



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA



**EVALUACIÓN DE DOS PROCESOS DIFERENTES DE EXTRACCIÓN PARA LA  
OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MANGO (*MANGIFERA INDICA L.*) TIPO  
HADEN**

**Tutor Académico:**

Prof. Daniel Arias

**Autores:**

Br. DARIANA, Devies

Br. HEYRANGIS, Guzmán

Valencia, junio 2012



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA



**EVALUACIÓN DE DOS PROCESOS DIFERENTES DE EXTRACCIÓN PARA LA  
OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MANGO (*MANGIFERA INDICA L.*) TIPO  
HADEN**

*(TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO A LA ILUSTRE UNIVERSIDAD DE  
CARABOBO PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO)*

**Tutor Académico:**

Prof. Daniel Arias

**Autores:**

Br. DARIANA, Devies

Br. HEYRANGIS, Guzmán

Valencia, junio 2012



*Agradecimientos*

*Primeramente le doy las gracias a Dios Todopoderoso por regalarme la vida, guiar mis pasos, ayudarme en cada momento de angustia y ser mi fortaleza en todas mis debilidades. Todo lo que tengo es por tu misericordia, la gloria y honra sea para ti mi Señor!*

*A mi bella y hermosísima madre, por todo el amor, dedicación, comprensión y apoyo que me ha brindado en toda mi vida y en estos añitos de uni que estuvimos lejos. Gracias mami linda eres la mejor mamá del mundo... Te Amo!!*

*A mi bello padre por confiar en mí, ayudarme en cada momento, apoyarme en las dificultades y esforzarse por brindarme siempre lo mejor. Este logro también es tuyo papi.. Te Amo!!*

*A mis bellas hermanas Floranllis y Heidís por estar siempre apoyándome y ayudándome en todo, las Amo!*

*A mis sobrinos Dairangis, José Gregorio, Michell y Moisés por compartir cada momento a mi lado, alegrarme y entenderme cuando lo necesitaba. Los Amo!*

*A mi cuñado Daniel, mi hermana Nakari y mi amigo Wilman por todo su apoyo incondicional.*

*A mi tía Zenovia y mi prima Ma. Jesús por ayudarme y estar pendiente siempre de mí.*

*A mis pastores Douglas y Ana por guiarme, aconsejarme, ayudarme y entenderme siempre.*

*A mi bella amiga y compañera de cuarto Danyela por escucharme, entenderme y apoyarme siempre.*

*A mi amiga y compañerita de tesis Dariana, porque sin su esfuerzo, paciencia y dedicación no hubiese sido posible este logro. Lo logramos pequeña!*

*A mis amigos Rosmy, Ama, Guama, Pedro, Julio, Moisés, Vanessa, Karina, Eimy, Jessica, Solibella, María y Joan, por hacerme vivir momentos inolvidables, me llevo un pedacito de uds en mi corazón.*

*A mi tutora Germania Marquina y a mi tutor Daniel Arias por su tiempo, dedicación y ayuda incondicional.*

*Al prof. Carlos Alvarado por su ayuda y atención brindada.*

*A Bari Agüero, Eliana Pérez y Rafael Pargas por su colaboración prestada.*

*A todas aquellas personas que de una u otra forma han estado en los momentos difíciles para darme una mano amiga, un consejo, cariño y su amistad.*



*Dedicatoria*

*Este logro se lo dedico principalmente a mi único Dios y Señor, Él es el principio de la sabiduría, todo lo que tengo y lo que soy es gracias a Él.*

*A mis bellos padres, Zaida Graterol y José Félix Guzmán, por estar presente en los momentos importantes de mi vida, apoyarme, escucharme, guiarme y siempre estar allí para entenderme y ofrecerme lo mejor.*

*A mis hermanas Floranllis y Heidis por darme su gran apoyo incondicional y estar siempre presente para darme la mano cuando los necesite y brindarme apoyo, cariño y amor.*

*A mis sobrinos Dairangis, José Gregorio, Michell y Moisés por ser la alegría y esperanza que me recibía y me motivaba cada semana a seguir adelante.*

*A mi cuñado Daniel por ayudarme siempre y poner un granito de arena para que este logro se convirtiera en realidad.*

*A mi familia en Cristo por entenderme, ayudarme y por sus oraciones de continuo por mi.*

*A mi Universidad de Carabobo por brindarme la oportunidad de aprender, vivir, crecer y formarme como profesional.*

*Heyrangis Guzmán*



## Agradecimientos

---

### *Agradecimientos*

*Quiero agradecer en primer lugar a Dios, que nos ha conservado con vida, con salud, que nos dio sabiduría y nos ha guiado y cuidado hasta hoy para alcanzar este triunfo! También por haberme permitido conocer a Hey para realizar este trabajo juntas, mejor compañera no hubiera encontrado.*

*A mis adorados padres Dominga y Darío, gracias por ser mi apoyo incondicional, por su amor y cariño, sus consejos para ayudarme a ser una persona mejor cada día!! Detrás de este logro están ustedes, gracias por haberme dado la oportunidad de realizar este sueño. Los amo con todo mi corazón!.*

*A mis hermanos: Rubén, por todos los momentos y alegrías que hemos compartido; Rey, mi pequeño nariz de papa, por tu cariño y tus elocuencias que hacen alegrar mi vida. Este logro es por ustedes!!!*

*A Federico por ser parte de mi vida, por estar ahí en los buenos y malos momentos aconsejándome siempre, dándome ánimos y por la paciencia que tuviste en los momentos más difíciles, Te Amo muchísimo!!*

*A mi excelente amiga y compañera de tesis Heyrangis, por tener el entusiasmo y estar siempre dispuesta a seguir adelante a pesar de todos los inconvenientes que se nos presentaron, te quiero mucho!!!*

*A Rafael Pargas, por facilitarnos los mangos Haden que sirvieron para la realización de este trabajo.*

*A Germania Marquina porque siempre estuvo disponible para ayudarnos, guiarnos y apoyarnos en todo momento. Aprendí mucho de usted.*

*A Daniel Arias, gracias por haber aceptado con gusto dirigir este trabajo, por estar siempre atento y servicial a cualquier duda.*

*A Carlos Alvarado, por ayudarnos y brindarnos parte de su valioso tiempo aclarándonos dudas para la elaboración de este trabajo.*

*A mi amigo Barí Agüero y Eliana Pérez, estoy muy agradecida por su colaboración desinteresada.*

*A mis amigos: Ricardo, Alberto, Rosmary, Gonzalo, Andreína, Keyra, Amarilis, Guama, Joan, Jessica, María, Edgar, Maiglet, Armeliz, Carlos, Hector, Samu, Daniel, Carolina, Nestor, Ma. Carolina, Enrique; porque con ustedes me reí bastante y compartí gratos momentos. Los aprecio muchísimo!*

*A la Universidad de Carabobo por ser mi casa de estudios durante toda la carrera y darme todas las facilidades para crecer.*

*Dariana Devies*



*Dedicatoria*

*Dedicado a Dios, el cual fue mi guía para tomar cualquier decisión, me dio salud, esperanza, motivación y colocó en mi camino a las personas correctas, en el lugar correcto y en el tiempo perfecto para poder alcanzar este sueño.*

*A mi mami bella, excelente mujer que con mucho cariño, amor, comprensión y sabiduría me dirigió a este camino, por todos los consejos que me dio desde que yo era pequeña, recuerdo cada frase como si fuera ayer, y lo logré mami gracias a ti!! Te Amo muchísimo!*

*A mi padre, por su dedicación, esfuerzo, comprensión, ser mi apoyo incondicional, y por siempre creer en mí. Sin ti no fuera sido posible! Te Amo muchísimo!*

*A mis hermanos Ruben, Rey y mi novio bello Federico, los amo demasiado!*

*A mis primas Katerly, Indira, Coli, Laudy, Lisette; y primos Williams, Carmelo, Vincenzo, los quiero mucho.*

*A mi tía Chilo, Enzo, y a toda mi familia por estar ahí cuando mas lo necesité, por su colaboración y solidaridad.*

*Dariana Devies*



## RESUMEN

El trabajo que se presenta a continuación se realiza con el objetivo de evaluar el proceso de extracción de aceite esencial de la pulpa de mango (*Mangifera indica L.*) tipo Haden, mediante la aplicación de dos técnicas de extracción, conocidas como Extracción con Fluidos Supercríticos (EFSC) y el método de Extracción-Destilación Simultánea (EDS) de Likens y Nickerson (1964), permitiendo a su vez comparar ambos procesos tomando como punto de comparación el porcentaje de área de  $\delta$ -3-careno presente en el aceite extraído.

Para cada uno de ellos se estableció un estudio a través de un diseño experimental factorial  $2^3$ , para determinar las variables más influyentes del proceso y así lograr una mejor calidad a través de un modelo estadístico denominado superficie de respuesta.

En la extracción supercrítica las variables manipuladas durante el proceso fueron: presión de operación (bar), tiempo estático (min) y tiempo dinámico (min). Los resultados obtenidos no fueron satisfactorios, ya que la masa del extracto no fue significativa y al caracterizarlo por cromatografía de gases con espectrometría de masas (GC-MS), el porcentaje de  $\delta$ -3-Careno en el mismo fue igual a cero; impidiendo así la selección del rango adecuado de operación, y por ende la realización del diseño de experimentos  $2^3$  y la superficie de respuesta.

En la extracción-destilación simultánea se empleó el equipo de vidrio (original de Likens y Nickerson), donde las variables manipuladas fueron: volumen de agua destilada (mL), volumen de solvente (mL) y tiempo de extracción (min).

Las condiciones óptimas arrojadas por la superficie de respuesta para la EDS fueron: 18 mL de solvente extractor en 58 min de extracción, para un volumen de agua destilada igual a 300mL; el aceite obtenido, fue caracterizado por GC-MS, identificándose los componentes del mismo, siendo el  $\delta$ -3-Careno el componente mayoritario (84,95%).

El aceite obtenido por la EDS se utilizó como componente para la elaboración de un perfume; demostrando así su aplicabilidad en el área cosmetológica.

**ÍNDICE GENERAL**

	<b>Página</b>
Introducción	1
<hr/> <b><i>CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</i></b> <hr/>	
1.1. Descripción del problema	3
1.2. Formulación del problema	5
1.2.1. Situación actual	5
1.2.2. Situación deseada	6
1.3. Objetivos	6
1.3.1.    Objetivo general	6
1.3.2.    Objetivos específicos	6
1.4. Justificación	7
1.5. Limitaciones	7
<hr/> <b><i>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO</i></b> <hr/>	
2.1. Antecedentes	9
2.2. Bases teóricas	15
2.2.1.    Mango	15
2.2.1.1.    Descripción botánica	15
2.2.1.2.    Variedades de mango	16
2.2.1.3.    Propiedades fisicoquímicas y nutricionales	16
2.2.1.4.    Usos	18
2.2.1.5.    Producción	19
2.2.2.    Aceite esencial	20
2.2.2.1.    Clasificación de los aceites esenciales	21
2.2.2.2.    Monoterpenos y sesquiterpenos	21
2.2.2.3. $\delta$ -3-Careno	22
2.2.3.    Destilación y extracción simultáneas (Método de Likens y Nickerson)	23
2.2.3.1.    Ventajas del método	24
2.2.4.    Rotaevaporador	24
2.2.5.    Extracción por medio de fluidos supercríticos	26



---

2.2.5.1.	Etapas de la extracción con fluidos supercríticos	27
2.2.5.2.	Ventajas del uso de fluidos supercríticos	28
2.2.5.3.	Desventajas del uso de fluidos supercríticos	28
2.2.5.4.	CO <sub>2</sub> supercrítico	28
2.2.6.	Cromatografía de gas y espectrometría de masa	29
2.2.7.	Diseño de experimentos	31
2.2.7.1.	Experimentos 2 <sup>k</sup> factoriales	31
2.2.8.	Análisis de varianza	32
2.2.9.	Superficie de respuesta	33
2.2.9.1.	Método de máxima pendiente en ascenso	33
2.2.9.2.	Diseños compuestos de respuestas de superficie	34
2.2.10.	Perfume	35
2.2.10.1.	Tipos de perfume	36

---

### ***CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO***

---

3.1.	Tipo de investigación	37
3.2.	Lugar de la investigación	37
3.3.	Materiales, equipos y reactivos	38
3.4.	Diseño de la investigación	38
3.5.	Desarrollo de la investigación	39
3.5.1.	Desarrollo de un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción con CO <sub>2</sub> supercrítico.	39
3.5.2.	Desarrollo de un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción del aceite esencial de la pulpa del mango Haden utilizando el método de extracción-destilación simultánea (EDS).	45
3.5.3.	Caracterización del aceite esencial obtenido en la extracción de ambos métodos mediante análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masa, con el fin de conocer sus componentes.	49
3.5.4.	Comparación de la calidad del producto obtenido para establecer el mejor método de extracción.	50



---

3.5.5. Desarrollo de una fragancia usando el aceite esencial proveniente del método que proporcione la mejor calidad.	51
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

---

***CAPÍTULO IV. DISCUSIONES DE RESULTADOS***

---

4.1. Desarrollo de un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción con CO <sub>2</sub> supercrítico.	55
4.2. Desarrollo de un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción del aceite esencial de la pulpa del mango Haden utilizando el método de extracción-destilación simultánea (EDS).	58
4.3. Caracterización del aceite esencial obtenido en la extracción de ambos métodos mediante análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masa, con el fin de conocer sus componentes.	68
4.4. Comparación de la calidad del producto obtenido para establecer el mejor método de extracción.	70
4.5. Desarrollo de una fragancia usando el aceite esencial proveniente del método que proporcione la mejor calidad.	71

---

***CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES***

---

Conclusiones	75
Recomendaciones	76
Referencias Bibliográficas	77
<b>Apéndice A:</b> Tablas de resultados	85
<b>Apéndice B:</b> Cálculos Típicos	87
<b>Apéndice C:</b> Metodología de los Procesos de Extracción	91
<b>Apéndice D:</b> Tablas Bibliográficas	103

---



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
<hr/>	
<b><i>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO</i></b>	
<hr/>	
Tabla 2.1. Situación botánica del mango	15
Tabla 2.2. Propiedades fisicoquímicas del mango Haden	17
Tabla 2.3. Resumen de los componentes nutricionales característicos del mango	18
Tabla 2.4. Producción de mango en el mundo	20
Tabla 2.5. Propiedades del $\delta$ -3-careno	22
Tabla 2.6. Estudio simultáneo para un modelo experimental $2^3$	32
<hr/>	
<b><i>CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO</i></b>	
<hr/>	
Tabla 3.1. Condiciones de experimentación preliminares	41
Tabla 3.2. Condiciones establecidas para el diseño experimental	41
Tabla 3.3. Análisis de varianza para el modelo de tres factores	44
Tabla 3.4. Condiciones de experimentación preliminares en la Extracción-Destilación Simultánea	46
Tabla 3.5. Condiciones establecidas para el diseño experimental en la Extracción-Destilación Simultánea	47
Tabla 3.6. Porcentaje de concentración de la fragancia	52
<hr/>	
<b><i>CAPÍTULO IV. DISCUSIONES DE RESULTADOS</i></b>	
<hr/>	
Tabla 4.1. Resultados de la experimentación preliminar	57
Tabla 4.2. Condiciones establecidas para el diseño experimental en la Extracción-Destilación Simultánea	60
Tabla 4.3. Resultados de la Extracción-Destilación Simultánea	61
Tabla 4.4. Datos del total de las observaciones para cada uno de los factores estudiados	62
Tabla 4.5. Resultado de análisis de varianza para la calidad	63
Tabla 4.6. Desarrollo del diseño central compuesto para elaboración de la superficie de respuesta	66
Tabla 4.7. Condiciones óptimas de operación	67
Tabla 4.8. Compuestos volátiles identificados en el extracto obtenido por ambos métodos	70
<hr/>	



Tabla 4.9. Comparación de la calidad del aceite esencial extraído mediante ambos métodos de extracción 71

Tabla 4.10. Mejora sucesiva de la formulación del perfume 72

---

***APÉNDICE A. TABLAS DE DATOS***

---

Tabla A.1. Recolección de datos de la extracción preliminar (EDS) 85

Tabla A.2. Diseño factorial de la extracción-destilación simultánea 86

---

***APÉNDICE D. TABLAS BIBLIOGRÁFICAS***

---

Tabla D.1. Puntos porcentuales de la distribución F 103

---



## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<hr/>	
<b><i>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO</i></b>	
Figura 2.1. Morfología del mango	16
Figura 2.2. Monoterpenos	22
Figura 2.3. Sesquiterpenos	22
Figura 2.4. Estructura molecular del $\delta$ -3-careno	23
Figura 2.5. Equipo de extracción-destilación simultánea (Likens y Nickerson, 1964)	24
Figura 2.6. Rotaevaporador	25
Figura 2.7. Unidad de extracción de aceites esenciales	27
Figura 2.8. Diagrama de fases para dióxido de carbono puro. (Yépez, 2010)	29
<hr/>	
<b><i>CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO</i></b>	
Figura 3.1. Proceso de preparación de la pulpa de mango para la extracción del aceite esencial	40
Figura 3.2. Resumen del proceso de extracción con CO <sub>2</sub> supercrítico	43
Figura 3.3. Esquema de un instrumento CG/MS capilar típico	49
<hr/>	
<b><i>CAPÍTULO IV. DISCUSIONES DE RESULTADOS</i></b>	
Figura 4.1. Montaje de la EDS (Likens y Nickerson, 1964)	59
Figura 4.2. Recolección de los componentes volátiles en la interfase	59
Figura 4.3. Diagrama de Pareto estandarizado para la calidad	64
Figura 4.4. Tendencia de los efectos principales para la calidad	65
Figura 4.5. Tendencia de las interacciones entre las variables para la calidad	65
Figura 4.6. Superficie de respuesta estimada para la calidad en la Extracción-Destilación Simultánea	67
Figura 4.7. Cromatograma del aceite esencial extraído por EDS	69
<hr/>	
<b><i>APÉNDICE C</i></b>	
Figura C.1. Esquema del compresor de aire	91
Figura C.2. Esquema del baño recirculante	92
Figura C.3. Esquema del módulo de temperaturas	93



Figura C.4. Esquema de la parte frontal del módulo de la bomba	93
Figura C.5. Vistas laterales del SFE	94
Figura C.6. Esquema del relleno del envase	95
Figura C.7. Esquema inferior del SFE	96
Figura C.8. Localización de los orificios del envase de extracción	96
Figura C.9. Esquema de colocación de los recolectores en el módulo de control y colección	97
Figura C.10. Colocación de la tapa	100



## INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.), es una de las frutas tropicales más populares y de mayor importancia en Venezuela. Uno de los tipos de mango de gran popularidad y producción a nivel mundial, es el de tipo Haden (Gutiérrez, 2009). La pulpa contiene un sabor muy dulce, exótico y aromático; estas características sensoriales son generadas por el contenido de compuestos volátiles.

Los compuestos volátiles dentro de una especie pueden variar principalmente de una variedad a otra, esto también depende de factores tales como la región de cultivo, condiciones ambientales, etapa de madurez y condiciones de almacenamiento del fruto. Considerando lo anterior, con el presente estudio se espera contribuir en la comparación de dos métodos de extracción de compuestos volátiles en la pulpa de mango tipo Haden, con base en la identificación por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS).

Para alcanzar el propósito de esta investigación, se emplearon dos métodos de extracción de aceite esencial de la pulpa de mango Haden, los cuales son: CO<sub>2</sub> supercrítico y extracción-distilación simultánea. Para los cuales, se realizaron extracciones preliminares para así poder determinar las condiciones de extracción, y una vez establecidas estas condiciones se procedió a realizar el diseño experimental 2<sup>3</sup> con superficie de respuesta.

Para la determinación de compuestos volátiles en el mango, es útil usar cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS). Sin embargo, para el caso de EDS, es necesario previamente realizar la preparación de la muestra del extracto, mediante algún método de aislamiento (rotaevaporación), con el fin de obtener una muestra analítica concentrada y libre de sustancias que interfieran en el análisis.

Este trabajo de investigación está estructurado en cinco capítulos. El capítulo I, consta de la formulación del problema, la situación actual y deseada, la justificación de la realización de esta investigación, así como también los objetivos propuestos. En el capítulo II se presenta el marco teórico referencial donde se muestran las bases teóricas que sustentan este trabajo. El capítulo III



explica la metodología a seguir de manera detallada. En el capítulo V se analizan los resultados, para finalmente exponer las conclusiones y recomendaciones realizadas que puedan ser usadas en estudios posteriores.



## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

*En la siguiente sección se presenta el planteamiento del problema, se describe la situación actual, la situación deseada y la justificación de la investigación, así como sus limitaciones y alcances.*

#### 1.1. Descripción del problema

La presente investigación se realizó en el Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) el cual es un centro adscrito a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Carabobo ubicado en la localidad de Bárbula del Edo. Carabobo, allí se desarrollan diferentes tipos de investigaciones entre las cuales se encuentran la extracción y caracterización de aceites esenciales a partir de productos naturales por diferentes métodos; además se contó con el uso del Laboratorio de Petróleo Hidrocarburos y Derivados (PHD) de la Facultad de Ciencias y Tecnología (FACYT) de la Universidad de Carabobo.

Hoy en día es importante la variedad de aceites esenciales por su carácter aromático, siendo éstos básicamente, extractos de flores, plantas, semillas, hojas, tallos, cortezas y frutos. Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes), (Aceites Esenciales, 2011).

Una de las frutas de mayor importancia en Venezuela es el mango, ésta es una de las frutas tropicales más populares y conocidas, siendo su nombre científico *Mangifera Indica L.*, es una de las frutas de mayor variedad y consumo fresco en el mundo. Ésta es originaria de la India, y su producción se extiende a lo largo de la franja intertropical, habiendo sido introducido a Venezuela en 1842 desde las Antillas, probablemente de Barbados o Jamaica en 1782,



extendiéndose por todo el territorio nacional dada su adaptabilidad a las condiciones agroclimáticas predominantes (Meléndez *et al.*, 1999).

La fruta en sus diversos tipos, presenta un tamaño mediano (pesando un promedio entre 200 y 800g) con una piel verde, la cual se torna amarilla o ligeramente roja cuando está madura; la piel no es consumida y la semilla central está rodeada de pulpa la cual es comestible y posee un delicioso sabor (Macleod y González, 1981).

Uno de los tipos de mango (*Mangifera Indica L.*) de mayor importancia, popularidad y gran producción a nivel mundial, es el de tipo Haden (Gutiérrez, 2009), esta gran producción condujo a la realización de estudios sobre los componentes volátiles responsables del aroma y del atractivo sabor; estos estudios fueron llevados a cabo por Gholap y Bandyopadhyay (1984), donde un gran rango de componentes fueron identificados incluyendo ésteres, lactonas, mono y sesquiterpenos. El mango produce una pequeña cantidad relativa de aroma volátil (60  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de fruta fresca) menos que las obtenidas por muchas frutas tropicales similares. Los hidrocarburos terpenos contribuyen en un 59% y cuatro sesquiterpenos contribuyen en un 14%. Entre los constituyentes importantes se encuentran el  $\alpha$ -pineno,  $\delta$ -3-careno, limoneno,  $\gamma$ -terpineno,  $\alpha$ -humuleno,  $\beta$ -sileneno, acetofenona, benzaldehído y dimetilestireno, siendo el  $\delta$ -3-careno el mayor constituyente con un 26% (Macleod y González, 1982).

El mango (*Mangifera Indica L.*) prefiere clima cálido y seco, en Venezuela se encuentra desde la zona costera del oriente, centro y occidente del país hasta zonas de media altura con una temperatura de 26 a 32° C y una precipitación promedio de 1,000 a 1,500 mm; se consume mayormente tanto como fruta fresca o jugos, helados, dulces, mermeladas, conservas. Industrialmente se procesa en pulpa, encurtidos y productos congelados, es considerado como una fruta altamente saludable, su elevado contenido de agua permite una agradable forma de hidratarse. Son pocos los estudios que se han realizado sobre la extracción del aceite esencial de la pulpa del mango, a nivel industrial se requiere un método de extracción que garantice una mejor calidad, debido a que de ello depende la determinación del valor del mismo. Por ello, se emplearán dos metodologías de extracción del aceite y luego se harán los respectivos análisis



para determinar el grado de pureza y los componentes del mismo con la finalidad comprobar la eficiencia de la extracción de ambos métodos y la obtención de una mayor cantidad y mejor calidad.

## 1.2. Formulación del problema

El mango constituye uno de los frutales más difundidos a escala nacional, las plantaciones principales se encuentran en los estados Guárico, Cojedes y Aragua; en el país actualmente el mango es considerado un desecho y es incalculable la cantidad de árboles que existen fuera de las plantaciones registradas (Meléndez *et al.*, 1999), esto quiere decir que hay una producción de mango en jardines, calles, avenidas, y terrenos baldíos en donde el mango no es aprovechado para ninguna finalidad específica.

Por lo tanto, el problema de ésta investigación radica en que no se conoce una técnica de extracción del aceite esencial de la pulpa del mango, a pesar de que es un fruto económico y fácil de adquirir por la gran producción a nivel nacional (Meléndez *et al.*, 1999); además que posee un aroma genéticamente único, un sabor exótico, muy dulce y aromático; ejerce una función anticancerígena muy efectiva otorgada tanto por sus vitaminas como por su riqueza en flavonoides, además, sus componentes guardan una estrecha relación con la reducción de los niveles de colesterol y la disminución de la hipertensión (obtenido el 23 de julio de 2011 desde <http://www.botanical-online.com/mangospropiedadesalimentarias.htm>). Motivo por el cual se hace necesaria la evaluación de dos procesos de extracción que permitan obtener un alto nivel de calidad del aceite esencial de la pulpa de mango, de manera de aprovechar comercialmente el aroma de este fruto que se da a gran escala en el país.

### 1.2.1. Situación actual

Existen en la actualidad grandes producciones de mango, de los cuales es utilizada la semilla y la piel del mismo para extracción de aceites esenciales (Gutiérrez, 2009), pero se carece de las aplicaciones de la pulpa, a pesar de que ésta contiene una elevada cantidad de agua, nutrientes y un aroma genéticamente único.



### 1.2.2. Situación deseada

En vista de las propiedades y abundancia del mango (*Mangifera Indica L.*) como materia prima y su facilidad de adquisición, se propone obtener aceite esencial de la pulpa de mango a través de dos métodos diferentes con la finalidad de comprobar su factibilidad de obtención, comparar la calidad del producto obtenido para establecer el mejor método de extracción y desarrollar una fragancia para demostrar su utilidad en la industria. Dejando puertas abiertas para su posterior verificación en el área de cosmetología, farmacia, alimentos, entre otros; además de plantear la posibilidad de éste trabajo de investigación como tema de interés en nuestro país.

### 1.3. Objetivos

#### 1.3.1. Objetivo general

Evaluar dos procesos de extracción diferentes para la obtención del aceite esencial de mango (*Mangifera Indica L.*) tipo Haden.

#### 1.3.2. Objetivos específicos

1. Desarrollar un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico.
2. Desarrollar un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción del aceite esencial de la pulpa del mango Haden utilizando el método de extracción-destilación simultánea (EDS).
3. Caracterizar el aceite esencial obtenido en la extracción de ambos métodos mediante análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masas, con el fin de conocer sus componentes.
4. Comparar la calidad del producto obtenido para establecer el mejor método de extracción.
5. Desarrollar una fragancia usando el aceite esencial proveniente del método que proporcione la mejor calidad.



#### 1.4. Justificación

El mercado para mango está creciendo continuamente, casi todos los compradores prefieren la fruta de color rojizo, sobre todo de los cultivares de Haden, siendo ésta la principal variedad cultivada en la mayoría de los países exportadores; existiendo de ésta forma gran competencia a nivel mundial (Gutiérrez, 2009). Debido a que en Venezuela hay gran producción de dicha fruta, y las cantidades no aprovechadas representan una cifra bastante considerable (Meléndez *et al.*, 1999), se deben buscar formas alternativas del aprovechamiento de éste fruto. Por lo tanto, se pretende impulsar la modalidad de extracción de aceite esencial de la pulpa de mango, ya que ésta goza de gran popularidad debido a su sabor, olor, color y valor nutritivo; es buena fuente de antioxidantes (vitamina C y  $\beta$ -caroteno), además de contener ácido pantoténico (vitamina B5), la cual regulariza el metabolismo de los carbohidratos y aminoácidos (obtenido el 25 de julio de 2011 desde <http://www.cadenahortofructicola.org/biblioexp.php?opt=mango>). El aceite esencial extraído de la pulpa del mango puede ser utilizado en diferentes campos a nivel industrial, tales como cosméticos, fármacos, perfumes y alimentos, de los cuales las pequeñas, medianas y grandes industrias podrían beneficiarse, pudiendo ofrecer a sus consumidores un nuevo producto que satisfaga las necesidades de públicos exigentes, y a su vez impulsar en la sociedad la valoración de dicha fruta y el interés en su siembra y cosecha. Es necesario que se aprovechen los productos naturales que ofrece el territorio nacional, ya que éstos representan un área de oportunidad para la activación de la economía mediante la industrialización de los mismos.

#### 1.5. Limitaciones

La presente investigación comprende la evaluación y comparación de dos métodos diferentes para la extracción del aceite esencial de la pulpa del mango Haden. Las restricciones que se pudieran presentar serían: fallas en algún equipo, adquisición de la materia prima o de algún reactivo necesario para lograr los objetivos planteados, carencia de investigaciones referentes al área en estudio.



## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

*En esta sección se presenta cada uno de los basamentos teóricos, los cuales servirán de apoyo para la justificación y análisis de los resultados obtenidos en cada uno de los ensayos realizados en la extracción del aceite esencial.*

#### 2.1. Antecedentes

Ornelas *et al.* (2007) identificaron y cuantificaron carotenos y tocoferoles en siete cultivos de mangos de México por cromatografía líquida a presión atmosférica. Según ellos, los métodos existentes para el análisis de carotenoides en las frutas por HPLC comúnmente usan salas (no controlados o controlados) a temperaturas en el rango de 25-35 °C. En su estudio, una buena separación de  $\alpha$ -tocoferol, los carotenos, y xantofilas libres y esterificadas de mango se logró a 15 ° C, probablemente debido al hecho de que a baja temperatura, se presenta un aumento de la selectividad. Mostraron los patrones típicos de cromatografía a 452 nm de los extractos crudos de varios tipos de mangos, entre ellos el de tipo Haden. El patrón cromatográfico de carotenoides en los siete cultivares mostraron 25 carotenoides comunes. La identificación inicial de estos picos se llevó a cabo mediante la comparación de sus características espectrales con los publicados con una fase similar móvil (agua / metanol / MTBE). Varios picos fueron identificados empleando compuestos de referencia.

Ésta investigación aporta información sobre el uso de la cromatografía, la cual es una herramienta para la caracterización del aceite esencial del mango, permitiendo conocer la forma de identificar los picos en los cromatogramas, por medio de patrones, y de ésta manera reportar los compuestos volátiles presentes en la muestra.

Torres (2007), realizó una optimización de las condiciones de operación de tratamientos osmóticos destinados al procesado mínimo de mango (*Mangifera indica L.*). Analizó el efecto de los tratamientos osmóticos llevados a cabo en mango bajo diferentes condiciones (concentración de las disoluciones osmóticas, presión atmosférica o aplicación de pulso de vacío, adición o no de lactato de calcio y diferentes niveles de deshidratación de la fruta) en distintas propiedades



relacionadas con la calidad de la fruta mínimamente procesada: perfil de volátiles, color, propiedades mecánicas y aceptación sensorial. Además, se estudió la evolución durante el almacenamiento del mango mínimamente procesado (hasta 20 °Brix) y refrigerado a 10 °C, a través de la respiración, la calidad microbiológica, las propiedades físicas (color y mecánicas) y el perfil de volátiles.

Los tratamientos osmóticos a tiempos cortos y con disoluciones diluidas potenciaron la formación de volátiles; por el contrario, tiempos largos de tratamiento y disoluciones de alta concentración/viscosidad ocasionaron una disminución de los mismos.

Este trabajo aporta información importante a la presente investigación, pues contribuye en el área de estudios físico-químicos del mango y de cómo se ve afectada dicha fruta con respecto a la variación de presión y temperatura.

Álvarez y Medina (2008), realizaron una extracción de aceite esencial al mango (*Mangifera indica L.*) de tipo Haden mediante extracción con dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) supercrítico. Este trabajo especial de grado se realizó con la finalidad de extraer el aceite esencial de mango (*Mangifera indica L.*) empleando dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) supercrítico, se seleccionó la especie de mango que se utilizaría como materia prima (tipo Haden), se preparó y acondicionó la pulpa de mango para facilitar la operación del equipo de extracción, se identificaron las propiedades físico-químicas del mango, se establecieron cada uno de los rangos de operación para luego determinar la pureza y composición del aceite extraído. Para el logro de la extracción supercrítica adecuada, aplicaron un diseño experimental que determinó las condiciones bajo las cuales el proceso de extracción fue adecuado.

Los objetivos se asemejan a los del presente trabajo en la forma de preparar la pulpa de mango para la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico, además aporta las propiedades físico-químicas del mango Haden.

Dzamic y Marin (2008), realizaron la extracción del aceite esencial de la hoja y piel de la fruta de *Mangifera indica L.* de Nigeria. Los aceites esenciales fueron obtenidos individualmente por hidrodestilación durante 3h usando un equipo Clevenger-type que produce aceites incoloros, del cual se obtuvo 0,02% y 0,05% en peso fresco de hojas y piel, respectivamente. Realizaron



análisis cualitativo y cuantitativo de los aceites por medio de cromatografía de gases (CG) y cromatografía de gases combinado con espectrometría de masa (CG/EM). La identificación de los componentes individuales de los aceites fue realizado por comparación del tiempo de retención con sustancias estándar combinado con EM usando una base de datos. Algunos de los componentes encontrados fueron:  $\alpha$ -pineno,  $\delta$ -3-careno,  $\alpha$ -terpineno, limoneno,  $\beta$ -selineno, terpinoleno, p-cimeno. Además como grupos constituyentes se encontraron presente monoterpenos de hidrocarburos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos de hidrocarburos, sesquiterpenos oxigenados, entre otros.

Esta investigación se asemeja en el uso de la cromatografía de gases con espectrometría de masas, para la identificación de los componentes volátiles que constituyen el aceite esencial del mango, además permite conocer los compuestos responsables del aroma del mismo.

Carrera *et al.* (2008), realizaron algunas características físicas y químicas de frutos de cinco variedades de mango en condiciones de sabana del estado Monagas. En este trabajo se evaluaron algunas características fisico-químicas de cinco variedades con potenciales para satisfacer el mercado interno y externo. Se valoraron tres frutos por cada una de las variedades, siendo éstas, Tommy Atkins, Haden, Keitt, Palmer y Kent, cosechados en etapa de madurez fisiológica, pertenecientes al huerto del Campo Experimental Santa Bárbara, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), ubicado en Santa Bárbara, Estado Monagas. Los análisis fisico-químicos realizados fueron: longitud y diámetro del fruto, peso, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable, relación SST/acidez (AT) y pH.

La similitud del presente trabajo con la actual investigación, radica en que se determinaron algunas características fisico-químicas presentes en cinco variedades de mango, permitiendo tener así una ilustración de cómo tratar el fruto en estudio y los valores de las propiedades fisicoquímicas del mango Haden.

Arbeláez (2009), determinó el contenido de ácidos orgánicos en tres variedades de mango (Tommy Atkins, Hilacha y Mango de azúcar), mediante la técnica de HPLC. Para su estudio empleó frutos maduros y analizó la porción comestible de la fruta fresca madura, es decir, no incluyó la cáscara ni la semilla, y no realizó ningún tratamiento térmico o cualquier otro que pudiese alterar la composición química de la pulpa. Los frutos fueron lavados y posteriormente



sometidos a despulpado manual, primero, separando la cáscara cuidadosamente, y finalmente separando la porción comestible de la semilla. La pulpa extraída fue sometida a trituración y homogeneización en una licuadora y almacenada en recipientes de vidrio a 4°C para su posterior análisis. Para la elaboración de las curvas de calibración estándar empleó ácidos orgánicos tales como: cítrico, málico, oxálico y tartárico. La mezcla de los ácidos se diluyó con agua grado HPLC hasta obtener concentraciones de 100, 200, 300, 400 y 500 ppm. El estudio permitió identificar y cuantificar la presencia de ácidos orgánicos en pulpa de mango fresco y maduro pudiendo comprobar que el ácido presente en mayor concentración en las tres especies de mango, corresponde al ácido cítrico.

Este trabajo de investigación contribuye un aporte sobre las propiedades químicas de la pulpa de mango además de la preparación de la pulpa y su almacenamiento.

Manthey y Perkins (2009), estudiaron la influencia de la cosecha y la ubicación en los niveles de  $\beta$ -caroteno, ácido ascórbico, fenoles totales, capacidad antioxidante in vitro, y perfiles fenólicos de cinco variedades comerciales de mango (*Mangifera indica L.*). En ésta investigación, se evaluaron de cosechas de 1 año, cinco de las principales variedades de mango (entre las que se encuentra el de tipo Haden) importadas en los Estados Unidos, cosechadas en cuatro países y en diferentes fechas, para comparar el contenido de  $\beta$ -caroteno, ácido ascórbico, fenólico total, y la capacidad antioxidante in vitro de estas frutas; y además comparar los perfiles fenólicos de las distintas variedades. El contenido de ácido ascórbico total fue determinado por un espectrofotómetro, el de  $\beta$ -caroteno fue determinado por HPLC con software integrado, los fenoles totales con el ensayo de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton. Ellos concluyeron que el país de origen y fechas de cosecha no tuvo mucha influencia en estos parámetros.

Este artículo aporta información sobre el contenido de varios componentes de la pulpa de mango, lo cual permite tener una visión sobre los valores que se van a obtener en ésta investigación. Las variedades Tommy Atkins, Kent, Keitt y Haden tuvieron contenidos similares de fenólico total, un promedio de  $31,2 \pm 7,8$  mg GAE/100 g de puré, mientras que la variedad Ataulfo contiene valores sustancialmente más altos. El ácido ascórbico van desde 11 hasta 134 mg/100 g de puré de pulpa, y  $\beta$ -caroteno varía de 5 a 30 mg / kg entre las cinco variedades.



Dang *et al.* (2009), investigaron los efectos de diferentes métodos químicos y físicos de control de enfermedades en la producción de compuestos volátiles, el desarrollo del color y otros parámetros de calidad en el mango maduro 'Kensington Pride'. En ésta investigación, acondicionaron la pulpa de mango en diferentes ambientes: inmersión en agua caliente, en procloraza y carbendazima a temperatura ambiente y a altas temperaturas, respectivamente. Después de los tratamientos, los frutos se secaron al aire y se almacenaron en frío, a 13 °C durante tres semanas antes de su maduración. La pulpa de la fruta madura que fue tratado con carbendazima o procloraza a temperatura ambiente y altas temperaturas mostraron mayores concentraciones de compuestos volátiles, mientras que los acondicionados en inmersión en agua caliente no afectó significativamente el desarrollo de los compuestos volátiles. La fruta tratada con agua caliente, procloraza y carbendazima mostraron puntuaciones más altas del color visual que de los frutos sin tratar. La calidad de la fruta (concentración de sólidos solubles, acidez, ácido ascórbico y carotenoides totales) no se vio afectada considerablemente por cualquiera de los tratamientos.

La semejanza de la presente investigación con ésta, es que determinaron los compuestos volátiles (monoterpenos, sesquiterpenos,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, entre otros) presentes en la pulpa de mango, permitiendo conocer los posibles valores de concentraciones de todos estos compuestos.

Moreno *et al.* (2010), realizaron un análisis del perfil de compuestos volátiles del mango (*Mangifera indica* L. Var. Tommy Atkins) tratado por métodos combinados. Se evaluó el perfil de compuestos volátiles del mango, al ser tratado con la combinación de los métodos de deshidratación osmótica con o sin pulso de vacío (DOPV y DO) y con secado por aire caliente o con vacío (SAC y VAC). El tiempo utilizado en la cinética del proceso de DO fue de 42 horas y la DOPV de 30 horas; en los procesos de secado, el SAC se realizó durante 24 horas y el VAC requirió 40 horas. En el perfil de compuestos volátiles del mango fresco analizado por cromatografía de gases acoplada a detector de espectrometría de masas (GC-MS) se encontraron compuestos tipo mono y sesquiterpénico, además de ácidos y ésteres grasos. El germacreno D (20,49%) fue el compuesto terpénico de mayor abundancia encontrado en el análisis realizado. La cantidad de compuestos volátiles en la fruta procesada fue afectada por la aplicación de DOPV y VAC; sin embargo estas pérdidas fueron menores que en las muestras secadas sin pretratamiento



osmótico. En el análisis sensorial realizado, las frutas tratadas con DOPV y DO presentaron una menor intensidad calificada en el olor en comparación.

