extraído por cada corrida. Una vez determinado el rendimiento se recuperó el aceite esencial extraído mediante lavados con 1 mL de hexano con BHT al 0.001%, empleando un total de 10 mL de hexano-BHT y procurando arrastrar todo el aceite contenido en la celda. El aceite extraído se almacenó en frascos ámbar a 5 °C. Después de cada corrida se lavó perfectamente la celda de extracción y se enjuagó con hexano para remover cualquier rastro de aceite que pudiera contener y que afectara la cuantificación de la siguiente corrida. Para cada una de las temperaturas se realizaron pruebas por triplicado y el rendimiento global se determinó mediante la ecuación 13.



**CAPÍTULO VI**  
**RESULTADOS Y**  
**DISCUSIÓN**

### 6.1 CONFIGURACIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.

Tomando como base la configuración empleada por Salazar-Govea (2008), y haciendo las adecuaciones necesarias para ajustar el equipo a las necesidades del laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos y al presupuesto con el que se contaba, se estableció el arreglo del equipo de extracción supercrítica como se muestra en la Figura 22. Los principales elementos de este equipo son: un cilindro de CO<sub>2</sub>, válvulas de globo para el paso del fluido V1 y V2, válvulas de aguja para la regulación del flujo del fluido V3 a V6, válvulas de seguridad VS, válvula micrométrica VM, manómetros de carátula M1-M3, regulador industrial de presión RP, regulador industrial de contra-presión RCP, termocompresor TC, cinta de calentamiento CC, indicador digital de temperatura IDT, indicador digital de presión IDP, medidor de flujo MF, baño térmico BT, baño de acrílico BA, celda de extracción CE y celda de recolección CR. En la Figura 23 se presenta una imagen real del equipo construido.

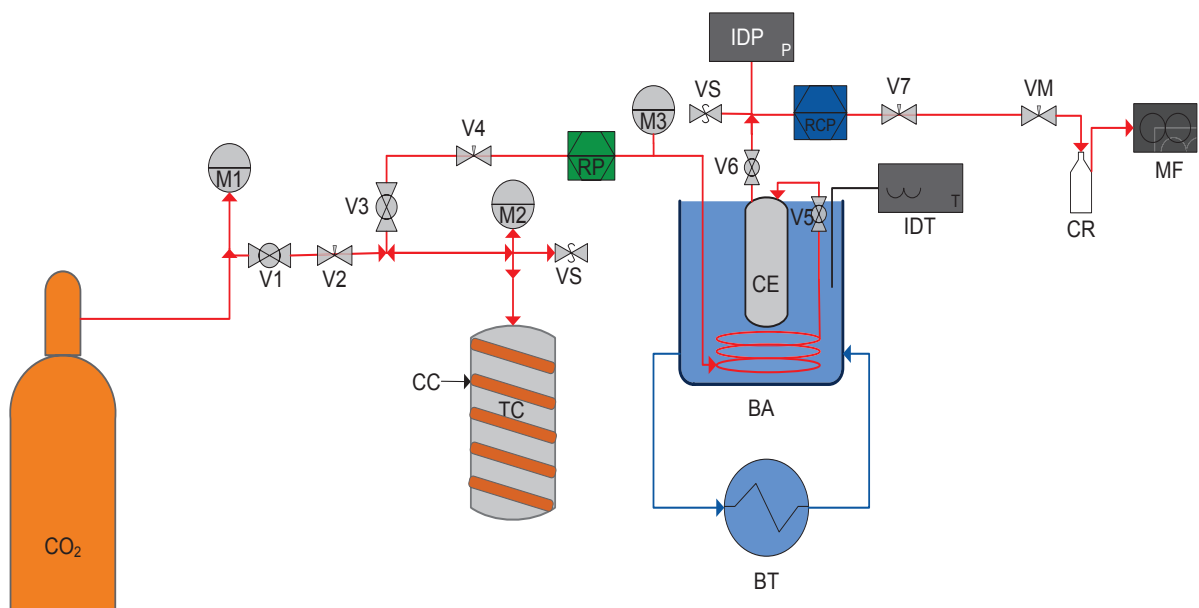


Fig. 22. Diagrama del equipo de extracción supercrítica diseñado.

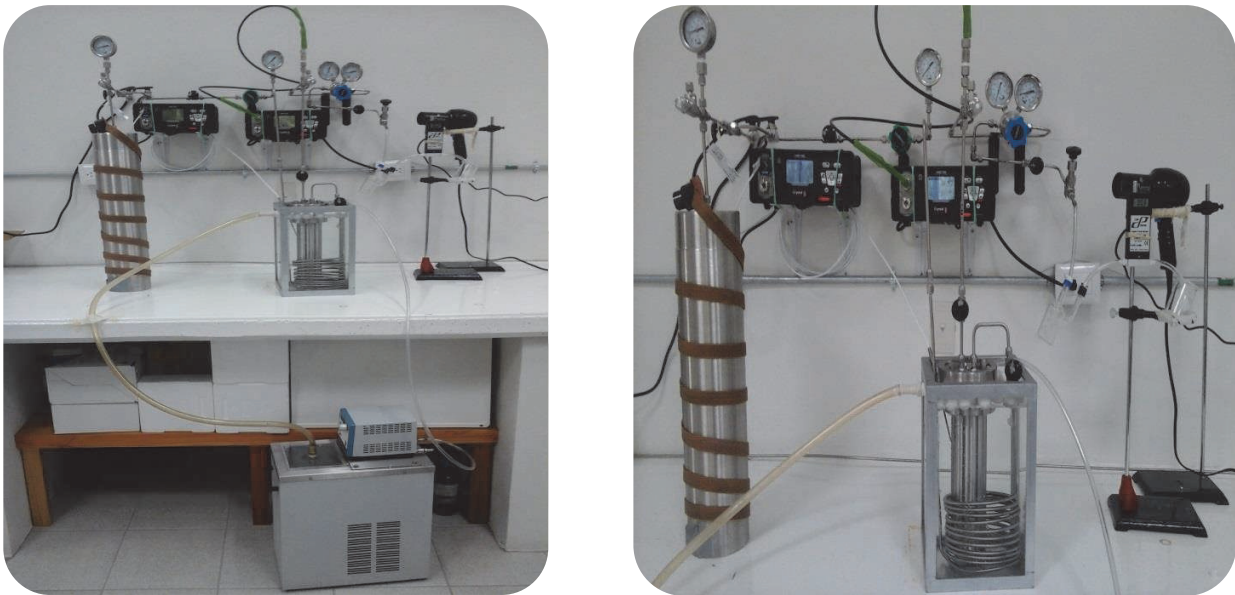


Fig. 23. Equipo de extracción supercrítica construido. Izquierda, vista completa. Derecha, vista parte superior.

## 6.2 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL TERMOCOMPRESOR Y LA CELDA DE EXTRACCIÓN.

El termocompresor se diseñó y fabricó de acero inoxidable T-316, con diámetro exterior de 132 mm y diámetro interior de 90 mm, con una longitud total de 530 mm. El diseño y construcción del termocompresor contempla una sola pieza de forma cilíndrica con una tapa de un extremo conteniendo un barreno de 1/8 de NPT y una tapa ciega para el otro extremo. En su fabricación se usó soldadura de argón en la unión de ambas tapas con el cuerpo del termocompresor, para soportar una presión de 5000 psi (Apéndices D y E). En lo que respecta a la celda de extracción supercrítica, ésta también se diseñó y construyó de acero inoxidable T-316, con diámetro interior de 55 mm, un diámetro exterior de 86 mm y un largo total de 300 mm. Dicha celda está conformada por una tapa con dos cuerdas de 1/4 NPT, una brida de dos piezas con tres perforaciones de rosca estándar para tornillos de 3/8" en cada pieza, para sujeción de la tapa y el cilindro (Apéndices B y C). La celda está diseñada para soportar una presión máxima de 5000 psi. Como se estableció en la metodología, el diseño de las dos piezas se tomó del establecido por Eustaquio-Rincón *et al.* (2010). En tanto que la construcción de ambas piezas se llevó a cabo en "TALLER MECANICO INDUSTRIAL ROMANO" en la ciudad de México, D.F.

### 6.3 CONSTRUCCIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA Y PRUEBAS DE FUNCIONAMIENTO.

El equipo fue construido en el Laboratorio de Ciencia y Tecnológica de Alimentos de la Universidad Tecnológica de la Mixteca (UTM). El baño de acrílico se construyó en el Taller de Plásticos de la Universidad Tecnológica de la Mixteca, donde se realizó el corte de la hoja de acrílico, las perforaciones de las caras y el pegado de estas a la base metálica. Dicha base fue construida en un taller particular llamado “AMÉRICA”, ubicada en la ciudad de Huajuapán de León.

#### 6.3.1 CALIBRACIÓN DEL BAÑO DE ACRÍLICO.

Los resultados obtenidos de la calibración del baño de acrílico se muestran en la Tabla 9 y la Figura 24.

Tabla 9. Calibración de baño térmico y acrílico.

TEMPERATURA BAÑO TÉRMICO (°C)	TEMPERATURA BAÑO ACRÍLICO (°C)
34.8	34.38
35	34.51
35.2	34.64
35.4	34.87
35.6	35.05
37.8	37.35
38	37.46
38.2	37.7
38.4	37.9
38.5	38.05
38.6	38.12
45.4	44.61
45.6	44.74
45.8	44.93
45.9	45.05

Como se observa en la Figura 24, para cada temperatura calibrada se realizó una regresión cuadrática de los datos para obtener el mejor ajuste. Esta expresión es muy útil ya que permite establecer, de manera rápida, la temperatura a la que se debe programar el baño térmico para alcanzar la temperatura de operación deseada en el baño de acrílico. Para las tres expresiones se obtiene un valor de  $R^2$  muy cercano a 1, lo que indica que la ecuación ajustada representa el comportamiento de los datos con una exactitud cercana a 100%.

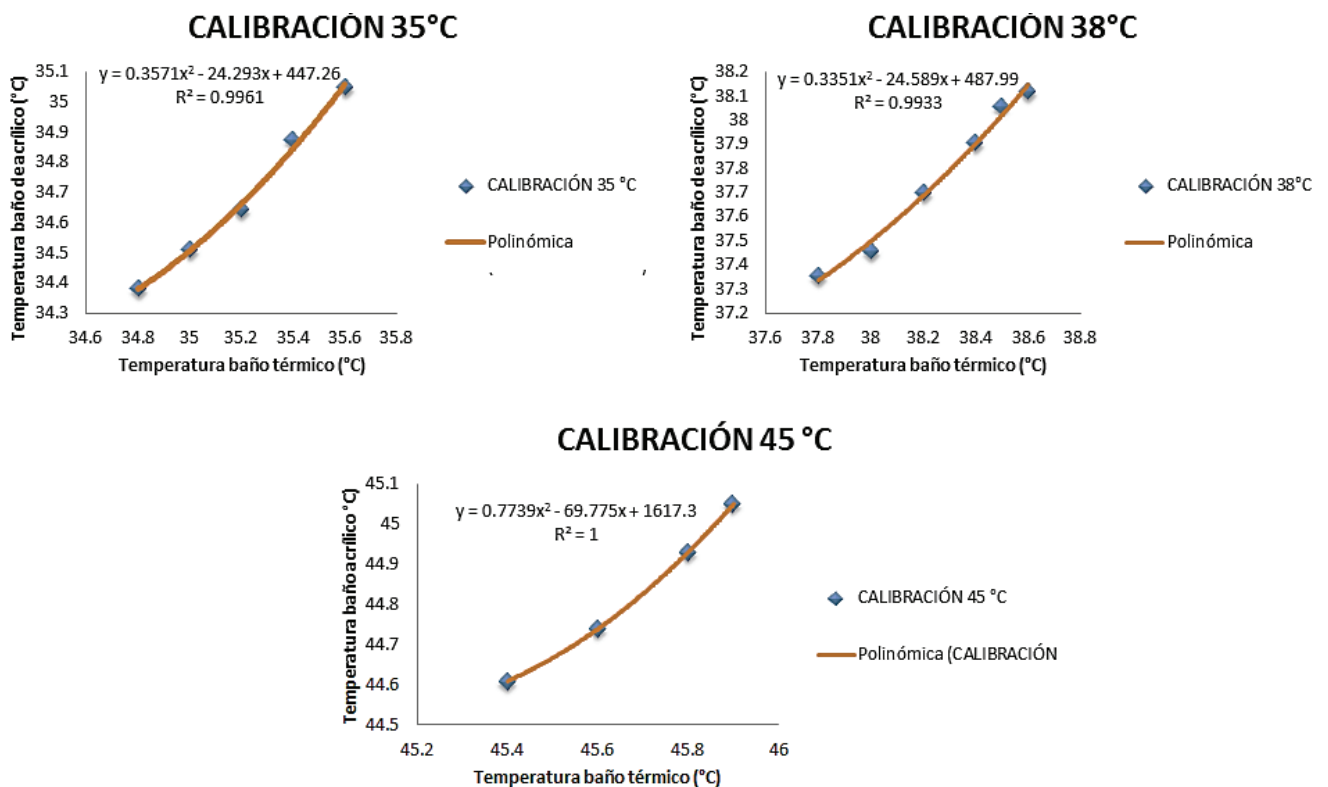


Fig. 24. Gráficas de la calibración del baño térmico y acrílico.

### 6.3.2 PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.

En esta sección se describe el procedimiento implementado para operar el equipo de extracción supercrítica, el cual surgió como resultados de las corridas de pruebas. El primer paso consiste en el llenado del termocompresor con el  $CO_2$  que proviene del cilindro comercial. Para esto se colocan 2 mitades de tubo de PVC de 8" alrededor del termocompresor a manera de encaquetado como se muestra en la Figura 25. Posteriormente se agrega hielo para enfriar el termocompresor y llenar por etapas dicho elemento, haciendo de esta manera más eficiente el

proceso. Se realizó una prueba de llenado sin implementar este procedimiento logrando una presión en el termocompresor de 750 psi que es menor a la del cilindro comercial lleno. Implementando el procedimiento aquí descrito se alcanzó una presión en el termocompresor de 950 psi, lo cual corrobora la eficiencia del llenado enfriando dicho elemento. El procedimiento detallado de operación se describe en el Apéndice G. Este procedimiento es una etapa previa al proceso concreto de extracción, el cual se dividió en seis etapas de operación.

