



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
TRABAJO ESPECIAL DE GRADO



**DESARROLLO DE UN PRODUCTO COSMÉTICO A BASE DEL ACEITE
ESENCIAL DE LIMÓN**

FERNANDEZ, Mariuxi. CI: 18060943

MANOSALVA, Andrea. CI: 17594150

Valencia, 19 de Mayo de 2009.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
TRABAJO ESPECIAL DE GRADO



**DESARROLLO DE UN PRODUCTO COSMÉTICO A BASE DEL ACEITE
ESENCIAL DE LIMÓN**

*PRESENTACION DE TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PARA OPTAR AL
TITULO DE INGENIERO QUIMICO*

Tutor Académico

Prof. (a) Germania Marquina

Autoras:

FERNANDEZ, Mariuxi. CI: 18060943

MANOSALVA, Andrea. CI: 17594150

Valencia, 19 de Mayo de 2009



AGRADECIMIENTO

- ✚ Primero que nada, a Dios Todopoderoso que nos permitió cumplir este sueño.
- ✚ A la Universidad de Carabobo, por guiarnos en nuestra formación profesional y personal.
- ✚ A nuestra tutora: Dra. Germania Marquina, por todo su apoyo y colaboración para llevar a cabo este proyecto.
- ✚ Al personal administrativo, docente y de investigación del centro de Investigaciones Químicas que nos permitieron el espacio y el tiempo necesario para cumplir con los objetivos planteados.
- ✚ A todos aquellos profesores que con su mística y dedicación nos orientaron para la culminación del presente Trabajo de Grado; especialmente: María del Carmen Rodríguez, Alberto Mieres Pitre y Daniel Arias.
- ✚ A Mari, Trina y Leida siempre consecuentes y amables, para solventar los inconvenientes durante la realización y presentación de este trabajo.
- ✚ A Raúl y Orangel que desde la biblioteca de la Escuela de Química nos brindaron un apoyo sustancial para la documentación bibliográfica.
- ✚ Y a todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron para la elaboración del presente trabajo.

Mariuxi L. Fernández P.

Andrea D. Manosalva Q.



DEDICATORIA

A mi Dios, por darme salud, fortaleza, sabiduría e iluminar el camino que me permitió finalizar esta etapa de mi vida.

A mis abuelos: que donde estén guiaron mis pasos para que esto fuese posible, abuelita lo logre y aunque no lo puedes presenciar, me convertí en lo que querías que fuera.

A mis Padres: Maritza y Omar, que son mi todo, mi orgullo, mi pilar y mi apoyo incondicional, sin ustedes no lo hubiese logrado, mil gracias por todo lo que me han dado, por el amor con que cada día me orientan en todos los aspectos de mi vida, los amo.

A mi hermana, María José que es mi mini apoyo y quien me hace esforzar cada día para darle un buen ejemplo a seguir, te amo.

A mi novio, Valdemar Barrios, quien llegó a mi vida en el momento justo para brindarme seguridad y apoyo en la culminación de mi profesión; gracias bebé por toda la ayuda que me diste en esta recta final y la paciencia que me tuviste en medio de mis angustias, te amo.

A mi familia, por el amor incondicional que me brindan y quienes siempre están allí para enseñarme a ser una mejor persona y seguir adelante con mis metas, especialmente a mis primas Iremar, Mayerlin y Luibetzy, con quienes he vivido momentos inolvidables e irrepetibles y los que quedan por vivir, son mis hermanas, las quiero.

A los amigos que me acompañaron durante mi permanencia en la Universidad especialmente (Dayhana, Ma. Vanessa, Andrea, Greissikar) con quienes llore y disfruté momentos que no volverán. Se les quiere.

Mariuxi L. Fernández Pacheco.



DEDICATORIA

A mi Dios que me llenó de fortaleza para terminar mi carrera y presentar este trabajo de grado.

A mis padres Olga y Antonio, a quienes le debo lo que soy, les agradezco su amor y apoyo a lo largo de toda mi vida, este logro es para ustedes.

A mi Daniel, que gracias a él tengo la bendición de tener un hermano que siempre ha creído en mí.

A mi familia, quienes siempre me han apoyado y ayudado en todo y me dan el ánimo para seguir adelante.

A mis amigas de siempre: Daniela, Nathalia, Anibeth e Inmaculada, con quienes compartí mi vida de niña y adolescente y todo lo que nos queda por compartir, son mis hermanas.

A mis amigos: Mariuxi, Carolina, Andrés, Claudia, Aldreina, Mariana, Norelbys, Paola (Q.E.P.D.), David, José Antonio, Valeria, Jonás, e Iván. Con los que reí y lloré a lo largo de esta maravillosa experiencia que fue mi carrera, juntos el mundo nos pertenece.

A la profesora Rosabel Dueñez, quien recibió a la niña inexperta y fue quien me hizo dar cuenta que estaba en la carrera correcta, por eso le estaré siempre agradecida.

A todos aquellos maestros, trabajadores profesores, que desde la escuela hasta la universidad contribuyeron con mis logros. Gracias.

Andrea Daniela Manosalva Quintana.



RESUMEN

En esta investigación se desarrolló una fragancia a partir de la extracción del aceite esencial de limón (*Citrus limonium*) empleando dióxido de carbono como fluido supercrítico; obtenido del limón criollo, debido a que contiene mayor cantidad de citral y es difundido en el país. La extracción supercrítica se desarrolló mediante la aplicación de un diseño factorial 2^3 , en donde los factores estudiados fueron la presión y los tiempos estático y dinámico, sobre el porcentaje de citral en representación de la calidad como variable de respuesta. Posteriormente, se realizaron ocho corridas con sus respectivas réplicas y se empleó el programa estadístico Statgraphics Plus, se obtuvieron que las variables más influyentes fueron la presión y tiempo estático, siendo la interacción de las mismas la más significativa, dejando el tiempo dinámico en 15 min. Adicionalmente, se realizó un diseño factorial 3^2 para la cual se realizaron 11 extracciones, se obtuvo que las condiciones óptimas de extracción fueron de un tiempo estático de 18 min y la presión de 108,3 bar. Para la preparación de 25mL de agua de colonia se mezclaron 21,25 mL de alcohol, 0,75 mL de aceite esencial de limón, 0,5 mL de la mezcla de otros aceites esenciales, 0,02 mL de fijador y 2,5 mL de agua destilada, la fragancia se dirigió al consumidor femenino por ser una fragancia cítrica y dulce. Posteriormente, se realizó una encuesta donde se presentaron tres variedades del perfume, de manera que los potenciales compradores eligieran el que más les agradara. Finalmente, se realizó el estudio del costo de la materia prima para obtener 1Kg de producto, con la finalidad que el mismo pueda ser desarrollado en un futuro.

Palabras claves: Limón criollo, citral, extracción supercrítica, diseño factorial.



ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Introducción	1
Capítulo I. Planteamiento del Problema	3
1.1. Descripción del problema.....	3
1.2. Formulación del problema.....	5
1.2.1. Situación actual.....	5
1.2.2. Situación deseada.....	5
1.3. Objetivos.....	6
1.3.1. Objetivo general.....	6
1.3.2. Objetivos específicos.....	6
1.4. Justificación.....	6
1.5. Limitaciones.....	8
Capítulo II. Marco Teórico	9
2.1. Antecedentes.....	9
2.2. Fundamentos teóricos.....	13
2.2.1. Aceites esenciales.....	13
2.2.2. Clasificación de los aceites esenciales.....	14
2.2.3. Uso de los aceites esenciales.....	16
2.2.4. Aceite esencial de limón (<i>Citrus limonium</i>).....	17
2.2.5. Variedades de limones en Venezuela.....	18
2.2.6. Factores que influyen en la extracción del aceite esencial de limón...	19
2.2.7. Extracción de aceites esenciales.....	19
2.2.8. Extracción con fluido supercrítico.....	23
2.2.8.1. Propiedades de los fluidos supercríticos.....	26
2.2.8.2. Etapas del proceso de extracción supercrítica.....	27
2.2.8.3. Usos y aplicaciones de la extracción con fluido supercrítico.....	28
2.2.9. Perfumes.....	29
2.2.10. Análisis y diseño de experimentos.....	33
2.2.10.1. Diseños experimentales factoriales.....	35
2.2.10.2. Análisis de varianza (ANOVA).....	35



	Pág.
2.2.10.3. Diseños Factoriales 2^k	36
2.2.10.4. Método de Superficie de Respuesta.....	37
Capítulo III. Marco Metodológico.....	39
3.1. Materiales y equipos.....	39
3.1.1. Materia prima.....	39
3.1.2. Equipos.....	39
3.2. Fases metodológicas de la investigación.....	42
3.2.1. Evaluación de la extracción del aceite esencial de limón.....	42
3.2.1.1. Selección de la materia prima para realizar la extracción.....	42
3.2.1.2. Selección del diseño experimental.....	43
3.2.1.3. Obtención de las condiciones óptimas de presión y temperatura.	49
3.2.1.4. Identificación de los componentes principales del aceite esencial de limón.....	49
3.2.2. Formular una fragancia fundamentada en el aceite esencial de limón a nivel de laboratorio.....	52
3.2.2.1. Elaboración de la fragancia tomando en cuenta la proporción volumétrica de los componentes a adicionar.....	52
3.2.3. Estabilidad del producto.....	53
3.2.3.1. Estabilidad química.....	53
3.2.3.2. Estabilidad física.....	53
3.2.4. Estudio de la aceptación del producto.....	53
3.2.4.1. Aspectos generales del estudio de aceptación.....	53
3.2.4.2. Objetivos del estudio de aceptación.....	53
3.2.4.3. Determinación de las fuentes de información.....	54
3.3 Determinación del costo del producto.....	56
Capítulo IV. Discusión y Resultados.....	57
4.1. Caracterización de la especie de limón que se utilizó como materia prima..	57
4.2. Determinación de las condiciones de operación del proceso.....	60
4.3. Formulación de la fragancia.....	75



	Págs.
4.4. Estabilidad.....	76
4.5. Estudio de la aceptación de la fragancia.....	76
4.6. Estimación del costo por materia prima para obtener 1 Kg de producto.....	79
Capítulo V. Conclusiones y Recomendaciones.....	82
Conclusiones.....	82
Recomendaciones.....	83
Referencias.....	84
Apéndice A. Cálculos Típicos.....	88
Apéndice B. Tablas y Figuras Bibliográficas.....	93
Apéndice C. Encuesta.....	94
Apéndice D. Diagramas de flujo de proceso de extracción.....	97
Anexos.....	98



INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 2.1. Estructuras químicas de diferentes terpenoides.....	13
Figura 2.2. Estructura molecular del isopreno.....	15
Figura 2.3. Lanosterol, un triterpeno.....	16
Figura 2.4. El limón (<i>Citrus limonium</i>)	17
Figura 2.5. Exportaciones mundiales de aceite esencial de limón.....	18
Figura 2.6. Propiedades de los fluidos supercríticos.....	24
Figura 2.7. Proceso de extracción con fluido supercrítico.....	27
Figura 2.8. Superficie de respuesta tridimensional.....	38
Figura 3.1. Equipo de extracción con CO ₂ supercrítico.....	41
Figura 4.1. Lima criollo o gallega (a), lima Tahití o persa (b) y lima Eureka o chinotto (c).....	57
Figura. 4.2. Cromatógrafo de gases. Marca VARIAN. Modelo 3800	58
Figura. 4.3 Cromatograma del patrón de limoneno.....	58
Figura. 4.4. Porcentaje de citral de las muestras analizadas por el espectro de masa.....	59
Figura. 4.5. Cromatograma comparativo de las muestras analizadas.....	60
Figura 4.6. Representación geométrica del diseño factorial 2 ³	63
Figura 4.7. Diagrama de Pareto estandarizado para el porcentaje de Citral.....	68
Figura 4.8. Tendencia de los efectos principales para el porcentaje de Citral.....	69
Figura 4.9. Tendencia de las interacciones entre las variables para el porcentaje de Citral.....	69



	Pág.
Figura 4.10. Superficie de Respuesta estimada del rendimiento en el proceso de Extracción Supercrítica.....	72
Figura 4.11. Comportamiento obtenido de la extracción exhaustiva.....	74



INDICE DE TABLAS

	Pág.
TABLA 2.1. Clasificación de los terpenos.....	15
TABLA 2.2. Análisis comparativo de los principales métodos de extracción de aceites esenciales.....	22
TABLA 2.3 Propiedades físicas de algunos solventes comunes usados en el estado de fluido supercrítico.....	25
TABLA 2.3. Comparación de las propiedades fisicoquímicas de fluidos supercríticos con la de los gases y líquidos ordinarios.....	27
TABLA 3.1 Formato para recolectar los datos del diseño experimental factorial.	50
TABLA 3.2 Desarrollo experimental para la elaboración de la superficie de respuesta.....	51
TABLA 4.1 Rangos de operación establecidos para el diseño experimental 2^3 .	63
TABLA 4.2 Resultados del diseño experimental factorial.....	65
TABLA 4.2 Resultados del diseño experimental factorial (Replica).....	66
TABLA 4.3 Resultados del análisis de varianza para el porcentaje de citral.....	67
TABLA 4.4 Desarrollo experimental para la elaboración de la superficie de respuesta.....	71
TABLA 4.5 Resultados los datos de la corrida exhaustiva.....	73
TABLA 4.6 Composiciones y cantidades de los componentes del perfume.....	76



INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad el hombre ha estudiado la manera de obtener compuestos aromáticos extraídos de diferentes plantas y frutas, debido a que nuestro olfato está íntimamente relacionado con el cerebro, las emociones y la memoria, y su principal función es proporcionarnos información vital del mundo olfativo que nos rodea.

Los aceites esenciales son las puntas de lanza en las investigaciones, por ser la materia prima fundamental en la obtención de fragancias y por sus múltiples usos como afrodisíacos, analgésicos, antidepresivos, antisépticos, entre otros, convirtiéndolos en área de interés para el desarrollo e investigación en muchos países.

El limón ocupa un primer lugar entre los frutos curativos, preventivos y de aporte vitamínico, transformándolo en un gran eliminador de toxinas y un poderoso bactericida. Su exquisito y refrescante aroma lo hacen ideal para crear fragancias. El aceite esencial de cítricos, específicamente de limón, se concentra en la parte exterior de la piel fresca, su extracción es muy importante porque es uno de los más usados, para la industria cosmética y de perfumería que económicamente generan altos niveles de rentabilidad.

El aceite esencial de limón se obtendrá por medio del método de extracción con CO₂ supercrítico, ya que con éste, los extractos son de mejor calidad y frescura, y por consecuencia garantiza un mejor aroma, que ningún otro método nos pueda brindar. Además no genera daño al medio ambiente.

En Venezuela existe una gran variedad de flora la cual puede servir como materia prima para la obtención de aceites esenciales, pero este potencial no es aprovechado ya que no se dispone de una industria que extraiga el aceite y satisfaga la demanda del mercado nacional.



Este estudio también da a conocer el costo de la fragancia, con el fin de posicionarlo a futuro en el mercado, pudiendo generar una alta rentabilidad, debido a la gran demanda de perfumes que existe en la actualidad.

En virtud de la importancia que tiene para el país el desarrollo de la obtención de aceites esenciales para la industria de las fragancias y perfumes; en este caso del limón y otras especias, se hace necesario desarrollar un producto cosmético con base al aceite esencial de limón, con la finalidad de incursionarlo en el mercado local.



CAPÍTULO I.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En esta sección se muestra de manera detallada la formulación del problema, los elementos que justifican y limitan la investigación y los objetivos que se desean alcanzar.

1.1 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

El Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) es un ente adscrito al Decanato de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Carabobo, y está ubicado en su núcleo de Bárbula en el municipio Naguanagua. Es una organización destinada a asistir a la comunidad universitaria e instituciones externas en el desarrollo de investigaciones de las ciencias básicas y tecnológicas en las áreas de catálisis homogénea, heterogénea y bifásica, catalizadores y adsorbentes, extracción de aceites esenciales, polímeros, síntesis orgánica, tecnología de alimentos y biotratamientos.

Los aceites esenciales son sustancias volátiles, no solubles en agua obtenidas por un proceso físico a partir de material vegetal oloroso de un solo género botánico, en su mayoría líquidos muy concentrados. Estos se extraen de distintas partes de las plantas, como son: pétalos, hojas, semillas, núcleo de la nuez, piel del tronco, parte superior de las flores. Debido a que poseen estructura molecular pequeña, su penetración en la piel es más eficiente que la de los aceites vegetales. Estas sustancias tienen una amplia utilidad en la industria farmacéutica (saborizantes), cosmética (perfumes y aromatizantes) y de alimentos (condimentos y saborizantes).

Los aceites esenciales se pueden obtener mediante varios métodos entre los cuales se encuentran: destilación por arrastre por vapor de agua (hidrodestilación), extracción con disolventes (enfleurage), maceración de flores, y la más reciente extracción mediante fluidos supercríticos (softact).

En el CIQ se encuentra una unidad de fluidos supercríticos el cual posee un equipo extractor marca "Applied Separations", el cual emplea dióxido de carbono (CO_2)



como solvente en un cilindro de extracción de 1L y en donde se han realizado varios trabajos de investigación.

Al emplear la técnica de extracción utilizando CO₂ como fluido supercrítico, se trabaja con una sustancia pura cuyas propiedades de temperatura y presión críticas son 31°C y 71,3 bar, respectivamente. Debido a que al trabajar con CO₂ no se emplean altas temperaturas, se mantiene la esencia y olor inicial de la materia prima; obteniéndose condiciones ideales de trabajo para la cosmetología, siempre que se observen los principios de preservación de los aceites, ya que son muy delicados.

En Venezuela existe una gran variedad de flora la cual puede servir como materia prima para la obtención de aceites esenciales, pero este potencial no es aprovechado ya que no se dispone de una industria que extraiga el aceite y satisfaga la demanda del mercado nacional.

El aceite esencial de cítricos, específicamente de limón que se extrae del fruto, es uno de los más usados. Su exquisito y refrescante aroma lo hacen ideal para crear fragancias por lo que es muy popular en perfumería [15].

El limón es un fruto originario del Sudeste de Asia. Antecedentes registrados en la historia nos permiten saber que en el siglo III, las invasiones bárbaras destruyeron todas las plantaciones de limones haciéndolo desaparecer de Europa. Recién diez siglos después reaparecen con los árabes que lo volvieron a plantar en España [15].

El limón así como muchos otros alimentos, llegaron a América con los mismos conquistadores. Éstos no realizaban ninguna de sus travesías sin tenerlo entre sus provisiones pues, ya eran conocidas sus propiedades para prevenir y combatir el escorbuto, enfermedad que se origina por falta de vitamina C [15]

El limón ocupa un primer lugar entre los frutos curativos, preventivos y de aporte vitamínico, transformándolo en un gran eliminador de toxinas y un poderoso bactericida.



Debido a que el aroma de la fruta se concentra en la parte exterior de la piel fresca del limón, su extracción es muy importante para la industria cosmética y de perfumería para la elaboración de fragancias que económicamente generan altos niveles de rentabilidad.

En virtud de la importancia que tiene para el país el desarrollo de la obtención de aceites esenciales para la industria de las fragancias y perfumes; en este caso del limón y otras especias, se hace necesario estudiar el rendimiento que produciría su extracción para elaborar un perfume del agrado de potenciales clientes, que permita el desarrollo del mercado venezolano

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Los aceites esenciales son las puntas de lanza en las investigaciones, por ser la materia prima fundamental en la obtención de fragancias y por sus múltiples usos como afrodisíacos, analgésicos, antidepresivos, antisépticos, entre otros, convirtiéndolos en área de interés para el desarrollo e investigación en muchos países.

La función principal del olfato es proporcionar información vital sobre el mundo olfativo que nos rodea, ya que el olfato, el cerebro, la emoción y la memoria se encuentran íntimamente relacionados, lo que ha llevado al hombre desde la antigüedad, a estudiar la forma de obtener compuestos aromáticos extraídos de diferentes plantas y frutas.

1.2.1. SITUACIÓN ACTUAL

En Venezuela, la industria cosmética y de perfumería importa la mayoría de los aceites esenciales que utiliza como materia prima básica en sus procesos de producción de perfumes, fragancias y aromatizantes, no aprovechando el potencial que ofrece el país en cuanto a la diversidad de especies botánicas y frutales existentes. De hecho no existe como tal una planta química procesadora de esencias en el país ni en América Latina.



1.2.2. SITUACIÓN DESEADA

Se requiere obtener el aceite esencial de limón como ingrediente para el desarrollo de una fragancia, determinando la aceptabilidad dentro de una población selecta del mercado venezolano para su producción y una futura negociación a través de un estudio de mercado que daría lugar a una planta de extracción de aceites esenciales aromáticos.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un producto cosmético con base al aceite esencial de limón, con la finalidad de incursionarlo en el mercado local.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar distintas clases de limón disponible en la región, con la finalidad de seleccionar el más adecuado para la elaboración de la fragancia.
2. Determinar las condiciones de operación para llevar a cabo la extracción del aceite esencial por el método de fluido supercrítico con la finalidad de conocer el rendimiento y la calidad del proceso.
3. Formular la fragancia fundamentada en el aceite esencial de limón a nivel de laboratorio a fin de desarrollar un nuevo producto para el mercado venezolano.
4. Estudiar la estabilidad de la fragancia en el tiempo con el propósito de conocer la durabilidad del producto.
5. Realizar un estudio de aceptación de la fragancia dentro de una población selecta con el propósito de determinar el mercado potencial y sus preferencias.
6. Estimar el costo por materia prima para obtener un 1Kg de producto.

1.4 JUSTIFICACIÓN

Los sentidos más sensibles del ser humano son el gusto y el olfato. La nariz puede descubrir a menudo olores a un nivel que incluso a la instrumentación moderna



le es difícil lograr. El mundo natural, brinda una cantidad de sabores y fragancias, directa o indirectamente, que hacen reaccionar estos sentidos ante diferentes situaciones.

Los aceites esenciales son usados de diversas formas en la vida cotidiana, como por ejemplo, en las comidas, bebidas y artículos de la confitería; en los productos para el uso personal como: perfumes, desodorantes, champúes, lociones de baño, jabones, pasta dentífrica y enjuagues bucales; en artículos usados en la casa u oficina o en la industria como los refrescos, detergentes, en fin la lista es interminable. Se hace evidente la amplia aplicabilidad de los aceites esenciales y lamentablemente en Venezuela la producción de aceites esenciales es casi nula, y por ende se gasta mucho dinero en la importación de los mismos, lo cual permite inferir perfectamente la necesidad de información e investigación con el fin de incursionar en ese mercado.

En tal sentido, la extracción del aceite esencial del limón amplía el conocimiento de las propiedades odoríferas de las plantas frutales en el país y su utilización en el campo de la perfumería. A su vez, surge como una respuesta para la comercialización de productos abundantes que permitan disminuir la dependencia de materia prima extranjera en la fabricación de fragancias y perfumes.

Por otra parte, el ingeniero químico juega un papel primordial en la industria de perfumes, ya que es el encargado del máximo rendimiento. Además de llevar la síntesis química a escala industrial utilizando el proceso más factible generando ganancias para la industria.

Además, esta investigación, amplía el desarrollo que se está gestando en el área de los fluidos supercríticos, específicamente en la extracción de esencias utilizando dióxido de carbono (CO_2).



Este tipo de investigaciones, estimula en el estudiante el espíritu investigativo, creando la expectativa de explorar situaciones en otras áreas, como parte de su formación integral.

1.5 LIMITACIONES

Durante la realización del presente trabajo se presentan una serie de obstáculos que dificultan el buen desenvolvimiento de la investigación y desarrollo de los objetivos planteados. A continuación se enumeran algunas de las limitaciones más importantes:

- ❖ El método de extracción por fluido supercrítico es muy poco utilizado en Venezuela.
- ❖ Obtención de datos específicos sobre la producción de perfumes en el país.
- ❖ Obtención de información sobre las características de los equipos industriales a ser utilizados en los requerimientos del diseño del proceso de elaboración de la fragancia.
- ❖ Costos asociados a la investigación como lo son las pruebas experimentales, y los repuestos que pudiese necesitar el equipo, los cuales están disponibles en el exterior.



CAPÍTULO II.

MARCO TEÓRICO

En esta sección se presenta las bases teóricas y antecedentes que fundamentan la investigación, dando una explicación amplia del significado del tema a través de definiciones, esquemas y gráficos que definan claramente lo referente al trabajo de investigación.

II. ANTECEDENTES

Seied M., Mahdi P. (2007). Realizaron un análisis de extracción con fluido supercrítico de aceites esenciales de plantas y el análisis de su aceite volátil. El cual, se basó en una discusión detallada y puesta al día de los acontecimientos, modos y usos de la extracción con fluido supercrítico en el aislamiento de aceites esenciales de matrices de plantas. La extracción con fluido supercrítico por lo general se realizó con el dióxido de carbono puro o modificado, que facilita en tiempo diferido la colección de extractos y el enganche en línea con otros métodos analíticos como la cromatografía gaseosa líquida y de fluido supercrítico. En esta revisión, se mostró el número de factores que influyen en la extracción, estos serán la solubilidad del soluto en el fluido, la difusión por el proceso de colección y la matriz. Finalmente, la extracción con fluido supercrítico, especialmente CO₂, fue comparada con métodos de extracción convencionales en términos de selectividad, rapidez, limpieza y posibilidad de manipular la composición del extracto volátil.