El trabajo anterior contribuye en la documentación bibliográfica requerida para la investigación actual, primeramente en la realización de una caracterización a la fruta de mango, donde se evalúan propiedades tales como, humedad según el método AOAC 930.15/97 (higrómetro de punto de rocío AqualabDecagon modelo 3TE), sólidos solubles (refractómetro Thermo modelo 334610), pH (pHmetro IQ Scientific modelo IQ 240) y acidez titulable según el método AOAC 942.15/90, y los resultados fueron analizados por medio del software estadístico Statgraphics Centurion XV, usando el método de comparaciones múltiples de muestras, con un nivel de significancia del 95%; además que el producto final extraído se evaluó mediante un análisis cromatográfico con espectrometría de masa.

Ramírez *et al.* (2010), analizaron las variables fisicoquímicas de trece cultivares de mango en el municipio Mara en la planicie de Maracaibo. Con el propósito de conocer algunas características físico-químicas deseables para el mercado se evaluaron los cultivares Tommy Atkins, Kent, Criollo de Mara, Manzana, Sprinfels, Valencia Pride, Palmer, Ford, Carrusel, Gleen, Irwin, Zill, y Haden. Las variables físico-químicas analizadas fueron: largo y ancho del fruto, masa del fruto, masa de la pulpa, masa de la cáscara y masa de la semilla, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), relación SST/acidez y pH. Determinaron masa del fruto, largo y ancho de fruto, masa de la pulpa, masa de la cáscara y masa de la semilla, y las características químicas sólidos solubles totales, empleando un refractómetro óptico marca Orión, con lecturas expresadas en grados Brix y se corrigió a la temperatura de referencia de 25°C; para el pH se utilizó un potenciómetro marca Corning modelo 240 y la acidez titulable se determinó siguiendo las normas establecidas por COVENIN (1977), la relación SST/AT: por cociente entre SST y AT. El diseño experimental fue totalmente aleatorizado. Se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables estudiadas. Se utilizó la prueba de Tukey para hacer comparaciones múltiples de medias de variedades al nivel  $\alpha=0,05$ . Los análisis estadísticos mostraron diferencias ( $P\leq 0,05$ ) en la calidad del fruto para los 13 cultivares evaluados. Del mango Haden, se obtuvo: un pH de 3,91; SST igual a 14,9°Brix; AT igual a 0,83%; SS/AT igual a 17,95. Todos los cultivares que se evaluaron poseen características de calidad deseables para satisfacer los requerimientos para el mercado nacional e internacional.



Dicha investigación es de gran interés, ya que evaluaron las características químicas del mango en estudio (Haden), lo que permite conocer los valores de dichas propiedades.

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. Mango

El mango es uno de los frutos tropicales más finos y apreciados por los consumidores, es originario de la India y se cree que comenzó a cultivarse 2.000 años antes de Cristo, aunque se supone que ya era conocido mucho tiempo atrás. El árbol que lo produce, la “*Mangifera indica* L.”, es descendiente de una de las más de cuarenta especies silvestres que todavía existen en el noroeste de India, Filipinas y Papua Guinea. Casi la mitad de éstas producen frutos comestibles, pero ninguna iguala la finura de la especie “*indica*”, a la que algunos autores denominan el rey de los frutos (Torres, 2007).

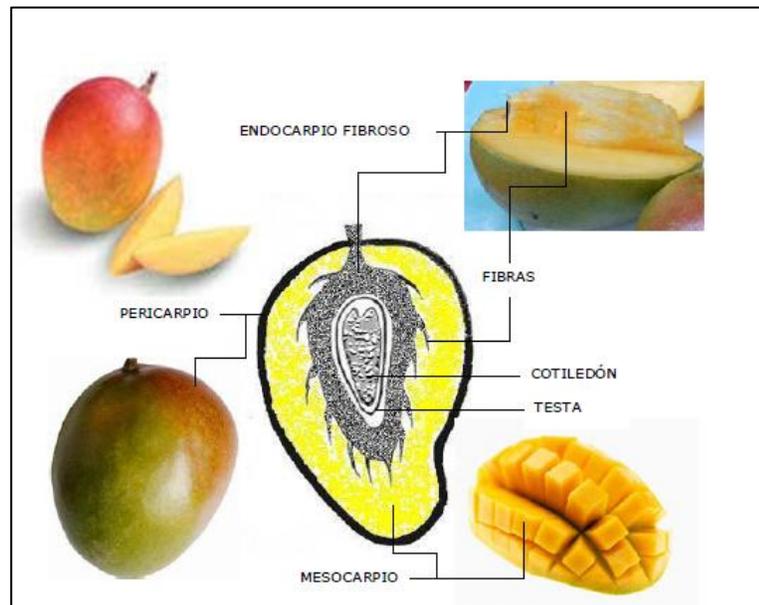
#### 2.2.1.1. Descripción botánica

Los árboles de la especie “*indica*” son vigorosos y pueden alcanzar hasta 20 metros de altura, su forma es piramidal, sus hojas son alargadas y de color verde brillante; los frutos son ovalados como se aprecia en la figura 2.1. En la siguiente tabla se pueden observar su clasificación botánica:

**TABLA 2.1. SITUACIÓN BOTÁNICA DEL MANGO**

Clase	Dicotiledóneas
Subclase	Rosidae
Orden	Sapindales
Suborden	Anacardiineae
Familia	Anacardiaceae
Género	Mangifera
Especie	Indica

**Fuente: Torres (2007)**



**FIGURA 2.1. MORFOLOGÍA DEL MANGO. (Torres, 2007)**

### 2.2.1.2. Variedades de mango

El género *Mangifera* comprende 69 especies, según revisión efectuada por Kosterman y Bompard (1993). Las variedades cultivadas que más se comercializan, se pueden clasificar en 3 grupos “florida”, “indias” y “africanas”.

- ✓ Florida (variedades rojas): Haden, Kent, Tommy Atkins, Keitt, Erwin Red, Parvin, Palmer y Sensation.
- ✓ Africana (variedades verdes): Julie, Amelie y Zill.
- ✓ India (variedades amarillas): Alphonse y Manila.

Las variedades *Florida* son las más aceptadas por los consumidores. Las *India* y *Africana* se destinan a grupos étnicos que las conocen (Torres, 2007).

### 2.2.1.3. Propiedades fisicoquímicas y nutricionales

El mango es una fruta rica en agua, azúcares, fibra, minerales y vitaminas (Torres, 2007). Por su riqueza en ácidos (málico, palmítico, p-cumárico y mirístico), vitamina C (un mango de unos



200 g proporcionará unos 56 mg de vitamina C, aproximadamente lo que representa casi el 60 % de la dosis diarias recomendada), y especialmente, por su alto contenido en vitamina A (ver Tabla 2.3); el mango constituye una buena fuente de antioxidantes; lo que otorga un poder defensivo contra la degradación de las células. Los mangos ejercen una función anticancerígena muy efectiva otorgada tanto por estas vitaminas como por su riqueza en flavonoides, entre los que destaca la quercetina y el camferol. Además, estos componentes guardan una estrecha relación con la reducción de los niveles de colesterol y la disminución de la hipertensión.

Se puede decir que el mango es una de las frutas tropicales que destaca por su particular sabor y aroma que tiene amplia aceptación, creciente demanda y razonables precios en los mercados internacionales (Avilán, 2009). Al igual que muchas otras frutas tropicales, el mango experimenta cambios químicos nutricionales y en sus características organolépticas, principalmente el sabor, según del cultivar que se trate y el estado de madurez, pero todos ellos tienen en común su elevado contenido de agua (Ramírez, 2010). A continuación se presentan dos tablas donde pueden observar las propiedades fisicoquímicas y los valores nutricionales del mango Haden:

**TABLA 2.2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL MANGO HADEN**

Propiedades fisicoquímicas	Rango de valores
pH (Adim)	4,10 – 5,20
Acidez total (% de ác. cítrico)	0,12 – 0,16
Sólidos solubles (% m/m sacarosa ó °Brix)	14,50 – 20,70
Sólidos totales (%)	22,80 – 24,52
Ácido ascórbico (mg/100g de pulpa) (vitamina C)	24,07 – 39,50
Azúcares reductores (%)	3,93 – 8,08
Azúcares totales (%)	10,66 – 14,53
Carotenoides totales (mg/100g de pulpa)	1,58 – 7,43
Taninos (mg/100g)	52,50 – 65,62

Fuente: Azócar y Rivas (1976)



**TABLA 2.3. RESUMEN DE LOS COMPONENTES NUTRICIONALES  
CARACTERÍSTICOS DEL MANGO (cantidades dadas para 100g de pulpa fresca)  
(USDA, 2006)**

Componente	Contenido
Agua	81,7 g
Energía	65 kcal
Grasa	0,45 g
Proteína	0,51 g
Hidratos de carbono	17 g
Fibra	1,8 g
Potasio	156 mg
Fósforo	11 mg
Hierro	0,13 mg
Sodio	0 mg
Magnesio	9 mg
Calcio	10 mg
Cobre	0,11 mg
Cinc	0,04 mg
Selenio	0,6 mcg
Vitamina C	27,7 mg
Vitamina A	3,894 UI
Vitamina B1 (Tiamina)	0,058 mg
Vitamina B2 (Riboflavina)	0,057 mg
Vitamina B3 (Niacina)	0,58 mg
Vitamina B6 (Piridoxina)	0,134 mg
Vitamina E	0,100 mg
Ácido fólico	14 cg

**Fuente: Torres (2007)**

#### 2.2.1.4. Usos

Dentro de los usos que se derivan del mango, el más común es el consumo alimenticio en fresco, así como también para la utilización de procesos industriales para la producción de jugos, néctares, mermeladas, rodajas en almíbar y vinos (Gutiérrez, 2009).

A nivel medicinal es utilizado para curar las afecciones bronquiales, a base de pulpa de mango para combatir la bronquitis. El mango es un excelente depurativo del organismo, es recomendable



para las personas nerviosas, para combatir el insomnio, para aliviar la fatiga cerebral, la depresión mental y como laxante, además es de gran ayuda para controlar la acidez estomacal.

A nivel cosmético se utiliza en la creación de fragancias cremas y aromatizantes destinados a diversos usos, con la corteza y pulpa se prepara una especie de extracto de carácter astringente, por sus propiedades diuréticas (Gutiérrez, 2009).

#### **2.2.1.5. Producción**

El mango se produce en 98 países del mundo. Las procedencias para abastecer al mercado mundial son muy variadas si se compara con otras frutas tropicales, sin embargo el mango es una de las frutas con mayor crecimiento en producción y en exportaciones. Sustanciales volúmenes se comercializan en Norteamérica, Europa y Asia (Gutiérrez, 2009).

Para el 2003 la producción de mango en la CAN (Comunidad Andina de Naciones) alcanza las 468.264 Tm. y está bastante dispersa entre los países del grupo con 34,1% para Perú, 30.3% para Colombia, 18.2% para Venezuela, 15.5% para Ecuador y 1.6% para Bolivia. El bloque cultiva 40.355 Ha. y en promedio obtiene unos rendimientos de 11,6 Tm./Ha., que son superiores a los registrados por el conjunto del ALCA (8,9 Tm./Ha.), NAFTA (8,6 Tm./Ha.) y MERCOSUR (7,9 Tm./ Ha.), quienes tienen mayor cantidad de hectáreas destinadas a este cultivo (Espinal *et al.*, 2005).

De acuerdo a los datos de la FAO la distribución de la producción mundial está localizada en un 40% en la India, seguida de China con un 11% y Pakistán con un 7%, siendo estos los tres principales países productores de mangos en el mundo (Gutiérrez, 2009). A continuación se especifican las áreas de cultivos de mangos de los principales países productores a nivel mundial, estimando rendimiento y producción:



**TABLA 2.4. PRODUCCIÓN DE MANGO EN EL MUNDO**

<b>País</b>	<b>Área cosechada (Ha)</b>	<b>Rendimiento (m/Ha)</b>	<b>Producción (Tm)</b>
<b>Brasil</b>	89.800	17,22	1.600
<b>China</b>	445.000	8,43	12.000
<b>India</b>	2.143.000	6,30	13.501.000
<b>Indonesia</b>	266.000	6,09	1.620.000
<b>México</b>	200.000	10,25	2.050.000
<b>Pakistán</b>	215.000	10,47	2.250.000
<b>Tailandia</b>	285.000	28,50	1.800.000
<b>Filipinas</b>	181.000	18,10	975.000

FAOSTAT |© FAO Dirección de Estadística 2009 | mayo 2009 (Gutiérrez, 2009)

### 2.2.2. Aceite esencial

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes). Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden ser (Martínez, 2003):

- ✓ Compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos)
- ✓ Monoterpenos
- ✓ Sesquiterpenos
- ✓ Fenilpropanos

Los compuestos presentes en aceites esenciales son en su mayoría monoterpenos y sesquiterpenos, aunque en algunos aceites esenciales los componentes mayoritarios son derivados de aromáticos simples (Vanaclocha *et al.*, 2003).

Las aplicaciones de éstos compuestos son múltiples. Por sus propiedades aromáticas se utilizan en la industria alimentaria, en perfumería, en la industria de fabricación de productos de limpieza y también en la industria farmacéutica (Vanaclocha *et al.*, 2003).



### 2.2.2.1. Clasificación 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 y poco volátiles. Las oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos (Martínez, 2003).

**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. Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia, con uno o varios de sus componentes. Los aceites esenciales sintéticos son los producidos por la combinación de sus componentes, los cuales son la mayoría de las veces producidos por procesos de síntesis química (Martínez, 2003).

**Desde el punto de vista químico** se pueden clasificar de acuerdo con sus componentes mayoritarios, según esto los aceites esenciales ricos en monoterpenos se denominan aceites esenciales monoterpenoides (hierbabuena, albahaca, salvia). Los ricos en sesquiterpenos son los aceites esenciales sesquiterpenoides (copaiba, pino, junípero). Los ricos en fenilpropanos son los aceites esenciales fenilpropanoides (clavo, canela, anís) (Martínez, 2003).

### 2.2.2.2. Monoterpenos y sesquiterpenos

Los monoterpenos y sesquiterpenos, son terpenos de 10 y 15 átomos de carbonos derivados biosintéticamente de geranilpirofosfato (GPP) y farnesilpirofosfato (FPP) respectivamente. La Figura 2.2 y 2.3 se muestran ejemplos de monoterpenos y sesquiterpenos naturales. De acuerdo con su estructura se les clasifica según el número de ciclos como acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, entre otros (Martínez, 2003).

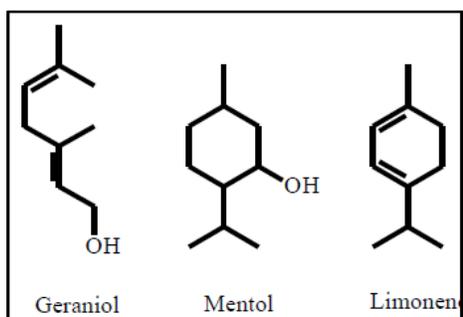


FIGURA 2.2. MONOTERPENOS.  
(Martínez, 2003).

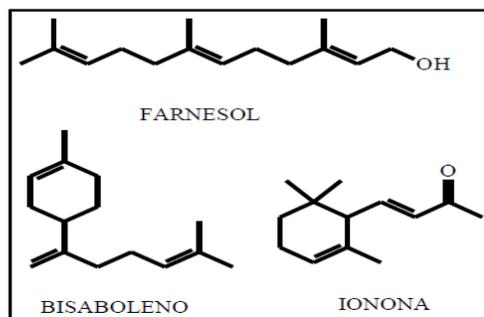


FIGURA 2.3. SESQUITERPENOS.  
(Martínez, 2003).

### 2.2.2.3. $\delta$ -3-Careno

El  $\delta$ -3-Careno es un monoterpeneo, también conocido como Isodipreno; según Pino *et al.* 2005, el es el componente mayoritario en el mango Haden y responsable de su aroma. Suele ser inestable por exposición al aire, requiriendo guardarse en recipientes bien llenos y cerrados en lugar fresco y seco y al abrigo de la luz (obtenido el 16 de marzo de 2012 desde <http://www.lluche.com/cas/ficha.php?n=00584FQQQL>).

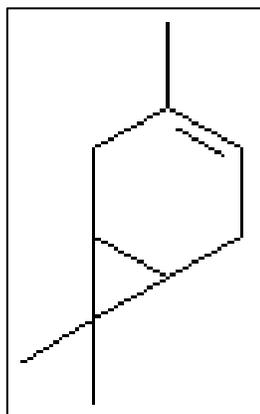
TABLA 2.5. PROPIEDADES DEL  $\delta$ -3-CARENO

Fórmula	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Peso molecular	136,2
Densidad a 20°C (g/ml)	0,863 - 0,874
Índice de refracción a 20 °C	1,4690 - 1,4790
Punto de inflamación (°C)	45
Punto de ebullición (°C)	169-174
Aspecto a 20 °C	Líquido fluido transparente
Color	Incoloro-amarillento
Olor	Dulce, difusivo, terpénico
Solubilidad	Insoluble en agua

Fuente: [www.lluche.com](http://www.lluche.com)



En la Figura 2.4 se muestra la estructura molecular del  $\delta$ -3-Careno:



**FIGURA 2.4. ESTRUCTURA MOLECULAR DEL  $\delta$ -3-CARENO (3,7,7-Trimetilbicyclo[4.1.0]hept-3-eno). (www.lluche.com)**

### **2.2.3. Destilación y extracción simultáneas (Método de Likens y Nickerson)**

Es un método que intenta aprovechar simultáneamente las ventajas de ambas técnicas, reuniendo la destilación por arrastre de vapor y la extracción en un mismo equipo (Guadayol, 1994).

La extracción-destilación simultánea (EDS) es un método de extracción de compuestos volátiles comúnmente empleado para el análisis de alimentos, ya que puede extraer sustancias sin hacerles sufrir degradación térmica a partir de un medio acuoso.

La muestra es colocada en un balón con agua destilada, el solvente extractor también es colocado en otro balón y ambos son sometidos a calentamiento, los aceites esenciales de la muestra son arrastrados por el vapor de agua, se mezclan con vapor del solvente en una cámara y son condensados disueltos en el solvente orgánico, el cual es separado por diferencia de densidades con el agua, evitándose posteriormente la circulación del aceite esencial y su contacto nuevamente con el agua y altas temperaturas (Chaintreau *et al.*, 2000).

En particular, el procedimiento es aplicable a la extracción en frío, o a temperatura moderada, de las sustancias aromatizantes y/o odorantes termolábiles presentes en estado muy diluido en un medio acuoso. De esta manera, la fracción volátil que contiene los compuestos orgánicos



aromatizantes se extrae continuamente sin que haya contacto directo entre la muestra y el solvente, lo que significa que sólo los constituyentes arrastrados por el vapor están seleccionados (Chaintreau *et al.*, 2000).



**FIGURA 2.5. EQUIPO DE EXTRACCIÓN-DESTILACIÓN SIMULTÁNEA (LIKENS Y NICKERSON, 1964). (Guadayol, 1994).**

#### 2.2.3.1. Ventajas del método

Su empleo se ha generalizado, habiéndose aplicado para la obtención de componentes volátiles de una gran cantidad de sustancias naturales (Guadayol, 1994).

- Se pueden concentrar los componentes volátiles hasta valores muy elevados a partir de una solución diluida en una sola operación y en un tiempo considerablemente corto.
- Se utilizan cantidades muy pequeñas de disolvente con lo que se reduce el peligro de contaminación de la muestra causada por el propio disolvente.
- Se puede reducir la degradación térmica empleando presión reducida.