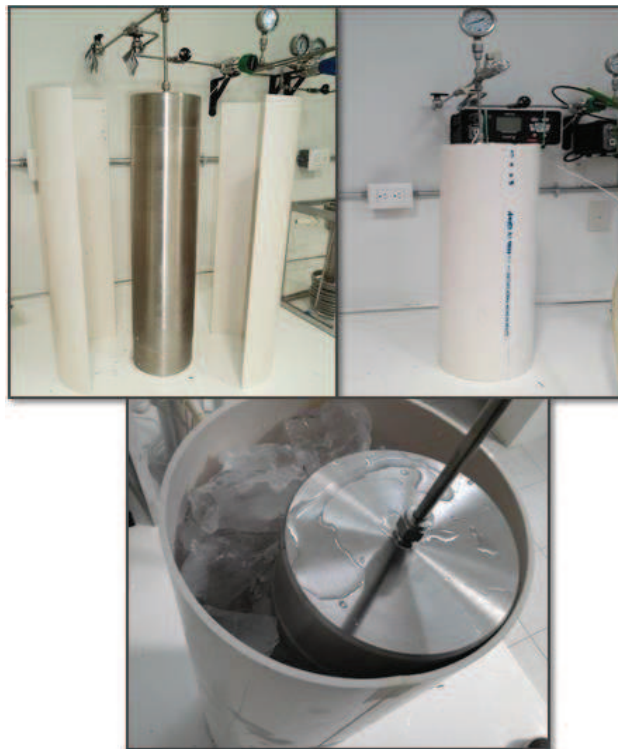


Fig. 25. Enfriamiento del termocompresor para su llenado.

La primera de las etapas de operación es el llenado de la celda de extracción con la muestra, su colocación en el baño de acrílico y su conexión con el resto del equipo. La segunda etapa consiste en el calentamiento del termocompresor (TC) y del baño de acrílico (BA) para alcanzar presión y temperatura de operación respectivamente. La tercera etapa involucra la calibración del regulador de contrapresión para que opere a una presión tal que permita controlar la presión de operación en la celda de extracción. Para este caso se calibró para que operara a 1450 psi. Una vez calibrado el regulador de contrapresión prosigue la etapa de extracción que es cuando se pone en contacto la muestra con el fluido supercrítico, se controlan presión, temperatura y flujo y se cuantifica el CO<sub>2</sub> empleado. Para la extracción del aceite de hierbabuena

el proceso constó de una etapa inicial de 30 minutos de fase estática, 3 etapas de 60 minutos de fase dinámica, 2 etapas estáticas de 15 minutos y un volumen total de CO<sub>2</sub> empleado de 6.7 L (Figura 26). Pasado el tiempo de extracción se procede con la etapa de despresurización de la celda de extracción y la recuperación del aceite extraído para finalizar con la cuantificación de dicho aceite y la determinación del rendimiento. El procedimiento de operación detallado se describe en el Apéndice G.

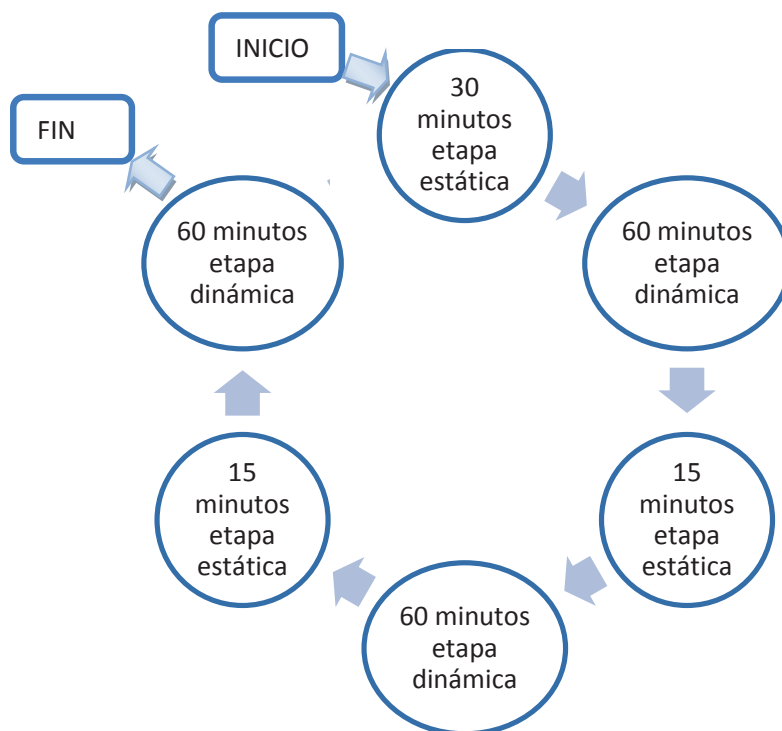


Fig. 26. Secuencia de la etapa de extracción.

## 6.4 EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE *MENTHA SPICATA L.*

### 6.4.1 PROCESO DE SECADO.

Al finalizar el secado del lote de hierbabuena se obtuvo un peso total de 0.4 kg, lo que indica un porcentaje de humedad de 79.49%.

#### 6.4.2 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD.

Los resultados de la determinación de humedad se presentan en la Tabla 10. Se puede apreciar que no existe una diferencia significativa entre el contenido de humedad en hojas y tallos como se podría esperar dada la naturaleza de los tejidos que conforman a cada estructura. En base a lo anterior se estimaba encontrar un mayor contenido de humedad en los tallos. El obtener un valor semejante de humedad en la mezcla de tallos más hojas corrobora que no existe una diferencia significativa en el contenido de humedad de las dos estructuras. Sin embargo se debe considerar que en el caso de los tallos se presenta una variabilidad considerablemente alta, por lo que se pudiera llegar a dudar de la veracidad de la afirmación de que la humedad en ambas estructuras es igual. Finalmente, al trabajar con toda la planta (tallos y hojas) en los procesos de extracción, se toma como referencia la humedad obtenida de la mezcla de hojas y tallos.

Tabla 10. Porcentaje de humedad de la hierbabuena.

<b>MUESTRA</b>	<b>% DE HUMEDAD<sup>a</sup></b>
<b>HOJAS</b>	72.54 ± 0.39
<b>TALLOS</b>	73.45 ± 2.00
<b>HOJAS + TALLOS</b>	72.94 ± 0.41

<sup>a</sup>, provenientes de tres replicas.

#### 6.4.3 EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HIERBABUENA.

##### 6.4.3.1 EXTRACCIÓN SOXHLET.

En la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos del proceso de extracción de aceite esencial de hierbabuena mediante el método soxhlet. Los extractos obtenidos presentaron una diferencia apreciable de color variando desde un amarillo claro hasta un verde intenso. Como se observa, se presenta una variabilidad considerable entre réplicas. Esta variación entre las réplicas puede ser atribuible a una falta de homogeneización de las muestras empleadas, aunque también puede deberse a la presencia de un factor aleatorio no controlable. Dado que este proceso se considera exhaustivo, por la naturaleza de los disolventes empleados, la cantidad de aceite obtenida se considera como el 100% de aceite que contiene la muestra.



Tabla 11. Rendimientos de la extracción de aceite esencial de hierbabuena por el método soxhlet.

RENDIMIENTO (% B.S.)	
PROMEDIO	7.41 ± 0.95

\* Los valores son el resultado de tres réplicas.

#### 6.4.3.2 EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.

En la tabla 12 se muestran los resultados obtenidos del proceso de extracción de aceite esencial de hierbabuena empleando CO<sub>2</sub> supercrítico a 100 bar y tres diferentes temperaturas: 35, 40 y 45 °C. Como se observa, se presentó el comportamiento esperado y descrito en la literatura, se obtuvo un mayor rendimiento a la menor temperatura, por encima de la crítica, producto del efecto de la temperatura en la densidad del fluido. Como lo describe Giddings *et al.*, (1968) el poder disolvente de un fluido supercrítico está en función de la densidad, a mayor densidad, mayor poder disolvente. A su vez, la densidad es función de la presión y temperatura, a mayor presión por encima de la crítica se obtiene una mayor densidad. Por su parte el efecto de la temperatura es contrario al de la presión (Smith *et al.*, 2007). Por ello se estimó que se obtendría un menor rendimiento al operar a mayor temperatura, manteniendo la presión constante. Cabe destacar que para este caso todas las muestras presentan un color homogéneo (amarillo claro), lo cual contrasta con el proceso soxhlet, que es un indicativo de que la EFS es una técnica que permite obtener extractos más homogéneos para esta muestra.

Tabla 12. Rendimientos de la extracción de aceite esencial de hierbabuena por el método de EFS.

TRATAMIENTO	PROMEDIO (b.s)*
35 °C	0.347 <sup>a</sup> ± 0.015
40°C	0.237 <sup>b</sup> ± 0.011
45°C	0.190 <sup>c</sup> ± 0.000

\*Los valores reportados son el resultado de tres réplicas.  
Diferentes letras en la misma columna representan diferencias significativas (p<0.05).

Como también se reporta en la literatura, se obtuvieron rendimientos mucho menores que en el caso de la extracción soxhlet, lo que concuerda con lo reportado por Abbasi *et al.*, (2008) y Paes *et al.*, (2014). Abbasi *et al.*, (2008) reportan que para la extracción de aceite de semillas de granada empleando el método soxhlet, con hexano como disolvente, obtuvieron un rendimiento de  $18.7 \pm 0.2\%$  (b.s) en tanto que para extracción con fluidos supercríticos, empleando CO<sub>2</sub>, obtuvieron un rendimiento máximo de 2.14% (b.s). Por su parte Paes *et al.*, (2014) reporta que para la extracción de compuestos fenólicos y antocianinas de residuos de arándanos obtuvieron un rendimiento máximo de 67.8 % (b.s) por el método soxhlet en tanto que empleando CO<sub>2</sub> supercrítico obtuvieron un rendimiento máximo de 2.19 % (b.s). No obstante, el bajo rendimiento puede deberse a dos factores: que la EFS resulte más selectiva como lo reportan Abbasi *et al.*, (2008) para el aceite de semillas de granada, mediante un análisis de composición del aceite empleando cromatografía de gases; y Almeida y Mezzomo (2012) para extracción de compuesto volátiles de menta mediante la identificación y cuantificación relativa de los compuestos volátiles empleando un análisis de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas; o bien que no se haya llegado al agotamiento del aceite en la muestra, como ocurre en la extracción soxhlet.

Además, observando los resultados de la Tabla 12, se puede apreciar que no se presentó una variación grande en los rendimientos de las réplicas. Por lo tanto es adecuado resaltar la reproducibilidad que presentó la EFS empleando el equipo construido. En la Figura 27 se puede observar el aceite extraído con EFS.

Al comparar estadísticamente los valores reportados en la Tabla 12 se observó, mediante un ANOVA con  $\alpha = 0.05$ , que existe diferencia significativa entre los rendimientos de extracción en los diferentes tratamientos. Para corroborar los resultados estadísticos obtenidos del ANOVA se realizaron dos análisis adicionales (Tukey y Fisher), en los que se hicieron comparaciones de medias por pares. Los resultados de estas pruebas indicaron que existe diferencia significativa entre los rendimientos de extracción obtenidos. El análisis estadístico fue realizado mediante el software estadístico Minitab® 16.



Fig. 27. Aceite esencial de hierbabuena extraído con CO<sub>2</sub> supercrítico.

Por otra parte, Ansari y Goodarznia (2012) realizaron la extracción de aceite de hierbabuena empleando condiciones de presión y temperatura similares a los utilizados en este trabajo pero variando otros parámetros adicionales. El diseño experimental utilizado por estos autores, así como sus resultados para 100 bar, se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 13. Resultados de la extracción de aceite de hierbabuena reportado por Ansari y Godarznia, 2012.

PRESIÓN (BAR)	TEMPERATURA (°C)	FLUJO (mL/min)	TAMAÑO DE PARTÍCULA (µm)	ETAPA ESTÁTICA (min)	ETAPA DINÁMICA (min)	RENDIMIENTO (%)
100	35	300	500	60	120	1.6
100	40	480	250	60	90	0.42
100	45	60	1000	60	50	0.79

Al comparar los rendimientos reportados por Ansari y Godarznia (2012) con los obtenidos en el presente trabajo, se puede apreciar una diferencia significativa entre ambos, siendo menores los rendimientos aquí reportados. Sin embargo cabe destacar que la cantidad de CO<sub>2</sub> supercrítico que se empleó en este trabajo es mucho menor que el empleado por estos autores ya que en promedio se utilizaron aproximadamente 5.5 litros en comparación de los 36, 27 y 3 litros (para las

temperaturas de 35, 40 y 45 °C respectivamente), que utilizaron los autores, producto de la variación del flujo y del tiempo de etapa dinámica. Ante ello se puede realizar una comparación de los rendimientos obtenidos en ambos trabajos operando a 45 °C ya que las cantidades totales de CO<sub>2</sub> empleados son similares. Al realizar dicha comparación se aprecia que el rendimiento obtenido en este trabajo es mucho menor al obtenido por Ansari y Godarznia (2012), sin embargo, se debe considerar que el rendimiento que los autores reportan no es producto solo del efecto de la temperatura, sino más bien es producto del efecto conjunto del tamaño de partícula, temperatura, flujo, tiempo de etapa estática y dinámica. Por ello, haciendo la comparación de estos dos rendimientos, no se puede establecer que el rendimiento obtenido en este trabajo sea inadecuado. Además, dado el diseño experimental que los autores utilizan, es complicado establecer específicamente el efecto de cada una de las variables que utilizaron.