Las similitudes que se encuentran con el trabajo en desarrollo son la utilización de la extracción con fluido supercrítico, especialmente CO₂, en plantas con aceites esenciales volátiles como el limón. La diferencia en el trabajo que se lleva a cabo, es que el aceite esencial extraído tiene el propósito de ser usado para la elaboración de una fragancia.

Del Valle J. M., De La Fuente J. C. (2006). Se encargaron de realizar una revisión de los modelos de equilibrio y cinética de la extracción de aceites de semillas con CO₂ supercrítico. El objetivo de esta investigación fue revisar los modelos de transferencia



de masa de la extracción con dióxido de carbono (CO_2) supercrítico, para facilitar la base de datos a nivel de laboratorio para propósitos de diseño industrial. Los mecanismos repasados de transporte del aceite dentro de la matriz sólida incluyen la desorción del sólido, la formación de un caparazón de aceite condensado que se encoge en una matriz porosa que no se adsorbe, y la difusión en un medio homogéneo. Las tendencias para el coeficiente de transferencia externo de masas y difusividad eficaz, en la matriz sólida de estudios sobre la extracción con CO_2 supercrítico del aceite de sustratos de vegetales, fueron estudiadas a fondo y contrastadas con aquellos sistemas obtenidos con modelos más simple de usar. El posible efecto de la dispersión axial sobre la tasa de extracción también fue discutido. Finalmente, el equilibrio de fase aceite vegetal- CO_2 a alta presión fue estudiado en conexión con su influencia sobre el proceso de transferencia de masas, con énfasis especial en el papel de la matriz sólida sobre el equilibrio de fase a alta presión.

Este antecedente presenta similitud con la investigación que se lleva a cabo con la utilización de la extracción con CO_2 supercrítico para extraer aceite esencial. En cuanto a las diferencias se tienen: en el antecedente solo revisan los modelos de transferencia de masa de dicha técnica mientras que en el trabajo propuesto se utiliza la extracción para obtener el aceite esencial de la materia prima, además, en la investigación se enfocan en los aceites vegetales como materia prima, mientras que en el trabajo propuesto se utiliza el aceite esencial de limón.

Marin J. Y Ojeda M. (2005). Desarrollaron un proceso de extracción del aceite esencial del Clavel de la India (*Tabernaemontana divaricata*) con CO_2 para la producción de fragancias. Para ello fueron determinadas las mejores condiciones de extracción, desarrollo de una fragancia en base a la esencia extraída, estudio de mercado para incursionar con el nuevo producto y una evaluación técnico-económica para el establecimiento de una planta piloto.

Las similitudes con el trabajo en desarrollo son: en ambos trabajos se propone elaborar una fragancia utilizando extracción mediante CO_2 supercrítico para obtener el



aceite esencial de la materia prima escogida, determinar el rendimiento de la extracción, ambos trabajos plantean la posibilidad de industrializar y comercializar un nuevo producto con ingredientes naturales, realizado en nuestro país, además de incentivar el estudio para la extracción de nuevas especies exóticas, cuyos aceites esenciales posean un alto valor agregado dentro del mercado internacional. La diferencia más obvia es la selección de materia prima en el trabajo que se lleva a cabo se escogió el limón mientras que en el antecedente fue escogido el Clavel de la India (*Tabernaemontana divaricata*) como materia prima.

Franceschi E., et col. (2004). Analizaron el comportamiento de las fases de los aceites de limón y bergamota en CO₂ supercrítico. El objetivo principal de este trabajo fue investigar el comportamiento de fase a alta presión de los sistemas binarios CO₂-limón (*Lima tahiti*) y CO₂-bergamota. El método que se usó una célula de volumen variable fue empleado para obtener los datos experimentales del CO₂ en una gama de composición total de 5-98 % de peso, de 313 a 343 K y presiones hasta 19 MPa. Para ambos sistemas, los datos experimentales revelaron la presencia de los equilibrios líquido-vapor y líquido-líquido y transiciones de fase líquido-líquido-vapor.

Ambos trabajos se asemejan en la aplicación de la extracción mediante CO₂ supercrítico para obtener el aceite esencial de limón. Sin embargo, se diferencian en el objetivo que se quiere lograr, el antecedente estudia el comportamiento de la mezcla binaria limón-CO₂ a altas presiones, además de estudiar también el sistema CO₂-bergamota; mientras que el trabajo a presentarse requiere la extracción del aceite esencial de limón para elaborar una fragancias a base del mismo.

Sawamura, M. et col. (2004). Estudiaron los cambios en la composición de aceite esencial de limón para la aromaterapia, el cual, fue investigado en cuatro condiciones diferentes durante un período de un año. La muestra s-1 fue almacenada en un juego de incubadora en 25 °C con el gorro abierto durante 3 minutos diario; la muestra s-2 fue almacenada en un juego de incubadora en 25 °C con el gorro abierto una vez al mes para el análisis; prueba s-3 y s-4 fue almacenado en 5 °C en la misma manera que s-1



y s-2, respectivamente. Las muestras del aceite fueron analizadas cuantitativamente usando un estándar interno por GC Y GC-MS. Cambios de composición ocurrieron predominantemente en s-1, donde los hidrocarburos de monoterpeno se disminuyeron del 97,1 % al 30,7 % en un año. El cambio compositivo de s-4 era mínimo, mientras la condición aeróbica (s-3) causó alguna disminución de los componentes durante el almacenaje aún a 5 °C.

Entre el trabajo que se presenta y el antecedente existen similitudes en cuanto a la materia prima a estudiar, la cual es el aceite esencial de limón, además que ambos destinan la utilización de su aroma a fines cosméticos. La diferencia es que en la investigación se estudian las composiciones del aceite esencial mediante almacenamiento en incubadoras y otras técnicas, mientras que en este trabajo se quiere llevar a cabo para determinar la estabilidad de la fragancia en el tiempo.

Chavez, S. y Rivas, M. (2003) Desarrollaron un repelente para insectos a base del aceite esencial de limón, el cual representa una alternativa frente a los repelentes sintéticos existentes en el mercado, que no dañe al medio ambiente ni cause problemas de salud. El repelente se formuló para dos concentraciones de aceite esencial de limón siendo elaborado en la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela. Para asegurar la calidad del repelente se le practicaron pruebas dermatológicas y microbiológicas. Las dos concentraciones fueron probadas con voluntarios en la población de Ortiz; estado Guárico; escogiendo la de mayor acción repelente. Finalmente se realizó un estudio para investigar el mercado de los repelentes existentes en el país.

Las similitudes con el trabajo que se presenta en la utilización del aceite esencial de limón como materia prima. La diferencia en la aplicación del mismo el antecedente se utilizó para el desarrollo de un repelente de insectos mientras en esta investigación se quiere desarrollar una fragancia.



2.1. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.2.1. ACEITES ESENCIALES

Químicamente, los aceites esenciales de las plantas consisten principalmente en mezclas de lípidos llamados terpenos (si son hidrocarburos) o, de manera más general terpenoides. Se conocen más de 22.000 terpenoides con una gran diversidad de estructuras. Algunos son hidrocarburos, mientras que otros contienen oxígeno; algunos son moléculas de cadenas abierta y otros poseen anillos. [37]

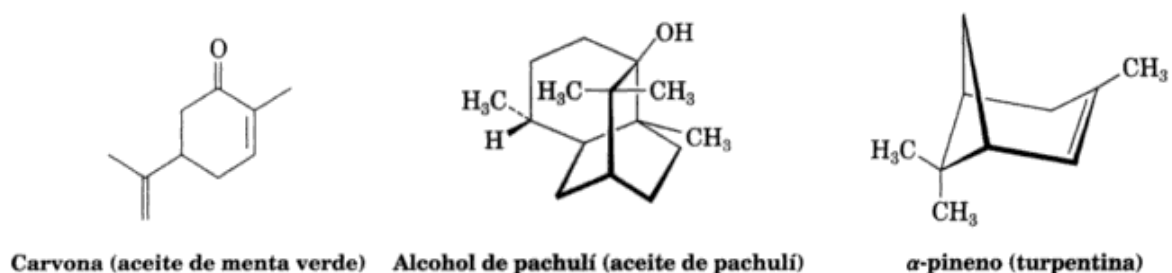


Figura 2.1 Estructuras químicas de diferentes terpenoides. [37]

Se forman en las partes verdes (con clorofila) del vegetal y al crecer la planta son transportadas a otros tejidos, en concreto a los brotes en flor. Es uno de los ingredientes básicos en la industria de los perfumes, alimenticia y en medicina [19].

Los aceites esenciales son en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter y aceites vegetales y minerales. Por lo general no son oleosos al tacto. Son sustancias orgánicas, líquidas aunque algunas veces sólidas, de olor y sabor acres, irritantes e incluso cáusticas. El término aceite esencial se aplica también a las sustancias sintéticas similares preparadas a partir del alquitrán de hulla, y a las sustancias semisintéticas preparadas a partir de los aceites naturales esenciales. Su composición química es variada pero lo más a menudo encierran hidrocarburos de fórmula $C_{10}H_{16}$ o un múltiplo o submúltiplo y un compuesto oxigenado o alcanfor. Algunos contienen éteres, alcoholes, fenoles; otros, contienen azufre. Existen en todos los órganos de las plantas pero más especialmente en las hojas y en las flores. Así como la mayor parte de las esencias ya existen en el vegetal completamente formadas,



otras no preexisten sino que se forman por la acción del agua sobre determinadas partes del vegetal por cuya acción se combinan ciertos elementos que se encuentran en las células y determinan la formación de la esencia. Proceden de las flores, frutos, hojas, raíces, semillas y corteza de los vegetales. El aceite de espliego, por ejemplo, procede de una flor, el aceite de pachulí de una hoja, y el aceite de naranja, de la piel del fruto. [10]

2.2.2. CLASIFICACION DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales se clasifican con base en diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.

De acuerdo con su consistencia los aceites esenciales se clasifican en esencias fluidas, bálsamos y oleorresinas. Las esencias fluidas son líquidos volátiles a temperatura ambiente. Los bálsamos son de consistencia más espesa, son poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización. Las oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavel, etc.).[20]

De acuerdo a su origen los aceites esenciales se clasifican como naturales, artificiales y sintéticos. Los naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosas. Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecidas con linalool, o la esencia de anís enriquecida con anetol. [20]

Los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo con los componentes mayoritarios en terpénicos, monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides, monoterpenoles, sesquiterpenoles, esteroides terpénicos, óxidos terpénicos, cetonas terpénicas, lactonas sesquiterpénicas, monoterpenonas, hidrocarburos



sesquiterpénicos, hidrocarburos, fenoles y derivados, alcoholes, aldehídos, entre otros. [20]

Compuestos terpénicos: son pequeñas moléculas orgánicas con una gran diversidad de estructura. Muchos tienen dobles enlaces carbono-carbono. Todos los terpenos sin importar sus aparentes diferencias estructurales, están relacionados mediante el formalismo llamado regla de isopreno, se considera que los terpenos surgen de la unión de la cabeza a la cola de unidades de isopreno de cinco carbonos.

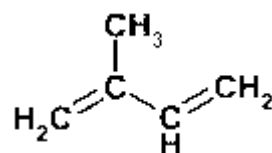


Figura 2.2. Estructura molecular del isopreno. [37]

Los terpenoides se clasifican de acuerdo con el número de unidades de isopreno que contienen. Así, los monoterpenos son sustancias de 10 carbonos hechas a partir de dos unidades de isopreno; los sesquiterpenos son moléculas de 15 carbonos a partir de tres unidades de isopreno, etc. (Tabla 2.) [37]

TABLA 2.1
CLASIFICACIÓN DE LOS TERPENOS

Átomos de carbono	Unidades de isopreno	Clasificación
10	2	Monoterpenos
15	3	Sesquiterpenos
20	4	Diterpenos
25	5	Sesterterpenos
30	6	Triterpenos
40	8	Tetraterpenos

Fuente: [37]

Los mono y los sesquiterpenos se encuentran principalmente en las plantas, las bacterias y los hongos, pero los terpenos superiores se encuentran tanto en plantas



como en los animales y tienen importantes papeles biológicos. Por ejemplo, el triterpeno lanosterol. Es el precursor a partir del cual se forman todas las hormonas esteroideas; el tetraterpeno β -caroteno es una fuente importante en la dieta de la vitamina A. [37]

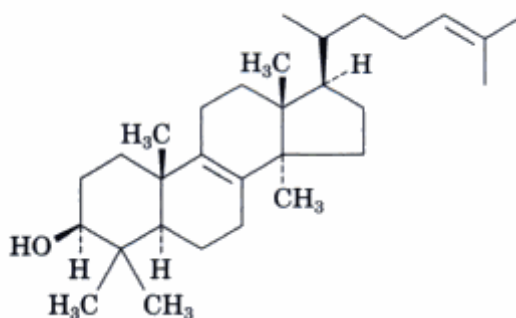


Figura 2.3 Lanosterol, un triterpeno (C_{30}) [37]

2.2.3. USO DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales tienen dos grandes mercados, el primero está dado por sus características organolépticas, explotado primordialmente por la industria de sabores y fragancias. Y el segundo, es el que se nutre de los distintos componentes aislados o no. El uso principal de los aceites esenciales es de la industria cosmética (perfumes y aromatizantes, como: jabones, desinfectantes y productos similares). Otro uso es en la terapia alternativa denominada aromaterapia, en ésta disciplina los aceites son usados para las heridas, quemaduras y como relajante. En la industria de alimentos son utilizados como condimentos y en la industria farmacéutica como saborizantes. [9]

También se utilizan para dar sabor y aroma al café, el té, los vinos y las bebidas alcohólicas. Son los ingredientes básicos en la industria de los perfumes y se utilizan en jabones, desinfectantes y productos similares. También tienen importancia en medicina, tanto por su sabor como por su efecto calmante del dolor y su valor fisiológico [9].

Además, tradicionalmente utilizados en Botánica Sistemática para establecer parentescos entre plantas, al principio en forma indirecta (utilizando el olor como carácter), luego en su forma química. [21]



Cuando se requiere del uso de un aceite esencial se ha de tener en cuenta que se trata de un producto extractivo cuya concentración rara vez supera el 1% del peso de la planta en seco. Es decir, que si se va a emplear 1g de aceite esencial, en realidad se está empleando cerca de 100g de planta seca, lo cual representa una dosis muy considerable.[21]

2.2.4. ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN (*Citrus limonium*)

Es un producto volátil obtenido del epicarpio fresco del fruto. Se trata de un líquido de color amarillo pálido a verde amarillento; posee un aroma fresco que recuerda a la cáscara madura del fruto. Su densidad relativa a 20/20°C es de 0,850 a 0,859. Soluble en alcohol o éter y poco soluble en agua. Está constituido por compuestos complejos, con propiedades fisicoquímicas diferentes, dependientes del proceso de extracción utilizado. Su composición tiene un 92-94% de terpenos y sesquiterpenos; el más importante es el limoneno (65%), terpenos oxigenados (6-8%) con el Neral (Citral a ó Cis-citral) y Geranial (Citral b ó trans-Citral) como los principales componentes, y el resto de sesquiterpenos [22]. El limón representa el 7% de los cultivos cítricos que para el año 2006 correspondía a un 22% del mercado mundial de frutas con 71 millones de toneladas; de esta producción se industrializa solo el 28%. La industria emplea aproximadamente 190 Kg. de limón para obtener 1 Kg. de aceite esencial. Su exquisito y refrescante aroma lo hacen ideal para crear fragancias por lo que es muy popular en perfumería [23].



Figura 2.4. El limón (*Citrus limonium*) [32]

El dato más reciente que tenemos para la producción mundial de aceite esencial de limón es del año 2002 cuando fue de 8,75 mil toneladas y crece a una tasa anual de



10%. Argentina fue el principal productor mundial de aceite esencial de limón con casi 3,5 mil toneladas (40%), seguido por EE.UU. e Italia con el 12% cada uno. El volumen mundial comercializado de aceite esencial de limón, promedia las 9 mil toneladas. El Reino Unido es un importante redistribuidor del producto [23].

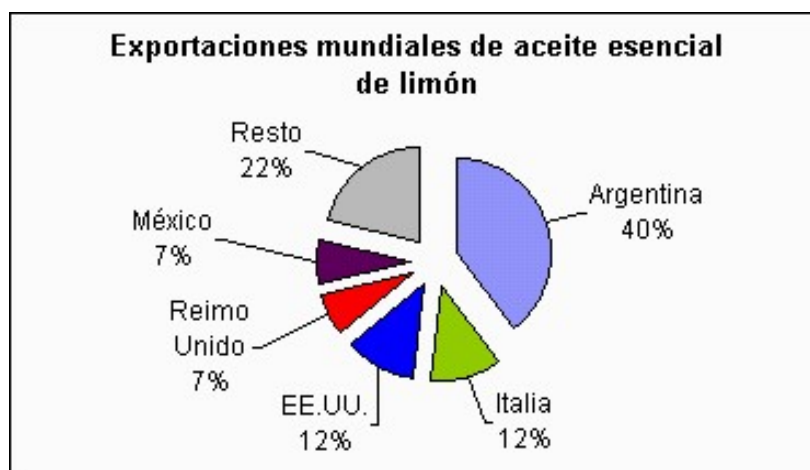


Figura 2.5. Exportaciones mundiales de aceite esencial de limón. [23]

2.2.5. VARIEDADES DE LIMONES EN VENEZUELA

La variedad de limones que existen en el mercado carabobeño, son tres: el limón criollo, llamado también lima mejicano o limón gallego, es un fruto muy pequeño por lo que no es rentable comercialmente y se vende cuando las otras variedades de limón escasean. Es la especie más susceptible al virus de la tristeza. El limón persa o limón sin semilla (Lima Tahití, *Citrus latifolia*). Introducido a California desde Tahití entre 1850-1880 originario de Persia (Irán), fue introducido en Venezuela para los años 1934-1935. Es el limón más comercial ya que posee mayor cantidad de jugo y es menos ácido que el limón criollo. Se produce en los valles de Carabobo y en el estado Mérida.

Por último se conoce un limón no comercial, el Chinotto, variedad Eureka o limón europeo, de corteza rugosa, con poco jugo, es de las variedades cultivadas en California, originado en 1887, es un híbrido de varios árboles de limón Siciliano [4]. Esta especie no se adapta bien al clima del país por lo que no se comercializa. [10]



2.2.6. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMON

En el resultado de la extracción del aceite esencial de limón, influye el grado de madurez del fruto, ya que un fruto fresco con un buen grado de madurez (piel color verde oscuro) presenta una corteza de fácil rotura y más apta para la expulsión de aceite. Cuando el proceso de madurez avanza, la corteza tiende a adquirir una dureza que impide la rotura de las glándulas. El tiempo transcurrido entre la cosecha y su posterior manipulación y elaboración del aceite esencial influyen sobre el rendimiento.

Los rendimientos más elevados se obtendrán siempre que los frutos estén frescos, recién recogidos y con el mínimo golpe o magullamiento. Los insectos y las plagas también afectan el rendimiento de la extracción.

2.2.7. EXTRACCION DE ACEITES ESENCIALES

- **Expresión (Prensado):** El material vegetal es sometido a presión, bien sea en prensas tipo batch ó en forma continua, dentro de éstos se tienen los equipos: Tornillo sin fin de alta ó de baja presión, extractor expeller, extractor centrífugo, extractor decantador y rodillos de prensa. Para los cítricos antiguamente se empleó el método manual de la esponja, especialmente en Italia, que consiste en exprimir manualmente las cáscaras con una esponja hasta que se empapa de aceite, se exprime entonces la esponja y se libera el aceite esencial. Otros métodos corresponden a raspado, como el del estilete, donde la fruta se pone a girar en un torno y con un estilete se raspa la corteza únicamente; permanentemente cae un rocío de agua que arrastra los detritos y el aceite liberado. Otro proceso emplea una máquina de abrasión similar a una peladora de papas y también hace uso del rocío de agua. En estos procesos la mezcla extracto-agua-aceite se centrifuga a 5000 rpm durante 40 minutos y el aceite esencial recuperado se coloca en una nevera a 3°C durante 4 horas, para solidificar gomas y ceras que se localizan en la superficie. El aceite esencial se guarda en recipientes oscuros a 12 °C. Los aceites obtenidos por prensado y/o



raspado, se les comercializa como “expresión en frío” y cumplen la funciones de odorizantes y saborizantes. [33]

Solamente la corteza de los frutos hesperidios es suficientemente rica para poder exprimir sus esencias naturales. Una vez separada del fruto, la corteza se agujerea finamente y se comprime mecánicamente. El extracto obtenido se decanta y se filtra sobre papel mojado, con el fin de separar las partes acuosas de los aceites esenciales. Este tratamiento en frío conviene particularmente a naranjas, limones y otros cítricos, cuyo aroma muy fresco no resistiría el calor [24].

- **Destilación por Arrastre de Agua:** Consiste en separar por evaporación los sólidos de los diferentes componentes volátiles de una mezcla. Se calienta dicha mezcla de agua y de vegetales aromáticos. El vapor de agua arrastra los elementos aromáticos hacia la columna de destilación, que una vez enfriados son recogidos. Por decantación el agua se separa de las sustancias aromáticas, resultando las llamadas esencias [24].

Por efecto de la temperatura del vapor (100 °C) en un cierto tiempo, el tejido vegetal se rompe liberando el aceite esencial, el cual presenta a estas condiciones una presión de vapor:

$$P_T = P_v + P_a.$$

La fracción de aceite esencial en la mezcla de vapor será:

$$Y_a = P_a / P_T$$

Adicionalmente el aceite esencial debe de ser insoluble en agua, ya que después del condensador, en el separador (Florentino) debe de formarse dos fases: una de aceite esencial y otra de agua. Si el aceite esencial presenta componentes solubles en agua estos quedarán en la fase acuosa que puede comercializarse como tal: agua de rosas, agua de jasmín, agua de ylang-ylang. (Apéndice D.1) [33]

- **La Extracción con Solvente Volátil:** Debe ponerse en contacto la planta de la que se va a extraer el aceite con el solvente, con lo cual se impregna de materias aromáticas. Se obtienen de esta forma pomadas o aceites aromáticos. Utilizando



etanol, metanol, tolueno, butano o dióxido de carbono en caliente. Estos disolventes son eliminados por evaporación. Se consigue de esta manera una materia con consistencia de cera: el concreto. Mezclado con alcohol, calentado y luego enfriado, el concreto cede los compuestos vegetales, de las ceras que contiene. Una vez eliminado el alcohol por evaporación se obtiene el absoluto. [5]

- **La Extracción con Fluidos Supercríticos:** Es una técnica de separación de sustancias disueltas o incluidas dentro de una matriz, basada fundamentalmente en la capacidad que tienen determinados fluidos en estado supercrítico de modificar su poder disolvente.

Punto crítico corresponde a las condiciones de temperatura y presión, para un gas ó un vapor, por encima de las cuales la sustancia ya no puede ser “licuada” por incremento de presión. Adicionalmente las propiedades de la fase líquida y/o vapor son las mismas, es decir no hay diferenciación visible ni medible entre gas y líquido. [33]

La sustancia mas empleada es el CO_2 , cuya temperatura y presión críticas para el CO_2 son 31°C y 71,3 bar, respectivamente. En estas condiciones presenta baja viscosidad, baja tensión superficial, alto coeficiente de difusión (10 veces más que un líquido normal), que conlleva a un alto contacto con la superficie del material y puede penetrar a pequeños poros y rendijas del mismo lo que asegura una buena eficiencia en la extracción en un corto tiempo. En la parte final del proceso hay una remoción total del solvente y se realiza a una temperatura baja, se disminuye la pérdida de sustancias volátiles y se evita la formación de sabores y olores extraños. El CO_2 no es tóxico, ni explosivo, ni incendiario, es bacteriostático y es clasificado por la FDA como GRAS (Generally Recognized As Safe) (sección 2.2.8) [34]



TABLA 2.2. Análisis comparativo de los principales métodos de extracción de aceites esenciales

Método de Extracción	Ventajas	Limitaciones
Destilación con Vapor	• <i>Método industrial y de laboratorio.</i> • <i>Buenos rendimientos en el aceite extraído.</i> • <i>Obtención del aceite puro, libre de solvente.</i> • <i>Bajo costo.</i> • <i>Tecnología no sofisticada.</i>	• <i>Procesos colaterales como polimerización y resinificación de los terpenos.</i> • <i>Hidrólisis de los esteres.</i> • <i>Destrucción térmica de algunos componentes.</i>
Extracción con Solventes Volátiles (éter de petróleo, Pentano, hexano)	• <i>Uso de temperaturas bajas.</i> • <i>No provoca termo destrucción ni alteración química de los componentes del aceite.</i> • <i>Posibilidad de separación de componentes individuales.</i>	• <i>Costoso.</i> • <i>Contaminante del ambiente.</i> • <i>Riesgo de incendio y explosión.</i> • <i>Difícil de separar completamente el solvente sin alterar la composición del aceite.</i> • <i>Co-extracción de ácidos grasos, ceras y pigmentos.</i>
Extracción con CO₂ Supercrítico	• <i>Alto rendimiento.</i> • <i>Ecológicamente limpio.</i> • <i>Fácil retiro y reciclaje de solvente.</i> • <i>Bajas temperaturas de extracción.</i> • <i>No hay alteración química del aceite.</i> • <i>Cambiando parámetros operacionales se puede cambiar la composición del aceite extraído.</i>	• <i>Ácidos grasos, pigmentos y ceras también pueden ser extraídos junto con el aceite esencial.</i> • <i>Alta inversión inicial.</i>

Fuente: [35]



2.2.8. EXTRACCIÓN CON FLUIDO SUPERCRÍTICO (EFSC)

Es un proceso de extracción en el que actúan como solventes sustancias a temperaturas y presiones por encima de sus valores críticos, las cuales se comportan como fluido. A estas condiciones estos fluidos, permiten que muchas sustancias se disuelvan en ellos, debido a propiedades como la densidad, viscosidad y difusividad de dichos fluidos. [10]

La EFSC es una técnica de separación de sustancias disueltas o incluidas en una matriz, basada fundamentalmente en la capacidad que tienen determinados fluidos en estado supercrítico (por encima de su presión y temperatura crítica) de modificar su poder disolvente. El poder disolvente los fluidos supercríticos (FSC) puede ser elevado dependiendo las condiciones de presión y temperatura aplicadas que permiten la disolución selectiva de sustancias determinadas. La extracción se realiza sin cambios de fase simplemente variando las condiciones de presión y/o temperatura de los FSC. [1]

Cuando un gas es comprimido a una presión suficientemente alta, se hace líquido. Si por otra parte, el gas es calentado más allá de una temperatura específica, ninguna cantidad de compresión del gas caliente hará que se haga un líquido. Se le define como temperatura crítica a esta temperatura y se define como presión crítica a la presión de vapor correspondiente. Estos valores de temperatura y presión determinan un punto crítico que es único para una sustancia dada. [34]

Definen el estado de la sustancia como fluido supercrítico (FSC) cuando ambos, temperatura y presión exceden los valores de punto críticos como se describe esquemáticamente en un diagrama de fase de temperaturas y presión (figura 2.3).