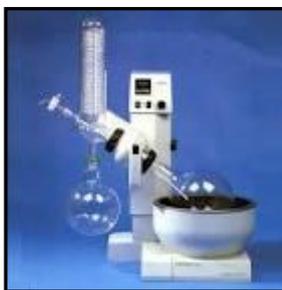
#### 2.2.4. Rotaevaporador

Un evaporador rotatorio o rotaevaporador, es un dispositivo que se utiliza en laboratorios de química para la eliminación eficiente y suave de disolventes en sustancias a través de la evaporación. Es una variante de una destilación a presión reducida. Consiste en sujetar un matraz



en una boca. Una vez hecho esto, el aparato disminuirá la presión ejerciendo un vacío sobre el contenido del matraz. Como es de esperarse, el punto de ebullición de la mezcla disminuye mucho. A veces el punto de fusión disminuye tanto que el disolvente hierve a temperatura ambiente.

El disolvente extraído es enviado por un conducto hacia un circuito donde se enfriará. Muchos utilizan rotaevaporadores antiguos donde éste conducto es un tubo en espiral muy largo, y lo enfrían con agua helada. Hay rotaevaporadores que envían el solvente evaporado a una cámara donde entrará en contacto con acetona y hielo seco; esta mezcla enfría cerca de los  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Aquí, evidentemente, el solvente se condensará y pasará a un colector donde se podrá recuperar. Finalmente las fases quedan separadas: en el colector el disolvente y en el matraz los compuestos sólidos que hubieran estado disueltos.



**FIGURA 2.6. ROTAEVAPORADOR**

Los principales componentes de un rotaevaporador son:

1. Una unidad de motor que hace girar el matraz de evaporación que contiene la muestra del usuario.
2. Un conducto de vapor que es el eje de rotación de la muestra, y es un conducto de prueba de vacío para el vapor que se extrae de la muestra, reduciendo sustancialmente la presión en el evaporador.
3. Una unidad de calefacción (baño maría) para calentar la muestra.
4. Un condensador, ya sea un serpentín refrigerante, o un "dedo frío" en los que se colocan las mezclas del refrigerante.
5. Un frasco de recolección de condensado en la parte inferior del condensador, para atrapar el disolvente destilado después de que se re-condensa.



Obtenido el 15 de marzo del 2012 a través de:  
[http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos\\_mo.php?it=3081](http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=3081)

### **2.2.5. Extracción por medio de fluidos supercríticos**

La extracción supercrítica es una operación unitaria de transferencia de masa que se efectúa por encima del punto supercrítico del solvente; esta extracción permite controlar y manipular propiedades tales como la difusividad, viscosidad y densidad del fluido mediante pequeños cambios de presión y temperatura, lo que conlleva a una variación en la selectividad y el poder de solvencia de éste (Gallego y Castañeda, 2004).

Puede ser realizada en dos modos de operación: extracción selectiva o separación selectiva. La primera envuelve la capacidad de solvatación del fluido utilizado en la extracción por medio de la manipulación de las condiciones de temperatura y presión y/o modificando la naturaleza química del solvente con la adición de un co-solvente.

En el segundo método de operación, una separación selectiva se obtiene por medio de la despresurización o de un calentamiento o enfriamiento gradual del sustrato, permitiendo con esto un fraccionamiento controlado de los productos por extraer (Mohamed, 1997).

El punto crítico se define como la temperatura y la presión a la cual el gas y el líquido son indistinguibles (Palomino, 2003). Se sabe que cuando un fluido se somete a condiciones por encima de su punto crítico, se encuentra en estado supercrítico (Herrero *et al.*, 2006) y se conoce como un fluido supercrítico.

El poder de disolución de un fluido supercrítico varía con su densidad, la cual puede ser alta como el líquido o baja como el gas, dependiendo de pequeñas variaciones en la presión o en la temperatura (Alarcón *et al.*, 2002).

Este tipo de fluidos presentan una gran capacidad de extracción, debido a que la acumulación de moléculas alrededor del soluto se produce en su máximo grado cuando las densidades son lo

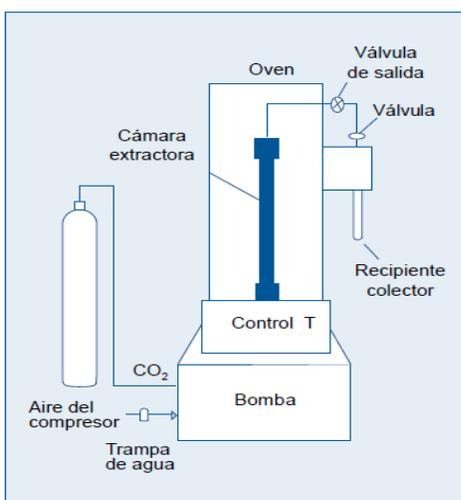
suficientemente bajas como para que predominen los efectos atractivos, ya que las moléculas no sufren exclusión debido a la existencia de mucho espacio libre entre ellas (Fernández y Fernández, 1997).

### 2.2.5.1. Etapas de la extracción con fluidos supercríticos

El proceso de extracción mediante fluidos supercríticos cuenta con cuatro etapas básicas (Esquivelet *al.*, 2007):

- ✓ Etapa de ajuste de temperatura: remoción o adición de energía térmica ya sea con un intercambiador de calor, baños térmicos o resistencias eléctricas, para llevar el fluido comprimido a la temperatura de extracción requerida.
- ✓ Etapa de presurización: con el fin de alcanzar la presión necesaria del solvente para la extracción que se requiere ya sea por medio de un compresor o de una bomba.
- ✓ Etapa de extracción: es llevada a cabo en un recipiente extractor a alta presión, el cual contiene la matriz que será procesada. En esta etapa, el fluido entra en contacto con la matriz y arrastra el soluto deseado.
- ✓ Etapa de separación: es mediante la cual se separa la sustancia extraída del solvente.

En la figura 2.7 se tiene un diagrama de cómo es un equipo de extracción con fluidos supercríticos:



**FIGURA 2.7. UNIDAD DE EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES. (Alexander *et al.*, 1997)**



### 2.2.5.2. Ventajas del uso de fluidos supercríticos

El uso de fluidos supercríticos presenta varias ventajas sobre otros métodos tradicionales, siendo éstas (Yépez, 2010):

- Las bajas temperaturas de procesamiento evitan la degradación térmica y por ende los productos obtenidos presentan mejores características físicas y organolépticas.
- Debido a que el solvente supercrítico se puede separar fácil y completamente, el producto es más puro y apto para el consumo humano.
- El poder de solvencia del FSC se puede ajustar finamente mediante el ajuste de la presión y/o temperatura, logrando un mejor control del proceso.
- No se genera contaminación en el proceso.
- Son económicos en grados de pureza elevada.

### 2.2.5.3. Desventajas del uso de fluidos supercríticos

A pesar de todas las ventajas mencionadas, también presentan algunas desventajas, como son (Esquivel *et al.*, 2007):

- El equilibrio de fases entre el soluto y el solvente puede ser muy complejo.
- Disuelve pocos compuestos no polares.
- El uso de co-solventes puede alterar la polaridad del CO<sub>2</sub>, pero a la vez estos co-solventes pueden quedar en el extracto, requiriendo una operación de separación posterior.
- Las altas presiones dificultan la adición continua de sólidos al extracto.
- Los costos de operación son elevados.

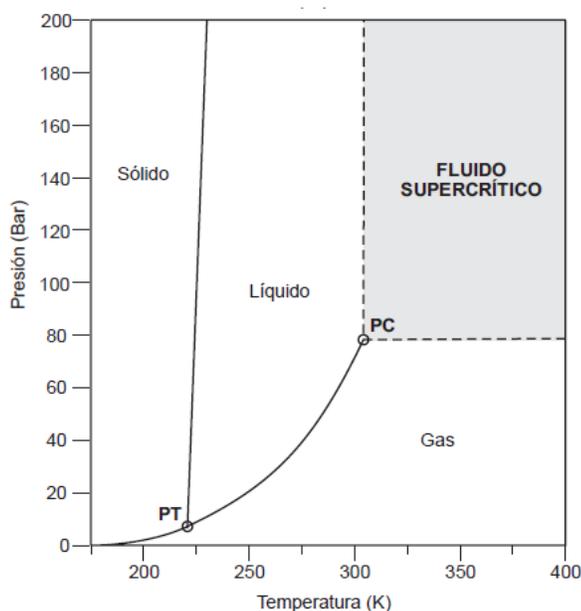
### 2.2.5.4. CO<sub>2</sub> supercrítico

El dióxido de carbono es el más apropiado para usarse como solvente en la extracción con fluidos supercríticos. Sus condiciones críticas son 31,1° C y 73,8 bar las cuales lo hacen muy atractivo para la extracción de compuestos termolábiles. Adicionalmente es un solvente inerte, no inflamable, no explosivo, sin olor ni color y no costoso. Su baja difusibilidad hace que la rata de



extracción sea mayor que la de aquellos usados convencionalmente en métodos de extracción como soxhlet o hidrodestilación (Sánchez y Restrepo, 2009).

En la Figura 2.8 se muestra un diagrama de fases para el dióxido de carbono como sustancia pura. Las líneas continuas entre las fases sólida, líquida y vapor representan las condiciones en donde las fases que separan pueden coexistir. Se pueden apreciar dos puntos especialmente importantes en este diagrama y que son característicos de cada sustancia: el punto donde las tres líneas convergen, indicado como PT y denominado punto triple (216.58K, 5.18 Bar), y el punto donde la curva de vaporización finaliza, indicado como PC y denominado como punto crítico (304.21 K, 73.8 Bar). Así, el punto crítico marca el límite donde las fases líquida y vapor pueden estar en equilibrio. El área sombreada demarca la zona denominada de fluido supercrítico (FSC) (Yépez, 2010).



**FIGURA 2.8. DIAGRAMA DE FASES PARA DIÓXIDO DE CARBONO PURO.**  
(Yépez,2010).

### 2.2.6. Cromatografía de gas y espectrometría de masa

La cromatografía de gases "GC" y espectrometría de masas "MS" hacen una combinación eficaz para el análisis químico (Frederic, 2005).



La cromatografía es una operación de adsorción en lecho fijo, en la cual una columna rellena con materiales cromatográficos se alimenta con la mezcla de los componentes que se desean separar (Perry, 2001); y luego de separados dichos componentes, proporciona una salida espectral representable de los mismos, donde el tamaño de los picos es proporcional a la cantidad de sustancia correspondiente a la muestra analizada (Day y Underwood, 1989).

En este método físico de separación los componentes que se van a separar se distribuyen en dos fases; una de ellas constituye una capa estacionaria de gran área superficial, la otra es un fluido que eluye a través de la fase estacionaria. La fase móvil por lo general es un gas, que entre los más comunes se encuentran el helio, el hidrógeno y el nitrógeno; muchos analistas utilizan helio, ya que no reacciona (Day y Underwood, 1989).

Un cilindro de gas comprimido se conecta a la válvula reductora, el gas pasa por un lado del detector de conductividad térmica y después entra en la columna; el puerto de inyección debe estar caliente para que las muestras líquidas se vaporicen con rapidez (Day y Underwood, 1989); el tiempo transcurrido entre la inyección y la elución se conoce como tiempo de retención (Frederic, 2005).

La espectrometría de masas (MS) es un análisis que identifica las sustancias mediante la carga eléctrica de las moléculas de muestras y la aceleración a través de un campo magnético, rompiendo las moléculas en fragmentos cargados y la detección de las diferentes cargas. Un gráfico muestra el espectro de masas de cada fragmento. Se puede utilizar el espectro de un compuesto de masas para la identificación cualitativa, utilizando estas masas de fragmentos como piezas de un rompecabezas para armar la masa de la molécula original (Frederic, 2005).

El dispositivo de GC es en general un instrumento de análisis fiable, eficaz en la separación de los compuestos en sus diferentes componentes; sin embargo, el instrumento GC no puede ser utilizado para la identificación fiable de sustancias específicas. El instrumento MS ofrece resultados concretos, pero produce inciertos resultados cualitativos. Cuando se utiliza el instrumento de GC para separar los compuestos antes de su análisis con un instrumento de la EM, se produce una relación de complementariedad. El técnico tiene acceso tanto a los tiempos de



retención y datos espectrales de masa. Muchos científicos consideran el análisis GC / MS como una herramienta para una prueba concluyente de la identidad (Frederic, 2005).

### **2.2.7. Diseño de experimentos**

El diseño de experimentos es una metodología estadística, cuyo objetivo es la obtención eficiente de datos altamente informativos, son numerosos los factores que puedan afectar a los resultados. El enfoque tradicional, consistente en estudiar uno a uno de forma secuencial los efectos de cada factor, pero es ineficaz, por lo cual se recurre a las técnicas de diseño estadístico de experimentos (Romero y Zúnica, 2008).

Un factor, es aquella variable de interés cuyo posible efecto sobre la respuesta se quiere estudiar. La variable de respuesta es la característica del producto cuyo valor interesa mejorar mediante el diseño de experimentos. Los factores controlables son variables de proceso que se pueden fijar en un punto de operación mientras que las no controlables son variables que no se pueden controlar durante la operación normal del proceso (Romero y Zúnica, 2008).

#### **2.2.7.1. Experimentos $2^k$ factoriales**

Los experimentos factoriales son una poderosa herramienta para comprender los fenómenos físicos complejos, su ingrediente clave es la variación sistemática de todas las variables de entrada en forma simultánea y se adecuan al estudio de la influencia de varios factores sobre una respuesta. (Montgomery y Runger, 1996).

Los planes factoriales mas sencillos son los planes  $2^k$ , en los que, los factores se estudian sólo a dos niveles, son fáciles de diseñar y analizar, y son muy utilizados en la experimentación industrial (Romero y Zúnica, 2008). Éstos planes en algunas ocasiones presentan ciertos inconvenientes, dado que cada factor se mide sólo en dos niveles, es imposible juzgar si los efectos producidos por variaciones en un factor son lineales, o quizás parabólicos, exponenciales (Romero y Zúnica, 2008).



Un experimento  $2^K$  factorial requiere  $2^K$  condiciones experimentales; puesto que su número puede ser bastante grande, conviene representar las condiciones experimentales por medio de una notación especial y listarlas en un orden estándar. La notación consiste en representar cada condición experimental como se muestra en la siguiente tabla (Romero y Zúnica, 2008):

**TABLA 2.6. ESTUDIO SIMULTÁNEO PARA UN MODELO EXPERIMENTAL  $2^3$**

Prueba	A	B	C
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+

### 2.2.8. Análisis de varianza

El análisis de los resultados de un diseño  $2^K$ , puede llevarse a cabo realizando un análisis de la varianza para verificar si el efecto de un factor es significativo o no en la variable de respuesta. Este análisis utiliza como estadístico de prueba, el factor de Fisher experimental para cada factor, el cual es determinado como el cociente entre el cuadrado medio del factor y el cuadrado medio del error, y es comparado con el factor de Fisher teórico  $F_0(\alpha, v_1, v_2)$ ; donde  $\alpha$  es el nivel de confianza y  $(v_1, v_2)$  son los grados de libertad del cuadrado medio del factor y el cuadrado medio del error respectivamente. Este se determina empleando las tablas de puntos porcentuales de la distribución F. Si el factor de Fisher experimental resulta mayor al teórico se evidencia que el efecto del factor afecta la variable de respuesta (Guillén y Hernández, 2003).

Existen tres requisitos fundamentales para probar la hipótesis de igualdad de medias cuando se realiza el análisis de varianza; en primer lugar, que los residuos (errores aleatorios) provengan de una distribución normal con media cero ( $\mu=0$ ) y desviación estándar ( $\sigma=\text{MSE}$ ); debiéndose a que



la prueba de Fisher está condicionada a que dichos residuos sean normales. En segundo lugar, la varianza debe ser constante y por último debe existir aleatoriedad en los errores, con la finalidad de que éstos sean estadísticamente independientes. También es posible probar el análisis de varianza usando diagramas de Pareto, diagrama de interacciones de efectos, entre otros (Guillén y Hernández, 2003).

### **2.2.9. Superficie de respuesta**

La metodología de superficies de respuesta (RSM) es un conjunto de técnicas matemáticas cuyo propósito inicial es diseñar un experimento que proporcione valores razonables de la variable de respuesta y determinar el modelo matemático que mejor se ajusta a los datos obtenidos, para establecer los valores de los factores que optimizan el valor de la variable de respuesta. Esto puede lograrse primeramente con la elección de los factores que se usará en el experimento y luego con la selección de los rangos de valores de cada factor que se considerarán (Fernández y Piñeiro, 2005).

Se sabe muy poco acerca de la relación entre la variable respuesta y los factores; en un principio, se propone el modelo de aproximación más simple, el de primer orden, que suministra la base para ejecutar un conjunto inicial de experimentos. Si los datos recogidos permiten hacer una estimación de la varianza del error, se puede llevar a cabo un contraste para evaluar el ajuste del modelo; conllevando a una segunda etapa, donde se localizan las áreas de la región experimental en las que se sospeche que puedan estar los valores más deseables de la variable respuesta. El plan a seguir, llevará hacia valores máximos en la respuesta, conocido como *Método de Máxima Pendiente en Ascenso* (en descenso si lo que se quiere es minimizar los valores de la respuesta) (Fernández y Piñeiro, 2005).

#### **2.2.9.1. Método de máxima pendiente en ascenso**

Consiste en ejecutar una secuencia de experimentos a lo largo de la línea de máximo incremento de la respuesta. A medida que se avanza sobre la superficie ajustada en la dirección en que se incrementan los valores de la respuesta, el incremento en la respuesta se estabilizará en el punto más alto de la superficie ajustada. Si se continúa en esta dirección y la altura de la superficie



disminuye, se lleva a cabo un nuevo conjunto de experimentos y se ajusta de nuevo el modelo de primer orden. Este proceso continúa hasta que se hace evidente que a partir del método no se obtiene un incremento en la respuesta (Fernández y Piñeiro, 2005).

Si los tests de ajuste detectan que puede haber curvatura en la superficie, se aumenta un grado al modelo para ajustar el nuevo modelo a segundo orden. Si éste último se ajusta adecuadamente, se utiliza para describir la forma de la superficie a través de la gráfica de contornos en la región experimental, se localiza el lugar en el que la pendiente de la superficie ajustada es cero, las coordenadas del punto estacionario (que es el punto que proporciona el valor óptimo de la variable respuesta) y si se detecta que éste se encuentra dentro de los límites de la región experimental, se determina su naturaleza (si es máximo, mínimo o punto de silla). Si el punto estacionario no se halla dentro de la región experimental, se realiza una nueva experimentación en la dirección en la que éste se encuentra. Una vez localizado el punto que proporciona valores óptimos de la variable respuesta, se describe la superficie en un entorno próximo a éste. En estos análisis, la elección de un diseño adecuado del experimento a realizar es fundamental para modelar y explorar la superficie de respuesta usada para ajustar un modelo polinómico al conjunto de datos recogidos en los puntos del diseño (Fernández y Piñeiro, 2005).

#### **2.2.9.2. Diseños compuestos de respuestas de superficie**

El diseño compuesto es una clase importante de experimentos usados en el desarrollo de respuestas de superficie para encontrar las combinaciones óptimas de los factores de nivel en presencia de interacciones y no linealidad, cuando sólo se consideran la no linealidad de primer orden y dos interacciones. Uno de estos tiene tres tipos de puntos: puntos factoriales  $2^k$ , puntos axiales  $2k$  y  $k$  puntos centrales, siendo  $k$  el número de factores de ensayos requeridos para un diseño central completo es (Napolitano, 2006):

$$2^K + 2k + k$$

Los puntos factoriales permiten estimar las interacciones de los dos factores. Simultáneamente los puntos centrales y axiales permiten evaluar los términos lineales y cuadráticos (curvatura).



Aunque, hay variaciones en el diseño central compuesto, estas variaciones proporcionan económicamente una cobertura bastante buena del espacio del diseño (Napolitano, 2006).

### 2.2.10. Perfume

Los perfumes son mezclas de sustancias odoríferas de origen natural (aceites esenciales) o sintético (productos orgánicos) que pretenden lograr una composición estética capaz de impresionar el olfato, presentando una combinación equilibrada de materias primas, en la que cada una desempeña un papel importante en el resultado final.

Para crear una fragancia, se enumeran los componentes a utilizar, pero en un orden directamente relacionado con la estructura del perfume. La fórmula estará formada por tres fases: la salida o cabeza, el cuerpo o corazón y el fondo. Estas tres fases suelen definirse por el tipo de productos utilizados en función de su volatilidad, es decir del tiempo de evaporación de las materias primas o los componentes del perfume (obtenido el 25 de noviembre de 2011 desde <http://www.ecortassa.com.ar/informacion/contactenos.asp>).