En general Ansari y Godarznia (2012) reportan que el flujo no tuvo efecto significativo en el rendimiento, en tanto que el tamaño de partícula y el tiempo de etapa dinámica tuvieron un efecto positivo, es decir, al aumentar el tiempo y disminuir el tamaño de partícula se obtuvieron mayores rendimientos. Finalmente los autores indican que la temperatura presentó un efecto negativo, al aumentar la temperatura el rendimiento disminuyó. Al comparar el tamaño de partícula utilizado en este trabajo (4760 µm) con los utilizados por Ansari y Godarznia (2012) se observa que éste es mucho mayor por lo que se podría estimar que el tamaño de partícula afectó al rendimiento de extracción, de acuerdo a lo que indican dichos autores. Respecto al tamaño de partícula, Bensabia *et al.*, (2009), también reportan el mismo efecto positivo en el rendimiento de extracción respecto a la disminución del tamaño de partícula. En un estudio que realizaron para determinar el efecto de ciertos parámetros y modelar el proceso de extracción de aceite de romero, Bensabia *et al.*, (2009) reportan que una disminución del tamaño de partícula generó un mayor rendimiento, debido a que la superficie de contacto fue mayor. No obstante, también existen reportes que indican que en general, el tamaño de partícula no tiene efecto sobre el rendimiento. Esto debido a la baja tensión superficial del CO<sub>2</sub> que genera un alto poder de penetrabilidad, como lo describe Luque de Castro *et al.*, (1994). Ante esta polémica del efecto del tamaño de partícula, se plantea, como trabajo futuro, determinar si éste parámetro tiene efecto en el rendimiento de extracción empleando el equipo construido y variando los tamaños de partícula de la matriz. Así pues, en base a todo lo discutido, se considera adecuado estimar que al emplear una mayor cantidad de CO<sub>2</sub> supercrítico es posible obtener, con el equipo construido, rendimientos similares a los reportados por Ansari y Goodarznia (2012), siempre y cuando se

utilicen parámetros similares a los establecidos por los autores, considerando que siempre existirán variaciones debido a la naturaleza de las muestras empleadas (características del suelo, clima, variedad de planta, etc).

#### 6.4.4 AGOTAMIENTO PARCIAL DE LA MUESTRA DE HIERBABUENA.

Con el objetivo de obtener una referencia de la cantidad total de aceite esencial de hierbabuena que puede ser extraído con el uso de CO<sub>2</sub> supercrítico, se realizó una corrida de agotamiento con una sola muestra de hierbabuena. Dicha corrida constó de ocho sub-corridas en las cuales se hicieron pasar un total de 37.9 litros de CO<sub>2</sub> supercrítico obteniendo un rendimiento de extracción de 1.24 %. En cada sub-corrída el volumen de despresurización fue de 1.4 litros de CO<sub>2</sub>. En la Tabla 14 se muestran los resultados de la corrida de agotamiento y en la Figura 28 se muestra la gráfica de dichos resultados. En la gráfica se puede observar una tendencia creciente del aceite extraído lo cual indica de que no se llegó al agotamiento total de la muestra ya que de haberlo conseguido se observaría un comportamiento constante en la parte final de la gráfica.

Tabla 14. Resultados de la corrida de agotamiento de la EFS de aceite esencial de hierbabuena.

CORRIDA	ACEITE EXTRAÍDO (g)	ACEITE ACUMULADO (g)	CO <sub>2</sub> DE OPERACIÓN (L)	CO <sub>2</sub> DE OPERACIÓN + DESFOGUE (L)	CO <sub>2</sub> ACUMULADO (L)
1	0.028	0.028	3.4	4.8	4.8
2	0.016	0.043	2.9	3.8	8.6
3	0.026	0.069	3.4	4.7	13.3
4	0.012	0.081	3.3	4.7	18.0
5	0.031	0.113	3.4	4.8	22.8
6	0.029	0.142	3.5	4.8	27.6
7	0.046	0.188	3.7	5.0	32.7
8	0.061	0.248	3.9	5.2	37.9

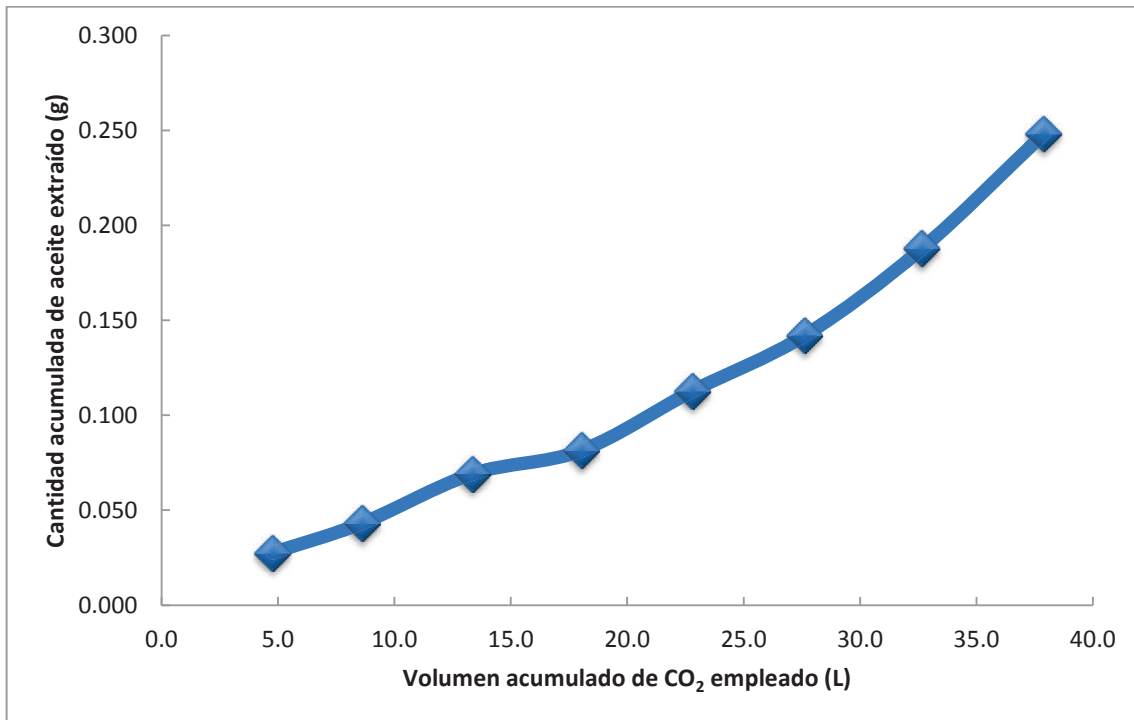


Fig. 28. Gráfica de la corrida de agotamiento de la EFS de aceite esencial de hierbabuena.

Comparando los resultados de la corrida de agotamiento para la extracción de aceite esencial de hierbabuena con los reportados por Salazar-Govea (2008) para la extracción de los ácidos grasos de larva de mosca común se aprecian dos aspectos importantes. El primero es la concordancia del comportamiento creciente de la gráfica en el intervalo de cero a cuarenta litros de CO<sub>2</sub> empleado. El segundo es que se confirma que no se alcanzó el agotamiento del aceite de hierbabuena con las cantidades de CO<sub>2</sub> empleado en este trabajo. Salazar-Govea (2008) reporta un agotamiento de la muestra empleando 1000 litros de CO<sub>2</sub>, que es aproximadamente 26 veces la cantidad que se empleó en este trabajo (37.9 litros). A pesar de ser muestras diferentes, es posible tomar los valores de Salazar-Govea como referencia de la cantidad que se requiere para lograr un agotamiento, con lo cual se concluye que la muestra de hierbabuena se quedó lejos de lograr su agotamiento y consecuentemente la cantidad de aceite total que se puede obtener por el método de EFS es mayor al reportado aquí.

# **CAPÍTULO VII**

## **CONCLUSIONES**

Con base a los resultados obtenidos en este trabajo, se obtuvieron las siguientes conclusiones.

1. Se logró construir un equipo de extracción supercrítica a escala laboratorio cuyos elementos esenciales son una celda de compresión de gas (termocompresor), una celda de extracción y una celda de separación.
2. Se consiguió extraer aceite esencial de hierbabuena por medio de extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico empleando el equipo construido.
3. Los rendimientos de extracción de aceite de hierba obtenidos ( $0.347 \pm 0.015$ ,  $0.237 \pm 0.011$  y  $0.190 \pm 0.000$  %, operando a 100 bar y 35, 40 y 45 °C, respectivamente) fueron menores a los reportados por Ansari y Goodarznia (2012) empleando aproximadamente 6.7 litros de CO<sub>2</sub> supercrítico por corrida.
4. Se obtuvo un agotamiento parcial de la muestra de hierbabuena con un rendimiento de 1.24 % empleando 37.9 litros de CO<sub>2</sub> supercrítico.
5. Se establecieron las condiciones óptimas de extracción para hierbabuena, las cuales son 100 bar y 35 °C.



# **CAPÍTULO VIII**

## **PERSPECTIVAS**

De acuerdo a los resultados del trabajo realizado y a las conclusiones obtenidas, se establecen las siguientes perspectivas.

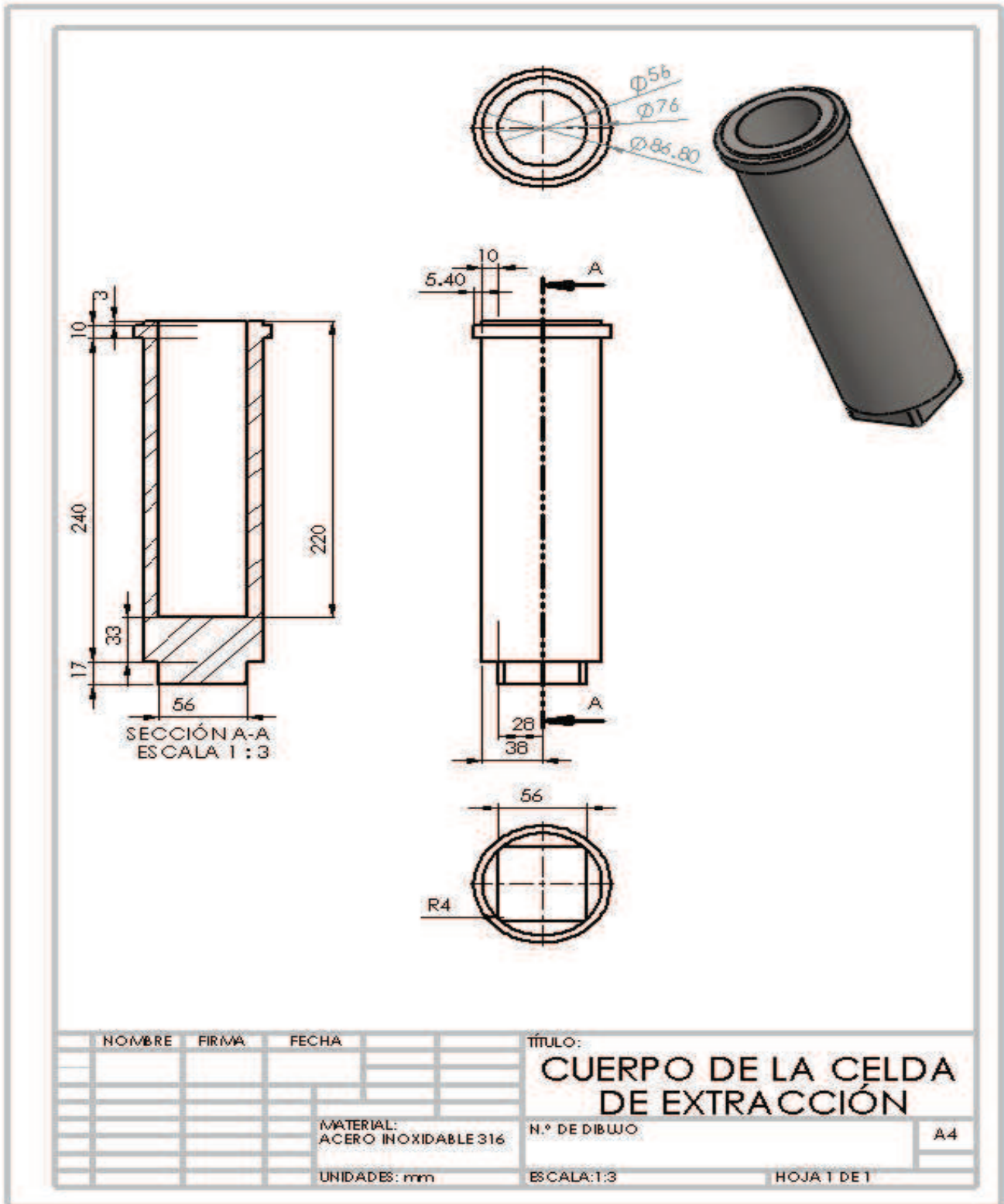
1. Cambiar la configuración del equipo construido con la finalidad de incrementar los rendimientos de extracción.
2. Mejorar el sistema de compresión del equipo con la adquisición de un aditamento (booster) que permita manejar un rango más amplio de presiones.
3. Establecer un método de purga y limpieza del equipo más eficaz.
4. Mejorar el sistema de medición de flujo y de volumen total de fluido supercrítico empleado en las extracciones.
5. Caracterizar el equipo construido mediante el uso de un sistema de referencia (muestra estándar) empleado por múltiples autores.
6. Caracterizar los aceites extraídos con el equipo construido bajo cada una de las condiciones de operación.
7. Determinar el efecto del tamaño de partícula en el rendimiento de extracción con FSC.