Este "fluido" ahora toma muchas de las propiedades tanto de gas como de líquido. Esta es la región donde la capacidad máxima solvente y las variaciones más grandes en propiedades solventes pueden ser alcanzadas con pequeños cambios en la temperatura y la presión. Esto ofrece características de extracción muy atractivas, debido a su favorable difusividad, viscosidad, tensión superficial y otras propiedades físicas. La difusividad, es de una a dos órdenes de magnitud más alta, que aquellas que



poseen otros líquidos, que facilitan la transferencia rápida de masa y la extracción se termina más rápido en comparación a los solventes líquidos convencionales. Su baja viscosidad y la tensión superficial le permiten fácilmente penetrar en el material botánico del cual debe extraerse el componente activo. [34]

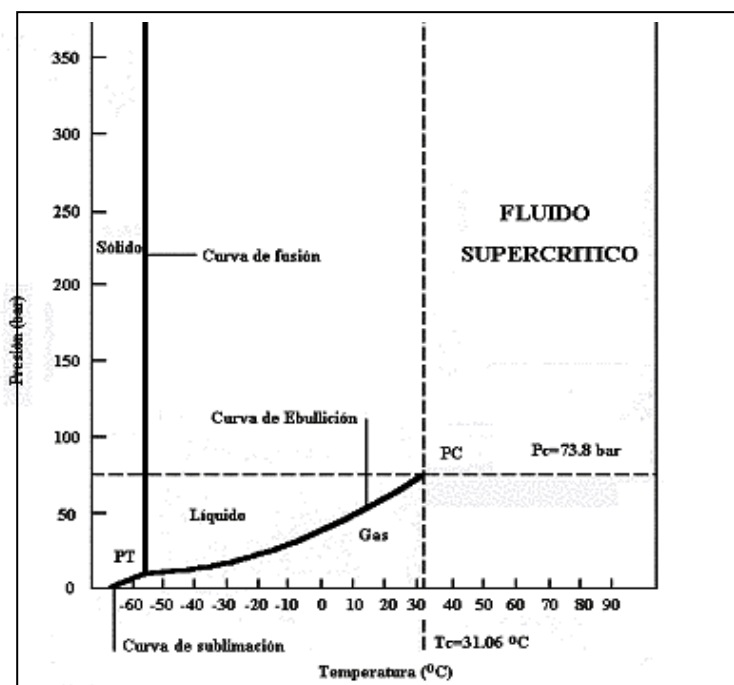


Figura 2.6. Propiedades de los fluidos supercríticos [25].

Las características parecidas a un gas de FSC proporcionan condiciones ideales para la extracción de solutos que dan un alto grado de recuperación en un período corto de tiempo. [34]

Se señala una comparación de las propiedades físicas de algunos solventes de FSC en la siguiente tabla:



TABLA 2.3 Propiedades físicas de algunos solventes comunes usados en el estado de fluido supercrítico.

Fluido	Punto normal de ebullición	Constantes Criticas		
	(°C)	Presión (bar)	Temperatura (°C)	Densidad (g/cm ³)
Dióxido de Carbono	-78,5	73,8	31,1	0,465
Etano	-88,0	48,8	32,2	0,203
Etileno	-103,7	50,4	9,3	0,20
Propano	-44,5	42,5	96,7	0,220
Propileno	-47,7	46,2	91,9	0,23
Benceno	80,1	45,9	289,0	0,302
Tolueno	110,0	41,1	318,6	0,29
Clorotrifluorometano	-81,4	39,2	28,9	0,55
Triclorofluorometano	23,7	44,1	196,6	0,554
Oxido Nitroso	-89,0	71,0	36,5	0,457
Amoniaco	-33,4	112,5	132,5	0,240
Agua	100	220,5	374,2	0,272

Fuente: [34]

El solvente en FSC más deseable para la extracción de productos naturales, productos de alimentación y medicinas hoy en día es el dióxido de carbono (CO₂). Es un gas inerte, barato, fácilmente disponible, inodoro, insípido, amistoso con el ambiente. En FSC que se procesa con CO₂, no hay ningún residuo solvente en el extracto, ya que, es un gas en condición ambiental. También, su temperatura crítica (31.1°C) lo hace inmejorablemente conveniente para productos naturales lábiles a la temperatura.

Debido a su bajo calor latente de vaporización, requiere de una energía baja a la entrada del sistema de separación, lo que ofrece un olor más natural al extracto. Adicionalmente, la energía requerida para lograr el estado supercrítico del CO₂ es a menudo menos, que la energía asociada con la destilación de solvente orgánico convencional. [34]



En general, la extractibilidad de los compuestos con CO_2 supercrítico depende de la presencia de los grupos funcionales individuales presentes en estos compuestos, sus pesos moleculares y la polaridad de los mismos. [34]

Por ejemplo, los hidrocarburos y otros compuestos orgánicos de polaridad relativamente baja, como por ejemplo: ésteres, éteres, aldehídos, cetonas y epóxidos, son extraíbles en CO_2 SC a una presión inferior en la gama de 75 a 100 bar, mientras que sustancias moderadamente polares, como derivados del benceno con un carboxilo y dos grupos hidroxilos, son moderadamente solubles. Los compuestos sumamente polares, con un carboxilo y tres o más grupos hidroxilo, son apenas solubles. [34]

El CO_2 comercial requerido para el proceso de extracción con fluido supercrítico ya está presente en el sistema ambiental, obtenido como un subproducto del proceso de fermentación o de la industria de fertilizante. Sin embargo como solvente extractor no incrementa la cantidad de CO_2 presente en la atmósfera de la tierra. Por lo tanto, no hay ninguna cantidad adicional en " el efecto de casa verde " de usar CO_2 como el solvente FSC. [34]

2.2.8.1. PROPIEDADES DE LOS FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Las propiedades generales de los fluidos supercríticos indican que poseen rangos de densidad, difusividad y viscosidad, intermedio a los valores de los gases y los líquidos representados en la tabla 2.2. Esas características le confieren a un fluido un buen poder disolvente con mayores velocidades de transferencia de masa de un soluto en una fase supercrítica que en una fase líquida, resultando así útil en la separación en la extracción de compuestos a partir de sus fuentes naturales [10].

Las propiedades de los FSC los hacen convenientes como sustitutos de los solventes orgánicos en los procesos de extracción.

- Poseen alto coeficiente de difusión y viscosidad más baja que los líquidos.
- Ausencia de tensión superficial, la cual aumenta la operación de extracción dada la rápida penetración de estos al interior de los poros de la matriz heterogénea.
- La selectividad durante la extracción puede ser manipulada dada la variación las diferentes condiciones de operación de temperatura y presión afectando la solubilidad de varios componentes en el fluido supercrítico.



- La EFSC no deja residuos químicos. [1]

TABLA 2.4. Comparación de las propiedades fisicoquímicas de fluidos supercríticos con la de los gases y líquidos ordinarios

ESTADO	DENSIDAD (Kg/m ³)	VISCOSIDAD (Kg/m.s)	DIFUSIVIDAD (m ² /s)
Gases	0,1-2	(1-3)*10 ⁻⁵	(0,1-0,4)*10 ⁻⁴
Fluidos Supercríticos	200-500	(1-3)*10 ⁻⁵	(0,1-1)*10 ⁻⁷
Líquidos	600-1600	(0,2-3)*10 ⁻³	(0,2-2)*10 ⁻⁹

Fuente: [35]

2.2.8.2. ETAPAS DEL PROCESO INDUSTRIAL DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA (EFSC)

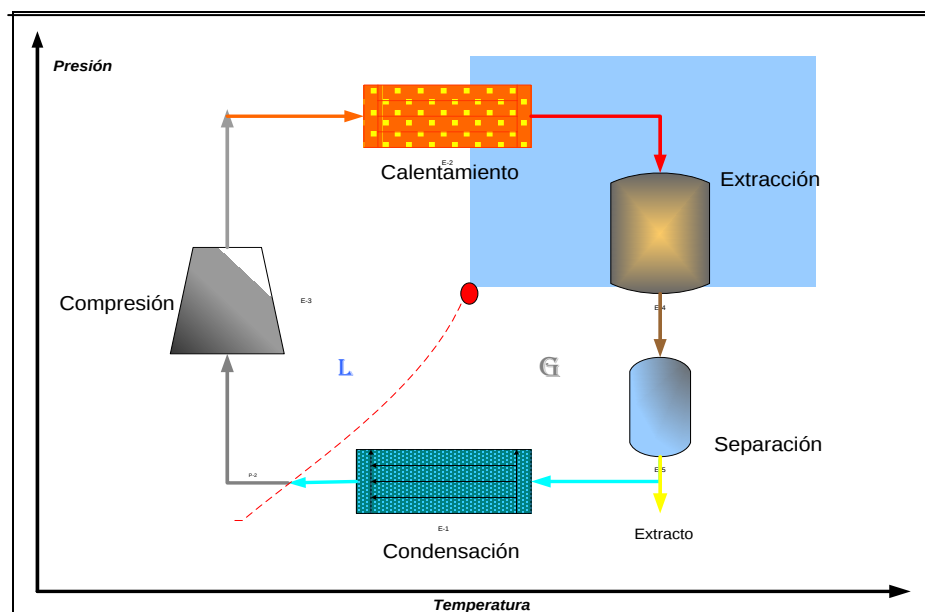


Figura 2.7. Proceso de extracción industrial con fluido supercrítico [25].

La figura 2.4 muestra un diagrama esquemático del proceso industrial de extracción con fluido supercrítico (EFSC). Los cuatro pasos primarios son: la extracción, la expansión, la separación y compresión de solvente y los cuatro componentes necesarios son: un alto extractor de presión, una válvula de reducción de presión, un separador de presión bajo, y una bomba para intensificar la presión del solvente reciclado, respectivamente.



La alimentación del proceso generalmente es en estado sólido y es cargada en el extractor. El CO_2 es alimentado al extractor por una bomba de alta presión entre 100 y 350 bar. El solvente extractor es enviado a un separador de 120 a 50 bar, por vía de una válvula de reducción de presión. En esas condiciones de presión y a una temperatura reducida, el extracto precipita en el separador, mientras que el CO_2 , libre de cualquier extracto, es reciclado al extractor. [34]

2.2.8.3. USOS Y APLICACIONES DE LA EXTRACCIÓN CON FLUIDO SUPERCRÍTICO.

La EFSC usando CO_2 es hoy una tecnología popular para la extracción rápida y sin contaminación en las industrias de alimentos y farmacéuticas. La extracción supercrítica con CO_2 a gran escala ha estado en la operación comercial desde finales de los años 1970 para la obtención del café y el té sin cafeína, hierbas aromáticas, la refinación de aceites de cocina, y recuperar sabores de especias, entre otros materiales vegetales. [34]

Algunas de las aplicaciones más recientes que en este momento se encuentran en la etapa del desarrollo o están siendo exploradas aún, incluyen: la obtención de bebidas sin alcohol, productos animales sin colesterol y aceites de semillas, recuperación de sabores de hierbas, fermentados de mar, o la producción del aceite y la proteína del germen de trigo, etc. [34]

Una planta comercial fue construida en los años 1980 para la separación de etanol del agua en la combinación con otros procesos preliminares, como pre vaporización, destilación, etc. Hay algunos usos probados de EFSC con la utilización otros solventes diferentes al CO_2 , por ejemplo, el tratamiento de hidrocarburos pesados, como fraccionamiento de petróleo, recuperación y purificación de aceites de lubricante, la licuación de carbón, etc., que ya ha sido comercializado. Otros usos de SCFE incluyen separaciones químicas y purificación, el tratamiento de polímero, la regeneración de carbón activado y otros adsorbentes, la cromatografía de fluido supercrítico, la pulverización vía la precipitación de fluidos supercríticos, deposición de materiales en sustratos micro porosos, la sequedad de punto crítica, la limpieza de microelectrónica,



etc. FSC han sido investigados como reactantes así como el medio solvente para varias reacciones químicas importantes. [34]

Sin embargo, a pesar del trabajo extenso de investigación y desarrollo que se ha hecho en todo el mundo sobre los usos de la tecnología con FSC en los pasados 20 años, el proceso de extracción supercrítico con CO₂ que ha recibido la aceptación más significativa para la explotación comercial, sobre todo un alto valor, en extracción de productos naturales. Se nombran algunos usos de EFSC en productos naturales e industrias de alimentos a continuación:

- ✓ Descafeinación del café y el té.
- ✓ Extracción de Especies (en grasa y oleorresina).
- ✓ Desodorización de los aceites y grasas.
- ✓ Extracción de aceites de verduras de semillas y granos.
- ✓ Sabores, fragancias, aromas y perfumes.
- ✓ Extracción amarga de medicinas herbarias.
- ✓ Estabilización de zumos de fruta.
- ✓ Antioxidantes de materiales vegetales.
- ✓ Colores de alimentos de pesticidas botánicas naturales.
- ✓ Desnicotinización del tabaco.

PERFUMES

El perfume, en el sentido amplio de la palabra latina *-per fumum* que significa literalmente *-a través del humo* ha desempeñado un papel muy importante en todas las civilizaciones desde la antigüedad. Cumple en todas partes dos funciones primordiales: La religiosa y la profana [27]

El perfume es una mezcla que contiene sustancias aromáticas, pudiendo ser éstas aceites esenciales naturales o esencias sintéticas; un disolvente que puede ser sólido o líquido (alcohol en la mayoría de los casos) y un fijador, utilizado para proporcionar un agradable y duradero aroma a diferentes objetos pero, principalmente al cuerpo humano. [36]



Los aceites esenciales son sustancias orgánicas, líquidas aunque algunas veces sólidas, de olor y sabor acres, irritantes e incluso cáusticas. Pueden destilarse sin descomposición, no son miscibles en el agua pero son solubles en alcohol y éter. No tienen el tacto graso y untuoso de los aceites fijos y no dan jabón. Disuelven los cuerpos grasos, la cera y las resinas. [36]

Su composición química es variadísima; a menudo encierran hidrocarburos de fórmula $C_{10}H_{16}$ o un múltiplo o submúltiplo y un compuesto oxigenado o alcanfor. Algunos contienen éteres, alcoholes, fenoles; otros, contienen azufre. Existen en todos los órganos de las plantas pero especialmente en las hojas y en las flores. [36]

La mayor parte de las esencias ya existen completamente formadas en la planta o vegetal; sin embargo, otras no preexisten sino que se forman por la acción del agua sobre determinadas partes del vegetal por cuya acción se combinan ciertos elementos que se encuentran en las células y determinan la formación de la esencia. [36]

Su volatilidad y su facultad de consumirse en bellas volutas de humo oloroso, lo convierten en el embajador privilegiado de los hombres con respecto a sus dioses. También se utilizan los perfumes y las pinturas por sus virtudes mágicas y terapéuticas antes de que se les apreciara por su fuerte poder de seducción [27].

En todas las civilizaciones han suscitado una increíble producción de objetos preciosos y refinados realizados con materiales excepcionales: alabastro, loza esmaltada, cerámica, vidrio y metales labrados cuyo lujo sólo puede compararse con la belleza [27].

La perfumería, o el arte de hacer perfumes, comenzaron en Mesopotamia antigua y Egipto, pero fueron desarrollados y más lejos refinado por los Romanos y Persas. Aunque el perfume y la perfumería también existían en el este de Asia, la mayor parte de sus fragancias eran a base de incienso. El primer químico mundial registrado, como se considera, es una persona llamada Tapputi, un fabricante de



perfume que fue mencionado en una pastilla cuneiforme del segundo milenio AC en Mesopotamia [28].

Recientemente, los arqueólogos han descubierto lo que se cree, son los perfumes mundiales más viejos en Pyrgos, Chipre. Los perfumes remontan más de 4,000 años. Los perfumes fueron descubiertos en una fábrica de perfumería antigua. Al menos 60 imágenes fijas de destilación, bolos de mezcla, embudos y botellas de perfume fueron encontrados en la fábrica de 4,000 m². En tiempos antiguos la gente usaba hierbas y especias, como la almendra, el cilantro, el mirto, la resina de conífero, bergamota, pero no flores [28].

El químico árabe, Al-Kindi (Alkindus), escribió en el siglo IX un libro sobre los perfumes que él llamó: el Libro de la Química de Perfume y Destilaciones. Esto contuvo más de cien recetas para aceites fragantes, bálsamos, aguas aromáticas y substitutos o imitaciones de medicinas (drogas) costosas. El libro también describió ciento siete métodos y recetas para la fabricación de perfume [28].

El doctor y químico Avicenna (también conocido como Ibn Sina) introdujo el proceso de extraer los aceites de flores mediante la destilación, que es el procedimiento más comúnmente usado en la actualidad. Él primero experimentó con la rosa. El agua de rosas era más delicada, e inmediatamente se hizo popular. La tecnología de destilación influyó considerablemente en la perfumería occidental y acontecimientos científicos, particularmente en la química [28].

El conocimiento de perfumería vino a Europa siglo XIV con la extensión de Islam. Pero fueron los húngaros que en última instancia introdujeron el primer perfume moderno. Hecho de aceites perfumados armonizó una solución de alcohol, el primer perfume moderno fue hecho en 1370 bajo las órdenes de la Reina Elizabeth de Hungría y se conocía en todas partes de Europa como el Agua de Hungría [28].

El arte de perfumería prosperó en el Renacimiento en Italia, y en el siglo XVI, los refinamientos italianos fueron llevados a Francia por el perfumero personal de Catalina D`Medici, Rene Le Florentin. Su laboratorio fue unido con sus apartamentos por un



paso secreto, de modo que ninguna fórmula pudiera ser robada por el camino. Francia rápidamente se hizo el centro europeo de perfume y la fabricación cosmética. El cultivo de flores para su esencia de perfume, que había comenzado en el siglo XIV, se convirtió en una industria principal en el sur de Francia. [28].

En parte debido a este patrocinio, la industria de perfumería occidental fue creada. Para el siglo XVIII, las plantas aromáticas se cultivaban en la región de Grasse de Francia para proveer a la creciente industria de perfumes con materias primas. Incluso hoy, Francia es el centro europeo del diseño y del comercio del perfume. [28].

El perfume es una mezcla de aceites esenciales aromáticos, alcohol y un fijador, utilizado para proporcionar un agradable y duradero aroma a diferentes objetos pero, principalmente al cuerpo humano. El propósito del alcohol es el de solubilizar las esencias que las fragancias contienen y ayudar a que las mismas se dispersen en la piel. El alcohol se utiliza como vector y conductor del perfume. Los fijadores que aglutinan las diversas fragancias incluían bálsamos, ámbar gris y secreciones glandulares de ginetas y ciervos almizcleros (estas secreciones sin diluir tienen un desagradable olor, pero en una solución alcohólica actúan como conservantes). En la actualidad, estos animales están protegidos en muchos países, por lo que los fabricantes utilizan almizcle sintético [28].

Existen diferentes tipos de perfumes según su composición, los cuales son:

- Esencia de perfume: la forma más concentrada, entre el 15-40%.
- Perfume: concentración del 7-15%.
- Agua de toilette: sólo un 1-6% de concentrados.
- Agua de colonia: la misma concentración del anterior pero con aromas cítricos predominantemente.

La concentración de aceites esenciales es lo que determina el grado de perdurabilidad en un perfume. Es importante destacar que si bien cada versión de un perfume difiere en su composición, su nota de fondo no cambia, sí varía el porcentaje contenido en cada una: un agua de toilette y un perfume tienen el mismo aroma. La



primera perdura menos que la segunda por tener más bajo contenido de aceites esenciales que su otra versión. [28]

Notas de los perfumes: Todas las fragancias poseen notas perfumísticas en sus composiciones. Son esencias que están presentes en proporciones diferentes y únicas. El balance logrado por la mezcla de estas sustancias es lo que le da a cada perfume una personalidad propia y distintiva. [37]

Existen tres tipos de notas:

Notas de cabeza: Son las más suaves del grupo y desaparecen en 5 ó 10 minutos. Es la primera nota de un perfume, la primera impresión que se tiene de él. Al cabo de unos minutos, se pierde, para dar paso a las notas medias. [37]

Notas medias: Son las notas que se descubren 15 minutos después de aplicadas y duran aproximadamente una hora. Están compuestas por especias medianas como la canela, madera, musgo o esencias cítricas o frutales. Es la nota de un perfume que aparece unos minutos después de las notas de cabeza y que precede a las de base. También conocidas como notas de corazón. [37]

Notas de fondo: Tienden a ser más pesadas con ingredientes de larga duración en la piel como madera, cuero, especias como la pimienta, y el tabaco. Es la fragancia que más tarda en llegar a ser percibida pero se huele por varias horas. Son las notas que surgen al final de la evaporación del perfume, es decir las que quedan en la piel. También conocidas como notas de base. [37]

2.2.9. ANALISIS Y DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Diseñar un experimento significa planificarlo, ejecutarlo y analizarlo de forma que reúna los datos referentes al problema investigado, los cuales deben tener validez estadística para poder obtener conclusiones validas y objetivas.

Los procesos son una combinación de máquinas, recursos humanos, materiales, métodos, medio ambiente, mediciones, los cuales transforman las entradas del proceso en una que tiene una o varias respuestas observables, comúnmente llamadas variables de respuestas.



Existen fuentes de variación o factores que afectan la variable de respuesta, es decir aquellos que al modificar su comportamiento alteran el comportamiento de dicha variable. Uno de los objetivos del diseño de experimentos es determinar cuáles son las fuentes de variación o factores y determinar su influencia en la variable de respuesta; para lo cual se debe realizar un planteamiento claro del problema, eligiendo la variable de respuesta, los factores de variación y sus niveles; así como también elegir el modelo de diseño experimental, realizar los experimentos y analizar los datos empleando métodos estadísticos de tal forma que se puedan obtener conclusiones con validez estadística, aunque los métodos estadísticos solamente permiten obtener el error probable de una conclusión, o asignar un nivel de confiabilidad a los resultados.

Para que un experimento pueda tener validez estadística se deben cumplir al menos dos condiciones: reproducibilidad y aleatoriedad. La primera significa que las pruebas se puedan repetir bajo las mismas condiciones en más de una ocasión, esto permitirá cuantificar el error (errores de observación, de medición, variación del material experimental) inherente al proceso, además de lograrse una mejor estimación de los parámetros,

En cuanto a la segunda condición significa que para que una prueba sea aleatoria tanto el material asignado como el orden en que sea realizado deben seleccionarse al azar o de manera aleatoria. La aleatoriedad es importante porque permite anular o confundir los efectos de los factores no controlables, así como validar las pruebas estadísticas al hacer que los errores experimentales sean estadísticamente independientes. [6]

2.2.10.1. DISEÑOS EXPERIMENTALES FACTORIALES

Los diseños experimentales factoriales son aquellos con lo que se investigan todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores o variables a estudiar, con el fin de determinar los efectos de dichos factores sobre la variable de respuesta



seleccionada; así como también los efectos principales de los factores, es decir el cambio en la respuesta producido por un cambio en el nivel del factor. Por ejemplo: el efecto principal de un factor A puede interpretarse como la diferencia entre la respuesta promedio en el primer y segundo nivel de ese factor; el cual se interpreta que al incrementar el nivel del factor de 1 a 2 se produce un cambio en la variable de respuesta promedio.

Cuando la diferencia en la respuesta entre los niveles de un factor no es la misma en todos los niveles de los factores, se dice que existe una interacción entre los niveles del factor.