A continuación se presentan las diferentes notas de un perfume (obtenido el 14 de marzo de 2012 desde <http://es.scribd.com/doc/22183256/Perfumes-2006>):

**Notas de salida o cabeza:** es el impacto inicial del perfume. Son las más volátiles y desaparecen rápidamente. Se deben principalmente a componentes cítricos, verdes, aromáticos que normalmente contienen efectos olfativos frescos (lavanda, limón, naranja, la bergamota, la mandarina, romero, manzana, plátano, la pera, las cerezas, la fresa, la piña entre otros).

**Notas medias o de corazón:** constituyen el olor principal de la fragancia que, en general es duradero y estable: Suelen ser de tipo aldehído, frutales o florales. Entre los más usados se tiene la rosa, el jazmín, el muguet, las lilas, la flor de azahar, el girasol, las violetas, el anís, la albahaca, la pimienta, la canela y el jengibre.

**Notas base o de fondo:** es el efecto residual que se produce a medida que los materiales menos volátiles se evaporan. Deberá ser tenaz y persistente: Suelen ser amaderadas, ambaradas,



orientales o animales. Algunas de ellas son el pachulí, el sándalo, el cedro, el vetiver y el musgo de encina o de roble, el incienso la mirra, y el láudano, las vainillas, la tonka y el tacamahaco.

El perfume en sus distintas versiones, siempre está diluido en alcohol. La denominación del producto final depende del grado de concentración de fragancia en el alcohol (obtenido el 25 de noviembre de 2011 desde <http://www.ecortassa.com.ar/informacion/contactenos.asp>).

### 2.2.10.1. Tipos de perfumes

Existen diversos tipos de perfumes dependiendo en cierta manera de su intensidad, materia prima y concentración de la esencia, clasificándose en (Ortuño, 2006):

- ✓ **Perfume concentrado (Parfum):** contiene de 15% a 30% de aceites de esenciales y la esencia es muy duradera.
- ✓ **Agua de perfume (Eau de parfum):** contiene de 8% a 14% de aceites de esenciales. Es la mejor forma de fragancia ya que es la que más dura, pero no es tan fuerte como el perfume.
- ✓ **Agua de tocador (Eau de Toilette):** contiene 4% y 7% y dura acerca de dos años
- ✓ **Agua de colonia (Eau de cologne):** contiene de 2% a 5% de aceites esenciales. Tiene una duración de vida por más de dos años.
- ✓ **Colonias ligeras y atomizadores de cuerpo:** contiene de 1% a 1,5% de aceites esenciales y dejan una esencia ligera en la piel. Tiene una duración de vida de dos a cuatro años.



## CAPÍTULO III

### MARCO METODOLÓGICO

*A continuación se presenta el tipo de investigación a desarrollar según los objetivos planteados, tipo de estrategia y profundidad de la misma. De igual manera se plantean las herramientas metodológicas y actividades a realizar para llevar a cabo el cumplimiento de los mencionados objetivos.*

#### **3.1. Tipo de investigación**

La investigación según el nivel de profundidad es de tipo exploratoria (Muñoz, 1998), ya que estudia las técnicas, métodos y procedimientos que permiten identificar los elementos que intervienen en el planteamiento general de la problemática a solucionar, así como los instrumentos, técnicas y herramientas con los cuales se puede llevar a cabo la investigación.

En los experimentos exploratorios, el propósito es descubrir y determinar los requerimientos de la investigación, la factibilidad de llevarla a cabo y todos los factores que de alguna forma intervendrán en el desarrollo de la misma.

Para el caso de la presente investigación, esta experimentación exploratoria será de gran utilidad pues con ella pueden establecerse las posibles variaciones y requerimientos del tema en estudio.

#### **3.2. Lugar de la investigación**

La realización de los experimentos de ésta investigación se hará en las instalaciones del Laboratorio de Petróleo Hidrocarburos y Derivados (PHD) de la Facultad de Ciencias y Tecnología (FACYT) de la Universidad de Carabobo y el Laboratorio de Fluidos Supercríticos del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ), el cual es un centro adscrito a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Carabobo, donde se desarrollan diferentes tipos de investigaciones entre las cuales se encuentran la extracción y caracterización de aceites esenciales a partir de productos naturales por diferentes métodos; ambos laboratorios se encuentran ubicados en la localidad de Bárbula del Edo. Carabobo.



### 3.3. Materiales, equipos y reactivos

- **Materiales:**

- Metras
- Teflón
- Termómetro
- Frasco ámbar
- Termómetro
- Guata
- Beaker
- Espátula
- Balones de destilación

- **Equipos:**

- Equipo de extracción supercrítica (SFE)
- Baño refrigerante-recirculante
- Manta de calentamiento
- Equipo de extracción-destilación simultánea (SDE)
- Compresor de aire
- Balanza analítica
- Plancha calefactora
- Rotaevaporador

- **Reactivos:**

- Pulpa de mango Haden
- Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>)
- Agua destilada
- Sulfato de sodio anhidro
- Diclorometano
- Etanol

### 3.4. Diseño de la investigación

Para el desarrollo de la investigación, se plantean las siguientes fases:

- Desarrollo de un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico.
- Desarrollo de un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción del aceite esencial de la pulpa del mango Haden utilizando el método de extracción-destilación simultánea (EDS).
- Caracterización del aceite esencial obtenido en la extracción de ambos métodos mediante análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masa, con el fin de conocer sus componentes.
- Comparación de la calidad del producto obtenido para establecer el mejor método de extracción.



- Desarrollo de una fragancia usando el aceite esencial proveniente del método que proporcione la mejor calidad.

### 3.5. Desarrollo de la investigación

#### 3.5.1. Desarrollo un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico.

- **Identificación de los equipos y materiales utilizados en la extracción.**

Los materiales y equipos empleados son: equipo de extracción supercrítica (Speed-SFE), compresor de aire, baño refrigerante-recirculante, cilindro de dióxido de carbono, metras, guata, teflón, frasco ámbar, balanza digital.

- **Selección de las variables a manipular.**

Para la realización del proceso de extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico, se consultó la bibliografía con el fin de conocer las variables a manipular, siendo éstas:

- ✓ Temperatura de operación del horno
- ✓ Presión de operación
- ✓ Temperatura del módulo de extracción
- ✓ Flujo del solvente extractor
- ✓ Tiempo de extracción: este puede ser de dos tipos
  - Tiempo estático (tiempo de residencia del CO<sub>2</sub> en el envase extractor)
  - Tiempo dinámico (tiempo de extracción)

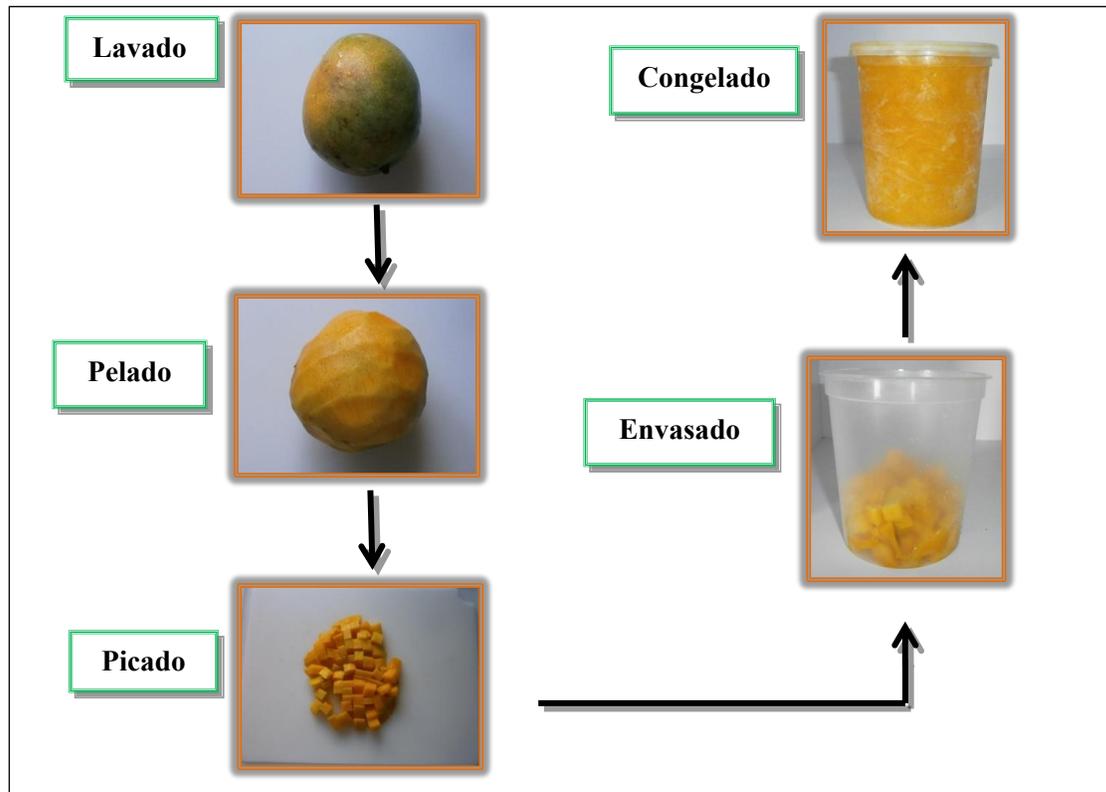
Con base a estudios anteriores donde se determinó la influencia de cada variable en el proceso se pudieron establecer como variables constantes, la temperatura de operación del horno, la temperatura del módulo de extracción y el flujo del solvente extractor; y como variables a controlar la presión de operación, el tiempo estático y el tiempo dinámico.

- **Preparación de la pulpa de mango con la finalidad de facilitar la operación en el equipo de extracción supercrítica.**

Con el fin de facilitar la extracción la materia prima pasó por un proceso de preparación (ver Figura 3.1), el cual se describe a continuación:



- Lavado: el fruto se sometió a un lavado con agua clorada, a fin de remover el sucio adherido a la piel, así como también otros elementos indeseables que vienen con el fruto durante la recolección.
- Pelado: se tomó el fruto previamente lavado y se procedió a retirarle la piel de forma manual utilizando cuchillos de acero inoxidable sobre una bandeja de plástico.
- Despulpado: se desprendió la pulpa del fruto mediante cortes transversales, en forma de tajadas, para la obtención de la mayor cantidad de pulpa y desprendimiento de la semilla.
- Reducción de tamaño: se procedió a picar la pulpa de mango en pequeños trozos con el fin de llevarla a una forma cómoda para la extracción.
- Envasado: este proceso se realizó en recipientes de material plástico e inmediatamente después se procedió a cerrar el envase. Se verificó que los envases y las tapas estuviesen totalmente limpios y secos antes de ser utilizados para envasar.
- Congelación: congelado de la pulpa procesada para contribuir a su conservación.



**FIGURA 3.1. PROCESO DE PREPARACIÓN DE LA PULPA DE MANGO PARA LA EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL.**



- **Realización del proceso de extracción preliminar para varias corridas.**

Al igual que en la selección de las variables a manipular se tomó como base, datos de estudios realizados acerca de la extracción de aceite esencial de mango empleando CO<sub>2</sub> supercrítico (Álvarez y Medina, 2008), pudiendo establecer una temperatura de operación del horno igual a 35°C, una temperatura del módulo de extracción igual a 100°C y el flujo del solvente extractor igual a 2,5 L/min.

**TABLA 3.1. CONDICIONES DE EXPERIMENTACIÓN PRELIMINARES**

FACTOR	VALOR
Presión (P, bar)	75 –90
Tiempo estático (t <sub>e</sub> , min)	10-30
Tiempo dinámico (t <sub>d</sub> , min)	30-50

- **Selección del rango de operación de la variable estudiada.**

A partir de los resultados obtenidos con el diseño anterior, se deben seleccionar los experimentos que tuvieron mejor calidad, determinando con ello el rango de operación de las variables para el proceso de extracción supercrítica.

**TABLA 3.2. CONDICIONES ESTABLECIDAS PARA EL DISEÑO EXPERIMENTAL**

FACTOR	Niveles fijados
Presión (P, bar)	Alto
	Bajo
Tiempo estático (t <sub>e</sub> , min)	Alto
	Bajo
Tiempo dinámico (t <sub>d</sub> , min)	Alto
	Bajo



- **Selección del diseño experimental.**

Para llevar a cabo la extracción del aceite esencial de la pulpa de mango Haden con CO<sub>2</sub> supercrítico, se estableció un diseño factorial completo 2<sup>3</sup> con dos niveles, uno alto y uno bajo, con tres factores (presión, tiempo dinámico y tiempo estático) dando un total de 8 experimentos cada uno con un duplicado, resultando un total de 16 experimentos.

- **Ejecución del proceso de extracción supercrítica del aceite esencial de la pulpa del mango Haden.**

En general, el proceso de extracción supercrítica se inició cargando la pulpa de mango previamente pesada, en el recipiente de extracción; una vez listo, se procedió a fijar la temperatura y luego a presurizar el solvente siendo en este caso CO<sub>2</sub> a una presión por encima de los 73,86 bar; estas condiciones son controladas digitalmente. Al tener el solvente como fluido supercrítico, se puso en contacto con la muestra por una cantidad de tiempo establecido, conocido como tiempo estático; y una vez efectuada la extracción se procedió a abrir la válvula de escape del reactor para dejar salir el fluido supercrítico con los compuestos aromáticos extraídos, éstos fueron enviados a un separador-condensador, donde se separó el solvente del extracto, este tiempo de separación se define como tiempo dinámico (en la Figura 3.2 se muestra el resumen del proceso). Una vez obtenido el extracto se procedió a estabilizarlo para evitar la descomposición u oxidación del aceite esencial, esto se logró añadiendo BHT (butil-hidroxi-tolueno). En el Apéndice C se encuentra el método operatorio detallado.

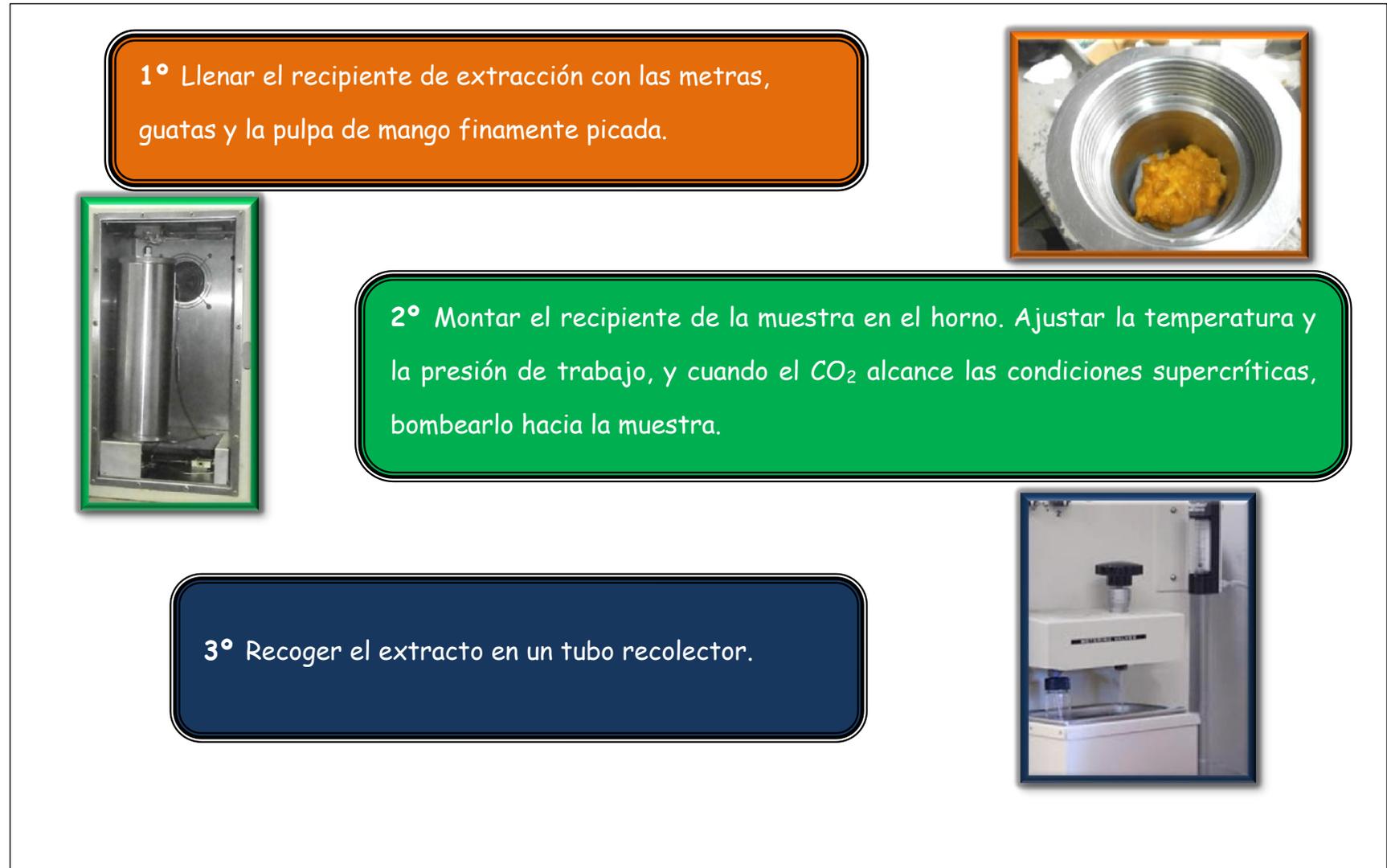


FIGURA 3.2. RESUMEN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN CON  $CO_2$  SUPERCRÍTICO



• **Análisis de varianza.**

Para determinar que tanto afectan las variables en el proceso de extracción y una vez aplicado el diseño factorial, de acuerdo a los resultados obtenidos en la variable de respuesta se debe proceder a realizar un análisis de varianza teórico de acuerdo a lo establecido en la bibliografía (Montgomery y Runger, 1996) y un análisis de varianza experimental (ANOVA), mediante el uso de un software estadístico (Statgraphics Plus 5.1). Además estudiar el efecto individual de cada variable y la interacción entre las mismas en el proceso de extracción; para así identificar las variables que afectan el proceso de forma significativa y obtener mediante una superficie de respuesta las condiciones óptimas de operación.

**TABLA 3.3. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA EL MODELO DE TRES FACTORES**

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Factor de Fisher
Factor A	$SS_A$	$a-1$	$MS_A = \frac{SS_A}{a-1}$	$\frac{MS_A}{MS_E}$
Factor B	$SS_B$	$b-1$	$MS_B = \frac{SS_B}{b-1}$	$\frac{MS_B}{MS_E}$
Factor C	$SS_C$	$c-1$	$MS_C = \frac{SS_C}{c-1}$	$\frac{MS_C}{MS_E}$
Interacción AB	$SS_{AB}$	$(a-1)(b-1)$	$MS_{AB} = \frac{SS_{AB}}{(a-1)(b-1)}$	$\frac{MS_{AB}}{MS_E}$
Interacción AC	$SS_{AC}$	$(a-1)(c-1)$	$MS_{AC} = \frac{SS_{AC}}{(a-1)(c-1)}$	$\frac{MS_{AC}}{MS_E}$
Interacción BC	$SS_{BC}$	$(b-1)(c-1)$	$MS_{BC} = \frac{SS_{BC}}{(b-1)(c-1)}$	$\frac{MS_{BC}}{MS_E}$
Interacción ABC	$SS_{ABC}$	$(a-1)(b-1)(c-1)$	$MS_{ABC} = \frac{SS_{ABC}}{(a-1)(b-1)(c-1)}$	$\frac{MS_{ABC}}{MS_E}$
Error	$SS_E$	$abc(n-1)$	$MS_E = \frac{SS_E}{abc(n-1)}$	-----
Total	$SS_T$	$abcn-1$	-----	-----



- **Aplicación del método de superficie de respuesta.**

La metodología de superficie de respuesta (MSR) es un grupo de técnicas matemáticas y estadísticas útiles para el modelado y análisis en aplicaciones donde la respuesta de interés está influenciada por varias variables y el objetivo es optimizar ésta respuesta. Considerando un proceso cuya respuesta es función de dos factores:  $Y = f(X_1, X_2) + \epsilon$ , donde  $\epsilon$  representa el ruido o error observado en la respuesta  $Y$ ; la superficie de respuesta puede representarse de manera gráfica en un espacio tridimensional, si se denota la respuesta esperada por  $E(Y) = f(X_1, X_2) = n$ , el valor  $n$  se grafica contra los valores  $X_1$  y  $X_2$ , siendo  $n$  la variable de respuesta (calidad) y  $X_1, X_2$  las variables más influyentes. Para la aplicación de éste método debe emplearse un diseño central compuesto, para así ajustar los resultados y obtener una superficie de respuesta óptima (Montgomery y Runger, 1996).