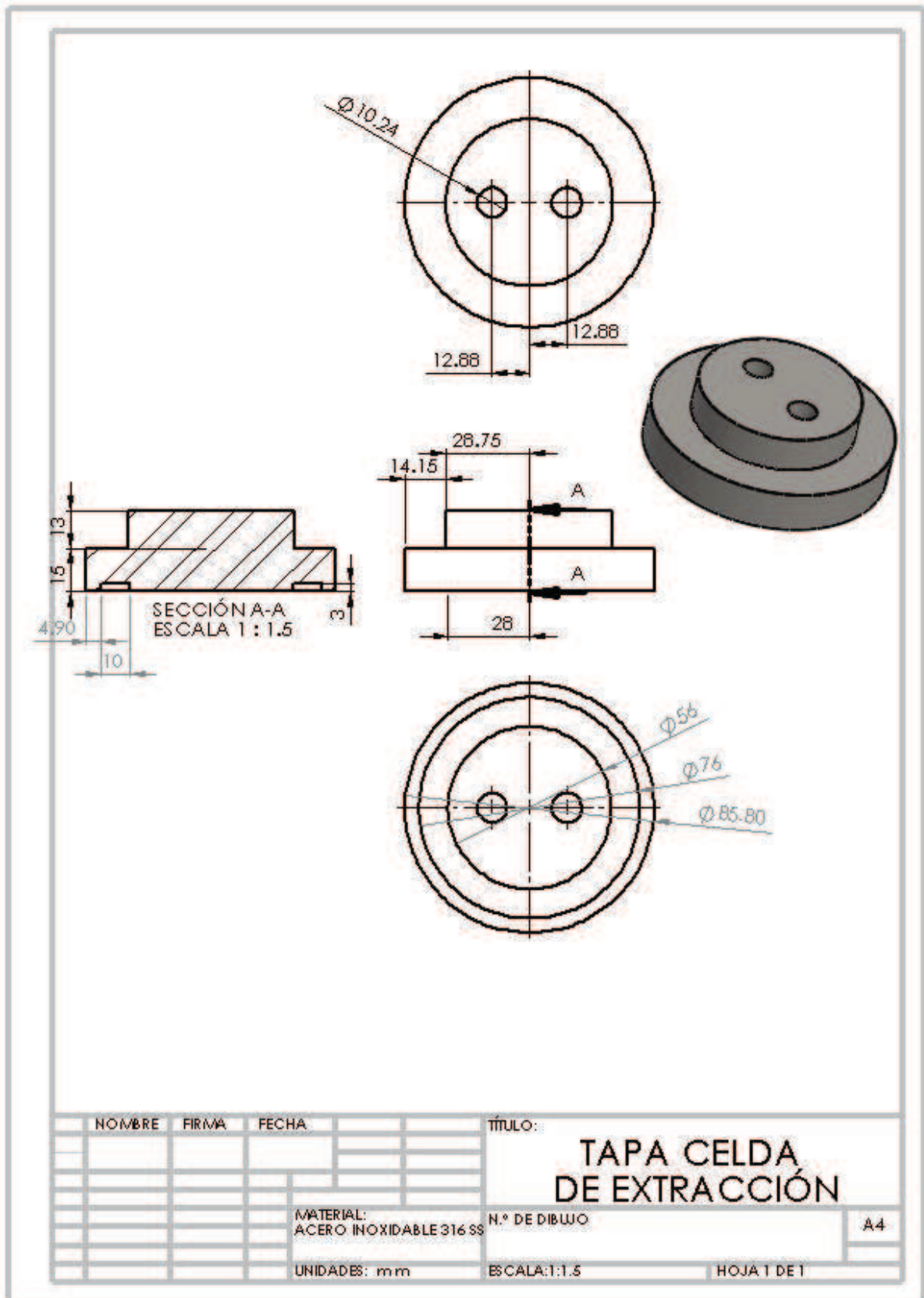
# APÉNDICES

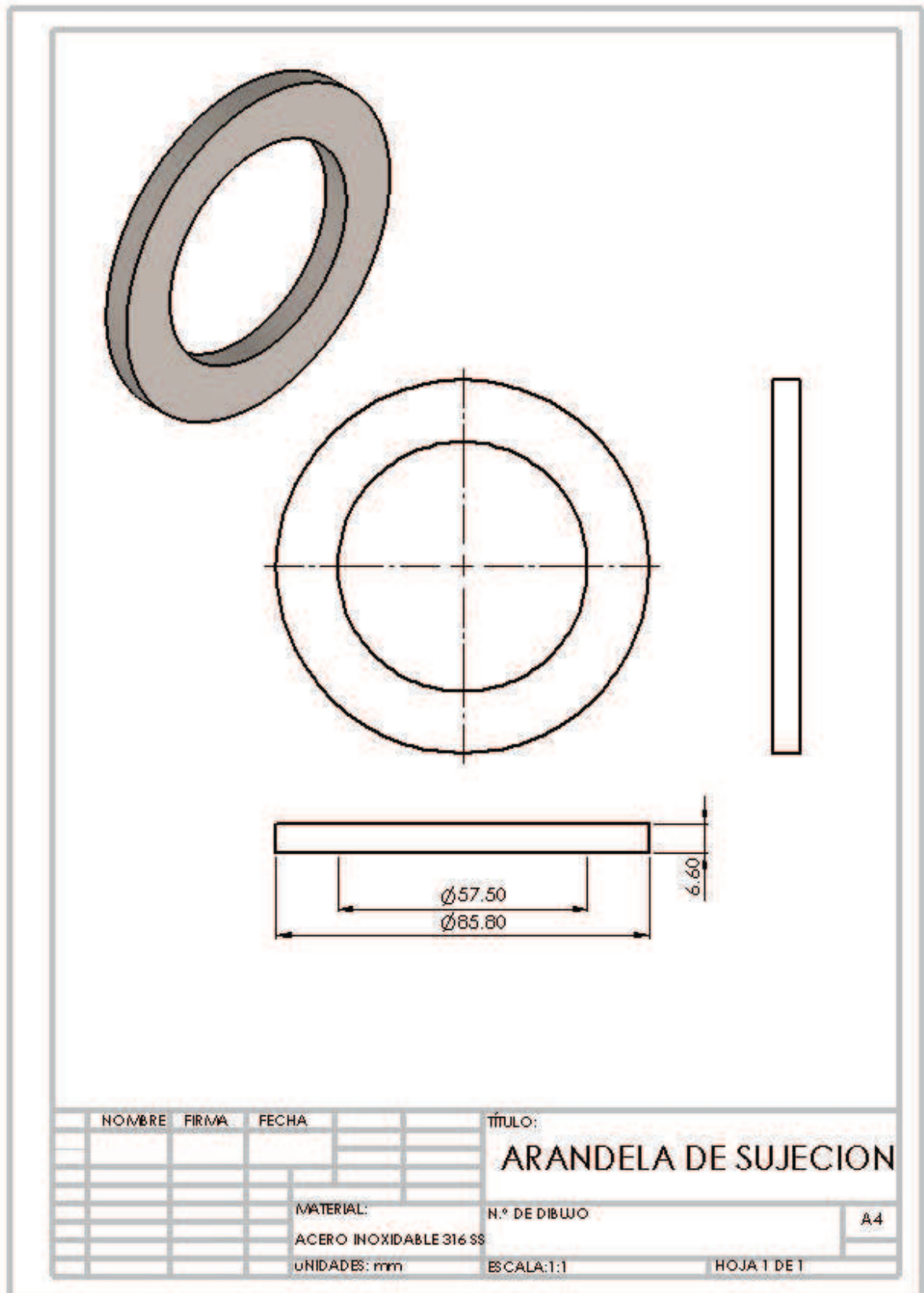
**APÉNDICE A. Diversos tipos de válvulas y accesorios y sus valores representativos de K.**

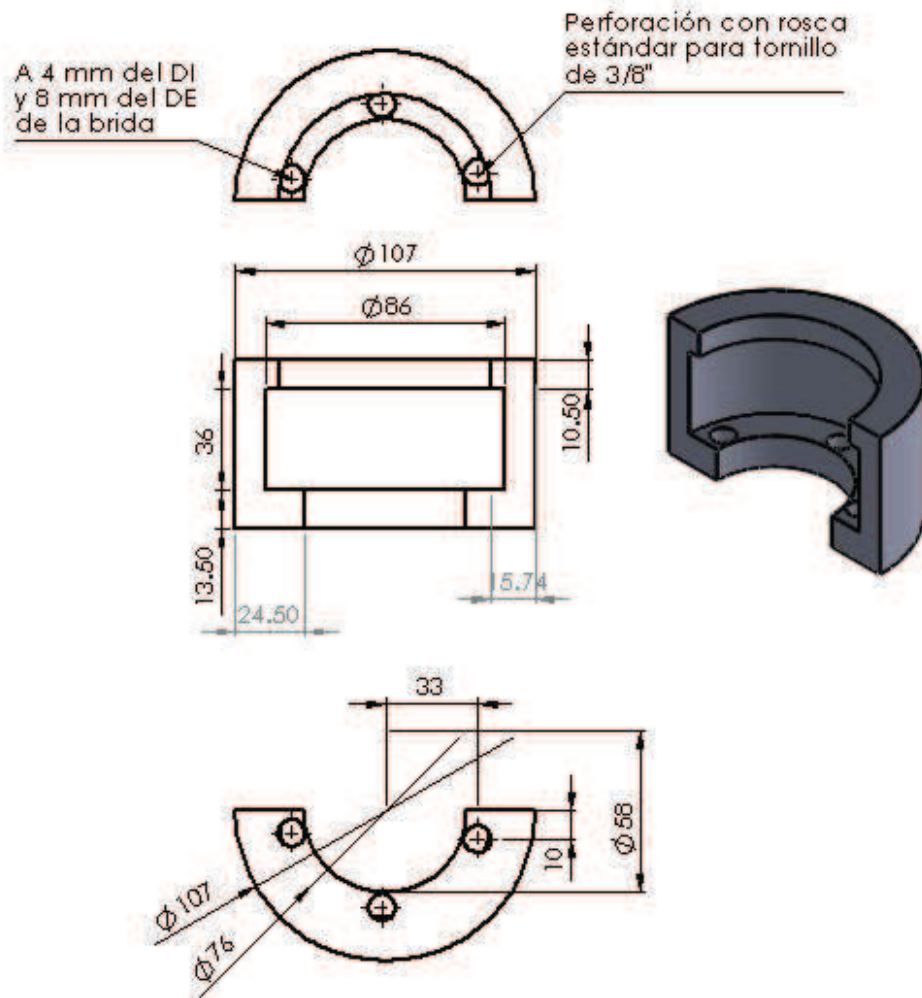
TIPO DE VÁLVULA O ACCESORIO	NUMERO EQUIVALENTE DE CARGAS DE VELOCIDAD $K$
<b>L de 45° estándar</b>	0.35
<b>L de 45° radio largo</b>	0.2
<b>L de 90° estándar</b>	0.75
Radio largo	0.45
Cuadrada o a inglete	1.3
<b>Codo de 180°, retorno cerrado</b>	1.5
<b>T estándar en un tramo, bifurcación cerrada</b>	0.4
Usada como L al entrar a una bifurcación	1.0
Usada en L al entrar a una bifurcación	1.0
Flujo que se bifurca	1.0
<b>Acoplamiento</b>	0.04
<b>Unión</b>	0.04
<b>Válvula de compuerta, abierta</b>	0.17
$\frac{3}{4}$ abierta	0.9
$\frac{1}{2}$ abierta	4.5
$\frac{1}{4}$ abierta	24.0
<b>Válvula de diafragma, abierta</b>	2.3
$\frac{3}{4}$ abierta	2.6
$\frac{1}{2}$ abierta	4.3
$\frac{1}{4}$ abierta	21.0
<b>Válvula de globo de asiento biselado, abierta</b>	6.0
$\frac{1}{2}$ abierta	9.5
De asiento compuesto abierta	6.0
$\frac{1}{2}$ abierta	8.5
De tapón abierto	9.0
$\frac{3}{4}$ abierta	13.0
$\frac{1}{2}$ abierta	36.0
$\frac{1}{4}$ abierta	112.0
<b>Válvula angular, abierta</b>	2.0
<b>Y o válvula de escape, abierta</b>	3.0
<b>De llave ciega <math>\theta=5^\circ</math></b>	0.05
$10^\circ$	0.29
$20^\circ$	1.56
$40^\circ$	17.3
$60^\circ$	206.0
<b>Válvula de mariposa <math>\theta=5^\circ</math></b>	0.24
$10^\circ$	0.52
$20^\circ$	1.54
$40^\circ$	10.8
$60^\circ$	118.0
<b>Válvula de retención de columpio</b>	2.0
De disco	10.0
De bola	70.0
<b>Válvula de pie</b>	15.0
<b>Medidor de agua, disco</b>	7.0
De pistón	15.0
Rotatoria (disco en estrella)	10.0
De rueda de turbina	6.0

APÉNDICE B. PLANOS EN 2D DE LA CELDA DE EXTRACCIÓN Y SUS PIEZAS.