Existen métodos gráficos para interpretar las interacciones, generalmente determinados automáticamente por los programas de computadoras, pero para verificarlas se emplea un análisis de varianza para confirmar esta interpretación. [6]

2.2.10.2. ANALISIS DE VARIANZA (ANOVA)

En estadística, el análisis de varianza (ANOVA, según terminología inglesa) es una colección de modelos estadísticos y sus procedimientos asociados. El análisis de varianza sirve para comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos. El procedimiento para comparar estos valores está basado en la varianza global observada en los grupos de datos numéricos a comparar. Típicamente, el análisis de varianza se utiliza para asociar una probabilidad a la conclusión de que la media de un grupo de puntuaciones es distinta de la media de otro grupo de puntuaciones [29].

Existen tres tipos de modelos:

- El modelo de *efectos fijos* asume que el experimentador ha considerado para el factor todos los posibles valores que éste puede tomar. Ejemplo: Si el género del individuo es un factor, y el experimentador ha incluido tantos individuos masculinos como femeninos, el género es un factor fijo en el experimento.



- Los modelos de *efectos aleatorios* asumen que en un factor se ha considerado tan sólo una muestra de los posibles valores que éste puede tomar. Ejemplo: Si el método de enseñanza es analizado como un factor que puede influir sobre el nivel de aprendizaje y se han considerado en el experimento sólo tres de los muchos más métodos posibles, el método de enseñanza es un factor aleatorio en el experimento.
- Los modelos mixtos describen situaciones donde están presentes ambos tipos de factores: fijos y aleatorios.

La técnica fundamental consiste en la separación de la suma de cuadrados (SS, 'sum of squares') en componentes relativos a los factores contemplados en el modelo. Como ejemplo, mostramos el modelo para un ANOVA simplificado con un tipo de factores en diferentes niveles. (Si los niveles son cuantitativos y los efectos son lineales, puede resultar apropiado un análisis de regresión lineal).

$$SS_{\text{Total}} = SS_{\text{Error}} + SS_{\text{Factores}}$$

El número de grados de libertad (gl) puede separarse de forma similar y se corresponde con la forma en que la distribución chi-cuadrado describe la suma de cuadrados asociada [29]

$$gl_{\text{Total}} = gl_{\text{Error}} + gl_{\text{Factores}}$$

2.2.10.3. DISEÑOS FACTORIALES 2^K

Los diseños factoriales 2^K son casos especiales en los cuales los factores K solo tienen dos niveles que pueden ser cuantitativos (temperatura, presión, tiempo, etc.) o cualitativos (dos máquinas, dos operadores, nivel bajo etc.) generalmente estos niveles son alto (+) y bajo (-). Los efectos principales de los factores A y B, las interacciones (AB) son sencillos de estimular y a través del análisis de varianza se estima la significancia de dichos factores.

Cuando se considera un diseño experimental con 4 factores cada uno con dos niveles, se tiene un diseño factorial de 2^4 con 16 corridas o combinaciones de



tratamientos o experimentos que permiten estimar los efectos principales, además de las interacciones entre los factores que afectan la variable de respuesta, para lo cual es necesario realizar un análisis de varianza.

Este diseño posee 4 efectos principales, 6 interacciones entre 2 factores, 4 interacciones entre tres factores y una interacción entre cuatro factores. Cuando el número de factores es moderadamente grande ($K > 4$ o 5) se aplica el principio de dispersión de los efectos, es decir, usualmente el sistema está dominado por los efectos principales y las interacciones de orden inferior. [6]

El análisis de varianza en estos diseños supone que las observaciones están distribuidas de manera normal e independiente con la misma varianza para cada tratamiento o nivel del factor, esta suposición se verifica mediante el examen de los residuos. Un residuo es la diferencia entre una observación y la media observada correspondiente para el tratamiento. Entonces, la suposición de normalidad puede verificarse mediante la construcción de una gráfica de probabilidad normal de los residuos y para verificar la suposición de varianzas iguales para cada nivel de tratamiento, se hace una gráfica de los residuos contra los niveles del factor y se compara la dispersión de los residuos. [6]

2.2.10.4. METODO DE SUPERFICIE DE RESPUESTA

La metodología de superficie de respuesta (MSR) es un grupo de técnicas matemáticas y estadísticas útiles para el modelo y análisis en aplicaciones donde la respuesta de interés está influenciada por varias variables y el objetivo es optimizar esta respuesta. En un proceso cuya respuesta es una función de dos factores, donde la superficie representada por η se denomina superficie de respuesta. La respuesta se representa como una superficie sólida en un espacio tridimensional, en la siguiente ecuación.

$$\varepsilon(y) = f(x_1; x_2) = \eta$$

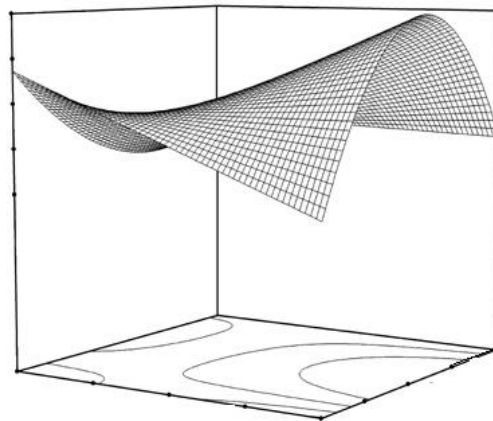


Figura 2.8 Superficie de respuesta tridimensional

El primer paso en el MSR consiste en determinar una aproximación adecuada a la relación funcional entre y y el conjunto de variables independientes. Por lo general se emplea un polinomio de orden bajo sobre alguna región de las variables independientes. Si la respuesta es descrita adecuadamente por una función lineal de las variables independientes, la función de aproximación es un modelo de primer orden:

$$y = B_0 + B_1x_1 + B_2x_2 + \dots + B_kx_k + \varepsilon$$

Donde B_0 ; B_1 ; B_2 ; B_k , representan los coeficientes de regresión y x_1 ; x_2 ; x_k , representan las variables codificadas. Cuando existe curvatura en el sistema se debe usar un polinomio de mayor grado como por ejemplo un modelo de segundo orden.

El MSR es una técnica secuencial, cuyo objetivo consiste en determinar las condiciones de operación más adecuadas para un sistema, o determinar la región del espacio de los factores en la que se satisfacen las condiciones de operación. Con frecuencia, la estimación de las condiciones de operación óptimas del sistema está lejos del óptimo real, en tales circunstancias, el objetivo es moverse rápidamente hacia la vecindad general del óptimo, lo usual es suponer que el modelo de primer orden es una aproximación adecuada de la superficie verdadera. Por lo general esto se logra con el empleo del método de máxima pendiente en ascenso (MMPA), es un procedimiento para avanzar secuencialmente en la dirección del máximo incremento de la respuesta.



CAPÍTULO III.

MARCO METODOLOGICO

En esta sección se presentan las fases de la metodología empleada para alcanzar los objetivos planteados de esta investigación.

3.1 MATERIALES Y EQUIPOS.

3.1.1 MATERIA PRIMA

La materia prima empleada fue limón criollo. Los limones estaban completamente verdes y sin magulladuras, obtenidos de una finca familiar en Güigüe, Edo. Carabobo y del Mercado Mayorista en el mismo estado. (Sección 4.1)

3.1.2 EQUIPOS.

Los equipos utilizados principalmente en esta investigación fueron dos cromatógrafos de gases, uno con detector FID y otro con detector de masas, y un equipo de Extracción Supercrítica.

Cromatógrafos de Gases.

Uno de los cromatógrafos de gases empleado fue marca VARIAN, Modelo 3800, equipado con detectores de Ionización a la Llama (FID) y Conductibilidad Térmica (TCD). Se utilizó una columna capilar J y W de Silica fundida DB-5 (30 m, 0.1mm. i.d, 0.1 μ m f.t). El gas portador o gas de arrastre empleado fue hidrógeno de alta pureza y se empleó aire para producir la combustión en el detector FID. Mientras que el otro, fue un cromatógrafo de gases de marca HEWLETT PACKARD, modelo 5890 SERIE II acoplado a un detector de masa (HEWLETT PACKARD 5971 SERIES), columna de DB-1 (30 m, 0.32mm.d.i, 1 μ m de película. La velocidad de la presión de gas de arrastre fue de 2 psi.

Equipos de Extracción Supercrítica.

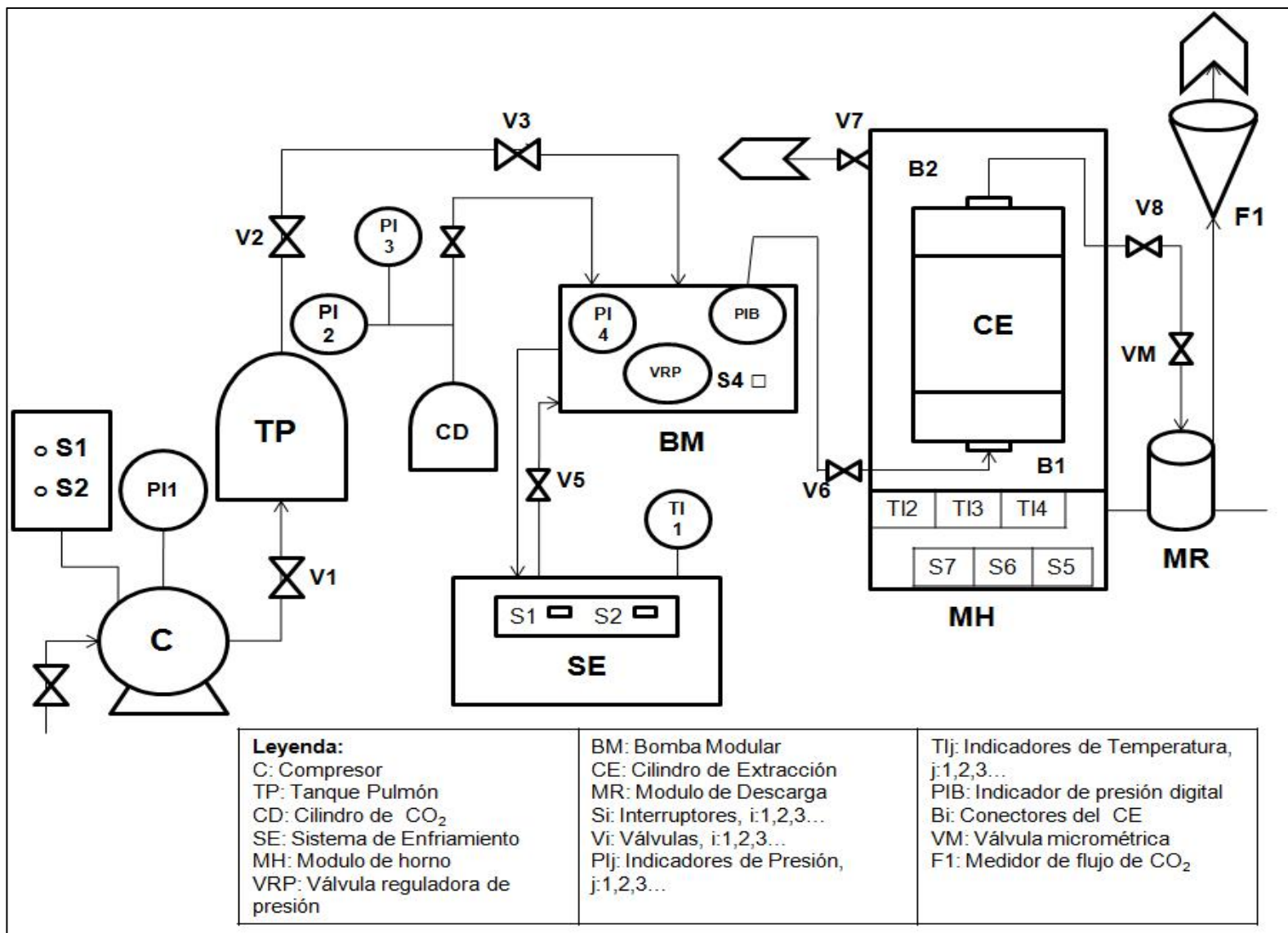
Para realizar la extracción del aceite esencial del limón con CO₂ supercrítico se usó una planta de extracción a escala de laboratorio ("Applied Separations Speed SFE"), la cual requirió para funcionar dióxido de carbono líquido (CO₂). El equipo está conformado por tres módulos que fueron: el módulo de la bomba de alta presión, el módulo del horno y el módulo de descarga y recolección, además cuenta con un sistema de enfriamiento y un compresor (figura 3.1).



EL compresor (C) suministra aire en una presión máxima de 125 psig, alimentando a un cilindro pulmón (CP) de aproximadamente 1200m³ de capacidad, al llenarse este tanque el compresor se apaga automáticamente, luego al disminuir la presión a 75psi comienza a funcionar hasta reponer nuevamente la presión. El Módulo de la bomba (BM) de alta presión es alimentado con aire comprimido proveniente del tanque pulmón (TP), para comprimir el Dióxido de Carbono líquido suministrado por empresa Oxicar en el cilindro (CD) de 6 m³ de capacidad, el cual está conectado con la bomba de alta presión. La máxima presión de operación de esta bomba es de 690 bar y posee una válvula que regula la presión del aire alimentado (VRP); además posee un indicador de presión digital (PIB), donde se indica la presión del Dióxido de Carbono y un indicador de presión de aire (PI4).

El sistema de refrigeración también está conectado al módulo de la bomba de alta presión, el hace recircular un líquido refrigerante a través de la bomba de alta presión para retirar el calor que se produce con la compresión del Dióxido de Carbono. El módulo del Horno (MH) consiste en un horno eléctrico con un recipiente extractor (CE) de acero inoxidable con 1 litro de capacidad, diseñado para soportar una presión de 10.000 psi. Este cilindro está conectado a una tapa inferior con las tuberías de la bomba de alta presión y por la tapa superior con el sistema de recolección y descarga.

Una termocupla mide la temperatura de cilindro extractor (TI4), la válvula (V6) regula la entrada de Dióxido de carbono al cilindro extractor, y para descargarlo al ambiente se usa la válvula (V7). También posee una válvula para regular la salida del producto extraído (V8) y conectarlo con el módulo de recolección y descarga. El módulo de recolección y descarga está constituido por dos válvulas micrométricas independientes (VM) las cuales regulan el flujo de CO₂ que sale el cilindro de extracción (CE) hasta un máximo de 5 L/min. Su temperatura es controlada hasta 100°C en el panel de control de horno. Estas válvulas están conectadas con el envase de recolección.





Este equipo de Extracción Supercrítica fue operado de dos formas una extracción estática en la cual el Fluido Supercrítico se mantiene en contacto con la muestra por cierto tiempo (Tiempo de Extracción estática) y luego la de Extracción Dinámica en la cual el Fluido Supercrítico fluye continuamente dentro del cilindro pasando por la muestra por un cierto tiempo (Tiempo de extracción dinámico).

3.2 FASES METODOLÓGICAS DE LA INVESTIGACIÓN.

A continuación se presentan las fases metodológicas utilizadas para alcanzar el objetivo general propuesto en esta investigación. Estas fases metodológicas son cuatro; en la primera se evaluó la extracción del aceite esencial de limón con CO₂ supercrítico, en la segunda se identificaron los componentes que acompañaran al aceite esencial de limón para formular el perfume (alcohol, fijador, otros aceites esenciales) y crearlo, en la tercera se examinó la estabilidad del perfume y por último se realiza un estudio de aceptabilidad del producto en una determinada población en el mercado local.

3.2.1 EVALUACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN.

3.2.1.1 SELECCIÓN DE LA MATERIA PRIMA PARA REALIZAR LA EXTRACCIÓN.

Para seleccionar la materia prima se realizó una investigación preliminar sobre las variedades de limón existentes en el Mercado de Mayoristas de Valencia, a través de la cual se pudo conocer que existen tres variedades de limón que fueron: 1) limón criollo (también llamado limón mexicano), 2) Limón Persa ó limón sin semilla (*Citrus latifolia* o Lima Tahití) y 3) el limón Chinotto (Eureka o limón Europeo). De estas tres variedades fueron tomados limones completamente verdes y sin magulladuras a los cuales se les extrajo el aceite esencial de la piel del fruto con hexano, con la finalidad de realizar un análisis cromatográfico para determinar cual variedad presenta mayor cantidad de limoneno y de citral.

Por ser el limoneno el compuesto mayoritario presente en el aceite del limón y el citral el de nuestro interés, ya que es el responsable del aroma en el fruto, por ser un aldehído. El criterio tomado fue el porcentaje de área de ambos registrado en el cromatograma, el procedimiento a seguir fue el siguiente:



- a.- Sobre un papel de aluminio (no sobre papel normal porque absorbe el aceite) rallar la piel del limón hasta obtener aproximadamente 2 g. Luego transferir a un erlenmeyer de 10 mL y mezclar con 5 mL de hexano.
- b.- Agitar constantemente durante un tiempo de 10 min, se tapa la fiola y dejar reposar (el reposo se recomienda que sea por lo menos todo un día de manera que el hexano extraiga el aceite esencial de la ralladura de los limones).
- c.- Repetir por duplicado lo antes mencionado en el inciso a y b, para realizar posteriormente la cromatografía de gases.

Para cada una de las clases de limón se realizaron dos extracciones y con el análisis cromatográfico se determinan los porcentajes de área correspondiente al limoneno y al citral, cada una de las cuales se promediaron para obtener un porcentaje de área.

3.2.1.2 SELECCIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL.

La selección del diseño experimental para su ejecución requirió de una serie de pasos que se presentan a continuación la cual condujo a evaluar estadísticamente la influencia que ejercen las variables involucradas en el proceso de extracción.

a) Selección del tipo de extracción en fluido Supercrítico.

El proceso de extracción con fluido supercrítico, se puede llevar a cabo de tres formas:

- **Dinámica:** Esta extracción es aquella en donde se recolecta el producto de interés a presión constante.
- **Estática:** Es aquella donde se recolecta el producto inmediatamente después de que el solvente extractor (CO_2) ha estado en contacto con la muestra problema durante un tiempo determinado (tiempo estático).
- **Estática-Dinámica:** Esta extracción es aquella que abarca desde que el solvente extractor alcanza las condiciones de operación, permanece en contacto con la muestra durante el tiempo estático y finaliza en el tiempo estipulado de extracción (tiempo dinámico).



Una vez conocidos los tipos de extracción, se decidió trabajar con la extracción estática-dinámica (Sección 4.2) con la finalidad de garantizar que se obtenga la máxima cantidad posible de aceite esencial extraído, tomando siempre en cuenta que el éxito de este proceso radica principalmente en que el solvente extractor (CO_2) debe mantenerse a las condiciones de presión y temperatura supercríticas que garanticen la extracción, es decir, por encima de los valores críticos los cuales son: 31°C y $73,86 \text{ bar}$.

b) Identificación y Selección de las variables a manipular.

Para la selección de las variables a manipular en el proceso de extracción, se tomaron como base, estudios anteriores sobre la extracción de aceites esenciales, empleando fluidos supercríticos, a fin de conocer las posibles variables a controlar en un proceso de extracción, estas variables son:

- **Presión de operación (bar):** Presión a la cual se debe mantener el fluido supercrítico para cumplir con un proceso óptimo de extracción.
- **Temperatura de operación del horno ($^\circ\text{C}$):** Temperatura existente dentro del recipiente extractor. Generalmente los componentes presentes en el aceite esencial extraído son volátiles, por lo que habría que trabajar a temperaturas muy bajas, cercanas a las críticas, razón por la cual, en este caso, esta variable se mantiene constante.
- **Temperatura del módulo de extracción ($^\circ\text{C}$):** Temperatura mediante la cual se controla la disminución de compuestos viscosos en el conducto de descarga, lo cual garantiza un mejor control de flujo.
- **Flujo de solvente extractor (L/min):** Velocidad de transporte del dióxido de carbono (CO_2) supercrítico durante el proceso de extracción.
- **Tiempo de permanencia, estático o de equilibrio (min):** Tiempo que permanecen en contacto el solvente extractor y la muestra problema luego de alcanzarse las condiciones de operación.
- **Tiempo de extracción ó dinámico (min):** Tiempo estipulado desde que se abre la válvula de descarga hasta que finaliza la recolección del extracto.



De esta manera se decide dejar como variables fijas o constantes a la temperatura de extracción y el caudal, y como variables a manipular se seleccionaron: la presión, el tiempo estático y el tiempo dinámico.

c) Selección de los valores de las variables seleccionadas.

Para la selección de los rangos de operación, se tomó como base la bibliografía y estudios anteriores acerca de la extracción del aceite esencial del mango [9] y de limón [10] empleando dióxido de carbono supercrítico como solvente extractor; en consecuencia, se estableció un valor constante de temperatura de extracción igual a 40°C (valor por encima del crítico), un flujo del dióxido de carbono igual a 2,5 L/min, una temperatura del módulo de control igual a 100°C y se realizaron varios ensayos preliminares para la selección de los rangos de operación para la presión, tiempo estático y tiempo dinámico en base a los valores encontrados. (tabla 3.1).

d) Definición del modelo de análisis.

Una vez seleccionadas las variables se procedió a consultar en la bibliografía de referencia los diseños experimentales y se estableció que el modelo de diseño experimental a utilizar es del tipo factorial con dos niveles, evaluando las tres variables mencionadas anteriormente, siendo un diseño de experimentos del tipo 2^3 dando un total de 8 experimentos con sus réplicas para un total de 16 experimentos.

e) Ejecución del diseño experimental factorial.

La extracción del aceite esencial del limón se realizó utilizando la planta a de extracción supercrítica a escala de laboratorio, para lo cual fue necesario seguir una serie de pasos englobados entre el arranque, operación y parada del proceso en cada extracción, estos pasos son los siguientes (figura 3.1):

Arranque:

1. Colocar el dispositivo en la purga del tanque pulmón, asegurándolo con una tuerca y enchufarlo (esto para eliminar el exceso de agua que pueda estar en la bomba).
2. Encender el compresor (SI) y abrir V1 para comenzar a llenar el tanque pulmón (TP).
3. Encender el sistema de enfriamiento (SE) con los interruptores S3 y S2.



4. Preparación de la muestra.
 - Quitar la piel de los limones seleccionados completamente verdes.
 - Picar la piel del limón muy finamente y pesar 80g, dejar secar al aire libre (por una noche).
 - Pesar el envase recolector vacío con tapa y colocarlo en el módulo de recolección y descarga.
5. Cargar la muestra en el cilindro de extracción: introducir en el fondo del cilindro (Guata de 15x15 cm, doblada en forma de cuadrado), colocar 100 metras y sobre ellas colocar otro filtro (Guata de 15x30 cm, doblada en forma de cuadrado) encima de este segundo filtro colocar 80 g de muestra tapándola con un tercer filtro (Guata de 15x15 cm, doblada en forma de cuadrado), luego cerrar el cilindro de extracción (asegurarse de que no exista ningún residuo de muestra en la ranura de la tapa y que el filtro se encuentre por debajo de la misma) .
6. Introducir el cilindro de extracción en el módulo del horno (ME) y conectar su tapa superior e inferior (Conexiones B1 y B2) con las tuberías del horno.
 - Colocar una tapa de teflón en la rosca del tornillo y en la férula (arriba y abajo).
 - Conectar las tuercas apretando con la mano y con herramienta.
 - Introducir la termocupla en el orificio superior del cilindro de extracción.
7. Verificar que la temperatura del sistema de enfriamiento sea 0°C (TI1).
8. Verificar que las válvulas V7, V8 y VM estén cerradas.
9. Fijar las condiciones de temperatura en los indicadores de temperatura TI2 y TI3 (colocar el Setpoint de la temperatura de las válvulas en 100°C, de manera que el gas no se solidifique en las tuberías).
 - Apagar el horno, presionar SP y desplazar el cursor hasta los dígitos que se desea cambiar.
 - Colocar los valores deseados y pulsar SP para fijarlos.
10. Comenzar el calentamiento del horno accionando el interruptor S5 hasta que los valores fijados de temperatura en el horno y el cilindro de extracción sean iguales.



Operación:

11. Encender la bomba de alta presión con el interruptor S4 y anotar la lectura del indicador PIB (el cilindro debe marcar más de 50bar si se quiere trabajar con presiones de más de 90 bar).
12. Abrir las válvulas V2, V3 y V4 para permitir el flujo de dióxido de carbono y aire comprimido en la bomba de alta presión.
13. Abrir la válvula V6 para que fluya el CO₂ en el cilindro de extracción.
14. Chequear si hay fugas en las conexiones (B1 y B2) del cilindro rociando espuma de jabón. En caso de haber, corregir la fuga de la siguiente forma:
 - Cerrar la válvula V4 para impedir la entrada de CO₂ en el cilindro de extracción.
 - Despresurizar el Cilindro de extracción abriendo la válvula V7 lentamente. (no se debe despresurizar la bomba porque se gasta todo el CO₂ presurizado que todavía no ha pasado al cilindro, tampoco se debe hacer entre cada extracción).
 - Abrir la puerta del horno y cuando el cilindro se enfríe desmontarlo para cargar otra muestra.
15. Alcanzada la presión de operación accionar el cronómetro para medir el tiempo de extracción estático.
16. Alcanzado este tiempo abrir la válvula V8 y fijar el flujo de operación en el indicador de flujo (FI) con la válvula micrométrica (VM), simultáneamente accionar el cronómetro para medir el tiempo de extracción dinámico (el envase recolector debe estar sumergido en una mezcla frigorífica de hielo picado y sal).