### **3.5.2. Desarrollo de un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción del aceite esencial de la pulpa del mango Haden utilizando el método de extracción-destilación simultánea (EDS).**

- **Identificación del solvente a utilizar en la extracción.**

Se debe tener mucha precaución con la selección del solvente de extracción, debe ser fácil de eliminar, no reaccionar con la muestra, no debe ser muy tóxico, ni fácilmente inflamable. Deben ser destilados antes de ser usados ya que algunos pueden contener plastificantes derivados de los envases y tapas de almacenamiento, induciendo a resultados erróneos. Los solventes más empleados son: etanol, dietiléter, hexano, cloroformo, diclorometano, éter de petróleo, entre otros (Terence, 1971). Teniendo en cuenta que uno de los objetivos de ésta investigación es realizar un perfume, el solvente seleccionado fue diclorometano, por su bajo nivel de toxicidad y por la disponibilidad en el laboratorio donde se va a realizar la extracción.

- **Identificación de los equipos y materiales utilizados en la extracción.**

La obtención del aceite esencial de la pulpa de mango Haden, se hizo mediante la extracción con el solvente orgánico diclorometano y usando la técnica de extracción-destilación simultánea



(EDS) con el equipo Likens y Nickerson (1964). Los materiales y equipos empleados fueron: 2 balones de 500 mL y 100 mL, un termómetro, una manta y una plancha calefactora, una balanza digital, un rotaevaporador.

- **Selección de las variables a manipular.**

Para la realización del proceso de extracción-destilación simultánea, se tomaron como variables a estudiar:

- ✓ Volumen de agua destilada.
- ✓ Volumen de solvente.
- ✓ Tiempo de extracción.

Se tomó como variable constante, la masa de la pulpa; esta selección se basó en la bibliografía de Narain y Galvao (2004) con algunas modificaciones.

- **Preparación de la pulpa de mango con la finalidad de facilitar la operación en la extracción con solvente.**

Con el fin de facilitar la extracción, la materia prima pasó por un proceso de preparación, del mismo modo que se realizó para la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico (ver Figura 3.1).

- **Realización del proceso de extracción preliminar para varias corridas.**

Para las extracciones preliminares se tomó como base, datos de estudios realizados acerca de la extracción de aceite esencial de mango empleando el método de extracción-destilación simultánea (Pino, 2005), pudiendo establecer como variable fija una masa de pulpa igual a 100 g.

**TABLA 3.4. CONDICIONES DE EXPERIMENTACIÓN PRELIMINARES EN LA EXTRACCIÓN-DESTILACIÓN SIMULTÁNEA**

FACTOR	RANGO
Tiempo de extracción ( $t_e$ , min)	30-90
Volumen de agua destilada (mL)	300
Volumen de solvente (mL)	20



De acuerdo a las condiciones planteadas se realizaron los ensayos preliminares utilizando la tabla A.1.

- **Selección del rango de operación de la variable estudiada.**

A partir de los resultados obtenidos (ver Tabla A.1) con el diseño anterior, se seleccionaron los experimentos que tuvieron mejor calidad, determinando con ello el rango de operación de las variables para el proceso de extracción.

**TABLA 3.5. CONDICIONES ESTABLECIDAS PARA EL DISEÑO EXPERIMENTAL EN LA EXTRACCIÓN-DESTILACIÓN SIMULTÁNEA**

FACTOR	Niveles fijados
Tiempo de extracción (min)	Alto
	Bajo
Volumen de agua destilada (mL)	Alto
	Bajo
Volumen de solvente (mL)	Alto
	Bajo

- **Selección del diseño experimental.**

Para llevar a cabo la extracción del aceite esencial de la pulpa de mango Haden con EDS, se estableció un diseño factorial completo  $2^3$  con dos niveles, uno alto y uno bajo, con tres factores (volumen de agua destilada, volumen de solvente y tiempo de extracción) dando un total de 8 experimentos cada uno con un duplicado, resultando un total de 16 experimentos.

- **Ejecución del proceso de extracción del aceite esencial por solvente.**

Los componentes volátiles fueron extraídos por la técnica extracción-destilación simultánea (EDS) usando el equipo Likens y Nickerson (1964). Se homogenizó la pulpa (finamente picada) con agua destilada. La muestra acuosa se depositó en un balón de fondo redondo de 500 mL de capacidad, que se sujetó en el primer tubo lateral del extractor-destilador simultáneo. En el



segundo tubo lateral del equipo, se colocó un balón de fondo redondo de 100mL de capacidad que contenía el solvente extractor (diclorometano). Ambos balones se sometieron a calentamiento a 100°C y 60 °C. En tanto, en el tubo en forma de “U” del equipo, se agregaron aproximadamente 20mL de agua destilada y 25mL del solvente utilizado para lograr la interfase. Los vapores de la muestra y del solvente se encontraron en el espacio de cabeza del equipo en donde se condensaron por efecto del refrigerante (-5°C); el líquido se acumuló en el tubo en forma de “U” en donde se realizó la extracción de compuestos. El extracto obtenido se secó con sulfato de sodio anhidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se concentró con un rotaevaporador y se le agregó 1mL de etanol para su posterior análisis cromatográfico.

La metodología utilizada para la extracción-destilación simultánea de los componentes volátiles se basó en la publicada por González *et al.*, 2009; con algunas modificaciones. El método operatorio detallado se encuentra en el apéndice C.

La extracción se realizó según en modelo experimental 2<sup>3</sup>, realizando 8 experimentos con sus replicas (ver Tabla A.2).

- **Análisis de varianza.**

El análisis de varianza (ANOVA), para la extracción-destilación simultánea se realizó del mismo modo que se describió para la extracción supercrítica, usando de igual manera el software estadístico Statgraphics Plus 5.1.

- **Aplicación del método de superficie de respuesta.**

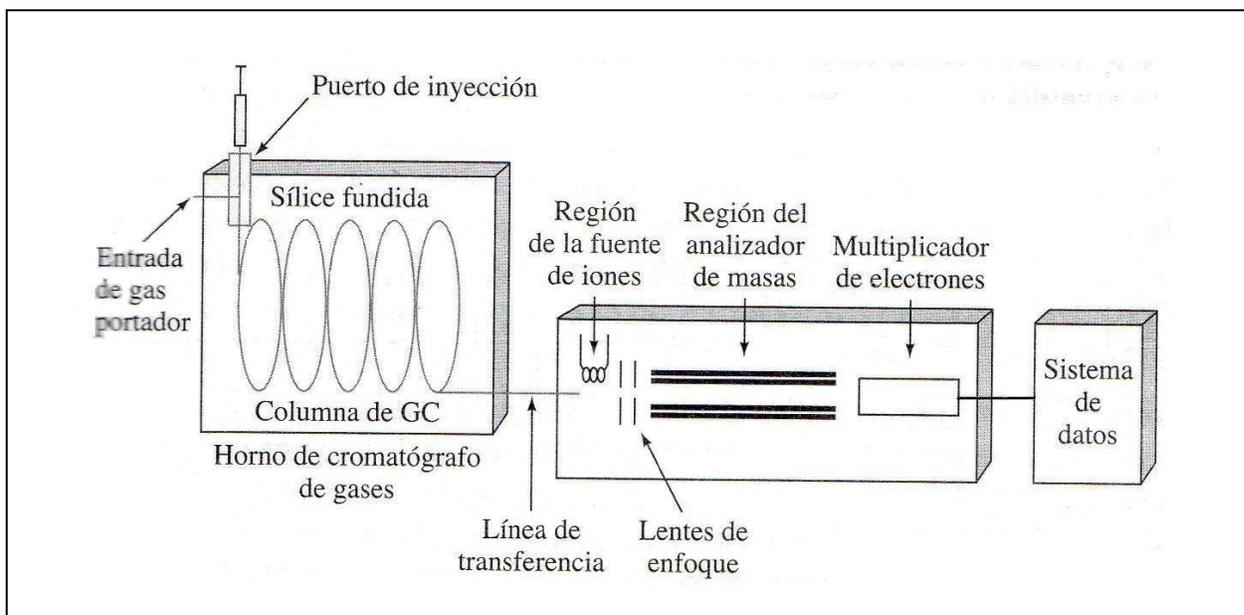
Para la aplicación de éste método se empleó al igual como se describió para la extracción supercrítica, un diseño central compuesto; ajustando los resultados y obteniendo una superficie de respuesta óptima. Éstos resultados se analizaron utilizando el programa estadístico (Statgraphics Plus 5.1).

### 3.5.3. Caracterización del aceite esencial obtenido en la extracción de ambos métodos mediante análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masa, con el fin de conocer sus componentes.

- **Identificación del equipo de cromatografía.**

En la cromatografía de gases, los componentes de una muestra vaporizada se separan como consecuencia de su reparto entre una fase móvil gaseosa inerte y otra fase estacionaria líquida mantenida en una columna capilar.

Para separar los componentes volátiles fue utilizado un cromatógrafo de gases combinado con espectrometría de masas, la cual utiliza una biblioteca de compuestos existente en la memoria del equipo, determinando cada compuesto sin necesidad de usar patrones que generalmente son difíciles de adquirir. El esquema del equipo se muestra en la Figura 3.3.



**Figura 3.3. Esquema de un instrumento CG/MS capilar típico (Skoog *et al.*, 2005).**

La muestra se inyecta con una microjeringa a través de un septum de caucho o silicona en un puerto de muestras calentado y que se localiza en la cabeza de la columna en el cromatógrafo de gases; el efluente pasa a un espectrómetro de masas de cuadrupolo. La fuente fragmenta e ioniza



las moléculas, mide la relación masa/carga ( $m/z$ ) de iones que se producen y se detectan con el multiplicador de electrones. Los resultados se expresan mediante un cromatograma, donde se representa gráficamente su señal en función del tiempo y se obtiene una serie de picos. El cromatograma es útil tanto para el análisis cualitativo como para el análisis cuantitativo; la posición de los picos sobre el eje del tiempo puede usarse para identificar los componentes de la muestra, las áreas bajo los picos proporcionan una medida cuantitativa de la cantidad de cada especie (Skoog *et al.*, 2005).

- **Selección las condiciones de operación empleadas.**

Para la caracterización del aceite esencial fue utilizado un cromatógrafo de gases, marca Agilent Technologies, modelo 7890A, conectado a un espectrómetro de masas de la misma marca, modelo 5975C; el cual está acoplado a un software para registrar e imprimir los cromatogramas obtenidos, ubicado en el Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la Facultad de Ingeniería en la Universidad de Carabobo. Se utilizó una columna capilar, marca Agilent Technologies – DB Wax, con una composición de 100% de polietilenglicol con dimensiones de 30m x 0,25mm de diámetro interno y 0.25  $\mu\text{m}$  de espesor de película, como gas de arrastre se usó helio (He).

Las condiciones de operación empleadas fueron: el gas de arrastre (Helio) se ajustó a 1mL/min; modo de inyección split 1:10; temperatura del inyector de 250°C; el volumen de inyección de la muestra 1  $\mu\text{L}$ ; programa de temperatura fue 60°C (2 min.), planteadas en 4°C/min hasta 250°C (20 min.); temperatura de la fuente de iones y de las piezas de conexión fue 230°C (Pino *et al.*, 2005).

#### **3.5.4. Comparación de la calidad del producto obtenido para establecer el mejor método de extracción.**

- **Análisis de los resultados obtenidos por el cromatógrafo de gases y espectrometría de masas.**

Luego de haber analizado las muestras extraídas mediante ambos métodos, a través del cromatógrafo de gases con espectrometría de masas, se hizo necesaria la evaluación del



cromatograma mostrado por el software del equipo, ya que en éste se reportan los compuestos presentes en la muestra con su respectivo porcentaje por unidad de área; siendo el tamaño de los picos proporcional a la cantidad de la sustancia correspondiente en la muestra analizada. El pico se mide desde la línea de base hasta la punta del mismo.

Según Pino *et al.* 2005, el  $\delta$ -3-careno es el componente mayoritario en el mango Haden y responsable de su aroma; sabiendo que el área bajo los picos proporciona una medida cuantitativa de la cantidad de  $\delta$ -3-careno, lo que representa la calidad en el aceite esencial, se pudo comparar los resultados de ambas muestras con el uso de un cuadro comparativo, y de ésta manera seleccionar el mejor método de extracción.

### **3.5.5. Desarrollo de una fragancia usando el aceite esencial proveniente del método que proporcione la mejor calidad.**

- **Selección de los aromas correspondientes a las notas de cabeza, corazón y fondo para la fragancia.**

El aroma del perfume evoluciona en tres tiempos: nota de cabeza o de salida, aquella que se percibe nada más al abrir el frasco y que se evapora rápidamente; nota media o de corazón, menos volátil, que aparece a los cinco minutos de haber aplicado el aroma y puede permanecer varias horas; nota base o de fondo, que es la base de la fragancia y es la que va a condicionar su elección (Ortuño, 2006).

Una vez obtenido el aceite esencial de mango Haden, se procedió hacer pruebas para desarrollar el perfume que ofreciera la mejor combinación de aromas, que destacara además el olor del mango; comenzando con la realización de ensayos en pequeños recipientes sobre los cuales se vertieron los volúmenes necesarios para la elaboración de 5mL, según las proporciones que se muestran en la Tabla 3.6.

Cabe destacar que los componentes volátiles del perfume se evaporan fácilmente y para superar esta dificultad, es necesaria la adición de un fijador, siendo éstos sustancias de menor volatilidad que los aceites del perfume, que retardan la velocidad de evaporación de varios componentes



odoríferos (Ortuño, 2006). Para este caso se utilizó como fijador Galoxide (el cual está constituido por hexametilindanopirano) y glicerina.

**TABLA 3.6. PORCENTAJE DE CONCENTRACIÓN DE LA FRAGANCIA**

Componente	Porcentaje
Aceites Esenciales	10%
Alcohol de perfumería	70%
Galoxide	5%
Glicerina	5%
Agua destilada	10%

• **Elaboración de una fragancia tomando en cuenta la proporción volumétrica de los componentes a adicionar.**

Una vez seleccionados los aceites esenciales correspondientes a las notas de salida, corazón y fondo, se elaboró el perfume contando con los siguientes implementos: alcohol de perfumería, aceite esencial de mango Haden, aceite esencial de mandarina, aceite esencial de girasol, aceite esencial de vainilla y agua destilada.

El proceso de elaboración para la obtención de 20mL de perfume, según la tabla de porcentajes de concentración mostrada anteriormente, es el siguiente:

1. Disponer de un frasco ámbar y añadir en él 14 mL de alcohol de perfumería y 2 mL de agua destilada.
2. Homogenizar los componentes añadidos.
3. Agregar al mismo frasco, 1 mL de fijador y 1 mL de glicerina.
4. Agitar muy bien para homogenizar la mezcla y dejar reposar por unos segundos.
5. Añadir 0,2 mL de extracto de vainilla (nota base).
6. Añadir 0,2 mL de aceite esencial de girasol (nota media).
7. Añadir 0,2mL de aceite esencial de mandarina (nota de salida).
8. Añadir 1,4mL de aceite esencial de mango Haden (nota de salida).
9. Añadir 0,002g de colorante amarillo N°5.



10. Agitar muy bien para homogenizar la mezcla y dejar reposar por 3 días en un lugar fresco y al abrigo de la luz (mejor en nevera a 4°C).
11. En caso de observarse sustancias insolubles se eliminarán mediante el filtrado a través de una sustancia absorbente (carbonato magnésico).
12. Procurar que el envase esté completamente forrado con una bolsa oscura o negra para evitar que la luz penetre el recipiente recolector de la fragancia.
13. Colocar el producto terminado a temperatura ambiente en un lugar oscuro preferiblemente.



## CAPÍTULO IV

### DISCUSIONES DE RESULTADOS

*A continuación se presentan los datos y resultados obtenidos durante el desarrollo de cada uno de los objetivos planteados, incluyendo la discusión y el análisis de los mismos.*

#### **4.1. Desarrollo de un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico.**

Para la realización del proceso de extracción a escala piloto con CO<sub>2</sub> supercrítico, se preparó la pulpa del mango con el fin de facilitar el proceso de extracción, descongelando, triturando y escurriendo la misma (ya que no se pudo liofilizar por carencia del equipo), de manera de favorecer el área de contacto entre la pulpa y el solvente extractor (CO<sub>2</sub> supercrítico); teniendo en cuenta que la presencia de agua dificulta notablemente el proceso, por lo que algunos investigadores trabajan con la muestra liofilizada para lograr la eliminación del agua y evitar la pérdida de los compuestos de alta volatilidad (Esteban, 2006).

Cabe destacar que durante esta preparación de la pulpa, no se aplicó ningún proceso de secado, tales como secado por aire caliente o con vacío, porque aunque son pre-tratamientos importantes, el calentamiento suave durante un largo periodo de tiempo genera volatilización de terpenos y otras moléculas de pesos moleculares bajos, mientras que los compuestos de cadenas carbonadas largas requieren temperaturas elevadas para su liberación, por lo cual se mantienen adheridos a la fruta; cuando se presenta una reducción de presión, los gases internos que concentran aromas son liberados por la compresión de las estructuras generando pérdidas considerables de aromas (Moreno *et al.*, 2010).

Para efectuar satisfactoriamente la extracción supercrítica se seleccionó realizarla técnica de tipo estática-dinámica, debido a que asegura la existencia de un mayor contacto entre el fluido supercrítico y la pulpa, dando lugar al agotamiento rápido y prácticamente total de los sólidos extraídos; asegurando así un mayor rendimiento en cuanto a cantidad del extracto obtenido.



Con base a estudios anteriores donde se determinó la influencia de cada variable en el proceso, se pudieron establecer como variables constantes, la temperatura de operación del horno, la temperatura del módulo de extracción y el flujo del solvente extractor; y como variables a controlar la presión de operación, el tiempo estático y el tiempo dinámico. La temperatura de operación del horno seleccionada fue igual a 35°C de manera de asegurar el estado supercrítico del solvente, sabiendo que su temperatura crítica es 31,1°C; el flujo de solvente extractor se estableció en 2,5 L/min debido a 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 CO<sub>2</sub> a temperaturas menores.

Para la realización del proceso de extracción preliminar se ejecutaron varias corridas, como se indica en la Figura 3.2 conjuntamente con el manual de operación del equipo (ver apéndice C). Según datos de estudios realizados acerca de la extracción de aceite esencial de mango empleando CO<sub>2</sub> supercrítico (Álvarez y Medina, 2008), se pudo iniciar las extracciones preliminares con un rango de presión de operación igual a 70 y 90 bar, tiempo estático igual a 10 y 30min, tiempo dinámico igual a 30 y 50min. Para éstas corridas los resultados obtenidos no fueron satisfactorios, ya que la masa del extracto obtenido no fue significativa y el porcentaje de  $\delta$ -3-Careno en el aceite obtenido fue igual a cero; lo que conllevó a aumentar la presión a 95, 200, 300 y 400 bar, tal como se muestra en la Tabla 4.1, en búsqueda de aumentar el rendimiento y el porcentaje de  $\delta$ -3-Careno reportado en el cromatograma. A pesar de realizar éstos aumentos de presión no se obtuvieron los resultados esperados, pues aunque aumentó levemente el rendimiento, el porcentaje de  $\delta$ -3-Careno continuó siendo nulo, impidiendo así la selección del rango adecuado de operación, y por ende la realización del diseño de experimentos 2<sup>3</sup> y la superficie de respuesta; ya que no tendría sentido realizar un diseño experimental donde los factores que intervienen no tienen un efecto significativo sobre la variable de respuesta y las interacciones entre estas no son significativas, impidiendo de esta manera conseguir una combinación de variables que optimicen la respuesta.