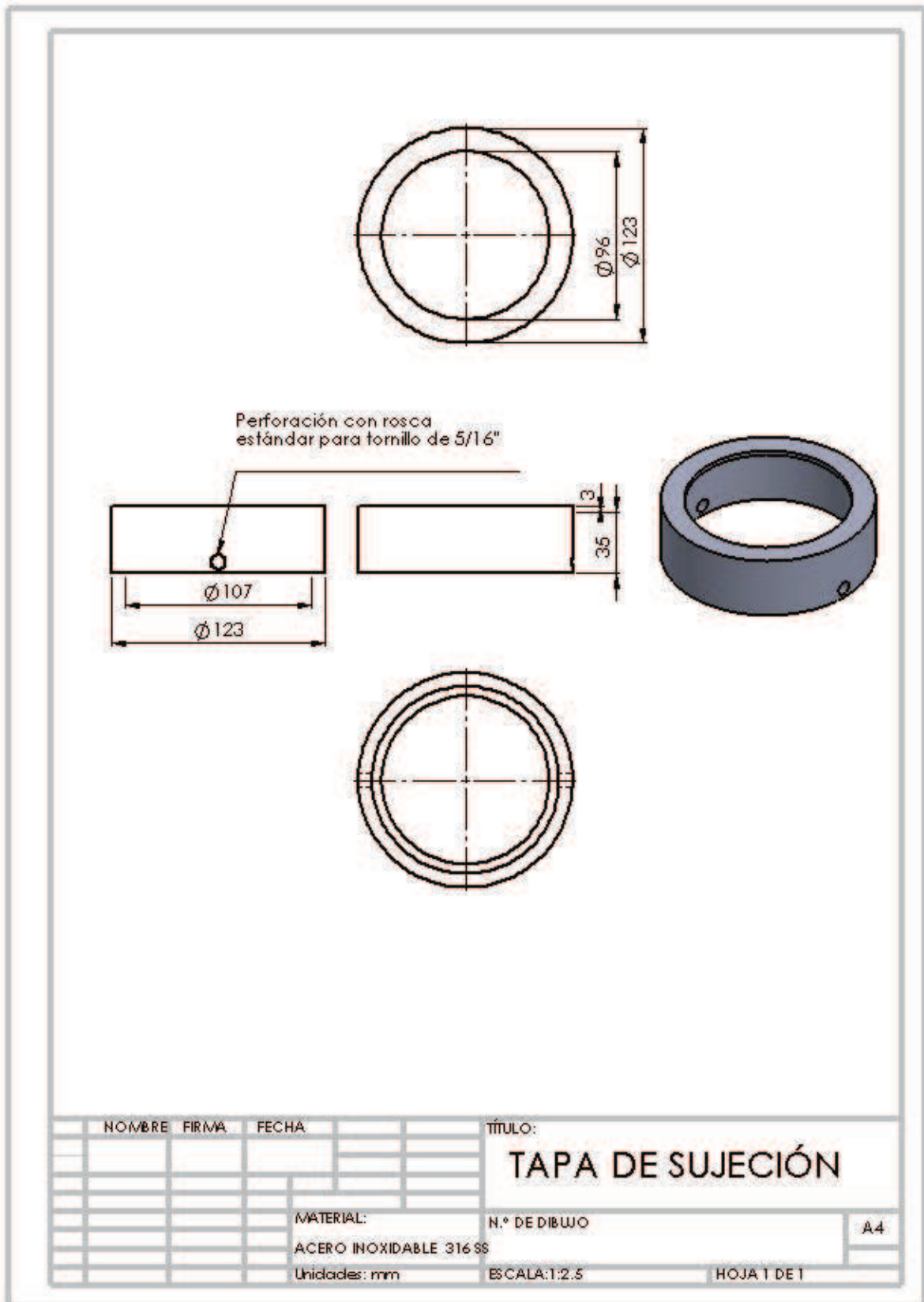




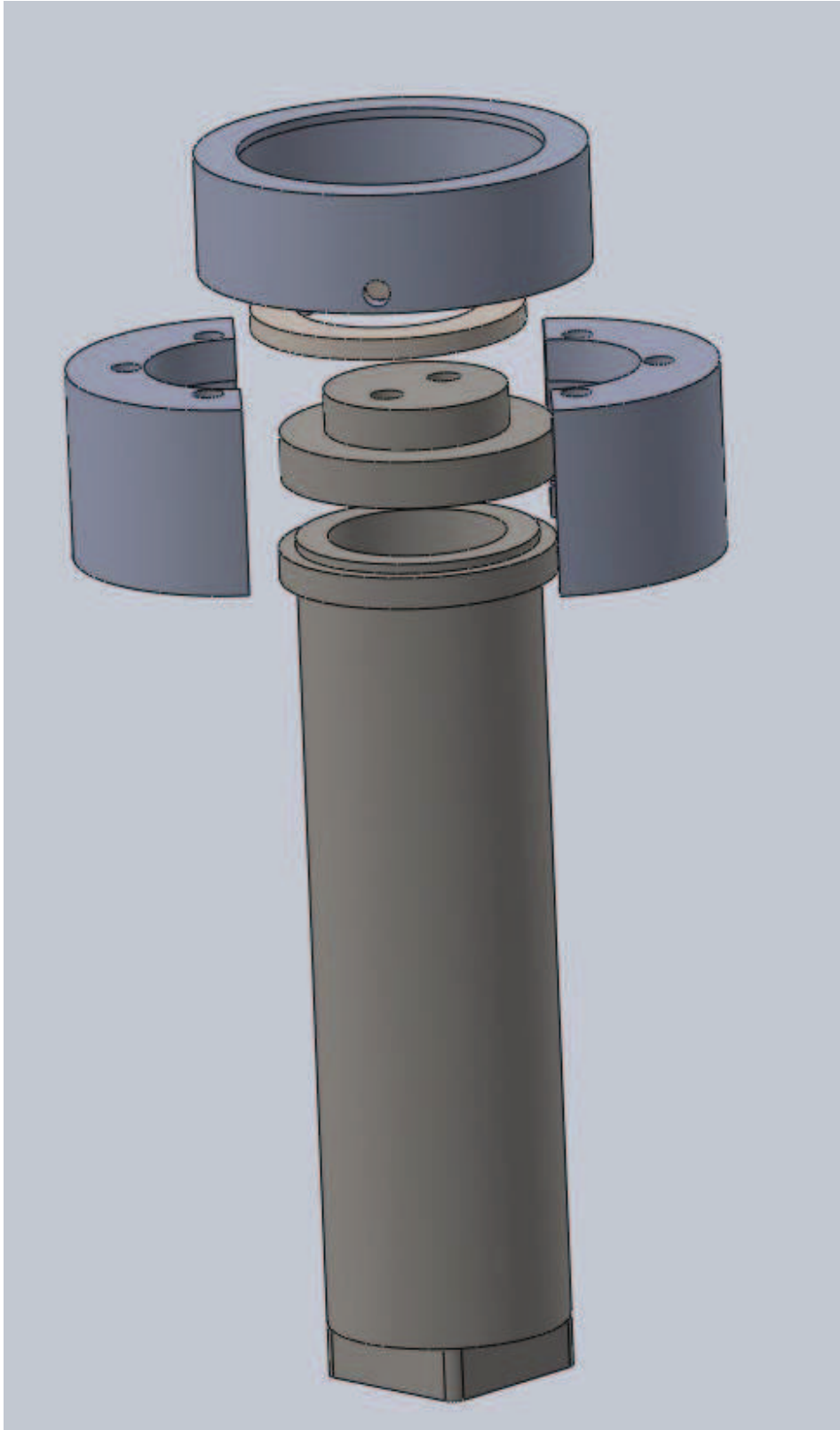


NOMBRE	FIRMA	FECHA	TÍTULO:
			<b>MEDIA LUNA</b>
MATERIAL: ACERO INOXIDABLE 316 SS			N.º DE DIBUJO
UNIDADES: mm			ESCALA: 1:2
			HOJA 1 DE 1
			A4