Parada.

17. Cerrar las válvulas V8, VM (no completamente), V6, V4, V3.
18. Apagar el calentamiento del horno (S7) y la válvula micrométrica (S6).
19. Abrir lentamente V7 para despresurizar el cilindro de extracción. Abrir la puerta del Horno para que se enfríe, cuando esto suceda, desmontarlo y cargar otra muestra (Ver precauciones)
20. Desmontar el envase de recolección y pesarlo con su contenido.



21. Si es la última extracción:

- Abrir la válvula V6 para despresurizar la bomba de alta presión, cuando el indicador esté en cero apagar la bomba (S4).
- Apagar el calentamiento del horno (S6) y la válvula micrométrica (S7) y el horno (S5).
- Desmontar el cilindro de extracción.
- Cerrar todas las válvulas y apagar el Compresor.
- Apagar los equipos y desenchufarlos.

Precaución.

- Las conexiones del cilindro de extracción deben ser apretadas con los dedos y no con herramientas porque se daña la rosca del tornillo.
- Si la lectura de la bomba de alta presión es menor de 58 Bar se debe reponer el cilindro de CO₂.
- Mientras se descarga CO₂ al ambiente debe ser encendida la campana extractora y también deben alejarse del equipo todas las personas, ya que este gas en exceso puede ser tóxico.
- No debe ajustarse la presión de operación antes de alcanzar la temperatura de operación.
- El frasco recolector debe estar sumergido en la mezcla frigorífica y protegido.
- Si las perlititas del medidor de flujo no se mueven cerrar inmediatamente la válvula V8, y revisar si la aguja de descarga está obstruida, ya que puede explotar el frasco recolector.

Los datos experimentales fueron recolectados empleando el formato de la Tabla 3.1.

g) Análisis estadístico de los datos.

Luego de realizados los 16 experimentos y recolectados los datos, estos fueron introducidos en el programa de computación estadístico Statgraphic Plus [31] el cual realiza el análisis estadístico del diseño experimental aplicando el análisis de Varianza (ANOVA) a las tres variables seleccionadas; lo cual arroja la influencia de estas



variables y sus interacciones sobre el rendimiento y calidad de la extracción del aceite esencial de limón. (Sección 4.2)

3.2.1.3 OBTENCIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE PRESIÓN Y TEMPERATURA.

Los niveles seleccionados para establecer las condiciones óptimas de presión y temperatura del proceso de extracción fueron seleccionadas empleando el método de superficie de respuesta, para lo cual se realizó un diseño experimental factorial 3^2 , con tres niveles: bajo, alto y un punto central, los niveles fueron seleccionados por encima de los considerados en el diseño 2^3 con la finalidad de explorar otros niveles que pudieran maximizar el rendimiento de la extracción.

Los niveles seleccionados al ser introducidos en el programa estadístico Statgraphics Plus generan la tabla del diseño (Tabla 3.2) el cual consta de 11 tratamientos y fue ejecutado de igual forma que el diseño 2^3 . El programa estadístico, aporta las condiciones óptimas teóricamente y la ecuación empleada (Sección 4.2, tabla 4.1) para llegar a estas condiciones, de temperatura y presión, que posteriormente fueron verificadas experimentalmente. (Tabla 4.4)

3.2.1.4 IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES DEL ACEITE ESENCIAL DE LIMÓN.

Para identificar los componentes principales del aceite esencial de limón se realizó un análisis cromatográfico de las muestras obtenidas con extracción supercrítica, para realizar dicho análisis fue necesario establecer los tiempos de retención de los compuestos puros para compararlos con los de la muestra. Para llevar a cabo esta identificación se siguieron los siguientes pasos:

a) Preparación de la solución patrón.

Esta solución se preparó agregando en un tubo de ensayo 5 mL de hexano, y 5 μ L (microlitro) de cada compuesto puro (solución patrón al 1%), el volumen inyectado de 1 μ L en modo Splitless, se realizó su respectiva cromatografía para identificar claramente los tiempos de retención. (información suministrada por personal técnico del Laboratorio Instrumental de FACYT Química)



TABLA 3.1
FORMATO PARA RECOLECTAR LOS DATOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL FACTORIAL

N°	Condiciones de operación			Resultados experimentales				
	Presión ($P \pm 0,1$) bar	Tiempo estático ($t_E \pm 0,01$) min	Tiempo dinámico ($t_D \pm 0,01$) min	Masa de muestra ($m_M \pm 0,0001$) g	Masa de envase vacío ($m_{EV} \pm 0,0001$) g	Masa de envase con extracto ($m_{EE} \pm 0,0001$) g	Rendimiento ($\%R \pm 0,0002$) %	Porcentaje de Citral ($\%C \pm 0,0002$) %
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								

Donde:

Temperatura de extracción: $T = (40,1 \pm 0,1)^\circ\text{C}$

Caudal de CO_2 : $Q = (2,5 \pm 0,1) \text{L/min}$



TABLA 3.2

DESARROLLO EXPERIMENTAL PARA LA ELABORACIÓN DE LA SUPERFICIE DE RESPUESTA

N°	Condiciones de operación			Resultados experimentales				
	Nomenclatura	Presión ($P \pm 0,1$) bar	Tiempo estático ($t_E \pm 0,01$) min	Masa de muestra ($m_M \pm 0,0001$) g	Masa de envase vacío ($m_{EV} \pm 0,0001$) g	Masa de envase con extracto ($m_{EE} \pm 0,0001$) g	Rendimiento ($\%R \pm 0,0002$) %	Porcentaje de Citral ($\%C \pm 0,0002$) %
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								

Variables fijadas:

Temperatura de extracción: $T = (40,1 \pm 0,1)^\circ\text{C}$

Caudal de CO_2 : $Q = (2,5 \pm 0,1)\text{L/min}$

Tiempo dinámico: $t_D = (15 \pm 1)\text{min}$



b) Obtención de la rampa de temperatura.

Para realizar el análisis Cromatográfico fue necesario establecer una rampa de temperatura para separar los compuestos y así poderlos identificar, ya que algunos tienen tiempo de retención muy similares.

c) Identificación de los compuestos.

Una vez obtenida la rampa fueron inyectadas las muestras e identificados los componentes presentes en el aceite esencial a través de los tiempos de retención de los compuestos puros.

3.2.2 FORMULAR UNA FRAGANCIA FUNDAMENTADA EN EL ACEITE ESENCIAL DE LIMON A NIVEL DE LABORATORIO

3.2.2.1. Elaboración de la fragancia tomando en cuenta la proporción volumétrica de los componentes a adicionar.

Para la elaboración del perfume se contó con los siguientes implementos: alcohol de perfumería, agua destilada, extracto de limón y otras esencias. Las cuales estarán presentes en las composiciones en volumen, correspondientes a la elaboración de agua de colonia:

- Alcohol: 85%
- Aceites esenciales: 5%
- Agua destilada: 10%

El proceso de elaboración para la obtención de 25 mL de perfume [16], fue el siguiente:

Se prepararon 1,25 mL de la mezcla de las esencias, de los cuales fueron, 0,75 mL de aceite esencial de limón y 0,5 mL de otras esencias. Estas se mezclaron con 21,25 mL de alcohol de perfumería. Luego se añadió 0.02mL de fijador de fragancia, posteriormente fue colocado en baño María de 40°C por 20 s. Inmediatamente, se sumergió en agua fría por un aproximado de 10 min. Adicionalmente se le añadió 2,5 mL de agua destilada y se dejó reposar por 48 horas en el refrigerador a 4°C para finalmente eliminar la capa de agua que no se une con una micropipeta.



3.2.3 ESTABILIDAD DEL PRODUCTO

3.2.3.1 ESTABILIDAD QUÍMICA.

Por lo general en el reconocimiento de una inestabilidad química hay que tomar en cuenta los ensayos de estabilidad por envejecimiento acelerado los cuales son de indiscutible utilidad. Estas consistieron en pruebas de envejecimiento artificial donde la temperatura que en general se utiliza para la exposición isotérmica es de 40°C que se acompaña de otras dos dependientes del punto de fusión por ejemplo: (5, 25, 40, o 20, 30, 40) °C en este caso las temperaturas de estudio fueron (5, 25 y 40) °C por tener mayor margen de variación. Cada muestra fue expuesta por un tiempo de 30 min.

3.2.3.2 ESTABILIDAD FÍSICA.

La estabilidad física de los sistemas cosméticos puede acarrear importantes consecuencias afectando dos efectos fundamentales: la apariencia del producto, esto incluye aspectos como el color, olor, texturas de la muestra y uniformidad de la fragancia. Estas fueron verificadas por medio de la observación del producto constantemente.

3.2.4 ESTUDIO DE LA ACEPTACIÓN DEL PRODUCTO

3.4.1 ASPECTOS GENERALES DEL ESTUDIO DE ACEPTACIÓN.

Al realizar un estudio para la aceptación de un nuevo producto en el mercado es costumbre realizarlo basándose en el déficit existente, en este caso una fragancia producida en el país. El objetivo principal es visualizar la posibilidad de introducir un producto nuevo, es motivo suficiente de no poseer una información precisa acerca del consumo, importación, exportación o cualquier variable que nos permita estimar la situación en que se encuentra este tipo de perfume en el país por lo tanto dicho estudio se realizó tomando en cuenta el mercado de los perfumes sintéticos-naturales.

3.4.2 OBJETIVOS DEL ESTUDIO DE ACEPTACIÓN.

A continuación se presentan los objetivos primordiales que obligaron a la realización de este estudio de aceptación:

a) Elegir el aroma que más agrade, entre las muestras de perfume realizadas.



- b) Identificar la cantidad y el tipo de población que estarían más interesados en el uso de este tipo de perfume.
- c) Estimar el precio que la población estaría dispuesta a pagar por el perfume.

3.4.3 DETERMINACIÓN DE LAS FUENTES DE INFORMACIÓN.

Todo estudio de investigación de este tipo de mercadeo debe basarse de una u otra forma en información. Al examinar el proceso de investigación conviene dividir la información en dos tipos: información secundaria y primaria.

a) Fuentes de Información Secundaria.

La información secundaria es la que se obtiene por medio de, empresas privadas, Internet y material bibliográfico en general. Constituye la fuente más utilizada de información de mercadotecnia, los datos están disponibles y a menudo son adecuados para contestar algunos de los objetivos de la investigación. En comparación con los datos primarios la información secundaria ofrece la ventaja de ser rápida de obtener y menos costosa aunque a veces no guarda estrecha relación con el problema.

b) Fuentes de Información Primaria.

Constituye los datos que reúne o genera el investigador para completar los objetivos del proyecto en que se está trabajando. Se caracteriza por su aplicabilidad al problema en cuestión pero tienen la desventaja de ser muy costosas si se le compara con los datos secundarios un ejemplo de estas son:

- Encuestas.
- Entrevistas Personales.
- Sesión de Grupo.
- Observación.

Existen otros métodos de recolección de datos o fuentes primarias, por los anteriores resultan ser los más efectivos y comunes [5].

Por consiguiente se decidió tomar como instrumento de medición, entre los ejemplos antes mencionados, una encuesta al consumidor, por ser la de carácter más práctico.



La realización de encuestas tiene como fin primordial estudiar la aceptación del producto por parte de los consumidores y obtener un resultado donde se determina si el mismo será usado por los consumidores.

El método empleado en la realización de las encuestas es la del contacto directo con el entrevistado para obtener las impresiones sobre el producto. La recolección de información se realiza al azar en sitios de concurrencia de personas.

En muchas ocasiones las empresas crean sus estrategias y toman sus decisiones con base en “supuestos”. La única persona que puede realizar un test de su producto es su cliente. ¿Por qué? Porque es quien lo usa, porque es quien sabe qué le gustaría que tuviera o no tuviera su producto, porque es quien descubre fácilmente los beneficios o las desventajas que tiene el producto [30].

Una estrategia que se usa mucho en mercadeo es la degustación, es decir, dar a conocer el producto a sus clientes potenciales. Esta estrategia puede ser un buen comienzo para conocer la percepción que los clientes tienen del producto pero suele tener principalmente dos errores, el primero es que se suele dar una ración muy pequeña del producto y el segundo es que se suele dar la degustación del producto pero no se realiza una investigación del mercado [30].

Como el producto ofrecido va dirigido a la población femenina, la encuesta está dirigida mayor parte a este sector de la población, es decir, ésta es dividida en dos partes, hacia el sector femenino como beneficiarias y potenciales compradores del producto y al sector masculino como posible comprador como obsequio.

La encuesta a realizar es la siguiente (Apéndice C):

1. Datos personales del encuestado.
2. ¿Usa usted perfumes?
3. ¿Qué tipo de perfume normalmente usa?



4. ¿Qué le parece el aroma del perfume que se le presenta?
5. ¿Qué posibilidad hay de que lo compre?
6. ¿Cuál de las siguientes presentaciones estaría dispuesto a comprar?
7. ¿Qué monto estaría dispuesto a pagar?

3.3 DETERMINACIÓN DEL COSTO DEL PRODUCTO

Para la realización de ésta etapa se decidió tomar un aproximado de lo que podría costar el perfume en base a la materia prima usada, las técnicas y equipos utilizados y por último la mano de obra empleada. (Sección 4.6)

✓ **Materia Prima:**

Tomando en cuenta que el perfume es de tipo sintético-natural, la materia prima empleada fue:

- Limón.
- Aceite esencial Comercial (al menos dos).
- Alcohol Desmineralizado al 26 %.
- Agua Destilada.
- Un fijador sintético.

✓ **Técnica y Equipos:**

La **técnica** empleada fue extracción con fluido Supercrítico, la cual es fácil de aplicar y ofrece muy altos niveles de calidad en el aceite extraído, sin embargo la cantidad que se obtiene no es significativa, por lo que se necesitan grandes cantidades de la materia prima principal (limón), además de un excelente control tanto de la temperatura como de la presión (conociendo los valores óptimos de operación) de manera de conseguir la mayor cantidad de producto posible, por tanto, se incrementa el costo con el uso de esta técnica.

En cuanto al **equipo** es uno de extracción con fluido supercrítico (SFC) marca **SPEED-SFE Applied Separations USA**, valorado en 23.000 \$ y que requiere de dos componentes fundamentales para su funcionamiento, que son:

- Una bombona de CO₂ (comprada en Oxicar).
- Refrigerante.
- Compresor.

CAPITULO IV.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

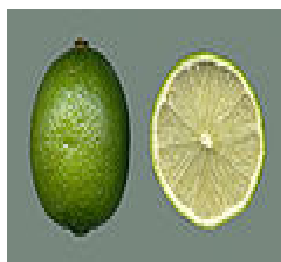
En esta sección se presenta de manera detallada la comparación de los resultados obtenidos y el análisis de los mismos en base a la bibliografía empleada y a los conocimientos adquiridos durante el desarrollo experimental de la presente investigación, para así evidenciar el logro de los objetivos planteados.

4.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA.

Para elegir la materia prima, se determinaron las diferentes especies de limón existentes en la región, la diferencia principal radica en la textura de su piel, los limones de piel fina y relativamente pequeños suelen ser más jugosos que los de tamaño más grande y de piel rugosa, entonces en base a lo antes mencionado y entre los más cultivados a nivel nacional, se preseleccionaron entre las tres más conocidas: el limón criollo, llamado también lima mejicano o limón gallego, el limón persa o limón sin semilla (Lima Tahití, *Citrus latifolia*) y el limón no comercial, el Chinotto, Eureka o limón europeo. [15]



(a)



(b)



(c)

Figura 4.1. Limón criollo o gallego (a), limón Tahití o persa (b) y limón Eureka o chinotto (c)

Fuente: [15]

Las tres especies de limón, fueron tratadas previamente (sección 3.2.1.) luego de su preparación, las muestras fueron analizadas en el cromatógrafo de gases acoplado a un selector de masas (figura 4.2), y con una rampa de temperatura de 80°C por 5 min., aumentando 10°C por minuto hasta 250°C, deteniéndose en ésta última



temperatura 25 min, demostró que el limón Chinotto no contenía citral (figura 4.5), este análisis de detector de masa no fue concluyente para las otras dos muestras (limón criollo y persa) a causa de un desfase de tiempo en ellas y que a 250°C la columna estaba descomponiéndose, por estas razones se realizó una segunda evaluación pero por cromatógrafo de gases con detector FID, utilizando las siguientes condiciones: 65°C por 2 min y programada de 0,7°C/min hasta 70°C, 15°C/min hasta 260°C, hasta un tiempo total de 27,81 min. Bajo estas condiciones, tal como lo muestra la figura 4.3, se logró visualizar un pico representativo de limoneno a los 13,8 min.



Figura. 4.2. Cromatógrafo de gases. Marca VARIAN. Modelo 3800.

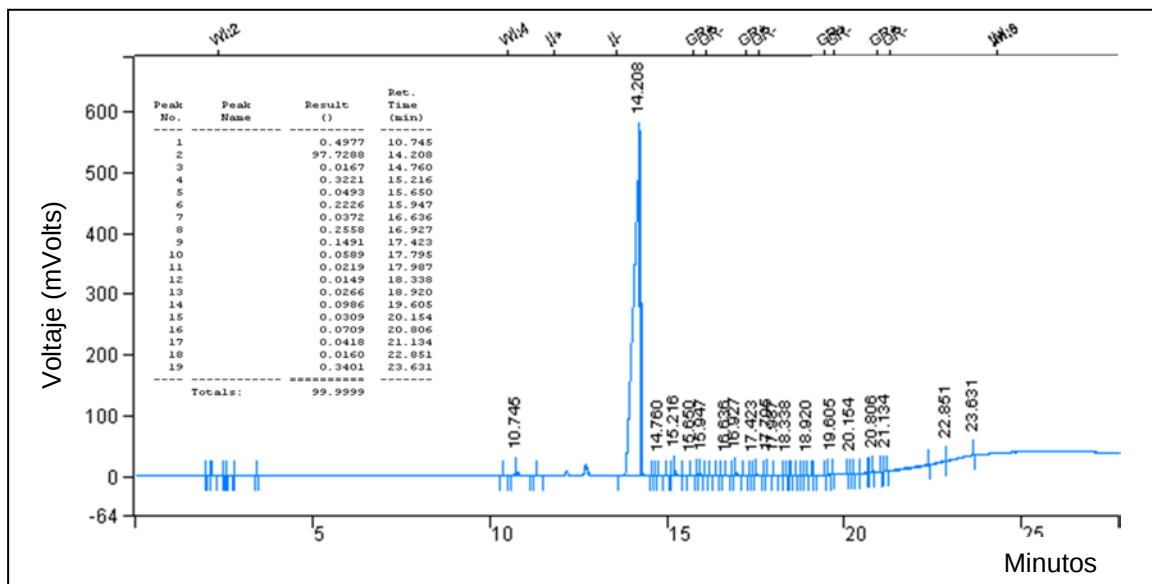


Figura. 4.3 Cromatograma del patrón de limoneno.



Una vez conocido el tiempo de retención de los compuestos de interés (limoneno y citral), se efectuaron los análisis cromatográficos a las muestras correspondientes de los limones criollo y persa.

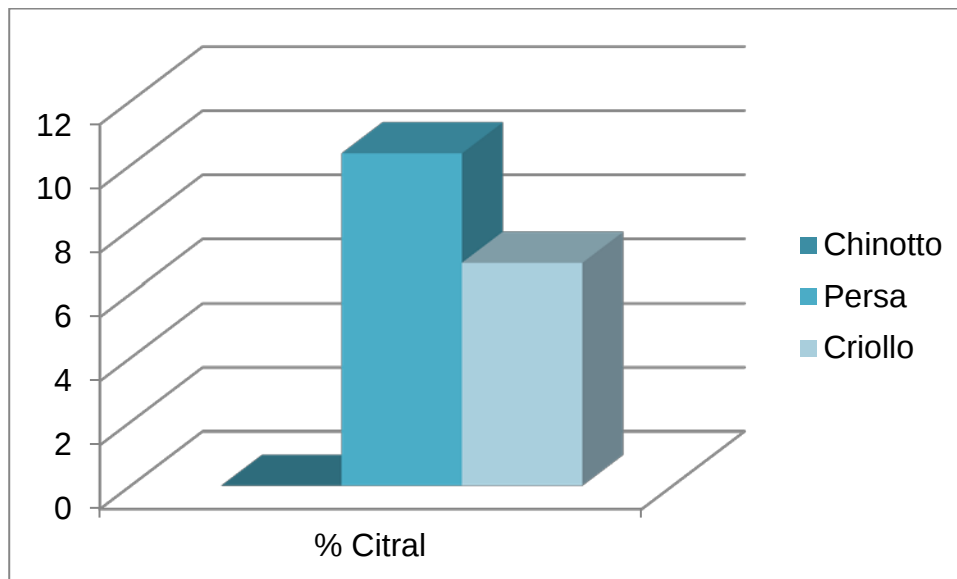


Figura. 4.4. Porcentaje de citral de las muestras analizadas por el espectro de masa

Los resultados de este segundo análisis, indicaron que el limón criollo contiene menor porcentaje de limoneno pero mayor porcentaje de citral que el limón persa (ver figura. 4.6), demostrando así que el primer análisis con espectro de masa no era confiable. Ya que el citral es el responsable del aroma de la fruta, por ser un aldehído; se seleccionó el limón criollo como materia prima a emplear.

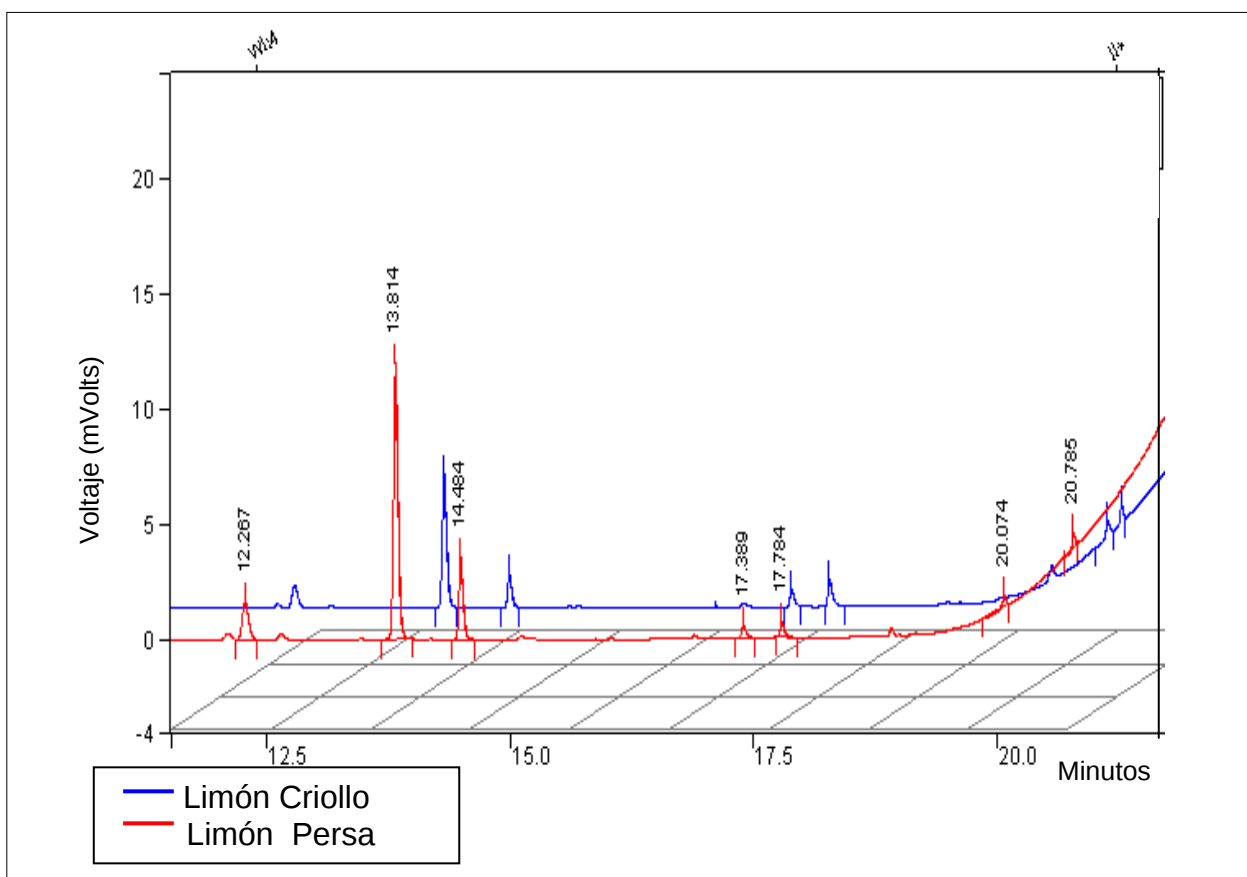


Figura. 4.5. Cromatograma comparativo de las muestras analizadas.

4.2 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN DEL PROCESO.