**TABLA 4.1. RESULTADOS DE LA EXPERIMENTACIÓN PRELIMINAR**

Número de corridas	Valor de las variables estudiadas			Masa de la muestra (m± 0,001)g	Masa del recolector vacío (m± 0,001)g	Masa del recolector lleno (m ±0,001)g	Rendimiento (R± 0,03)%	Calidad (% δ-3-Careno)
	(P±0,1) bar	(t <sub>c</sub> ±0,1) min	(t <sub>d</sub> ±1) min					
1	75,0	30,0	50	100,671	36,275	36,292	0,02	0
2	75,0	30,0	30	100,473	47,080	47,097	0,02	0
3	75,0	10,0	50	100,074	42,093	42,099	0,01	0
4	75,0	10,0	30	100,362	36,273	36,280	0,01	0
5	90,0	30,0	50	100,402	47,062	47,076	0,01	0
6	90,0	30,0	30	100,360	35,600	35,608	0,01	0
7	90,0	10,0	50	100,938	37,377	37,392	0,02	0
8	90,0	10,0	30	100,140	36,910	36,930	0,02	0
9	95,0	30,0	50	99,937	33,120	33,145	0,03	0
10	200,0	10,0	30	100,205	32,214	32,246	0,03	0
11	300,0	10,0	30	100,502	35,954	36,015	0,07	0
12	400,0	10,0	30	100,309	36,813	36,880	0,07	0



La ineficiencia de la extracción supercrítica del aceite esencial de la pulpa del mango Haden pudo deberse a la presencia del gran contenido de agua característico de la fruta. En estas extracciones, el CO<sub>2</sub> debe penetrar principalmente por los capilares de los poros (espacios intercelulares del tejido) la cual está muy impedida por la impermeabilidad de las membranas de la pulpa del mango, dado que la mayor parte de las membranas de la pulpa está compartimentada con una fracción líquida que hace difícil el proceso de extracción (Torres, 2007).

#### **4.2. Desarrollo un diseño experimental con superficie de respuesta, con el fin de determinar las condiciones óptimas para la extracción del aceite esencial de la pulpa del mango Haden utilizando el método de extracción-destilación simultánea (EDS).**

La obtención del aceite esencial de la pulpa de mango Haden, se hizo mediante la extracción con el solvente orgánico diclorometano y usando la técnica de extracción-destilación simultánea (EDS) con el equipo Likens y Nickerson (1964). Se eligió dicho solvente ya que es fácil de eliminar, no reacciona con la muestra y posee un punto de ebullición bajo.

Se tomó como variable constante, la masa de la pulpa y como variables a estudiar, el volumen de agua destilada (ya que está en contacto directo con la pulpa de mango y la cantidad de vapor generado influye en los volátiles arrastrados), el volumen de solvente (debido a que el diclorometano está en contacto directo con los vapores de los componentes volátiles provenientes de la pulpa) y el tiempo de extracción (porque influye en el lapso que estarán en contacto los vapores de los volátiles con el solvente extractor).

La pulpa del mango Haden se preparó con el fin de facilitar el proceso de extracción, descongelándola y picándola en pequeñas partes, ya que la disminución del tamaño de la pulpa incrementa la superficie de contacto expuesta en el agua destilada, favoreciendo así el arrastre de los volátiles que serán extraídos por el solvente.

Para la selección del rango de operación de las variables se realizaron varias corridas preliminares que permitieron observar el comportamiento de la variable de respuesta (porcentaje de  $\delta$ -3-Careno en el extracto), todas ellas basadas según Narain y Galvao (2004). Las corridas se

encuentran en la tabla A.1, y a partir de ellas se seleccionaron los experimentos que tuvieron mejor calidad, determinando con ello el rango de operación de las variables para el proceso de extracción (ver Tabla 4.2).

En la Figura 4.1 se presenta el montaje de la EDS, seguida de la Figura 4.2 donde se muestra la zona U en la cual se produce la interfase entre el diclorometano (rico en volátiles) y el agua destilada.



**FIGURA 4.1. MONTAJE DE LA EDS (LIKENS Y NICKERSON, 1964)**



**FIGURA 4.2. RECOLECCIÓN DE LOS COMPONENTES VOLÁTILES EN LA INTERFASE**



**TABLA 4.2. CONDICIONES ESTABLECIDAS PARA EL DISEÑO EXPERIMENTAL EN LA EXTRACCIÓN-DESTILACIÓN SIMULTÁNEA**

<b>FACTOR</b>	<b>Niveles fijados</b>
<b>Tiempo de extracción (min)</b>	90
	60
<b>Volumen de agua destilada (mL)</b>	400
	300
<b>Volumen de solvente (mL)</b>	30
	20

El promedio del porcentaje de área del  $\delta$ -3-careno obtenido entre la extracción y su réplica del diseño factorial  $2^3$  se presenta en la Tabla 4.3, variando el tiempo de extracción, el volumen de agua destilada y el volumen de solvente. Ésta extracción se hace posible ya que el método hace uso de una hidrodestilación para la obtención de los aceites esenciales a partir del material vegetal, y de la extracción realizada por el solvente en la fase gaseosa. De esta forma, los aceites esenciales arrastrados por el vapor de agua, se mezclan con vapor del solvente en una cámara y son condensados disueltos en el solvente orgánico, el cual es separado por diferencia de densidades con el agua, evitándose posteriormente la circulación del aceite esencial y su contacto nuevamente con el agua y altas temperaturas, disminuyéndose la oxidación de los compuestos del aceite.

La extracción-destilación simultánea (EDS) es un método de extracción de compuestos volátiles comúnmente empleado para el análisis de alimentos, ya que puede extraer sustancias sin hacerles sufrir degradación térmica a partir de un medio acuoso. En particular, el procedimiento es aplicable a la extracción en frío, o a temperatura moderada, de las sustancias aromatizantes y/o odorantes termolábiles presentes en estado muy diluido en un medio acuoso. De esta manera, la fracción volátil que contiene los compuestos orgánicos aromatizantes se extrae continuamente sin que haya contacto directo entre la muestra y el solvente, lo que significa que sólo los constituyentes arrastrados por el vapor están seleccionados (Chaintreau *et al.*, 2000).



**TABLA 4.3. RESULTADOS DE LA EXTRACCIÓN-DESTILACIÓN SIMULTÁNEA.**

Número de corridas	Valor de las variables estudiadas			Rendimiento (R± 0,03)%	Calidad (% δ-3-Careno)
	(V <sub>a</sub> ±0,5) mL	(V <sub>a</sub> ±0,5) mL	(t <sub>e</sub> ±1) min		
1	400	20	90	0,24	69,38
2	400	20	60	0,38	77,19
3	400	30	90	0,39	61,44
4	300	30	90	0,23	74,92
5	400	30	60	0,34	72,25
6	300	20	60	0,24	84,55
7	300	20	90	0,31	29,68
8	300	30	60	0,23	36,86



Después de haber realizado las extracciones, el extracto fue separado del solvente mediante un proceso de rotaevaporación, realizado a presión de vacío, ya que es capaz de disminuir la temperatura de ebullición del diclorometano de 40°C a 35°C aproximadamente, de ésta forma se garantizó que los componentes volátiles del mango no sufrieran una degradación térmica y por ende una descomposición.

Según los resultados obtenidos del diseño experimental, en la Tabla A.2, el porcentaje de  $\delta$ -3-Careno para la corrida N° 6 fue el más alto (84,95%) con un rendimiento igual a 0,27% y al compararlo con la corrida N°1 que tiene un porcentaje de  $\delta$ -3-Careno igual a 68,77%, con un rendimiento de 0,31% se concluye que la calidad (%  $\delta$ -3-Careno) no depende del rendimiento. Esto posiblemente se debió a la manipulación experimental al momento de separar el solvente del extracto en la rotaevaporación.

En la Tabla 4.4 el total de factores y combinaciones representan el total de todas las n observaciones en cada una de las ocho corridas en el diseño experimental. Además, las letras minúsculas de cada combinación, representa el nivel superior del factor, mientras que la ausencia de esta ultima representa el nivel inferior, así como también la combinación I representa a todos los niveles en su nivel inferior.

**TABLA 4.4. DATOS DEL TOTAL DE LAS OBSERVACIONES PARA CADA UNO DE LOS FACTORES ESTUDIADOS**

Combinaciones de factores	Factores			Respuesta (%)		Totales (%)
	A	B	C	Calidad (1)	Calidad (2)	
I	300	20	60	84,95	84,14	169,09
A	400	20	60	75,85	78,54	154,39
b	300	30	60	46,19	27,53	73,72
ab	400	30	60	72,70	71,80	144,50
c	300	20	90	36,57	22,79	59,36
ac	400	20	90	68,77	69,98	138,75
bc	300	30	90	74,78	75,06	149,84
abc	400	30	90	62,54	60,34	122,88

Con los valores reportados en la Tabla A.2 se realizó un análisis de varianza, el cual consiste en el cálculo de la suma de cuadrados, grados de libertad y cuadrados medios para la posterior determinación del factor de Fisher experimental para cada una de las variables e interacciones



establecidas, éste análisis se realizó utilizando el software estadístico Statgraphics Plus 5.1 (a modo de prueba por 30 días), a fin de poder determinar la influencia de las variables principales dentro del proceso de extracción, para determinar su efecto en el porcentaje de  $\delta$ -3-Careno. Seguidamente para afianzar los resultados del análisis de varianza se emplearon otros métodos y herramientas estadísticas tales como:

- Diagrama de Pareto.
- Gráfico de efectos principales.
- Gráfico de efectos de las interacciones.

**TABLA 4.5. RESULTADO DE ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA CALIDAD**

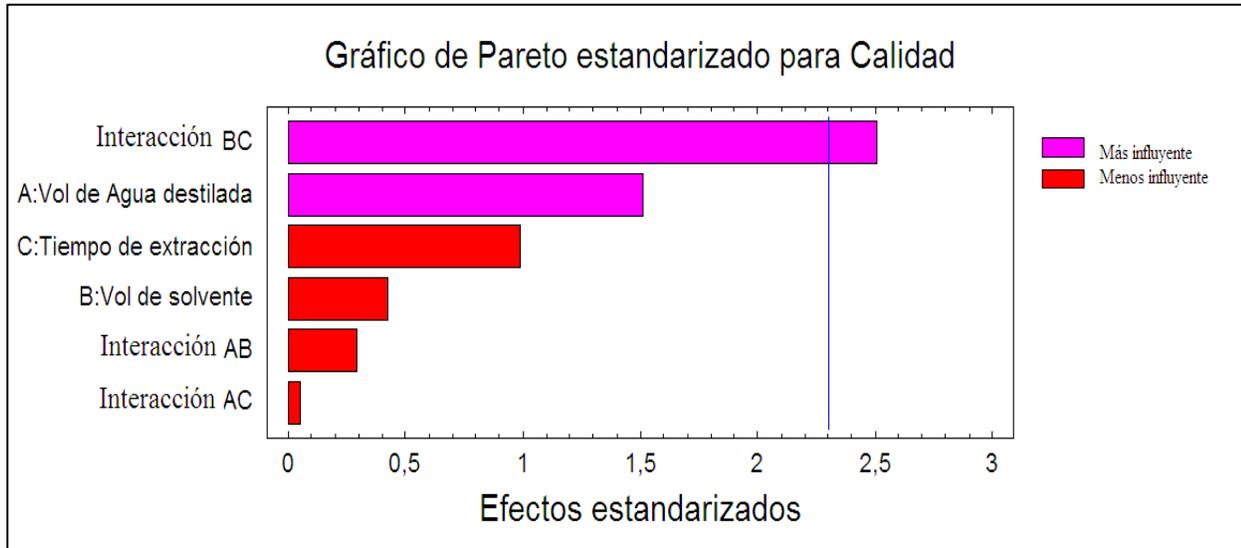
<b>Factor</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>Factor de Fisher (<math>F_0</math>)</b>	<b>P-Valor</b>
<b>A: volumen de agua destilada</b>	735,981	1	735,981	2,29	0,1690
<b>B: volumen de solvente</b>	58,7139	1	58,7139	0,18	0,6806
<b>C: tiempo de extracción</b>	313,91	1	313,91	0,98	0,3523
<b>AB</b>	27,2223	1	27,2223	0,08	0,7786
<b>AC</b>	0,832656	1	0,832656	0,00	0,9607
<b>BC</b>	2022,08	1	2022,08	6,20	0,0366
<b>ABC</b>	1,32826	1	1,32826	0,00	0,9504
<b>Error total</b>	2575,18	8	321,897	-----	-----
<b>Total (corr.)</b>	5735,16	15	-----	-----	-----

**Fuente: Statgraphics Plus 5.1**

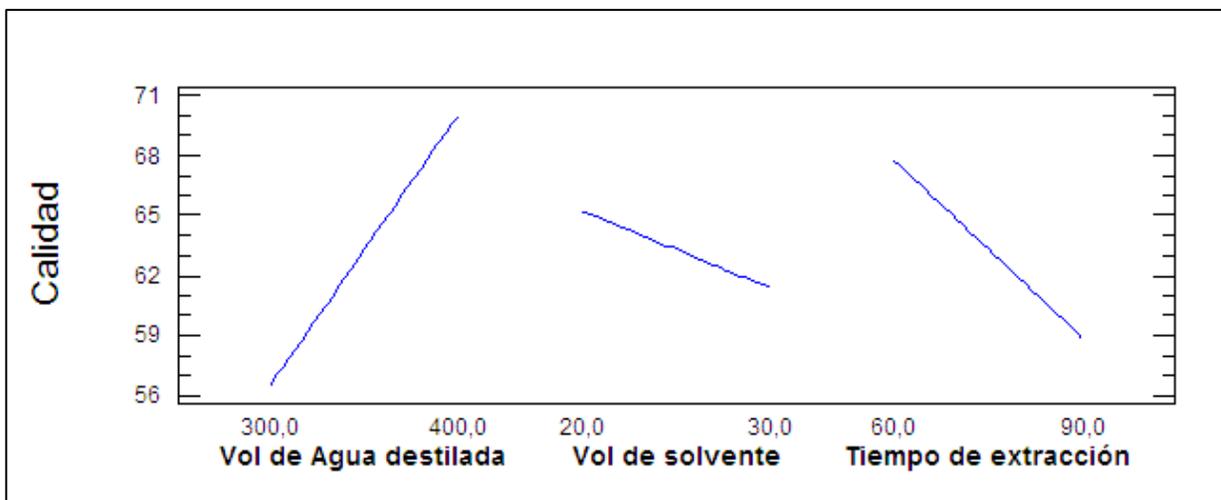
En la Tabla 4.5 se resume el ANOVA arrojado por software, que permite deducir cual factor es más influyente sobre el proceso de extracción, ya que mientras más grande sea el factor de Fisher, el p-valor se acerca mas a cero, indicando así que esa variable o interacción es la que más influye. De la misma manera, mientras más pequeño sea el factor Fisher y el p-valor se acerque más a la unidad, menos influye la variable o la interacción en el proceso (Montgomery, 1996).



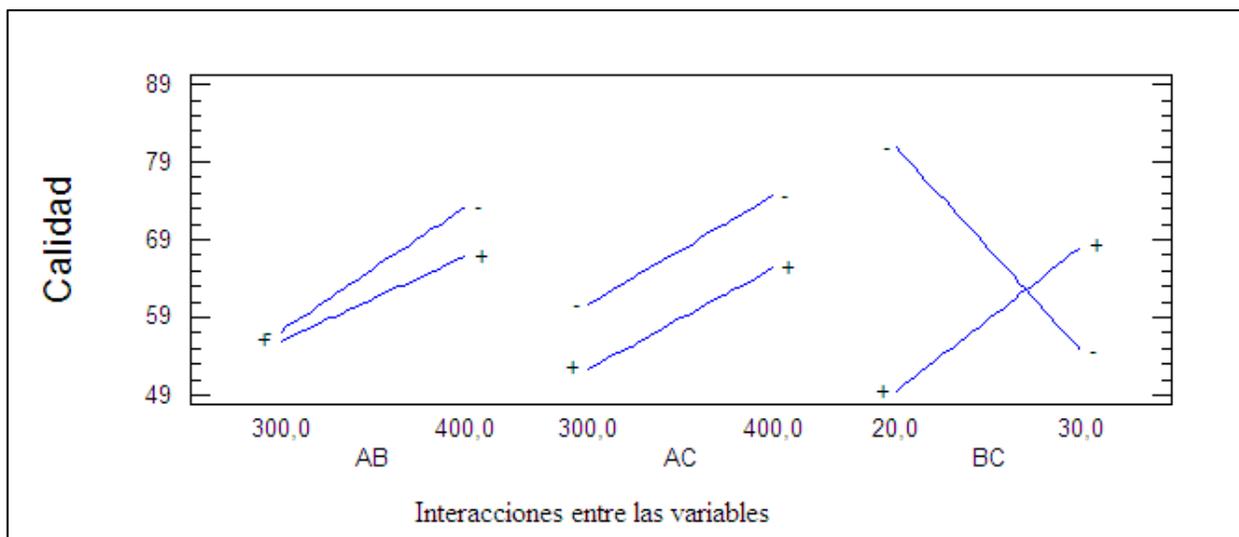
Como puede apreciarse, la interacción BC es el factor que más influye en el proceso, con un  $F_0$  igual a 6,20 y en cuanto a las variables individuales, la más influyente es el volumen de agua destilada, con un  $F_0$  igual a 2,29. Este resultado se evidencia tanto en el diagrama de Pareto (ver Figura 4.3), en el gráfico de efectos principales (ver Figura 4.4) y en el gráfico de efectos de las interacciones (ver Figura 4.5); donde se refleja la tendencia de los efectos principales y la tendencia de los efectos de las interacciones en la calidad del aceite, respectivamente. Para afianzar estos resultados se comparó el  $F_0$  que reportó el paquete estadístico (experimental) con el valor de  $F_0$  teórico, el cual se calculó mediante la tabla de puntos porcentuales de la distribución F (ver Apéndice D). Tomando el nivel de confianza ( $\alpha$ ) y los grados de libertad del cuadrado medio del factor y el cuadrado medio del error ( $v_1$  y  $v_2$ , respectivamente) reportado por el programa, se obtuvo un  $F_{0(0,05;1;8)}$  igual a 5,32 verificando así lo planteando 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 (Montgomery, 1996).