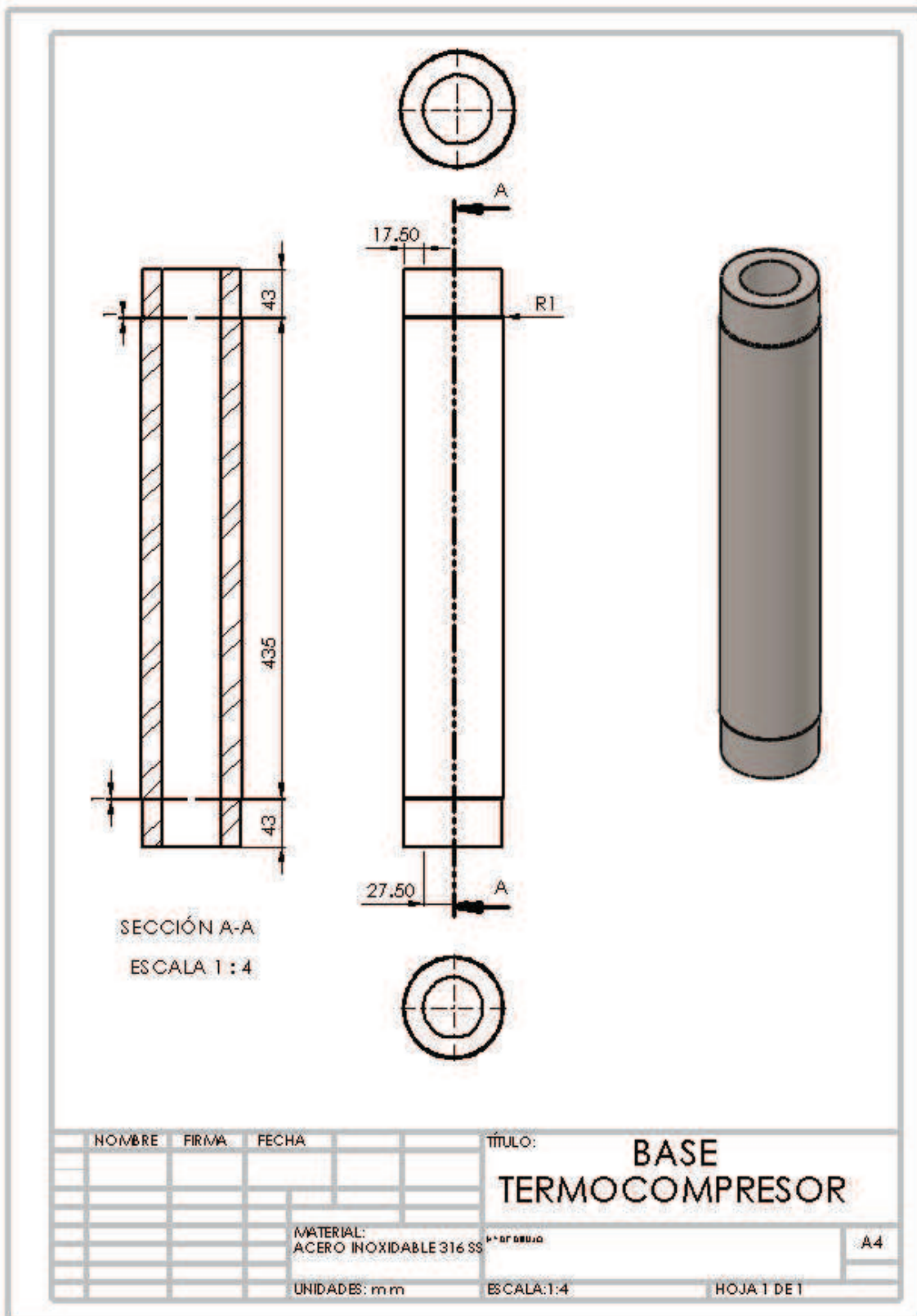


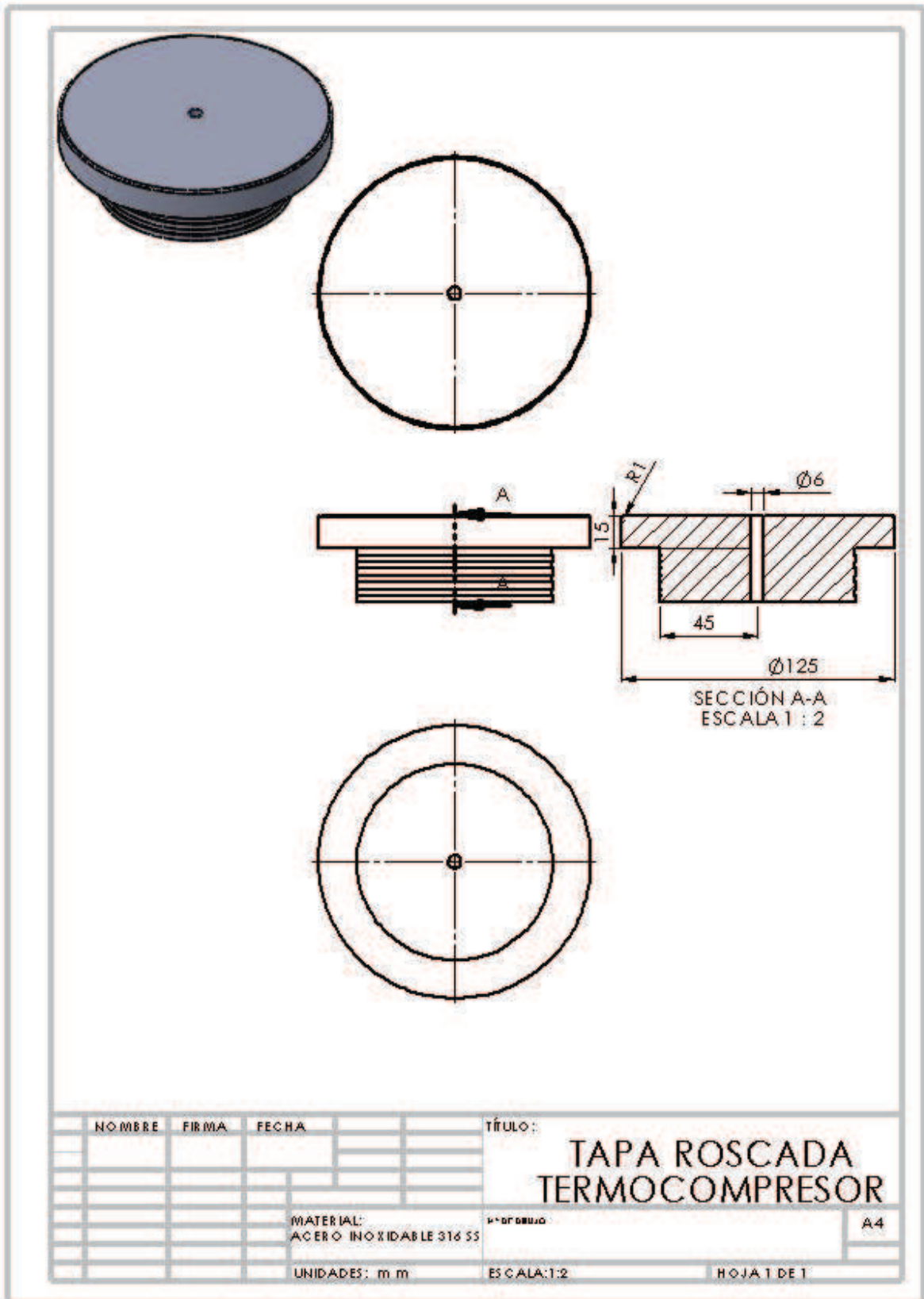


**APÉNDICE C. REPRESENTACIÓN EN 3D DE LA CELDA DE EXTRACCIÓN Y SUS PIEZAS.**

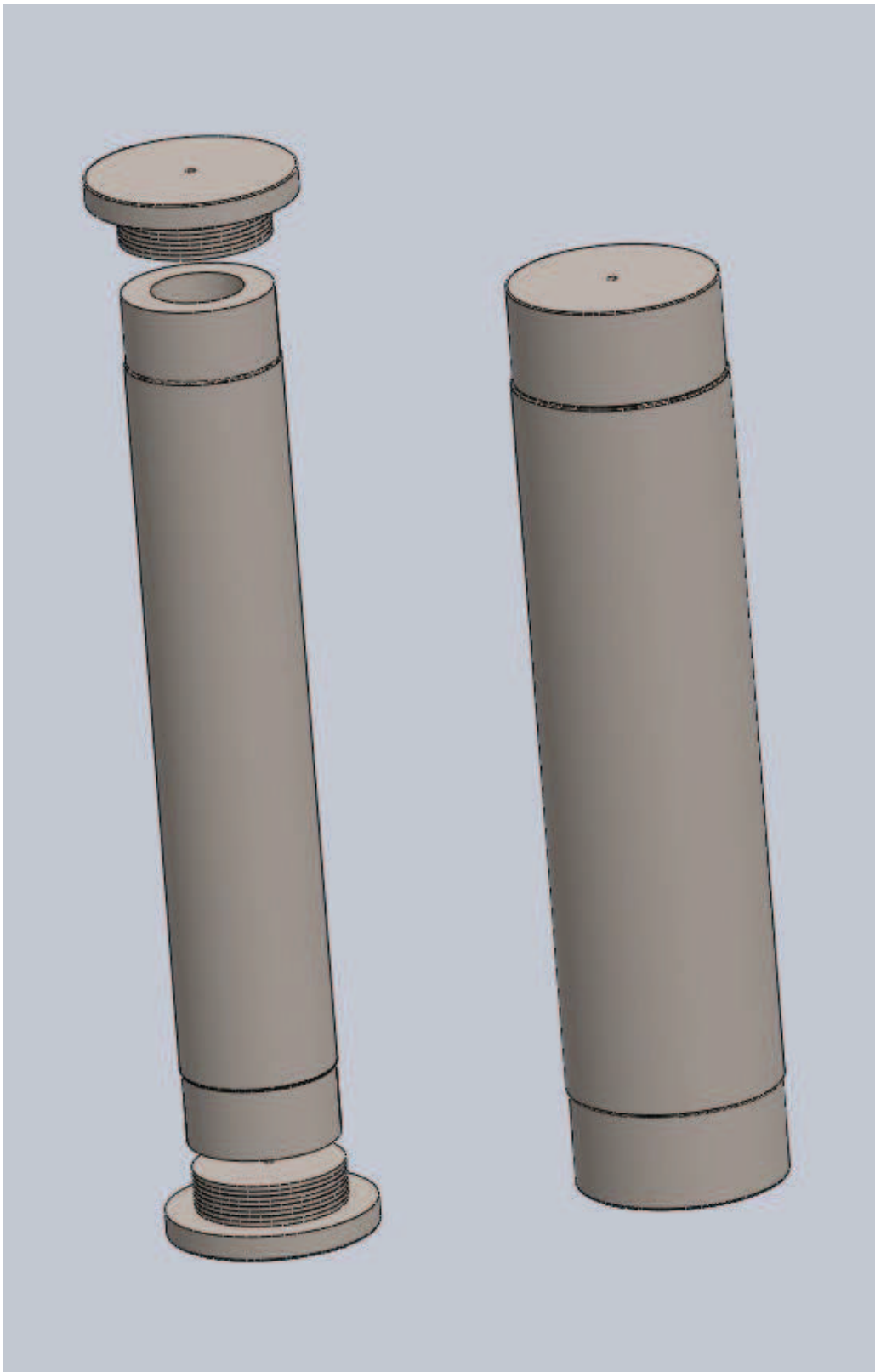


APÉNDICE D. REPRESENTACIÓN EN 2D DEL TERMOCOMPRESOR Y SUS PIEZAS.





**APÉNDICE E. REPRESENTACIÓN EN 3D DEL TERMOCOMPRESOR Y SUS PIEZAS.**



**APÉNDICE F. CÁLCULOS DE CAÍDA DE PRESIÓN.**

**CONDICIONES EN EL TERMOCOMPRESOR**

$T_{\text{termcomp}} =$	70 °C = 343.15 K	
$P_{\text{termcomp}} =$	140 bar =	14000000 Pa
$\rho_{\text{termcomp}} =$	215.9571666	Kg/m <sup>3</sup> Obtenida por Ec. Gases Ideales

**CÁLCULO DE DENSIDAD EC. GASES IDEALES**

$R = 8.31434 \text{ Pa} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$

$T = 343.15 \text{ K}$

$P = 14000000 \text{ Pa}$

$M = 44.01 \text{ g/mol}$

$\rho = 215.957167 \text{ Kg/m}^3$

**CÁLCULO DE LA VELOCIDAD**

$Q =$	0.00003 m <sup>3</sup> /s	Flujo de operación.
$D1 =$	0.25 in =	0.00635 m
Área =	3.1669E-05 m <sup>2</sup>	
Considerando el área y el flujo volumétrico		
$v =$	0.94729212 m/s	
$\dot{m} =$	0.00647871 Kg/s	

Los cálculos se realizaron empleando la ecuación de energía de Bernoulli

$$\frac{P_1}{\rho g} + \frac{v_1^2}{2g} + h_1 + H_A - H_L - H_E = \frac{P_2}{\rho g} + \frac{v_2^2}{2g} + h_2$$

Donde  $H_A$  es la energía suministrada al sistema por bombas, compresores, etc;  $H_L$  son las pérdidas de energía por fricción y  $H_E$  es la energía extraída del sistema mediante turbinas u otros elementos.

De la ecuación de Darcy-Wessbach

$$h_L = f \left( \frac{L}{D} \right) \left( \frac{v^2}{2g} \right)$$

Donde  $f$  es el factor de fricción adimensional.

Y finalmente de la ecuación 10 junto con el apéndice A.

$$K = \frac{\Delta F}{v^2/2g_c}$$

### CÁLCULOS

ANOTACIONES
$V_a$ = velocidad en el elemento a
$P_b$ = Presión en el elemento b
$h_c$ = altura del elemento c
$H_d$ = Pérdida de presión por codo, válvula, etc
$H_{e-f}$ = Pérdida de presión en el segmento de tubería e-f

NOTA: en todos los cálculos se consideró la velocidad como constante.

#### DEL TERMOCOMPRESOR A LA VÁLVULA 3

Balace entre la salida del termocompresor y el inicio de la válvula 3

$$V_{cil}^2/2g + h_{cil} + P_{cil}/\rho g - H_{cil-val} - H_{codo} = V_{val}^2/2g + h_{val} + P_{val}/\rho g$$

Despejando a las P

$$P_{cil} - P_{val} = [h_{vál} - h_{cil} + H_{cil-val} + 3H_{codo}]\rho g$$

DATOS	
$h_{cil} =$	0.56 m
$V_{cil} =$	0.947292116 m/s
$L =$	0.45 m
$D =$	0.00635 m
$f =$	0.46
$KC_{codo} =$	0.35

$h_{val} =$	0.7 m
$V_{val} =$	0.94729212 m/s
$\mu^* =$	0.00025 poise
$Re =$	5196.19284
$H_{cil-val} =$	143.337738 m
$H_{codo} =$	1.53897644 m

\*Obtenido de la figura 15, Procesos de transferencia de calor, Kern, D. Q., 2001.

$P_c - P_{val} =$	148.094667 Pa
$P_{val} =$	13999851.91 Pa

**PÉRDIDA EN LA VÁLVULA 3**

Haciendo un balance entre el la entrada y la salida de la válvula

$$P_{Eval}/\rho g - H_{val} = P_{sval}/\rho g$$

Despejando a las P

$$P_{eval} - P_{sval} = H_{val} \rho g$$

DATOS	
K <sub>Cval</sub> =	70
H <sub>val</sub> =	307.795287

P <sub>eval</sub> =	13999851.9 Pa
---------------------	---------------

P <sub>eval</sub> - P <sub>sval</sub> =	651411.8611 Pa
P <sub>sval</sub> =	13348440.04 Pa

**DE LA VÁLVULA 3 A LA VÁLVULA 4**

Haciendo un balance entre la salida de la válvula 3 y la entrada de la válvula 4, ambas a la misma altura

$$h_{val} + P_{sval}/\rho g - H_{sval3-eval4} - H_{codo} = h_{comp} + P_{comp}/\rho g$$

Despejando a las P

$$P_{sval3} - P_{eval4} = [H_{sval3-eval4} + H_{codo}] \rho g$$

DATOS	
h <sub>sval</sub> =	0.7 m
V <sub>sval</sub> =	0.947292116 m/s
L =	0.13 m
D =	0.00635 m
f =	0.46
K <sub>Ccodo</sub> =	0.35

h <sub>comp</sub> =	0.7 m
V <sub>comp</sub> =	0.94729212 m/s
μ =	0.00025 poise
Re =	5196.19284
H <sub>sval3-eval4</sub> =	41.4086798 m
H <sub>codo</sub> =	1.53897644 m

P <sub>sval3</sub> - P <sub>eval4</sub> =	90893.57065 Pa
P <sub>eval4</sub> =	13257546.47 Pa

**PÉRDIDAS EN LA VÁLVULA 4**

Haciendo un balance entre el la entrada y la salida de la válvula

$$P_{Eval}/\rho g - H_{val} = P_{sval}/\rho g$$

Despejando a las P

$$P_{eval} - P_{sval} = H_{val} \rho g$$

DATOS	
K <sub>Cval</sub> =	70
H <sub>val</sub> =	307.795287

P <sub>eval4</sub> =	13257546.5 Pa
----------------------	---------------



$P_{eval} - P_{sval} =$	651411.8611 Pa
$P_{sval} =$	12606134.61 Pa

**DE LA VÁLVULA 4 AL REGULADOR DE PRESIÓN**

Haciendo un balance entre la salida de la válvula 4 y la entrada del regulador de presión, ambos a la misma altura

$$P_{sval4}/\rho g - H_{sval4-eregpre} = P_{eregpre}/\rho g$$

Despejando a las P

$$P_{sval4} - P_{eregpre} = [H_{sval4-eregpre}]\rho g$$

DATOS	
$h_{sval} =$	0.7 m
$V_{sval} =$	0.947292116 m/s
$L =$	0.13 m
$D =$	0.00635 m
$f =$	0.46

$h_{comp} =$	0.7 m
$V_{comp} =$	0.94729212 m/s
$\mu =$	0.00025 poise
$Re =$	5196.19284
$H_{sval3-eval4} =$	41.4086798 m

$P_{sval4} - P_{eregpre} =$	87636.51135 Pa
$P_{eregpre} =$	12518498.1 Pa

**PÉRDIDA TOTAL ENTRE EL TERMOCOMPRESOR Y EL REGULADOR DE PRESIÓN**

Haciendo una resta entre la presión a la salida del termocompresor y la entrada del regulador de presión se tiene:

$$\text{Pérdida de presión total} = P_{stermocomp} - P_{eregpre}$$

Pérdida de presión total=	1481501.899	pascales =	214.817775	psi
---------------------------	-------------	------------	------------	-----

## **APÉNDICE G. MANUAL DE PROCEDIMIENTO PARA EL PROCESO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.**

### **G.1 LLENADO DEL TERMOCOMPRESOR (TC).**

Para llevar a cabo el llenado del termocompresor con el dióxido de carbono proveniente del cilindro comercial, abrir las válvulas V1 y V2, girando 2 vueltas en sentido antihorario, manteniendo cerrada la válvula V3, hasta que las presiones en ambos contenedores se equilibren. Cuando se alcance el equilibrio de presiones cerrar la válvula V1. Después colocar dos mitades de tubo de PVC de 8" alrededor del TC a manera de enchaquetado y dentro del espacio hueco introducir hielo con la finalidad de enfriar el termocompresor (como se muestra en la Figura 24). Permitir que el gas equilibre su temperatura con la del TC frío, para provocar que su presión descienda alrededor de 250 psi. Cuando se observe que la presión del gas dentro del TC ya no desciende, abrir nuevamente la válvula V1 para introducir nuevamente más CO<sub>2</sub> al termocompresor hasta que se alcance nuevamente el equilibrio de presión entre el cilindro comercial y el termocompresor. El proceso se repite hasta que se alcance el llenado del termocompresor con la mayor cantidad posible de CO<sub>2</sub>. Esto se verifica cuando una vez que se alcanza el equilibrio de temperatura entre el CO<sub>2</sub> y el TC, la presión en el TC ya no desciende más de 50 psi. Remover entonces el hielo y el enchaquetado permitiendo que el TC se equilibre con la temperatura del medio. Finalmente cerrar las válvulas V1 y V2.

### **G.2 OPERACIÓN DEL EQUIPO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.**

#### **A) CELDA DE EXTRACCIÓN.**

Para colocar la muestra dentro de la celda de extracción se sigue el procedimiento que a continuación se describe. Primeramente, se pesa la cantidad de muestra a emplear en una balanza analítica empleando un vaso de precipitados. Después colocarlo a la matraca de 3/8 el dado de 14 mm para aflojar los tornillos de la tapa de la celda de extracción girándolos en sentido antihorario. Este procedimiento se realiza de forma cruzada, es decir, aflojando un tornillo y después aflojando el tornillo que se encontraba frente a éste, no el que estaba a su lado (seguir la numeración de los tornillos). Después, con la llave allen número 2.5, aflojar los tornillos de la tapa

de sujeción. Retirar dicha tapa y a continuación las dos medias lunas para proseguir con el retiro de la tapa de la celda. Una vez desarmada la CE colocar dentro la muestra y distribuir uniformemente, tras lo cual se colocará nuevamente la tapa girándola un cuarto de vuelta en ambos sentidos horario (derecha-izquierda-derecha) para que el tubo buzo pueda introducirse dentro de la muestra. Colocar nuevamente las demás piezas y se apretará primero los tornillos de la tapa de sujeción para evitar que las medias lunas se muevan al ser apretadas. Enseguida apretará los tornillos de las medias lunas siguiendo el mismo procedimiento que para su afloje, pero en sentido horario. Todo el procedimiento de desarmado y armado de la CE para la colocación de la muestra realizarlo auxiliándose de una prensa de banco para facilitar el proceso y garantizar el sellado. Finalmente colocar la CE dentro del baño de acrílico y conectar con las líneas de entrada y salida, respectivamente, apoyándose de la llave estándar 9/16 para el apriete de la tuerca y la llave inglesa (perico) de 6" para sujetar la base de las válvulas V5 y V6 durante la conexión de la CE.