Para llevar a cabo el proceso de extracción adecuadamente y con el resultado más satisfactorio se identificaron las variables a manipular y el rango de operación de las mismas. Para ello, inicialmente se estudió con detalle las características específicas de los tipos de extracción que se podían aplicar en el equipo de trabajo de acuerdo a la manera de obtención del producto deseado (aceite esencial), estos tipos fueron: extracción estática, extracción dinámica y extracción estática – dinámica. Se decidió trabajar con una **extracción de tipo estática – dinámica**, ya que se asegura que existe un mayor contacto entre el fluido supercrítico y la materia prima, dando lugar al agotamiento rápido y prácticamente total de los sólidos extraíbles; asegurando así un mayor rendimiento, en cuanto a cantidad del extracto obtenido. Además, se requiere de una mayor interacción entre las sustancias participantes en el proceso de extracción, ya



que según investigaciones anteriores, los aceites esenciales cuentan con un grupo heterogéneo de sustancias orgánicas (compuestos terpénicos; hidrocarburos térpenicos y sus derivados oxigenados: alcoholes, aldehídos, cetonas, esterres, peróxidos; compuestos aromáticos derivado del fenilpropano, compuestos diversos) que hacen que sea mayor la estabilidad química y por ende aumenten las fuerzas intermoleculares. (Sección 3.2.1.2)

En la selección de las variables a intervenir en el proceso se tomaron en cuenta estudios preliminares que determinaron las posibles variables influyentes en el proceso. Estas fueron: presión de operación, temperatura de operación del vaso presurizado, temperatura del módulo de extracción, flujo del solvente extractor, tiempo estático y tiempo dinámico. (Sección 3.2.1.2)

De todas las variables controlables del proceso se establecieron tres a estudiar, las cuales fueron: ***el tiempo dinámico, el tiempo estático y la presión de operación***; dejando como variables fijas las otras tres restantes (temperatura de operación del vaso presurizado, temperatura del módulo de extracción y flujo del solvente extractor). (Sección 3.2.1.2)

Los valores de dichas variables se establecieron verificando las condiciones de operación de trabajos anteriores, como ya se mencionó. Para la extracción de aceite esencial de limón, emplearon valores de presión entre (80-100) bar, tiempo de extracción dinámica entre (15-20) min y tiempo estático entre (20-30) min, pero al analizar y discutir sus resultados concluyeron que a una presión de 117 bar, tiempo estático de 30 min y tiempo dinámico 15 min, se obtenían resultados óptimos. [10]

Entonces en base a lo antes mencionado se decidió aumentar la presión para acercarnos más a la zona óptima, en cuanto al tiempo dinámico se decidió aumentar el rango para verificar que por debajo de 15 existiera una mejor aproximación y por último el tiempo estático se dejó igual.



Ahora bien, entre las variables que se dejaron fijas en el proceso, se escogió una temperatura de operación del vaso presurizado igual a 40 °C ya que el limón posee componentes volátiles muy sensibles, que generalmente a temperaturas mayores de 40 °C tienden a volatilizarse y/o a descomponerse. Con respecto al flujo del solvente extractor, se fijó en 2,5 L/min por limitaciones del equipo, ya que para lecturas menores a la establecida, la lectura en el rotámetro se hace muy inestable y para lecturas mayores, el medidor de flujo aumenta su lectura bruscamente creándose una lectura incorrecta. La temperatura del módulo de extracción se fijó en 100 °C, ya que las tuberías del equipo tienden a obstruirse por la congelación del dióxido de carbono (CO₂) a temperaturas menores. [9-14]

Las variables de estudio seleccionadas son consideradas las más influyentes en el rendimiento del proceso, debido a que dependiendo de la especie de materia prima con la que se trabaje, un aumento de ellas puede o no aumentar el rendimiento de la extracción [9].

Una vez establecidas las variables de estudio, el diseño experimental seleccionado fue de tipo **factorial 2³**, es decir, de 3 factores cada uno con 2 niveles (alto y bajo) originando 8 corridas. Esto se observa en la figura 4.6, donde se puede representar geométricamente un cubo donde cada una de las ocho combinaciones están constituidas por las aristas del mismo, cada una de estas aristas es una corrida realizada. Además, este diseño permite estimar tres factores principales (A, B, C), tres interacciones entre dos factores (AB, AC, BC) y una interacción entre los tres factores (ABC).

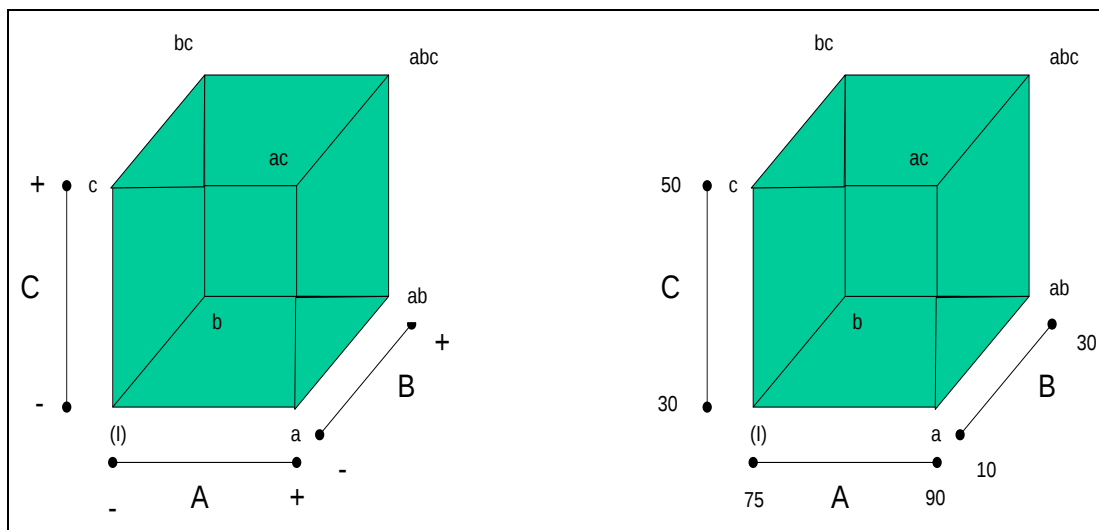


Figura 4.6. Representación geométrica del diseño factorial 2^3 .

Este diseño se seleccionó con el fin de determinar cuál de las variables de estudio seleccionadas, interviene más significativamente en el proceso de extracción de aceite esencial de limón, para ello de acuerdo a los niveles de los rangos de operación establecidos (tabla 4.1) se fijaron las combinaciones de las variables a manipular para cada una de las 8 extracciones y sus respectivas réplicas tal como se muestran en la tabla 4.2, y se procedió a efectuar el proceso de extracción de acuerdo a la ejecución del proceso de extracción descrita en el capítulo anterior (sección 3.2.1.2).

TABLA 4.1

RANGOS DE OPERACIÓN ESTABLECIDOS PARA EL DISEÑO EXPERIMENTAL 2^3

Variable en estudio	Nivel Bajo (-)	Nivel Alto (+)
Presión (P, bar)	100	120
Tiempo estático (t_e , min)	20	30
Tiempo dinámico (t_d min)	10	20



Con las 16 corridas del diseño experimental (tabla 4.2), se verificó la reproducibilidad de la variable de respuesta (% citral) y se identificaron muy pocas donde la diferencia no fue significativa, de acuerdo a un criterio 0.05 de incertidumbre utilizado, por tanto los valores de las mismas son aceptables para un análisis de varianza (ANOVA), del paquete estadístico (Stat Graphics Plus versión 5.1), el cual consiste en el cálculo de la suma de cuadrados, grados de libertad y medias de cuadrados para la posterior determinación del factor de Fisher experimental para cada una de las variables e interacciones establecidas (tabla 4.3).

Este paquete también determinó como afectaron las variables manipuladas y las interacciones entre las mismas al proceso de extracción. Seguidamente para afianzar los resultados del análisis de varianza se emplearon otros métodos y herramientas estadísticas tales como:

1. Diagrama de Pareto.(figura 4.7)
2. Gráfico de efectos principales. (figura 4.8)
3. Gráfico de efectos de las interacciones. (figura 4.9)
4. Superficie de respuesta.(figura 4.10)

En la tabla 4.3 se muestra el análisis de varianza donde pueden apreciarse los resultados de la suma de cuadrados, grados de libertad y la media de cuadrados que conllevaron a la determinación del F_0 experimental de cada factor e interacción. Mediante este último, se puede deducir cual es más influyente sobre el proceso de extracción ya que mientras más grande sea este valor, el p-valor se acerca más a cero indicando así que esa variable o interacción es la que más influye y viceversa, es decir, que mientras más pequeño sea el factor de Fisher, y el p-valor se acerque más a la unidad, menos influye la variable o la interacción en el proceso.



TABLA 4.2
RESULTADO DEL DISEÑO EXPERIMENTAL FACTORIAL

N°	Condiciones de operación			Resultados experimentales				
	Presión ($P \pm 0,1$) bar	Tiempo estático ($t_E \pm 0,01$) min	Tiempo dinámico ($t_D \pm 0,01$) min	Masa de muestra ($m_M \pm 0,0001$) g	Masa de envase vacío ($m_{EV} \pm 0,0001$) g	Masa de envase con extracto ($m_{EE} \pm 0,0001$) g	Rendimiento ($\%R \pm 0,0002$) %	Porcentaje de Citral ($\%C \pm 0,0002$) %
1	100.0	30.00	20.00	80.8166	29.9509	30.1844	0.2889	18.4419
2	100.0	30.00	10.00	80.0613	32.5428	32.6377	0.1185	19.3871
3	100.0	20.00	20.00	80.0488	31.8498	31.9285	0.0983	20.5290
4	120.0	20.00	10.00	80.0951	31.7277	31.8142	0.1080	17.9477
5	120.0	30.00	10.00	80.1591	28.6248	28.8066	0.2268	15.9104
6	120.0	20.00	20.00	80.0594	32.2528	32.3283	0.0943	15.5017
7	100.0	20.00	10.00	80.2591	28.7636	29.0027	0.2979	20.7159
8	120.0	30.00	20.00	80.0620	29.0617	29.1889	0.1589	22.8911

Donde:

Temperatura de extracción: $T = (40,1 \pm 0,1)^\circ\text{C}$ Caudal de CO_2 : $Q = (2,5 \pm 0,1)\text{L/min}$ Tiempo dinámico: $t_D = (15 \pm 1)\text{min}$



TABLA 4.2
RESULTADOS DEL DISEÑO EXPERIMENTAL FACTORIAL (REPLICA)

N°	Condiciones de operación			Resultados experimentales				
	Presión ($P \pm 0,1$) bar	Tiempo estático ($t_E \pm 0,01$) min	Tiempo dinámico ($t_D \pm 0,01$) min	Masa de muestra ($m_M \pm 0,0001$) g	Masa de envase vacío ($m_{EV} \pm 0,0001$) g	Masa de envase con extracto ($m_{EE} \pm 0,0001$) g	Rendimiento ($\%R \pm 0,0002$) %	Porcentaje de Citral ($\%C \pm 0,0002$) %
1	100.0	30.00	20.00	80.1047	31.9880	32.0568	0.0859	18,4519
2	100.0	30.00	10.00	80.1588	31.8650	31.9066	0.0519	18,9312
3	100.0	20.00	20.00	80.0148	32.5545	32.5945	0.0500	20,4543
4	120.0	20.00	10.00	80.0390	30.2827	30.4845	0.2521	18,2325
5	120.0	30.00	10.00	80.0704	33.0278	33.0510	0.0290	15,9691
6	120.0	20.00	20.00	80.1083	32.1540	32.2233	0.0865	15,5564
7	100.0	20.00	10.00	80.1188	30.2013	30.2277	0.0330	20,4868
8	120.0	30.00	20.00	80.1871	29.1448	29.1771	0.0403	22,4219

Donde:

Temperatura de extracción: $T = (40,1 \pm 0,1)^\circ\text{C}$

Caudal de CO_2 : $Q = (2,5 \pm 0,1)\text{L/min}$

Tiempo dinámico: $t_D = (15 \pm 1)\text{min}$

TABLA 4.3

RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL PORCENTAJE DE CITRAL

Variable	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Factor de Fisher	P-Valor
A: Presión	38,9604	1	38,9604	6,63	0,0329
B: Tiempo estático	1,55021	1	1,55021	0,26	0,6215
C: Tiempo dinámico	4,69535	1	4,69535	0,80	0,3976
AB	45,3202	1	45,3202	7,71	0,0241
AC	8,93307	1	8,93307	1,52	0,2527
BC	5,46449	1	5,46449	0,93	0,3633
Error Total	47,0437	8	5,88047	--	--

Considerando los valores de los F_0 experimentales, se puede observar que individualmente, la presión es el factor que más influye en el proceso con un F_0 igual a 6,63 y en cuanto a las interacciones, la que más influye es la AB (presión-tiempo estático) con un F_0 igual a 7,71. Este resultado se evidencia tanto en el diagrama de Pareto mediante la figura 4.7 como en la figura 4.8 y 4.9 donde se refleja la tendencia de los efectos principales y la tendencia de los efectos de las interacciones en el porcentaje de citral respectivamente. Sin embargo, para evaluar la significancia de estos efectos se determinó un factor de Fisher teórico ($F_{0(\alpha, v1, v2)}$) mediante la tabla de puntos porcentuales de la distribución F reportada en el apéndice B, donde α representa el nivel de confianza y $v1$ y $v2$ los grados de libertad del cuadrado medio del factor y el cuadrado medio del error respectivamente. Tomando el mismo nivel de confianza reportado por el programa y empleando la tabla B.3, se obtuvo un $F_{0(0,05;1;8)}$ igual a 5,32 corroborando así lo planteado anteriormente ya que mientras el F_0 teórico $<$ F_0 experimental, siempre va a existir evidencia estadística de que el factor afecta a la variable de respuesta. [6]



Como efecto principal e individual se encontró a la presión y como efecto secundario se encontró a la interacción AB (presión-tiempo estático). En cuanto al resto de los factores se puede decir que no presentan influencia alguna sobre el proceso de extracción supercrítica.

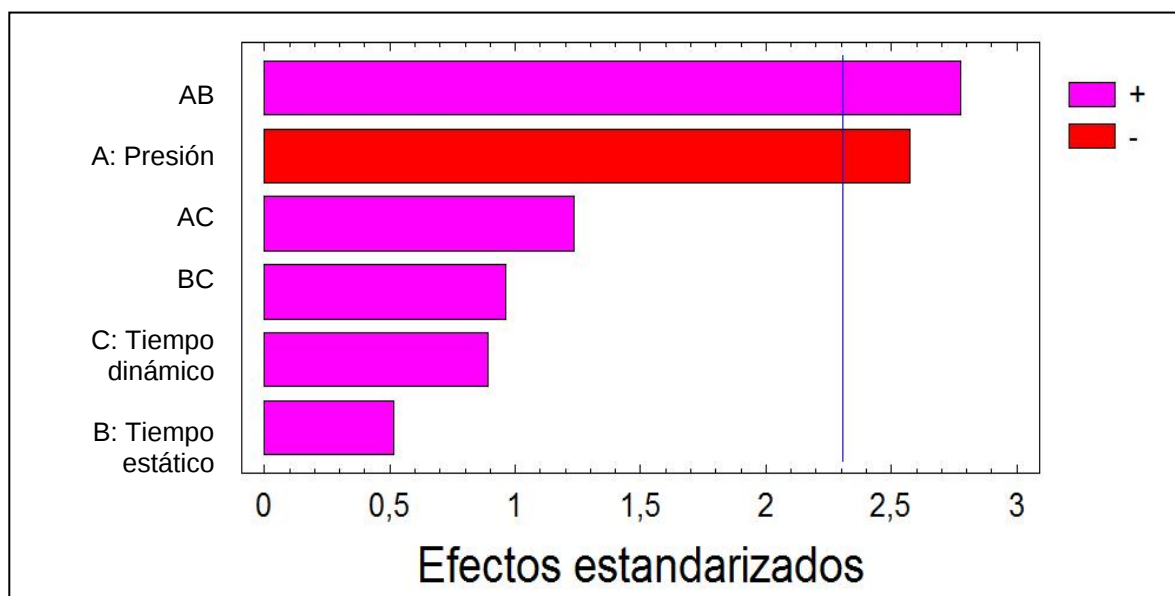


Figura 4.7. Diagrama de Pareto estandarizado para % de Citral

Cuando se estudian sobre un proceso los efectos individuales de las variables y sus interacciones sobre una respuesta, el efecto de las interacciones es clave para evaluar el proceso y tiene mayor significancia desplazando así los efectos individuales de las variables aun y cuando éstas tengan un valor de F_0 experimental más elevado. [6]

Al observar en la figura 4.9 los efectos individuales de cada variable, se puede decir que tanto el tiempo dinámico como el tiempo estático, en comparación con la presión, no influyen sobre el proceso ya que al variar cada uno de estos el cambio en la respuesta fue prácticamente nulo. Observando en la figura 4.9 la tendencia de los efectos de las interacciones, se puede decir que en el caso de la interacción AB (presión-tiempo estático) hubo intersección indicando la mayor influencia de dichas variables en el proceso. En cuanto a las interacciones AC y BC, se puede decir que si hay influencia, pero para AC es menos significativa ya que al variar la presión y emplear un tiempo



dinámico alto el porcentaje de citral prácticamente no varía, ahora bien para BC intersección es casi nula, esto desplaza por completo el efecto del tiempo dinámico estableciendo que la interacción que más afecta el proceso de extracción es la interacción presión-tiempo estático.

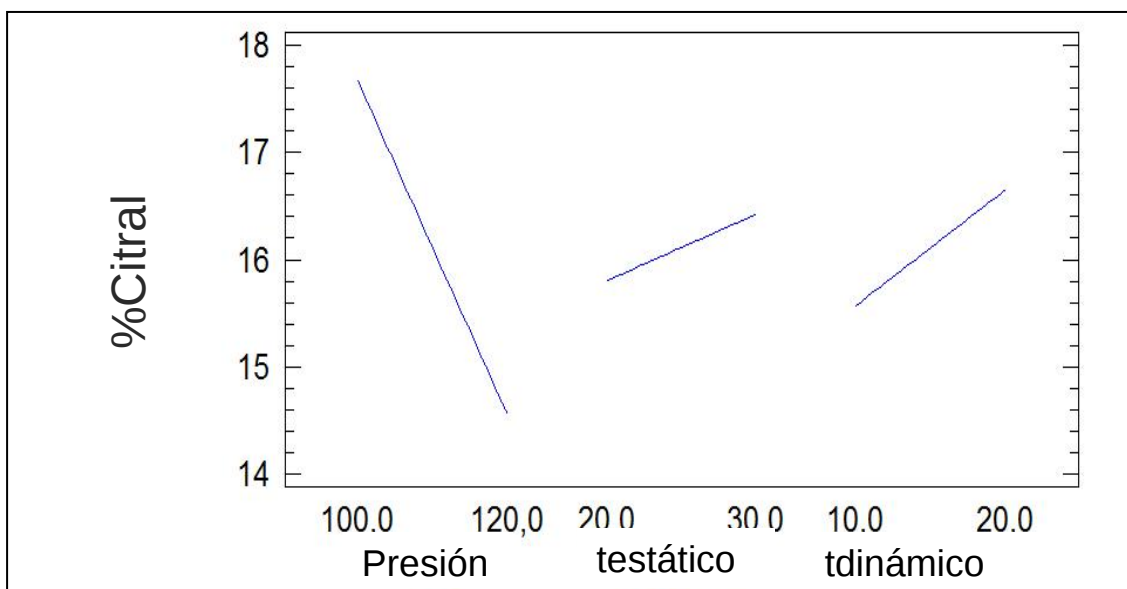


Figura 4.8. Tendencia de los efectos principales para % de Citral

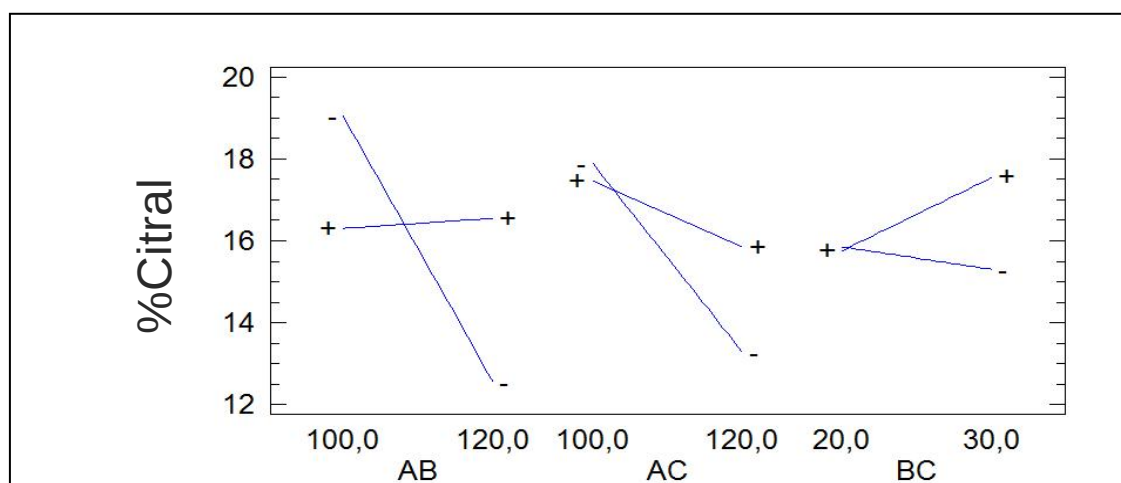


Figura 4.9. Tendencia de las interacciones entre las variables para % de Citral

En base a los análisis de los resultados anteriores, se decidió emplear el método estadístico de superficie de respuesta (MSR) para poder arrojar las condiciones



adecuadas en las cuales se favorece el porcentaje de citral en la evaluación del proceso. Este método consiste en el modelado y análisis en aplicaciones donde la respuesta de interés está influenciada por varias variables y el objetivo es optimizar esta respuesta mediante una función de dos factores.

$$y = f(x_1, x_2) + \epsilon$$

Donde para este caso y representa el rendimiento, x_1 la presión, x_2 al tiempo dinámico y ϵ representa el error observado en la respuesta y .

Para la aplicación de este método, en vista de que el análisis estadístico descarta al tiempo dinámico como variable influyente se empleó un diseño central compuesto (DCC) para así ajustar nuestros resultados y obtener una superficie de respuesta óptima. Este método requiere de k factores, 2^k corridas factoriales, 2^k corridas axiales y al menos un punto central (de 2 a 5 puntos), donde “ k ” es el número de factores de estudio.

Tal como se muestra en la tabla 4.12, para el nuevo diseño se llevaron a cabo un total de 11 corridas, donde 4 corresponden a las combinaciones de los niveles establecidos en los rangos de operación, 3 corridas corresponden al punto central y las 4 restantes pertenecen a los puntos axiales, que elige el programa de acuerdo a la rotabilidad establecida por $\alpha = (F)^{1/4}$ donde F es el número de puntos en la parte factorial de diseño ($F = 2^k$), es decir, para este caso $\alpha = (2^2)^{1/4} = 1,414$.



TABLA 4.4

DESARROLLO EXPERIMENTAL PARA LA ELABORACIÓN DE LA SUPERFICIE DE RESPUESTA

N°	Condiciones de operación				Resultados experimentales				
	Nomenclatura		Presión ($P \pm 0,1$) bar	Tiempo estático ($t_E \pm 0,01$) min	Masa de muestra ($m_M \pm 0,0001$) g	Masa de envase vacío ($m_{EV} \pm 0,0001$) g	Masa de envase con extracto ($m_{EE} \pm 0,0001$) g	Rendimiento ($\%R \pm 0,0002$) %	Porcentaje de Citral ($\%C \pm 0,0002$) %
1	-1	1	100	30	80,2585	31,0489	31,1233	0,0927	17,8519
2	-1	-1	100	20	80,0200	33,3501	33,3745	0,0305	16,6820
3	1	-1	120	20	80,1555	32,2315	32,2995	0,0848	17,9614
4	1	1	120	30	80,2374	31,2888	31,3346	0,0571	20,3829
5	0	0	110	25	80,2623	32,5058	32,5289	0,0288	27,9414
6	0	0	110	25	80,1978	32,2023	32,2323	0,0374	14,2407
7	0	0	110	25	80,1530	32,1958	32,2212	0,0317	18,4519
8	0	-1,414	110	32	80,3680	30,0899	30,1433	0,0664	18,8397
9	0	1,414	110	18	80,1744	29,1220	29,1713	0,0615	25,2009
10	- 1,414	0	124	25	80,0548	30,5166	30,5751	0,0731	18,0627
11	1,414	0	96	25	80,0274	32,2318	32,2596	0,0347	20,4543

Donde:

Temperatura de extracción: $T = (40,1 \pm 0,1)^\circ\text{C}$

Caudal de CO_2 : $Q = (2,5 \pm 0,1) \text{L/min}$

Tiempo dinámico: $t_D = (15 \pm 1) \text{min}$



Luego de haber obtenido los resultados de la variable de respuesta del diseño central compuesto, se analizaron en el programa estadístico, arrojando la ecuación de regresión que se ajustó a los datos. Dicha ecuación es:

$$\begin{aligned} \% \text{ Citral} = & -88,3702 + 2,31641 * \text{Presión} - 1,39429 \\ & * \text{TiempoEstático} - 0,0112137 * \text{Presión}^2 + 6,258 \\ & \times 10^{-3} * \text{Presión} * \text{TiempoEstático} + 0,0114287 \\ & * \text{TiempoEstático}^2 \end{aligned} \quad (1)$$

Mediante la ecuación anterior, se generó la superficie de respuesta que se muestra en la figura 4.10, con la cual se buscó estimar las condiciones de operación que logran maximizar el rendimiento, es decir las condiciones óptimas del proceso, resultando ser estas una presión de 108,3 bar, un tiempo estático de 18 min y un tiempo dinámico de 15 min la cual se había fijado previamente, ya que como se demostró inicialmente ésta última variable no influye en el proceso y se tomó un valor comprendido dentro del rango de operación, ya que independientemente de la manipulación de ésta variable no altera la variabilidad del sistema.