#### **B) CALENTAMIENTO DEL TERMOCOMPRESOR Y DEL BAÑO DE ACRÍLICO.**

Manteniendo las válvulas V1, V2 y V3 cerradas, colocar la cinta de calentamiento (CC) alrededor del termocompresor procurando que la cinta quede distribuida homogéneamente a lo largo de todo el cilindro. Girar la perilla de regulación de temperatura de la cinta, hasta la marca de 50 °F. Cuando se observe que la presión del TC deja de aumentar, girar nuevamente la perilla hasta la marca de 100 °F. Cuando se requiera mayor temperatura para alcanzar la presión de operación, aumentar la temperatura de la cinta gradualmente en intervalos de 25 °F sin sobrepasar los 175 °F. La presión del TC se debe mantener al menos 200 psi por encima de la presión de operación para garantizar la presión de operación a lo largo de todo el tiempo de extracción (ver APÉNDICE F).

A la par, se debe conectar el baño de acrílico (BA) con el baño térmico (BT) y programar en este último la temperatura necesaria para alcanzar la temperatura de operación en el BA, de acuerdo a las curvas de la calibración obtenidas en la sección 6.3.1. La velocidad de recirculación se programa en baja para evitar que el agua se desborde del BA. Encender el indicador digital de temperatura y se colocará el termopar dentro del BA para el monitoreo de la temperatura. Al

alcanzar la temperatura de operación deseada, esperar al menos 15 minutos antes de iniciar el proceso de extracción, para que la celda de extracción equilibre su temperatura con la del baño.

### **C) CALIBRACIÓN DEL REGULADOR DE CONTRA-PRESIÓN (RCP).**

Antes de iniciar el proceso de extracción es necesario calibrar el regulador de contra-presión (RCP) para que operara con la presión deseada. El primer paso consiste en cerrar el RCP girándolo en sentido horario. Enseguida se procede a abrir el regulador de presión (RP) girando la perilla en sentido horario para que permitiera el paso del CO<sub>2</sub> a la presión de operación. Al alcanzar dicha presión comenzar a abrir lentamente el RCP, girándolo en sentido antihorario, hasta observar que la aguja del manómetro del regulador sube rápidamente hasta alcanzar una presión cercana a la del RP (aproximadamente 100 psi menos). Este es el indicio de que el RCP estaba calibrado a la presión del RP (M3). Para verificarlo colocar una marca tanto en la base del RCP como en la perilla para tener la referencia de punto exacto de calibración. Cerrar entonces el RP girándolo en sentido antihorario y abrir totalmente el RCP para desfogar la línea. Con la línea vacía, girar nuevamente la perilla del RCP hasta la marca de calibración y comenzar a abrir lentamente el RP hasta la presión de calibración del RCP. Se debe observar que al alcanzar la presión de operación, la aguja del RCP sube rápidamente hasta alcanzar una presión cercana a la del RP (como en el primer paso). Este comportamiento indica que el regulador se encuentra calibrado a la presión de operación deseada por lo cual ya no se requería repetir el procedimiento una tercera vez. Las pruebas anteriores se deben realizar por duplicado para garantizar la calibración.

### **D) EXTRACCIÓN.**

Antes de comenzar la extracción con el equipo se requiere que el termocompresor alcance la presión la operación (al menos 200 psi por encima de la presión de operación), el baño de acrílico alcance la temperatura de operación y la temperatura de la celda de extracción se equilibre con la del baño. A continuación se describen los pasos a seguir para el proceso de extracción:

1. Encender el indicador digital de presión (IDP) y programarlo para que la pantalla indique la presión en las unidades con las que se trabajará.

2. Colocar una pistola de aire caliente a un costado de la válvula de micro-regulación (VM) aproximadamente a 13 cm de distancia. Esta pistola se coloca para mantener caliente la válvula y evitar que ésta se obstruya por congelamiento.
3. El RCP se cierra, girándolo una vuelta en sentido horario a partir de la marca de calibración para evitar el paso de CO<sub>2</sub>.
4. La válvula V3 se abre completamente y las válvulas V4, V5 y V6, se abren dando dos vueltas completas en sentido antihorario.
5. El RP se abre lentamente, girándolo en sentido horario hasta que el indicador digital de presión (IDP) marque la presión de operación en la celda de extracción.
6. Al alcanzar la presión de operación, cerrar las válvulas V3 a V6, mientras que el RP se cierra girándolo media vuelta en sentido antihorario y se contabilizan 30 minutos (operación estática). La finalidad de este procedimiento es mantener en contacto la muestra con el CO<sub>2</sub> en las condiciones de operación (presión y temperatura) para saturar dicha muestra y hacer una extracción más eficiente.
7. En el lapso de los 30 minutos se pesa la celda de recolección en una balanza analítica marca junto con las mangueras de entrada y salida de dicha celda. Posteriormente se conecta con la salida de la válvula micrométrica (VM) y la entrada del medidor de flujo.
8. Justo antes de finalizar los 30 minutos, se abre la válvula V7 dando 4 vueltas completas en sentido antihorario y el RCP se abre hasta su punto de calibración.
9. Al finalizar los 30 minutos de operación estática, se enciende el medidor de flujo y la línea de salida se introduce en un vaso de precipitados con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) de concentración conocida. La válvula V3 se abre completamente y las válvulas V4 a V6 se abren girándolas dos vueltas.
10. Enseguida se abre el RP lentamente hasta que nuevamente el IDP indique la presión de operación.
11. Se enciende la pistola de aire caliente y se procede a abrir ligeramente la válvula de micro-regulación hasta que el medidor de flujo indique el flujo de operación. A partir de esto se contabilizan 60 minutos (etapa dinámica).
12. Con el CO<sub>2</sub> supercrítico fluyendo y todo el equipo en función, se ajusta la presión de operación de la celda de extracción cerrando y abriendo ligeramente el RP, según sea necesario.

13. Cuando sea requerido, ajustar tanto la presión como el flujo de operación abriendo y/o cerrando el RP y la válvula de micro-regulación (VM).
14. Al finalizar los 60 minutos, apagar la pistola de aire y las válvulas V5, V6 y VM son cerradas y se contabilizan 15 minutos. El paro se realiza con el objetivo de generar una segunda etapa de saturación de la muestra con CO<sub>2</sub> (segunda etapa dinámica) y permitir un enfriamiento de la pistola de aire para evitar daños por sobrecalentamiento en ésta.
15. Transcurridos los 15 minutos se enciende nuevamente la pistola de aire, se abren las válvulas V5 y V6 y se regula el flujo con la VM, empezando a contabilizar nuevamente 60 minutos y repetir el procedimiento descrito en los pasos 12 a 14. El proceso culmina al cubrir 180 minutos de proceso dinámico y 60 minutos de proceso estático acumulados (Ansari y Goodarznia, 2012).
16. El calentamiento del termocompresor se mantiene constante la primera mitad del tiempo de operación. Al iniciar la segunda mitad del tiempo, la temperatura de la cinta se disminuye un 50% manteniéndola así hasta culminar la operación.

#### **E) DESPRESURIZACIÓN DEL LA CELDA DE EXTRACCIÓN.**

Culminado el tiempo de operación se apaga el baño térmico y el indicador digital de temperatura, así como la cinta de calentamiento y se contabilizan 15 minutos para el enfriamiento de la pistola de aire, posteriormente se realiza la despresurización de la celda de extracción. Para ello se desconecta el medidor de flujo y se cierran las válvulas V3 y V4. El RCP se abre completamente y se incrementa el flujo de salida abriendo un poco más la válvula de micro-regulación (VM). La apertura de esta válvula es hasta el punto en el que, manteniendo operando la pistola de aire caliente, se evitaba que se obstruyera por congelamiento (fenómeno de formación de hielo seco por el cambio abrupto de presión) que resulta en una disminución considerable del flujo (Ansari y Goodarznia, 2012).

## BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi**, H., Rezaei, K., Rashidi, L., (2008), *Extraction of essential oils from the seeds of pomegranate using organic solvents and supercritical CO<sub>2</sub>*, J. Am. Oil Chem Soc, 85, 83–89.
- Ade-Omowaye**, B., Angersbach, A., Taiwo, K.A., Knorr, D., (2001), *Use of pulsed electric field pre-treatment to improve dehydration characteristics of plant based foods*, Trends Food Sci Tech, 12, 285–295.
- Al-Marzouqui**, A.H., Rao, M.V., Jobe, B., (2007), *Comparative evaluation of SFE and steam distillation methods on the yield and composition of essential oil extracted from spearmint (Mentha spicata)*, J Liq Chromatogr R T, 30, 463–475.
- Almeida**, P.P., Mezzomo, N., Ferreira, S.R.S., (2012), *Extraction of mentha spicata L. volatile compounds: evaluation of process parameters and extract composition*, Food Bioprocess Tech, 5, 548–559.
- Alupuli**, A., Călinescu, I., Lavric, V., (2012), *Microwave extraction of active principles from medicinal plants*, U.P.B. Science Bulletin, Series B, 74.
- Ansari**, K. y Goodarznia, I., (2012), *Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of essential oil from spearmint (Mentha spicata L.) leaves by using Taguchi methodology*, J Supercrit Fluid, 67, 123– 130.
- Arnaíz**, E., Bernal, J., Martín M.T., Nozal, M.J., Bernal, J.L., Toribio, L., (2012), *Supercritical fluid extraction of free amino acids from broccoli leaves*, J Chromatogr A, 1250, 49– 53
- Azmir**, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N, Omar, A.K.M., (2013), *Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review*, J Food Eng, 117, 426–436.
- Bartle**, K. D., Clifford, A. A., Hawthorne, S. B., Langenfeld, J. J., Miller, D. J., Robinson, R., (1990), *A model for dynamic extraction using a supercritical fluid*, J Supercrit Fluid, 3, 143-149.
- Bensebia**, O., Barth, D., Bensebia, B., Dahmani, A., (2009), *Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of rosemary: effect of extraction parameters and modelling*, J Supercrit Fluid, 49, 161–166.
- Bernarl**, J.L., Nozal, M.J., Toribio, L., Diego, C., Mayo, R., Maestre, R., (2008), *Use of supercritical fluid extraction and gas chromatography–mass spectrometry to obtain amino acid profiles from several genetically modified varieties of maize and soybean*, J Chromatogr A, 1192, 266–272.

- Bernhoft, A.**, 2010. *A brief review on bioactive compounds in plants*. In: Proceedings from a symposium held at The Norwegian Academy of Science and Letters, Oslo, Norway.
- Bimakr, M.**, Rahman, R.A., Ganjloo, A., Taip, F.S., Salleh, L., Sarker, Z.I., (2012), *Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid compounds from spearmint (Mentha spicata L.) leaves by using response surface methodology*, Food Bioprocess Tech, 5, 912–920.
- Bravi, M.**, Spinoglio, F., Verdone, N., Adami, M., Aliboni, A., D'Andrea, A., De Santis, A., Ferri, D., (2007), *Improving the extraction of  $\alpha$ -tocopherol-enriched oil from grape seeds by supercritical CO<sub>2</sub>. Optimisation of the extraction conditions*, J Food Eng, 78, 488–493.
- Bréchnignac, C.**, Houdy, P., Lahmani, M., (2007), *Nanomaterials and Nanochemistry*, 1<sup>st</sup> Edition, Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Bryant, G.** y Wolfe, J., (1987), *Electromechanical stress produced in the plasma membranes of suspended cells by applied electrical fields*, J Membrane Biol, 96, 129–139.
- Carles, P.**, (1995), Doctoral thesis, INPT Grenoble, France.
- Castellan, G.W.**, (1998), *Fisicoquímica*, 2da. Edición, Addison Wesley Longman, México.
- Charles, D. J.**, (2013), *Antioxidant properties of spices, herbs and other sources*, 52, Springer Science Business Media New York.
- Chemat, F.**, Tomao, V., Viot, M., (2008), In: Otles, S. (Ed.), *Handbook of food analysis instruments. ultrasound-assisted extraction in food analysis*, Boca Ratón: CRC Press, 85–94.
- Chen, C.R.**, Wang, C.H., Wang, L.Y., Hong, Z.H., Chen, S.H., Ho, W.J., Chang C.M., (2008), *Supercritical carbon dioxide extraction and deacidification of rice bran oil*, J Supercrit Fluid, 45, 322–331.
- Chen, C.R.**, Lee, Y.N., Lee, M.R., Chang, C.M.J., (2009), *Supercritical fluids extraction of cinnamic acid derivatives from Brazilian propolis and the effect on growth inhibition of colon cancer cells*, J Taiwan Inst Chem E, 40, 130–135.
- Cravotto, G.**, Boffa, L., Mantegna, S., Peregob, M., Avogadro, P., Cintasc, P., (2008), *Improved extraction of vegetable oils under high-intensity ultrasound and/or microwaves*, Ultrason Sonochem, 15, 898–902.