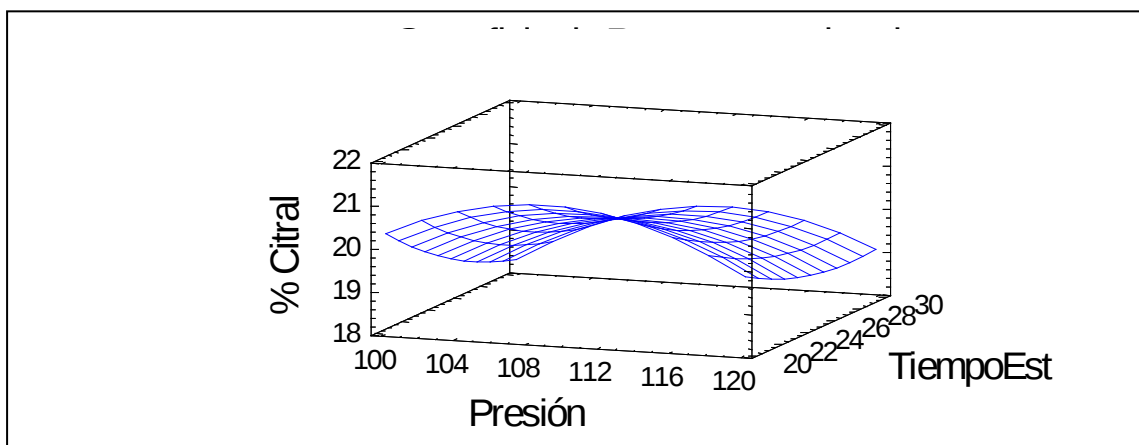


Figura 4.10. Superficie de Respuesta estimada del rendimiento en el proceso de Extracción Supercrítica.



Se realizó una corrida exhaustiva de manera de conocer la mayor cantidad de aceite esencial de limón que se puede obtener con una muestra de 80g, utilizando las condiciones obtenidas del análisis de superficie de respuesta (presión de 108,3bar y tiempo estático de 18min). Para ello se dejan correr los tiempos estático y dinámico repetidas veces y cambiando el vial cuando se termine el tiempo de descarga, hasta que la masa del mismo sea aproximadamente la misma. Los datos reportados se pueden observar en la tabla 4.5, a continuación.

TABLA 4.5
RESULTADOS DE LA CORRIDA EXHAUSTIVA

N°	Resultados experimentales		
	Masa de envase vacío ($m_{EV} \pm 0,0001$)g	Masa de envase con extracto ($m_{EE} \pm 0,0001$)g	Rendimiento ($\%R \pm 0,0002$)%
1	31,8176	31,8546	0,0370
2	28,6351	28,7131	0,0780
3	31,7281	31,7576	0,0295
4	30,2394	30,2943	0,0549
5	31,8374	31,8876	0,0502
6	32,5655	32,6238	0,0583
7	33,0874	33,1516	0,0642
8	29,7862	29,8320	0,0458
9	31,9492	31,9822	0,0330
10	32,6381	32,6389	0,0008

Donde:

Presión de operación: $P = (108,3 \pm 0,1)$ bar

Tiempo estático: $t_E = (18 \pm 1)$ min

Tiempo dinámico: $t_D = (15 \pm 1)$ min



Temperatura de extracción: $T = (40,1 \pm 0,1)^{\circ}\text{C}$

Caudal de CO_2 : $Q = (2,5 \pm 0,1) \text{ L/min}$

Masa de Muestra: $m_M = (80,0563 \pm 0,0001) \text{ g}$

En la figura 4.11 se puede observar la curva que muestra como fue el comportamiento de la extracción exhaustiva realizada.

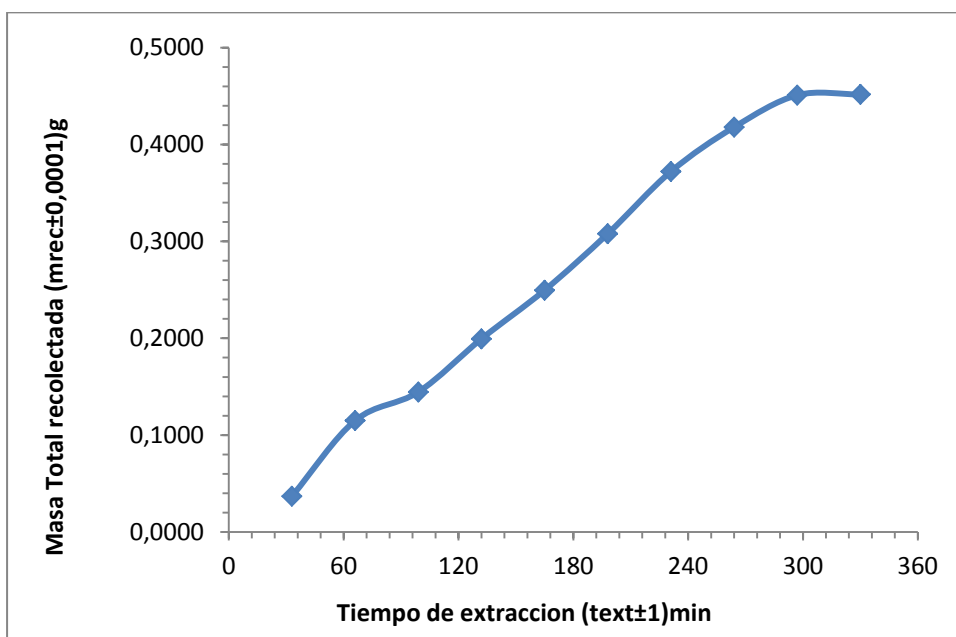


Figura 4.11. Comportamiento obtenido de la extracción exhaustiva.

Obteniéndose una masa total de $(0,452 \pm 0,002) \text{ g}$. Cada vial con la masa obtenida se mezcló con 1mL de alcohol de manera de que fuese más fácil su remoción del envase, posteriormente, todas las soluciones se mezclaron y fueron traspasadas a un cilindro graduado donde se pudo observar la diferencia de fases, y por consiguiente la cantidad de aceite obtenido la cual fue de aproximadamente 0,5mL, lo cual es lo necesario para la elaboración del perfume.



4.3 FORMULACIÓN DE LA FRAGANCIA

La concentración de los aceites esenciales es lo que determina el grado de perdurabilidad en un perfume, un agua de toilette y un perfume tienen el mismo aroma. La primera perdura menos que la segunda por tener más bajo contenido de aceites esenciales que su otra versión. Es por tal razón que se decidió hacer un agua de colonia, donde la composición del aceite esencial en la misma es de 1-6 % , además está compuesta de alcohol desmineralizado al 26%, éste se utiliza para solubilizar las esencias y ayudar a que las mismas se dispersen en la piel, es el vector y conductor del perfume. También se utilizó un fijador, el cual es el responsable de juntar, a pesar de que se utiliza muy poco del mismo, con el fin de respetar e identificar las notas individuales de cada esencia. Como último ingrediente del agua de toilette se utiliza agua destilada con el único propósito de diluir la mezcla anterior.

La esencia protagonista de la fragancia es el aceite esencial de limón, por lo que el concepto del mismo es el de ser un *agua de toilette*, cítrico, fresco y de uso diario, en base a esto se hicieron varias combinaciones (sección 3.2.4) que pudieran sintonizar con el aroma de limón y transmitiera una sensación energizante, estas fueron: esencia comercial de canasta de fruta y almizcle comercial que además de ser esencia se comporta como un fijador.

La elaboración del agua de colonia se llevó a cabo siguiendo un procedimiento fácil y sencillo a nivel de laboratorio explicado en el capítulo anterior, donde la finalidad de calentar las esencias y el alcohol a 40°C, es la de hacer que las mismas se emulsionen perfectamente y obtener un líquido homogéneo de componentes que normalmente no se unirían con facilidad, luego es llevada rápidamente a baja temperatura con el agua fría, para evitar que se caliente en exceso y se pierda la emulsión, que se corta con facilidad. Y por último el propósito de dejar la fragancia 48 horas en un ambiente refrigerado, es lograr una buena maceración de la mezcla, que se logra percibir con la



formación de una capa delgada en la superficie, que no es más que el agua que no se unió, que a la final se descarta. [16]

TABLA 4.6
COMPOSICIONES Y CANTIDADES DE LOS COMPONENTES DEL PERFUME

Componentes	Composición (%)	Volumen añadido (mL)
Alcohol	85	21, 25
Aceite esencial de limón	3	0,75
Esencia Canasta de Frutas	1	0,25
Esencia Almizcle	1	0,25
Fijador sintético	---	0,02
Agua	10	2,5

4.4 ESTABILIDAD

Se utilizaron muestras de 5mL cada una, las cuales se sometieron a las temperaturas indicadas en el capítulo anterior (5, 25 y 40°C), notando que no hubo alteraciones en sus características físicas (color y aroma). Lo cual demostró que la fragancia es químicamente estable.

Características físicas:

- Color: Amarillo.
- Aroma: Primeramente se detecta la nota ácida del limón, luego el contenido frutal y por último el toque dulce del almizcle

4.5 ESTUDIO DE LA ACEPTACIÓN DE LA FRAGANCIA.

Para lograr este objetivo se llevó a cabo la realización de una encuesta con una población aproximada de 30 personas, con las preguntas claves que ayudarían a conocer las impresiones y opiniones de los encuestados con el fin de elaborar y decidir



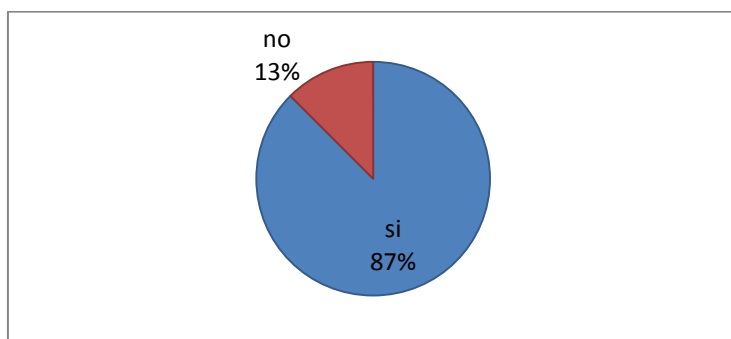
el mejor aroma para la fragancia según ellos. Para esto se hicieron tres variedades de agua de toilette en una presentación de 10 mL como muestra a los encuestados. Estas fueron:

- ✓ **Fragancia A:** limón y piña colada.
- ✓ **Fragancia B:** limón, brisa marina y manzana roja.
- ✓ **Fragancia C:** limón, canasta de fruta y almizcle.

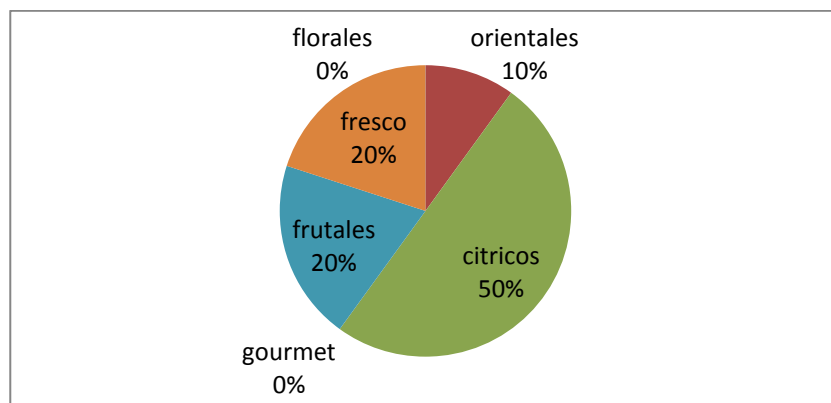
La encuesta también ayudó a predecir la cantidad y el tipo de personas que estarían dispuestos a comprarlo y a qué precio lo comprarían.

Luego de la realización de las encuestas, los datos recopilados fueron graficados como se muestran a continuación:

1. Usa perfumes o fragancias?

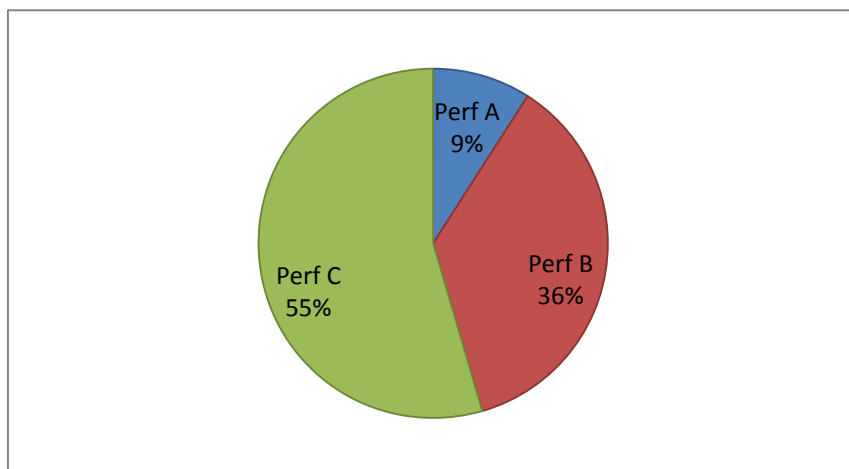


2. ¿Qué tipo de perfume normalmente usa?

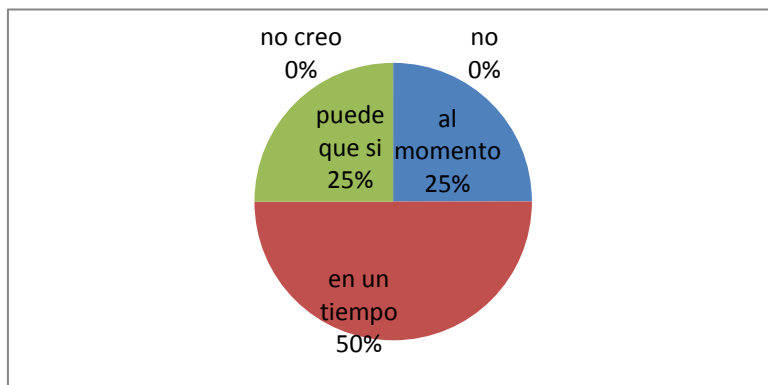




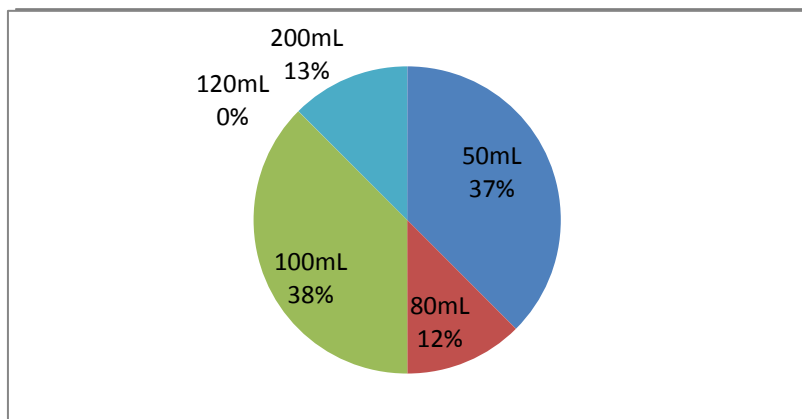
3. ¿Cómo evaluaría el aroma del perfume presentado del 1 al 5?



4. Partiendo de la base que el precio de este producto le pareciera aceptable... ¿qué probabilidad hay de que lo comprase?

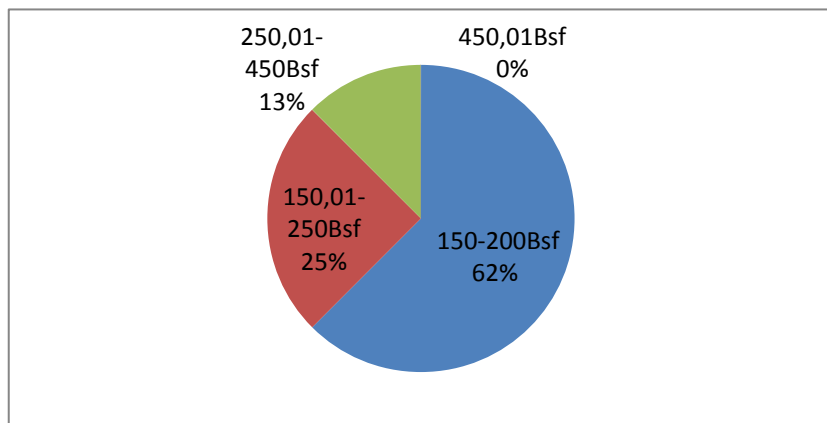


5. ¿Cuál de las siguientes presentaciones estaría dispuesto a adquirir?





6. Qué monto estaría dispuesto a pagar?



En base a los resultados presentados en gráficos, se verifica, que una alta población usa perfume o fragancia, lo que garantiza una demanda en el producto cosmético elaborado, además de que el tipo de fragancias a la cual está orientado nuestro producto (fragancias cítricas) tiene preferencia ante otros tipos de aroma. Ante las muestras de pruebas la ganadora resultó ser la fragancia (C) de: limón, canasta de frutas y almizcle. Pudimos también comprobar si existiría una baja o alta demanda al momento de comercializar el producto, y resultó que sería comprado en un tiempo, lo que implica que necesitaría una buena estrategia de publicidad y mercadeo para cambiar esta opinión en la población, o aceptar que el producto será comprado después de un tiempo en el mercado, en una presentación generalmente de 50 mL y a un precio entre (150-200) BsF.

4.6 ESTIMACIÓN DEL COSTO POR MATERIA PRIMA PARA OBTENER 1Kg DE PRODUCTO.

Los precios asociados por rubros fueron:

✓ **Materia Prima:**

	Precios (BsF)
• Limón (por medio saco)	100
• Aceite esencial Comercial (cada uno).	6
• Alcohol Desmineralizado al 26 %. (por litro)	20



-
- Agua Destilada. (por litro) 10
 - Fijador sintético (120mL) 15

✓ **Técnica y Equipos:**

- Una bombona de CO₂ (comprada en Oxicar). 80
- Refrigerante (cada uno) 25

Se especifica que para llevar a cabo el producto final, se utilizó 80 g. de concha de limón, que equivalen a 45 limones, sabiendo que el saco tiene un aproximado de 1000 unidades de limón el monto de cada limón viene siendo de 0,1 BsF o 100 Bs. Lo que implica que costó 4,5 BsF ó 4500 Bs el limón como materia prima natural. En cuanto los aceites esenciales comerciales se usaron dos, por tanto el monto de usar esta materia prima sintética fue de 12 BsF ó 12000 Bs. El fijador sintético fue de 15 BsF ó 15000 Bs. Ahora bien tanto el agua destilada como el alcohol desmineralizado tienen un costo de 10 BsF y 20 BsF respectivamente.

Para poder aplicar la técnica de fluido supercrítico, se requiere de un equipo costoso y delicado que mencionamos y describimos en capítulos anteriores, y éste requiere de dos componentes fundamentales para su funcionamiento como lo es el CO₂, cuya bombona cuesta 80 BsF. (con una bombona es suficiente para producir el producto).Y dos galones de refrigerante que cuesta cada uno (25 BsF).

La suma total del precio neto del perfume resultò ser de: 180 BsF. Tomando en cuenta el costo por el conocimiento que se debe tener para poder manipular el equipo, el tiempo empleado y la mano de obra en general el precio venta del producto será de 200 BsF. Este monto se encuentra dentro del rango de precio, por tanto se puede apreciar que la inversión a realizar realmente se justifica, ya que el precio concuerda con lo que la mayoría de personas estarían dispuestas a pagar para adquirir el producto, permitiendo recuperar la inversión en un corto plazo, luego de posicionar el producto en el mercado, como ya se mencionó antes, usando como herramienta una buena estrategia de mercadeo y publicidad.



Conociendo la densidad del perfume, la cual es de 0,8384g/mL se obtiene que 1Kg de producto equivale a aproximadamente 1,2 L, los cuales se distribuyen de la siguiente manera: 1,02 L de alcohol desmineralizado, 120 mL de agua destilada y 60 mL de la mezcla de aceites esenciales, de los cuales 24 mL son de esencias sintéticas y 36 mL son de aceite esencial de limón. Partiendo de la premisa de que por cada extracción exhaustiva se obtienen 0,5 mL, es necesario realizar 72 extracciones, y conociendo que por cada $\frac{1}{2}$ saco de limones se puede obtener materia prima para aproximadamente 8 extracciones, se necesitan $4\frac{1}{2}$ sacos de limones que equivalen a 900 BsF. El resto de las materias primas solo se pueden adquirir por las cantidades antes mencionadas, las cuales son suficientes para obtener 1 Kg de perfume y conociendo que cada bombona dura para aproximadamente 10 extracciones, Dicho esto, el costo total de la materia prima es de: 1647BsF/Kg de producto. Estos análisis de costo no toman en cuenta el precio del equipo y del envase en el que fue presentado



V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En esta sección se dan a conocer las conclusiones a las que se llegaron con la realización de dicha investigación y la obtención de los resultados así como también una serie de sugerencias para el avance en cuanto a investigaciones futuras relacionadas al proceso de extracción evaluado.

CONCLUSIONES

1. La especie de limón más adecuada para la realización de una fragancia mediante el proceso de extracción supercrítica de aceite esencial de limón es el criollo.
2. De acuerdo al análisis estadístico la interacción que más afecta al proceso de obtención del extracto de limón es la interacción presión - tiempo estático.
3. Las condiciones de operación en base al porcentaje de citral, bajo las cuales el proceso de extracción supercrítica de extracto de limón es óptimo son: presión de 108,3 bar, un tiempo dinámico de 15 min y un tiempo estático de 18 min.
4. Un porcentaje de 50% de la población encuestada comprarían el perfume si se comercializara.
5. El agua de colonia sería adquirido comercialmente después de un tiempo de haber incursionado en el mercado.
6. El costo para elaborar 1Kg de perfume es de 1647BsF.
7. El costo de 100mL de perfume sería de 202,25BsF, incluyendo el costo del envase.



RECOMENDACIONES

1. Para fines de trabajos posteriores, cerciorarse que la materia prima a emplear se encuentre en su punto óptimo de maduración fisiológica, a través de expertos en la materia.
2. Con la finalidad de buscar una mayor área de contacto entre el fluido supercrítico y la materia prima se sugiere experimentar con una muestra preparada a través de un proceso de reducción de tamaño más fino.
3. Emplear en el momento de recolección del extracto, una trampa de nitrógeno líquido de manera que asegure que la temperatura a la cual está expuesta el envase recolector se encuentre por debajo de $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$.
4. Realizar el estudio cromatográfico empleando varios patrones, con la finalidad de identificar un mayor número de compuestos en base al tiempo de retención de los mismos.
5. Adicionar una conexión entre el equipo de extracción supercrítica y el cromatógrafo de gases, que garantice un análisis inmediato del extracto obtenido.
6. Establecer relaciones con una empresa en el área de alimentos, para venderles el limón desconchado que sobra, con el fin de que pueda ser aprovechado como materia prima de otros procesos.



REFERENCIAS

- [1]. BANDONI Arnaldo. (2000). Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Editorial de la Universidad Nacional de la Plata. Primera Edición. Cytel. Argentina.
- [2]. BARRERO Y CARREÑO. (2000). Evaluación de los aceites esenciales de la cúrcuma cultivada en Venezuela. Revista Agronomía Tropical. Vol. 50. N° 1. Pág. 67-81.
- [3]. BRUNNER, G. (2005). Supercritical fluids: technology and application to food processing, Journal of Food Engineering. Pág. 21-33
- [4]. GUENTHER, Ernest, Ph. D. (1949). The essential oils. Volumen two. The constituents of essential oils. D. Van Nostrand Company, Inc. Toronto, Canadá. Instituto de Investigaciones Científicas (IVIC), Venezuela.
- [5]. MARÍN, J. y OJEDA, M. (2005). Desarrollo de un proceso de extracción de aceite esencial de Clavel de la India (*Tabernaemontana divaricata*) con dióxido de carbono (CO₂) supercrítico para la producción de fragancias. Trabajo especial de grado no publicado. Universidad de Carabobo. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Valencia, Venezuela.
- [6]. MONTGOMERY, Douglas C. y RUNGER, George C. (1996). Probabilidad y estadística aplicadas a la ingeniería. Editorial Mc Graw – Hill. 1era. Edición. México D.F.
- [7]. OZKAL, S.; SALGIN, U. y YENER, M. (2005). Supercritical carbon dioxide extraction of hazelnut oil. Journal of Food Engineering. Vol. 69. Pág. 217-223.
- [8]. PÉREZ, C y TORRES, L. (2005). Lineamientos metodológicos para la redacción y elaboración de plan de trabajo. Universidad de Carabobo. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Valencia, Venezuela.
- [9]. ALVAREZ, D. y MEDINA, N. (2008). Evaluación del proceso de extracción de aceite esencial de Mango (*Mangifera indica L.*) empleando dióxido de carbono (CO₂) supercrítico. Trabajo especial de grado no publicado. Universidad de Carabobo. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química. Valencia, Venezuela.



- [10]. CHAVEZ, S. y RIVAS, M. (2003). Desarrollo de un repelente para insectos a base del aceite esencial de limón. Trabajo especial de grado no publicado. Facultad de Ingeniería. Universidad de Carabobo. Valencia, Venezuela.
- [11]. SEIED M., MAHDI P. (2007) Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. [Journal of Chromatography A Volume 1163, Issues 1-2](#), 7 September 2007, Pages 2-24 [Documento en línea]. Disponible: <http://www.sciencedirect.com/science>. [Consulta: 2008, Junio 5].
- [12]. DEL VALLE J. M., DE LA FUENTE J. C. (2006). Supercritical CO₂ extraction of oilseeds: review of kinetic and equilibrium models. [Crit Rev Food Sci Nutr](#). 2006; [Documento en línea]. Disponible: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> [Consulta: 2008, Junio 5].
- [13]. FRANCHESCHI E., y otros C. (2004). Phase behavior of lemon and bergamot peel oils in supercritical CO₂. [Fluid Phase Equilibria Volume 226](#), 10 December 2004, Pages:1-8 [Documento en línea]. Disponible: <http://www.sciencedirect.com/science>. [Consulta: 2008, Junio 6].
- [14]. SAWAMURA, M. y otros (2004). Compositional changes in commercial lemon essential oil for aromatherapy. [International Journal of Aromatherapy Volume 14, Issue 1](#), 2004, Pages 27-36 [Documento en línea]. Disponible: <http://www.sciencedirect.com/science>. [Consulta: 2008, Junio 6].
- [15]. Solo vegetales. El limón, historia y propiedades. [Artículo en línea]. Disponible: <http://www.solovegetales.com/ver-articulo.asp?id=49>. [Consulta: 2007, Junio 4].
- [16]. (2001). Aromavital, Essential Oils. [Artículo en línea]. Disponible: <http://www.aromavital.com/index.html>. [Consulta: 2009, Febrero 20].
- [17]. (2006). Alternative Medicine; How to make an Energizing Essential Oil Blend. [Artículo en línea]. Disponible: <http://www.altmedicine.about.com/od/massagetherapy2/ht/essentialenergy.htm> [Consulta: 2009, Marzo 9].
- [18]. (2001). Aromaterapia; Salud y Belleza. [Artículo en línea]. Disponible: <http://www.flissbis.com/aroma/definicion.html>. [Consulta: 2009, Marzo 9].



- [19]. CAIRO Mariangel. (2003). Aceite esencial a partir de la corteza de limón (citrus limonium). [Documento en línea]. Disponible: www.monografias.com/trabajos12/aceitesc/aceitesc.shtml. [Consulta: 2009 Febrero, 20]
- [20]. Biblioteca Digital de la Universidad de Chile. Sistema de Servicios de Información y Bibliotecas (SISIB). [Documento en línea]. Disponible: <http://mazinger.sisib.uchile.cl>. [Consulta: 2009, Febrero 20]
- [21]. JUDD, W.S y otros (2002). Secondary Plants Compounds. Plant Systematic: A Phylogenetic Approach. Capitulo 4, 2nd Edición. Sinawer Axxoc, Estados Unidos.
- [22]. ROTHE Farbos J., (1985) Contribución al estudio de los aceites esenciales de la corteza de los frutos de algunas variedades de Citrus cultivados Tercera Conferencia Interamericana de Agricultura, Caracas.
- [23]. BRUZONE, Alfredo, (2002). Aceite Esencial de Limón, Análisis de Cadena Alimenticia. Subsecretaria de Política Agropecuaria y Alimentos Dirección Nacional de Alimentación, Ministerio de Economía. Buenos Aires, República Argentina.
- [24]. Historia de los Perfumes. [Documento en línea]. Disponible: <http://www.bellezaysalud.biz/d-perfumes.html>. [Consulta: 2009, Febrero 20]
- [25]. WITTEN, Steven y NAGTEGAAL, Stefan (2007). Super Critics Fluids Extraction. [Documento en línea]. <http://labquimica.wordpress.com/tag/fluido-supercritico/>. [Consulta: 2009, Febrero 20].
- [26]. MAROTO, Estrella (2002). Extracción con fluidos supercríticos y fraccionamiento selectivo de licopeno y otros carotenoides a partir de fuentes naturales (CSIC AGRO017). Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Oficina de Transferencia de Tecnología. Madrid, España.
- [27]. Kleinck Productions. Los mejores perfumes de mujer (2000). [Artículo en línea]. Disponible: <http://kleinck.iespana.es/kleinck/perfumesm.htm>. [Consulta: 2009, Febrero 20].



-
- [28]. BURR, Chandler (2003). The Emperor of Scent: A Story of Perfume, Obsession and the Last Mystery of the Senses. New York, USA. [Artículo en línea]. Disponible: <http://en.wikipedia.org/wiki/perfume>. [Consulta: 2009, Marzo 09].
- [29]. LOWRY, Richard (1998). Analysis of Variance. Poughkeepsie, NY, USA. [Documento en línea]. Disponible: <http://es.wikipedia.org/wiki/ANOVA>. [Consulta: 2009, Marzo 09].
- [30]. GARDELLIN, Gabriela, Test del producto y/o servicio. Medellín, Colombia. [Artículo en línea]. Disponible: http://encuestasprofesionales.com/encuestas%20empresas_producto.html. [Consulta: 2009, Marzo 09].
- [31]. STATGRAPHICS Plus versión 5.1 Software estadístico.
- [32]. Andes Export Company S.A, compañía Colombiana de propiedad Europea. [Artículo en línea]. Disponible: www.andesexport.com
- [33]. SANCHEZ, Francisco (2006). Extracción de aceites esenciales, experiencia colombiana. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C. [Documento en línea]. Disponible: <http://sisav.valledelcauca.gov.co>
- [34]. MUKHOPADHYAY, Mamata (2000). Extractos naturales usando dióxido de carbono supercrítico. Pág. 11. Editorial CRC Press. Boca Ratón, Florida.
- [35]. SZÉKELY, Edit (2007) [Supercritical Fluid Extraction](http://sunny.vemt.bme.hu/sfe/angol/supercritical.html) . [Documento en línea]. Disponible: <http://sunny.vemt.bme.hu/sfe/angol/supercritical.html>
- [36]. Diccionario enciclopédico popular ilustrado Salvat (1906-1914)
- [37]. MCMURRY, J (2006). Química Orgánica (6ta edición). Pags. 197-198, 1036-11037.



APÉNDICE A. CÁLCULOS TÍPICOS

En esta sección se presentan los modelos matemáticos utilizados para el desarrollo y logro de los objetivos planteados en el presente trabajo especial de grado, así como también los cálculos típicos involucrados en la determinación de las propiedades fisicoquímicas y en el análisis estadístico.

A. Determinación del cálculo de cada uno de los factores reflejados en el análisis de varianza (ANOVA, ver tabla 4.10) arrojado por el software estadístico STAT GRAPHICS PLUS versión 5.1.

Para los siguientes cálculos se tomó como ejemplo representativo el factor A: Presión.

A.1 Cálculo de la suma de cuadrados (SS_A).

Representa la variabilidad total de los datos. Se determina mediante la siguiente ecuación:

$$SS_A = \frac{(\text{Contraste}_A)^2}{2^k * n} \quad (1)$$

Donde:

Contraste_A : respuesta total de cada una de las combinaciones de factores.

k : número de factores.

n : número de observaciones por efecto.

A.1.1. Cálculo del contraste.

$$\text{Contraste}_A = [a + ab + ac + abc - (I) - b - c - bc] \quad (2)$$

Donde:

(I) , a , b , ab , c , ac , bc y abc : representan el total de todas las n observaciones en cada una de las ocho (8) corridas en el diseño experimental.

Por lo tanto:



$$\text{Contraste}_A = [0,0329 + 0,0241 + 0,2527 + 0,008 - (0,0021) - 0,6215 - 0,3976 - 0,3633] = -1.0668$$

Sustituyen en la ecuación (V):

$$SS_A = \frac{(-1.0668)^2}{2^3 * 2} = 0,0711$$

A.1.2. Cálculo de los grados de libertad (GL).

Se determina restándole la unidad al número de niveles mediante la siguiente ecuación:

$$GL = a - 1 \quad (3)$$

Donde:

a: cantidad de niveles del factor A.

Por lo tanto:

$$GL = 2 - 1 = 1$$

A.1.3. Cálculo de la media de cuadrados (MS_A).

Representa la relación entre la suma de cuadrados de los factores y los grados de libertad. Se determina mediante la siguiente ecuación.

$$MS_A = \frac{SS_A}{a - 1} \quad (4)$$

Sustituyen los valores correspondientes:

$$MS_A = \frac{0,0711}{1} = 0,0711$$

A.1.4. Cálculo del error cuadrático medio (MS_E).

Se determina mediante la siguiente ecuación.

$$MS_E = \frac{SS_E}{a * b * c(n - 1)} \quad (5)$$



Donde:

SS_E : Suma de cuadrados del error cuadrático.

b : cantidad de niveles del factor B.

c : cantidad de niveles del factor C.

Sustituyen los valores correspondientes:

$$MS_E = \frac{0,4708}{2 * 2 * 2(2-1)} = 0,0588$$

A.1.5. Cálculo del factor de Fisher (F_0).

Representa el grado de significancia del factor en estudio y se determina mediante la siguiente ecuación:

$$F_0 = \frac{MS_A}{MS_E} \quad (6)$$

Sustituyen los valores calculados anteriormente:

$$F_0 = \frac{0,0711}{0,0588} = 1,21$$

A.2 Cálculo del rendimiento de la extracción con fluido supercrítico.

Para ello se utiliza la siguiente ecuación:

$$\%Rend = \left(\frac{m_{EE} - m_{EV}}{m_M} \right) \times 100 \quad (7)$$

Donde:

$\%Rend$: Porcentaje de rendimiento de la extracción (%).

m_{EV} : Masa del envase recolector vacío (g).

m_{EE} : Masa del envase recolector con el extracto (g).

m_M : Masa de la muestra (g).

Sustituyendo los valores en la ecuación (XI), se tiene:



$$\%Rend = \left(\frac{29,0027 - 28,7636}{80,2591} \right) \times 100$$

$$\%Rend = 0,2979\%$$

Buscando el error del valor, por derivadas fraccionadas:

$$\Delta \%Rend = \left| \frac{\partial \%Rend}{\partial m_{EV}} \right| \cdot \Delta m_{EV} + \left| \frac{\partial \%Rend}{\partial m_{EE}} \right| \cdot \Delta m_{EE} + \left| \frac{\partial \%Rend}{\partial m_M} \right| \cdot \Delta m_M$$

Derivando la ecuación:

$$\Delta \%Rend = \left| \frac{-1}{m_M} \times 100 \right| \cdot \Delta m_{EV} + \left| \frac{1}{m_M} \times 100 \right| \cdot \Delta m_{EE} + \left| \frac{-(m_{EE} - m_{EV})}{m_M^2} \times 100 \right| \cdot \Delta m_M$$

Sustituyendo los valores se tiene:

$$\begin{aligned} \Delta \%Rend &= \left| \frac{-1}{80,2591} \times 100 \right| \cdot 0,0001 + \left| \frac{1}{80,2591} \times 100 \right| \cdot 0,0001 \\ &\quad + \left| \frac{-(29,0027 - 28,7636)}{80,2591^2} \times 100 \right| \cdot 0,0001 \\ \Delta \%Rend &= 0,000243 \approx 0,0002 \end{aligned}$$

De esta manera, el valor de rendimiento queda reportado de la siguiente manera

$$\%Rend = (0,2980 \pm 0,0002)\%$$

A.3 Cálculo de la masa recolectada en la corrida exhaustiva.

Se utiliza la siguiente ecuación:

$$m_{REC} = m_{EE} - m_{EV} \quad (8)$$



Donde:

m_{REC} : Masa de extracto recolectada (g).

m_{EV} : Masa del envase recolector vacío (g).

m_{EE} : Masa del envase recolector con el extracto (g).

Sustituyendo los valores de las variables correspondientes, se obtiene:

$$m_{REC} = 28,7131 - 28,6351$$

$$m_{REC} = 0,0780g$$

Buscando el error de la masa de extracto recolectada.

$$\Delta m_{REC} = \Delta m_{EE} + \Delta m_{EV}$$

$$\Delta m_{REC} = 0,0001 + 0,0001 = 0,0002$$

Por tanto, el valor se reporta, de la siguiente manera:

$$m_{REC} = (0,0780 \pm 0,0002)g$$

A.4 Cálculo de la masa total recolectada.

$$m_{Total} = \sum_{i=1}^{10} m_{REC_i} \quad (9)$$

Donde:

m_{Total} : masa total de extracto recolectada, (g)

Sustituyendo los datos, se tiene:

$$m_{Total} = 0,4517g$$

Buscando el error del valor obtenido.

$$\Delta m_{Total} = \sum_{i=1}^{10} \Delta m_{REC_i} = 0,002$$

De esta manera se reporta el valor:

$$m_{REC} = (0,452 \pm 0,002)$$



APÉNDICE B. TABLAS Y FIGURAS BIBLIOGRÁFICAS

En esta sección se presentan las tablas y figuras bibliográficas que sirvieron de apoyo y sustento en la investigación [6]

$\int_{0.05, v_1, v_2}$		Grados de libertad del numerador (v_1)																			Grados de libertad del denominador (v_2)	
v_1	v_2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞	v_1	v_2
1	1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0	249.1	250.1	251.1	252.2	253.3	254.3	1	1
2	1	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50	2	1
3	1	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53	3	1
4	1	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63	4	1
5	1	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.36	5	1
6	1	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67	6	1
7	1	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23	7	1
8	1	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93	8	1
9	1	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71	9	1
10	1	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54	10	1
11	1	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40	11	1
12	1	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30	12	1
13	1	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21	13	1
14	1	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13	14	1
15	1	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07	15	1
16	1	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01	16	1
17	1	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.06	2.02	1.97	17	1
18	1	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.98	1.93	18	1
19	1	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.94	1.88	19	1
20	1	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84	20	1
21	1	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81	21	1
22	1	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78	22	1
23	1	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76	23	1
24	1	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73	24	1
25	1	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71	25	1
26	1	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69	26	1
27	1	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.73	1.67	27	1
28	1	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.82	1.77	1.71	1.65	28	1
29	1	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64	29	1
30	1	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62	30	1
40	1	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51	40	1
60	1	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.59	1.53	1.47	1.39	60	1
120	1	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.50	1.43	1.35	1.25	120	1
∞	1	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00	∞	1



APENDÍCE C. ENCUESTA

En esta sección se presenta la encuesta realizada, que ayudo a determinar la aceptación del producto.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA



1. Datos personales:

Edad: 18-25: ____ 26-35: ____ 36-45: ____ 45+: ____

Sexo ____

2. ¿Usa perfumes o fragancias?

Si ____

No ____

3. ¿Qué tipo de perfume normalmente usa?

a). Florales ____

b). Orientales (sándalo, ámbar) ____

c). Cítricos ____

d). Gourmet (vainilla, chocolate) ____

e). Frutales ____

f). Frescos (notas marinas, de hierbas) ____

4. ¿Cómo evaluaría el aroma del perfume presentado del 1 al 5? (siendo 1 “nada agradable”, 5 “muy agradable”)

Fragancia A

1 ____

2 ____

3 ____

4 ____

5 ____

Fragancia B

1 ____

2 ____

3 ____

4 ____

5 ____

Fragancia C

1 ____

2 ____

3 ____

4 ____

5 ____

5. Partiendo de la base que el precio de este producto le pareciera aceptable... ¿qué probabilidad hay de que lo compre?

1. Lo compraría en cuanto estuviese en el mercado ____

2. Lo compraría en un tiempo ____



-
3. Puede que lo comprase en un tiempo _____
4. No creo que lo comprase _____
5. No lo compraría _____

6. ¿Cuál de las siguientes presentaciones estaría dispuesto a adquirir?

50mL _____ 80mL _____ 100mL _____ 120mL _____ 200mL _____

7. ¿Qué monto estaría dispuesto a pagar?

-150BsF-200BsF _____

200.01-250BsF _____

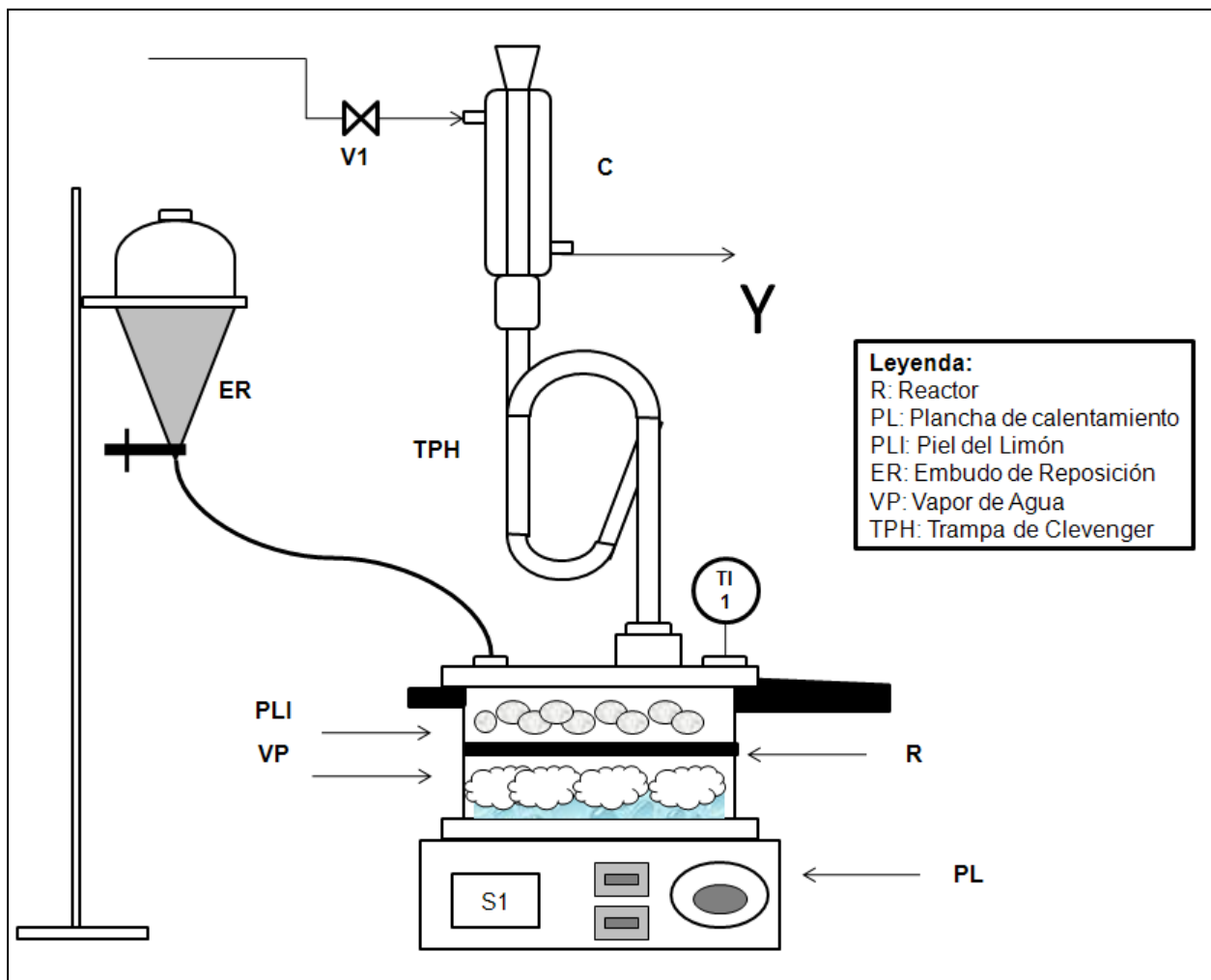
250.01-450BsF _____

450.01BsF+ _____



APENDICE D: DIGRAMAS FLUJO DE PROCESOS DE EXTRACCION

Esta sección muestra el diagrama de flujo de la extracción por arrastre de vapor, de manera de ilustrar el proceso.



Apendice D.1. Diagrama de flujo la destilación por arrastre de vapor.



ANEXOS

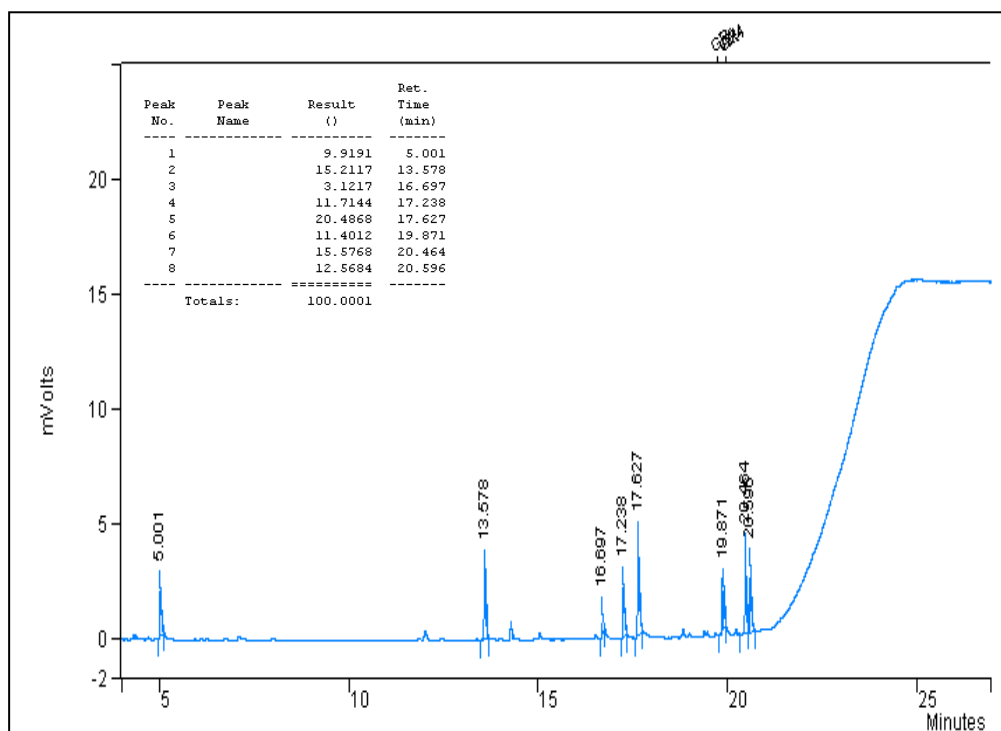


Figura 1. Cromatograma de la muestra 7 de la réplica para el diseño factorial 2^3

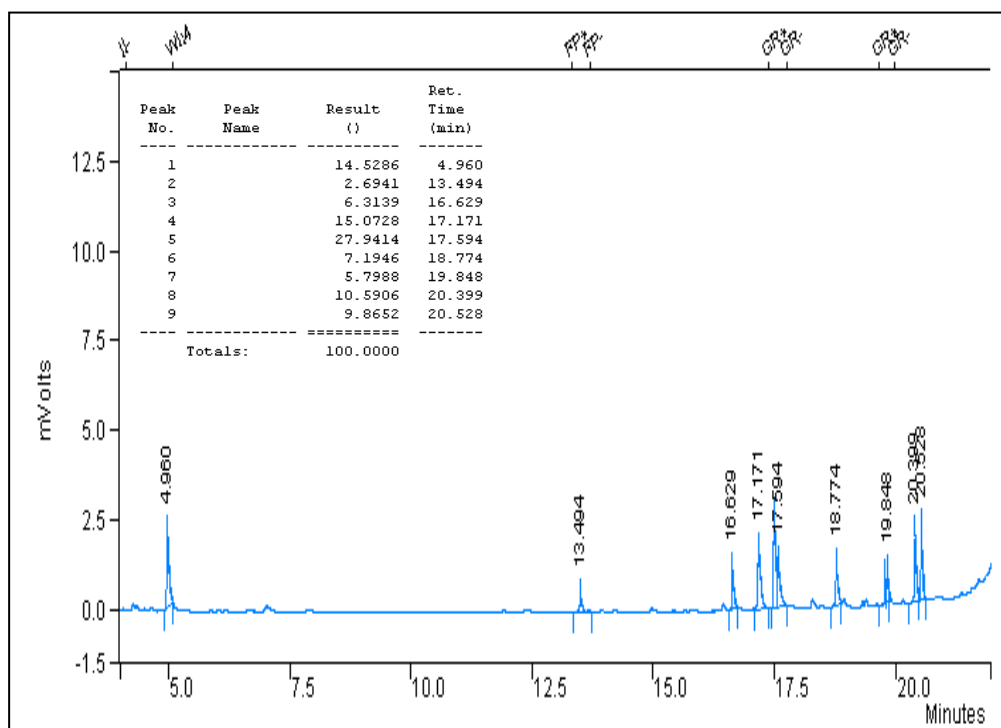


Figura 2. Cromatograma de la muestra 5 para el diseño factorial 3^2