- Davarnejad, R.,** Kassim, K.M., Zainal, A., Sata, S.A., (2008), *Supercritical fluid extraction of  $\beta$ -carotene from crude palm oil using CO<sub>2</sub>*, J Food Eng, 89, 472–478.
- De Aguilar, A.C.,** Sales, L.P., Coutinho, J.P., Barbero, G.F., Godoy, H.T., Martínez, J., (2013), *Supercritical carbon dioxide extraction of capsicum peppers: global yield and capsaicinoid content*, J Supercrit Fluid, 81, 210–216.
- De Azevedo, A.B.A.,** Kieckbush, T.G., Tashima, A.K., Mohamed, R.S., Mazzafera, P., Vieira de Melo, S.A.B., (2008), *Extraction of green coffee oil using supercritical carbon dioxide*, J Supercrit Fluid, 44, 186–192.
- De Melo, M.M.R.,** Silvestre, A.J.D., Silva, C.M., (2014), *Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: applications, trends and future perspectives of a convincing green technology*, J Supercrit Fluid, 92, 115–176.
- Dorman, H.J.,** Koşar, M., Kahlos, K., Holm, Y., Hiltunen, R., (2003), *Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from mentha species, hybrids, varieties, and cultivars*, J Agric Food Chem, 51, 4563–4569.
- Eisenmenger, M. y** Dunford, N.T., (2008), *Bioactive components of commercial and supercritical carbon dioxide processed wheat germ oil*, J Am Oil Chem Soc, 85, 55–61.
- Espinosa, S.,** Díaz, M.S., Brignole, E.A., (2008), *Food additives obtained by supercritical extraction from natural sources*, J Supercrit Fluid, 45, 213–219.
- Eustaquio-Rincón, R.,** Rebolledo-Libreros, M.E., Trejo, A., (2010), 3. *Aparato para la determinación de la capacidad de extracción de solutos con disolventes a condiciones supercríticas*, Dic 11, 2007. Expendiente: MX/a/2007/015717 de patente divisional de la solicitud PA/a/2001/005865 y No. de patente MX,254,564. Solicitud de patente el 11 de diciembre de 2007. No de Exp. ante Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial MX/a/2007/015717, Folio MX/E/2007/082000. Título de patente 281575 otorgado el 30 de noviembre de 2010
- Fornari, T.,** Hernández, E.J., Rodríguez A., Señorans, F. J., Reglero G., (2009), *Phase equilibria for the removal of ethanol from alcoholic beverages using supercritical carbon dioxide*, J Supercrit Fluid, 50, 91–96.

- García, I., Rodríguez, J.F., García, M.T., Álvarez, A., García, A., (2007),** *Isolation of aroma compounds from sugar cane spirits by supercritical CO<sub>2</sub>*, J Supercrit Fluid, 43, 37–42.
- Giddings, J., MacLaren, N., Keller, R., (1968),** Science, 162, 67.
- Glišić, S.B., Mišić, D.R., Stamenić, M.D., Zizovic, I.T., Ašanin, R.M., Skala, D.U., (2007),** *Supercritical carbon dioxide extraction of carrot fruit essential oil: chemical composition and antimicrobial activity*, Food Chem, 105, 346–352.
- Gutiérrez-Lara, C., Eustaquio-Rincon, R., Tlecuitl-Beristain, S., Sánchez-Oropeza, L., Romero, M.A., (2013),** *Extracción de aceites esenciales de la semilla de amaranto con CO<sub>2</sub> supercrítico*. En: Congreso nacional de termodinámica (28, 2013, México, D.F.), 280-288.
- He, H.P., Corke, H., Cai, J.G.,(2003),** *Supercritical carbon dioxide extraction of oil and squalene from Amaranthus grain*, J Agric Food Chem, 51, 7921–7925.
- Heaton, J.W., Maragoni, A.G., (1996),** *Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues*, Trends Food Sci Tech, 7, 8-15.
- Hedrick, J.L., Mulcahey, L.J., Taylor, L.T., (1992),** *Supercritical fluid extraction*, Mikrochimica Acta, Springer-Verla, 108, 115-132.
- Herrera, M.C., y Luque de Castro, M.D., (2005),** *Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection*, J Chromatogr A, 1100, 1–7.
- Herrero, M., Mendiola, J.A., Cifuenetes, A., Ibañez, E., (2010),** *Supercritical fluid extraction: recent advances and applications*, J Chromatogr A, 1217, 2495-2511.
- Ibañez, E., Herrero, M., Mendiola, J.A., Castro-Puyana, M., (2012),** *Extraction and characterization of bioactive compounds with health benefits from marine resources: macro and micro algae, cyanobacteria, and invertebrates*, In: Hayes, M. (Ed.), Marine Bioactive Compounds: Sources, Characterization and Applications. USA: Springer, 55-98.
- Içen, H. y Gürü, M., (2009),** *Extraction of caffeine from tea stalk and fiber wastes using supercritical carbon dioxide*, J Supercrit Fluid, 50, 225–228.

- Kim, W.J., Kim, J.D., Kim, J., Oh, S.G., Lee, Y.W., (2008),** *Selective caffeine removal from green tea using supercritical carbon dioxide extraction*, J Food Eng, 89, 303–309.
- Latif, S. y Anwar F., (2009),** *Physicochemical studies of hemp (Cannabis sativa) seed oil using enzyme-assisted cold-pressing*, Eur J Lipid Sci Tech, 111, 1042–1048.
- Lee, Y.H., Charles, A.L., Kung, H.F., Ho, C.T., Huang, T.C., (2010),** *Extraction of nobiletin and tangeretin from citrus depressa Hayata by supercritical carbon dioxide with ethanol as modifier*, Ind Crop Prod, 31, 59–64.
- Luque de Castro, M.D. y García-Ayuso, L.E., (1998),** *Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future*, Anal Chem Act, 369, 1–10.
- Luque de Castro, M.D., Valcácer, M., Tena, M.T., (1994),** *Analytical supercritical fluid extraction.*, 1st Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany.
- Luque de Castro, M.D., Valcarcel, M., Tena, M.T., (1993),** *Extracción con fluidos supercríticos en el proceso analítico*, Barcelona: Editorial Reverté.
- Marinova, E.M., Yanishlieva, N.V., (1997),** *Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil*, Food Chem, 58, 245–248.
- Martínez, M.L., Mattea, M.A., Maestri, D.M., (2008),** *Pressing and supercritical carbon dioxide extraction of walnut oil*, J Food Eng, 88, 399–404.
- Mason, T.J., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P., (1996),** *The uses of ultrasound in food technology*, Ultrason Sonochem, 3, 253–260.
- Mendiola, J.A., Herrero, M., Cifuentes, A., Ibañez, E., (2007),** *Use of compressed fluids for sample preparation: Food applications*, J Chromatogr A, 1152, 234–246.
- Moody, (1944),** *Trans. Am. Soc. Mech. Eng.*, 66, 671.
- Montañez, F., Fornari, T., Martín-Álvarez, P.J., Montilla, A., Corzo, N., Olano, A., Ibañez, E., (2007),** *Selective fractionation of disaccharide mixtures by supercritical CO<sub>2</sub> with ethanol as co-solvent*, J Supercrit Fluid, 41, 61–67.

- Montgomery, D.C.**, (2004), *Diseño y análisis de experimentos* (segunda edición). México, D.F.: LIMUSA WILEY.
- Morris, A.S.**, (2001), *Measurement and instrumentation principles*, Third Edition, England: Butterworth-Heinemann.
- Mukhpadyay, M.**, (2000), *Natural extracts using supercritical carbon dioxide*, 1st. Ed. CRC Press, New York.
- Nahar, L. y Sarker, S.D.**, 2005, *Supercritical fluid extraction, methods in biotechnology*, 2<sup>da</sup> edición, 20, Humana prees, 47-75.
- Nieto, A., Borrull, F., Pocurrull, E., Marcé, R.M.**, (2010), *Pressurized liquid extraction: a useful technique to extract pharmaceuticals and personal-care products from sewage sludge*, TrAC Trends Anal Chem, 29,752-764.
- Niranjan, K., Hanmoungjai, P.**, (2004). Enzyme-aided aqueous extraction. In: Dunford, N.T., Dunford, H.B. (Eds.), *Nutritionally enhanced edible oil processing*, Illinois: AOCS Publishing.
- Paes, J., Dotta, R., Barbero, G.F., Martínez J.**, (2014), *Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues using supercritical CO<sub>2</sub> and pressurized liquids*, J Supercrit Fluid, 95, 8-16
- Palazuela, B., Manganiello, L., Bauza, R., Ríos, A., Valcácer M.**, ( 2005), *Performance testing activities for analytical assessment of supercritical fluid extractors*, Accred Qual Assur, 10,219-228.
- Perry, R.H., Green, D.W., Maloney, J.O.** (2001). *Perry Manual del ingeniero químico* (6<sup>ta</sup> edición). U.S.A. : McGraw-Hill.
- Ponce-Ramírez, L. e Izcapa-Treviño, C.**, (1989), *Avances y perspectivas de los procesos de extracción supercrítica*, primera edición, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Prado, I.M., Prado, G.H.C., Prado, J.M., Meireles, M.A.A.**,(2013), *Supercritical CO<sub>2</sub> and low-pressure solvent extraction of mango (*Mangifera indica*) leaves: Global yield, extraction kinetics, chemical composition and cost of manufacturing*, Food Bioprod Process, 91, 656-664.
- Pronyk, G. y Mazza, G.**, (2009), *Design and scale-up of pressurized fluid extractors for food and bioproducts*, J Food Eng, 95, 215-226.

- Reid**, R., Prausnitz J., Poling, B., (1977), *The properties of gases and liquids*, (3<sup>rd</sup> edition), MacGraw Hill.
- Reid**, R., Prausnitz J., Poling, B., (2001), *The Properties of Gases and Liquids*, (5<sup>ta</sup> edition). New York: MacGraw Hill.
- Romo-Hualde**, A., Yetano-Cunchillos, A.I., González-Ferrero, E., Sáiz-Abajo, M.J., González-Navarro, C.J., (2012), *Supercritical fluid extraction and microencapsulation of bioactive compounds from red pepper (*Capsicum annum* L.) by-products*, Food Chem, 133 1045–1049.
- Rosenthal**, A., Pyle, D.L., Niranjana, K., (1996), *Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction*, Enzyme Microb Tech, 19, 402–420.
- Salazar-Govea**, A.Y., (2008). *Extracción y evaluación con CO<sub>2</sub> supercrítico de los ácidos grasos de la larva de la mosca común (*Musca domestica*) (Tesis de maestría)*. Instituto Tecnológico de Oaxaca, Oaxaca, México.
- Sánchez**, Y., Cabañas, A., Renuncio, J.A.R., Pando, C., (2009), *Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) seed oil using carbon dioxide and ethanol*, J Supercrit Fluid, 49, 167–173.
- Sapkale**, G.N., Patil, S.M., Surwase, U.S., Bhatbhage, P.K., (2010), *Supercritical Fluid Extracción (review)*, Int J Chem Sci, 8, 729-743.
- Silva**, L.V., Nelson, D.L., Drummond, M.F.B., Dufossé, L., Glória, M.B.A., (2005), *Comparison of hydrodistillation methods for the deodorization of turmeric*, Food Res Int, 38, 1087–1096.
- Singh**, R., Sarker, B., Kumbhar, B., Agrawal, Y., Kulshreshtha, M., (1999), *Response surface analysis of enzyme-assisted oil extraction factors for sesame, groundnut, and sunflower seeds*, J Food Sci Tech, 36, 511–514.
- Sivropoulou** A, Kokkini S, Lanras R, Arsenakis M, (1995), *Antimicrobial activity of mint essential oils*, J Agric Food Chem, 43, 2384–2388.
- Small**, P.A., (1953), *Some factors affecting the solubility of polymers*, J Appl Chem, 3, 71-80.
- Smith**, R.M., (2003), *Before the injection—modern methods of sample preparation for separation techniques*, J Chromatogr A, 100, 3-27.

- Smith, J.M., Van Ness, H.C., Abbott, M.M., (2007),** *Introducción a la termodinámica en Ingeniería Química*, (7<sup>ta</sup>. Ed.), México: McGraw-Hill.
- Stahl, E., Quirin, K-W., Gerard, D., (1988),** *Dense gases for extraction and refining*, 1<sup>st</sup> edition, Berlin: Springer-Verlag Heidelberg.
- Stephan, V. K., y Lucas, K., (1979),** *Viscosity of dense fluids*, 1<sup>st</sup> Edition, New York: Plenum Press.
- Toghill, K.E., Méndez, M.A., Voyame, P., (2014),** *Electrochemistry in supercritical fluids: A mini review*, *Electrochem Commun*, 44, 27–30.
- Torres R.C., Ontengco D.C., Balgos N.S., Villanueva M.A., Lanto E.A., Cruz M.S., Estrella R.R., Santiago R, Salud S., (1996),** *Antibacterial essential oils from some Philippine plants*. In: Santiago C.M. Jr, Lozano A.M., De-Asia A.P. (eds) *Proceedings of the third Asia-Pacific biotechnology congress*, Philippines, 219-220.
- Ulrich, K. T., y Eppinger, S. D. (2004).** *Diseño y desarrollo de productos. Enfoque multidisciplinario*. México, México: McGraw-Hill Interamericana.
- Vági, E., Simándi, B., Vásárhelyiné, K.P., Daood, H., Kéry, Á., Doleschall, F., Nagy, B., (2007),** *Supercritical carbon dioxide extraction of carotenoids, tocopherols and sitosterols from industrial tomato by-products*, *J Supercrit Fluid*, 40, 218–226.
- Vankar, P.S., (2004),** *Essential oils and fragrances from natural sources*, *Resonance*, 9, 30-41.
- Vargaftik, N.B., (1975),** *Table on the thermophysical properties of liquids and gases*, *Alche Journal*, 21, 1235, 2<sup>nd</sup> edition, London: Hemisphere Publishing Corporation.
- Wei, Z.J., Liao, A.M., Zhang, H.X., Liu, J., Jiang, S.T., (2009),** *Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of silkworm pupal oil applying the response surface methodology*, *Bioresource Technol*, 100, 4214–4219.
- Wu, J.J., Lin, J.C., Wang, C.H., Jong, T.T., Yang, H.L., Hsu, S.L., Chang, C.J., (2009),** *Extraction of antioxidative compounds from wine lees using supercritical fluids and associated anti-tyrosinase activity*, *J Supercrit Fluid*, 50, 33–41.
- Zougagh, M., Valcárcel, M., Ríos, A., (2004),** *Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness*, *Trends in Anal Chem*, 23, 399-405.

**Zuo**, Y.B., Zeng, A.W., Yuan, X.G., Yu, K.T., (2008), *Extraction of soybean isoflavones from soybean meal with aqueous methanol modified supercritical carbon dioxide*, J Food Eng, 89, 384–389.