**FIGURA 4.3. DIAGRAMA DE PARETO ESTANDARIZADO PARA LA CALIDAD**



**FIGURA 4.4. TENDENCIA DE LOS EFECTOS PRINCIPALES PARA LA CALIDAD**



**FIGURA 4.5. TENDENCIA DE LAS INTERACCIONES ENTRE LAS VARIABLES PARA LA CALIDAD**

Una vez que el análisis realizado por el paquete estadístico descartó el volumen de agua destilada como variable influyente, por lo cual se dejó como una constante igual a 300mL y se procedió a realizar el diseño central compuesto (DCC) para así ajustar los resultados y obtener una superficie de respuesta óptima. El método requirió  $k$  factores,  $2^k$  corridas factoriales,  $2^k$  corridas axiales y 5 puntos centrales (Montgomery, 1996). Bajo estas condiciones el diseño requiere un total de 13 experimentos, donde cuatro corresponden a las combinaciones de los niveles establecidos en los rangos de operación, cinco corresponden al punto central y las cuatro restantes



pertencen a los puntos axiales, que elige el paquete estadístico 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 4.6. DESARROLLO DEL DISEÑO CENTRALCOMPUESTO PARA ELABORACIÓN DE LA SUPERFICIE DE RESPUESTA**

Nomenclatura		Variables		Calidad (% $\delta$ -3-Careno)
		V <sub>ste</sub> (mL)	t <sub>ext</sub> (min)	
-1	1	20	90	22,79
-1	-1	20	60	84,95
1	1	30	90	74,78
1	-1	30	60	46,19
0	0	25	75	77,92
0	0	25	75	71,87
0	0	25	75	76,91
0	0	25	75	77,12
0	0	25	75	77,50
0	-1,414	25	54	23,79
0	1,414	25	96	80,80
-1,414	0	18	75	78,81
1,414	0	32	75	35,90

**Volumen de agua destilada: 300 mL.**

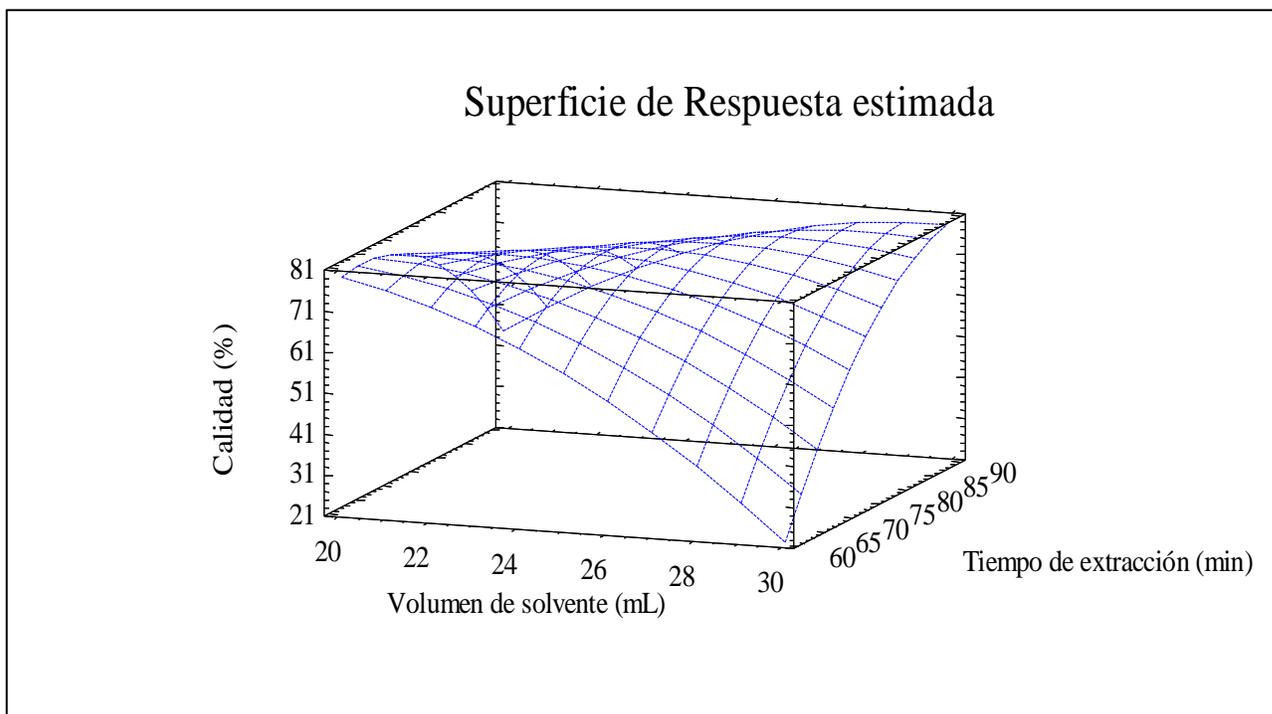
Una vez obtenidos los resultados de la variable de respuesta del diseño central compuesto, los mismos se analizaron en el paquete estadístico, arrojando la ecuación de regresión que se ajustó a los datos. Dicha ecuación es:

$$\begin{aligned}
 \text{Calidad} = & 137,133 - 6,1412 \cdot V_{\text{ste}} + 0,427218 \cdot t_{\text{ext}} \dots & (I) \\
 \dots - & 0,354653 \cdot V_{\text{ste}}^2 + 0,3025 \cdot V_{\text{ste}} \cdot t_{\text{ext}} - 0,0506507 \cdot t_{\text{ext}}^2
 \end{aligned}$$

A través de la ecuación I se generó la superficie de respuesta (ver Figura 4.6) que permitió estimar las condiciones de operación, que logran maximizar el porcentaje de  $\delta$ -3-Careno (calidad) por encima de la región indicada, estos resultados se encuentran reportados en la Tabla 4.7.

**TABLA 4.7. CONDICIONES ÓPTIMAS DE OPERACIÓN**

Volumen de agua destilada (mL)	Volumen de solvente (mL)	Tiempo de extracción (min)	Calidad (% $\delta$ -3-Careno)
300	18	58	81,98



**FIGURA 4.6. SUPERFICIE DE RESPUESTA ESTIMADA PARA LA CALIDAD EN LA EXTRACCIÓN-DESTILACIÓN SIMULTÁNEA**

Fuente: Statgraphics Plus 5.1



### **4.3. Caracterización del aceite esencial obtenido en la extracción de ambos métodos mediante análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masa, con el fin de conocer sus componentes.**

La identificación de los compuestos volátiles en los extractos obtenidos por ambos métodos, se realizó por comparación espectral de los picos del cromatograma de iones totales con los compuestos de referencia; utilizando un cromatógrafo de gases, marca Agilent Technologies, modelo 7890A, acoplado a un espectrómetro de masas de la misma marca, modelo 5975C; el cual posee un software para registrar e imprimir los cromatogramas obtenidos. Se utilizó una columna capilar, marca Agilent Technologies–DB Wax, con una composición de 100% de polietilenglicol con dimensiones de 30m x 0,25mm de diámetro interno y 0.25  $\mu\text{m}$  de espesor de película, como gas de arrastre se usó helio (He).

Las condiciones de operación empleadas fueron: el gas de arrastre (Helio) se ajustó a 1mL/min; modo de inyección split 1:10; temperatura del inyector de 250°C; el volumen de inyección de la muestra 1  $\mu\text{L}$ ; el programa de temperatura utilizado fue: 60°C (2 min.), con incremento de 4°C/min hasta 250°C (20 min.); la temperatura de la fuente de iones y de las piezas de conexión fue 230°C (Pino *et al.*, 2005).

Luego de haber analizado las muestras (extraídas mediante ambos métodos), a través del cromatógrafo de gases con espectrometría de masas, se hizo necesaria la evaluación del cromatograma mostrado por el software del equipo, ya que en éste se reportan los compuestos presentes en la muestra con su respectivo porcentaje por unidad de área; siendo el tamaño de los picos proporcional a la cantidad de la sustancia correspondiente en la muestra analizada.

El aroma del mango ha sido reportado como una mezcla de monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos volátiles oxigenados. Los compuestos principales reportados para el aroma del mango son  $\delta$ -3-Careno, Cimeno, D-Limoneno,  $\beta$ - Felandreno, Cariofileno, m-Mentha 1,8 diene,  $\alpha$ -Cariofileno y  $\alpha$ - Felandreno. Los compuestos mono y sesquiterpénicos detectados han sido reportados como constituyentes del sabor y aroma para el mango. El compuesto encontrado en mayor abundancia para el mango fresco fue el  $\delta$ -3-careno (84,95%).

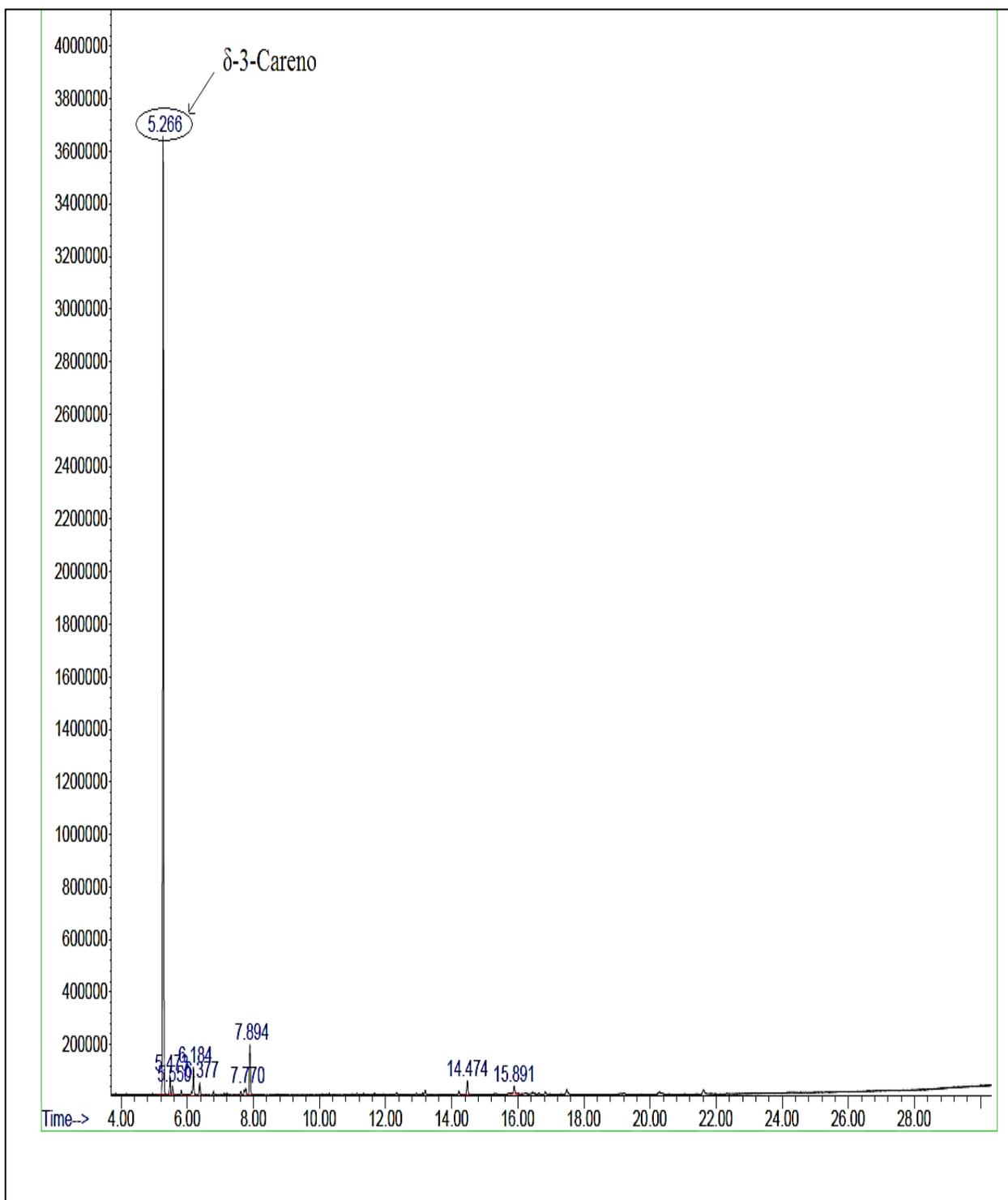


FIGURA 4.7. CROMATOGRAMA DEL ACEITE ESENCIAL EXTRAÍDO POR EDS



Los porcentajes por cromatografía de gases para los compuestos obtenidos en ambos métodos de extracción se presentan en la Tabla 4.8:

**TABLA 4.8. COMPUESTOS VOLÁTILES IDENTIFICADOS EN EL EXTRACTO OBTENIDO POR AMBOS MÉTODOS**

Compuesto	Porcentaje de área (%)	
	Extracción con CO <sub>2</sub> Supercrítico	Extracción destilación simultánea (EDS)
δ-3-Careno	0	84,95
Cimeno	0	5,05
D-Limoneno	0	3,17
β- Felandreno	0	1,73
Cariofileno	0	1,65
m-Mentha 1,8 diene	0	1,33
α-Cariofileno	0	1,14
α- Felandreno	0	0,98

#### 4.4. Comparación de la calidad del producto obtenido para establecer el mejor método de extracción.

Se realizaron varias extracciones por cada método en estudio, con la finalidad de establecer una comparación entre ambos, considerando como punto de comparación el porcentaje de área del δ-3-careno reportado en los cromatogramas, para poder determinar cual de los dos es el más indicado en la obtención de aceite esencial de la pupa de mango Haden, de acuerdo a los criterios establecidos en el marco metodológico.

La extracción por fluidos supercríticos tiene un gran ventaja con respecto a la extracción-destilación simultánea, ya que no implica un tratamiento posterior con ninguna operación unitaria, y en la EDS se deben efectuar dos operaciones adicionales a la extracción, como lo son:



adición de un agente desecante, para eliminar el agua existente y una rotaevaporación para la eliminación del solvente orgánico utilizado en el proceso.

Al comparar ambos métodos de extracción en función de la calidad del extracto obtenido, a través de los valores reportados en la tabla 4.10, se deduce que la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico no es factible para obtener aceite esencial de la pulpa; mientras que la EDS resultó ser una buena técnica de extracción de los compuestos volátiles de la misma. Además, el método de EDS proporcionó un mayor rendimiento y extrajo una gran cantidad de los componentes volátiles presentes en el aceite del mango. La calidad obtenida a través de ambos métodos puede observarse en la tabla 4.9:

**TABLA 4.9. COMPARACIÓN DE LA CALIDAD DEL ACEITE ESENCIAL EXTRAÍDO MEDIANTE AMBOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN**

Método extracción	Porcentaje de área de $\delta$ -3-careno (%)
Extracción con CO <sub>2</sub> supercrítico	0
Extracción-destilación simultánea	84,95

Con base al número de compuestos identificados y su concentración, el método de extracción EDS es el más adecuado para la extracción de aceite esencial de la pulpa del mango Haden.

#### **4.5. Desarrollo de una fragancia usando el aceite esencial proveniente del método que proporcione la mejor calidad.**

Luego de haber obtenido el aceite esencial de la pulpa de mango Haden, se le dio aplicabilidad al utilizarlo como uno de los componentes de un perfume, ya que los aceites esenciales poseen distintas aplicaciones prácticas y se consideran el ingrediente activo en muchos productos; además dependiendo de sus características poseen una aplicación típica donde desarrollan mejor sus cualidades.



Cada aceite esencial, dependiendo de sus componentes presenta una determinada temperatura de ebullición a presión atmosférica. Esto se traduce en que determinados componentes son más volátiles que otros, lo que conlleva diferente volatilidad para cada aceite esencial.

En el caso del aceite esencial de mango, el  $\delta$ -3-Careno es el componente responsable del olor y a pesar de no poseer una temperatura de ebullición baja, por ser un compuesto un poco inestable es considerado como una nota de salida.

La idea de partida consiste en la creación de un perfume con aroma principal a mango. Se dispuso de aceites esenciales adquiridos en el mercado tales como: tulipán, vainilla, manzana, jazmín, piña, mandarina, menta y girasol.

Para preparar 5 mL de perfume, se disolvieron los componentes aromáticos en una base diluyente de alcohol de perfumería, agua destilada, glicerina y galoxide (según las proporciones establecidas en la Tabla 3.6), preparando consecutivamente formulaciones (F<sub>1</sub> a F<sub>8</sub>), en la que se cambiaron los componentes o cantidades según el aroma resultante. En la Tabla 4.10 se expresan las cantidades en gotas (10 gotas = 0,5 mL):

**TABLA 4.10. MEJORA SUCESIVA DE LA FORMULACIÓN DEL PERFUME**

Componente	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	F <sub>4</sub>	F <sub>5</sub>	F <sub>6</sub>	F <sub>7</sub>	F <sub>8</sub>
Mango	4	4	4	7	8	4	6	6
Vainilla	2	2	1	1	1	1	1	
Girasol				1	1			
Manzana			3				1	
Piña						3		1
Mandarina		4		1			1	
Menta								1
Jazmín							1	
Tulipán	4		2			2		2

En la elaboración del perfume se utilizó alcohol de perfumería, (pues en él son solubles todos los aceites esenciales), junto a una pequeña cantidad de agua destilada para disminuir la velocidad de



evaporación; se agregó glicerina, porque ayuda a la disolución de los aceites y aumenta el punto de ebullición de la mezcla, además se agregó Galoxide, porque proporciona un efecto de fijador. Si se usa un aceite muy volátil para fabricar un perfume, el resultado olerá intensamente pero durante un breve tiempo, puesto que los componentes del aceite se evaporan rápido. Por ese motivo los perfumes se realizan combinando aceites esenciales muy volátiles con otros menos volátiles y por lo tanto más duraderos, ya que se evaporan más lentamente. De esta manera, se tendrá un perfume cuyos componentes se evaporen de forma progresiva y se conseguirá mayor duración del aroma (Ortuño, 2006); es por esta razón que se decidió mezclar el aceite esencial de mango, con aceite esencial de mandarina, aceite esencial de girasol y vainilla (formulación F<sub>4</sub>), siendo estos, nota de salida, media y base respectivamente, ya que la composición tuvo un aroma conjunto, una percepción agradable al olfato y un olor persistente a mango.

Tomando en cuenta los componentes aromáticos usados para la elaboración del perfume y para proporcionarle una apariencia agradable al producto, se decidió darle una tonalidad de color amarillo, agregándole una pequeña cantidad de colorante amarillo N°5.

Finalmente se puede decir que la fragancia obtenida puede categorizarse como un “Eau de Perfume” pues posee un 10% v/v de aceites esenciales.



## 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 a los procesos de extracción evaluados.*

### CONCLUSIONES

1. Bajo las condiciones utilizadas en la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico no se lograron establecer los rangos de operación adecuados para obtener aceite esencial de la pulpa de mango Haden, debido a que no se consiguió  $\delta$ -3-Careno en el extracto obtenido con CO<sub>2</sub> supercrítico.
2. La variable más influyente en la extracción-destilación simultánea fue el volumen de agua destilada.
3. La interacción más influyente en la EDS fue el volumen de solvente con el tiempo de extracción.
4. Las condiciones más adecuadas para realizar la extracción de la esencia de la pulpa de mango por el método EDS, fueron:  $V_{ste} = 18\text{ mL}$ ,  $t_{ext} = 58\text{ min.}$ , con un volumen de agua destilada igual a 300 mL.
5. Los componentes encontrados en el extracto obtenido por EDS fueron:  $\delta$ -3-Careno, Cimeno, D-Limoneno,  $\beta$ - Felandreno, Cariofileno, m-Mentha 1,8 diene,  $\alpha$ -Cariofileno y  $\alpha$ - Felandreno, siendo el componente con mayor proporción en el extracto de la EDS el  $\delta$ -3-Careno con 84,95%.
6. El aceite esencial obtenido por la EDS presenta mejor calidad en cuanto a la proporción de  $\delta$ -3-Careno, que el extracto obtenido por el método con CO<sub>2</sub> supercrítico.
7. Las notas de salida, media y base seleccionadas para la elaboración del perfume con aceite esencial de mango, fueron: aceite esencial de mandarina, aceite esencial de girasol y vainilla respectivamente.
8. La fragancia obtenida según la proporción volumétrica resultó ser Agua de Perfume (Eau de Parfum) presentando un aroma agradable al olfato.



## **RECOMENDACIONES**

- ✓ Se recomienda la adición de un co-solvente para la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico.
- ✓ Liofilizar la pulpa del mango Haden o aplicar algún otro método de secado.
- ✓ Ensayar el proceso de extracción supercrítica empleando como materia prima la piel del mango.
- ✓ Asegurarse que la materia prima a emplear se encuentre en su punto óptimo de maduración fisiológica.
- ✓ En la EDS, emplear otro método para separar el solvente del extracto.
- ✓ Realizar análisis cromatográfico con espectrometría de masas antes de realizar el proceso de rotaevaporación y después, para verificar si hay pérdidas de compuestos volátiles en el proceso.
- ✓ Para mejorar el tiempo de duración de los perfumes emplear una mezcla de varios fijadores para conseguir un efecto complementario y sinérgico que produzca la fijación buscada con la mínima cantidad de fijadores.
- ✓ Promover investigaciones sobre los aceites esenciales que empleen materia prima proveniente del país.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alarcón, R. Duarte, S. and. Raventós, M. (2002). Application and possibilities of supercritical CO<sub>2</sub> extraction in food processing industry. *Food Sci. Tech. Int.* 8 (5):0269- 0284.
2. Alexander, W., Brusewitz, G. y Maness, N. (1997). Pecan oil recovery and composition as affected by temperature, pressure, and supercritical CO<sub>2</sub> flow rate. *Journal of Food Science.* 62 (4): 762-766.
3. Álvarez, D. y Medina, N. (2008). Extracción de aceite esencial al mango (*Mangifera indica L.*) de tipo Haden mediante extracción con dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) supercrítico. Universidad de Carabobo, Facultad de Ingeniería, Venezuela.
4. Arbeláez Ruíz, N. (2009). Determinación de Ácidos orgánicos por HPLC en tres variedades de mango (*Mangifera indica L.*). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería, Bogotá.
5. Avilán, L. (2009). Fertilización del mango en el trópico. Extraído de: <http://www.ipni.net/>
6. Azócar, J. y Rivas, N. (1976). Caracterización físico-química de algunas variedades de mango cultivadas en Venezuela y su adaptabilidad a la fabricación de néctar enlatado. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. *Región Tropical.* 24: 1976.
7. Carrera, A., Del valle, M. y Gil, R. (2007). Algunas características físicas y químicas de frutos de cinco variedades de mango en condiciones de sabana del estado Monagas. *Revista Agronomía Tropical* Vol. 58. Nº 1 27-30.
8. Chaintreau, A., Maignial, L. y Pollien, P. (2000). Aparato y procedimiento de destilación y de extracción simultáneas. Oficina Española de Patentes y Marcas. Número de publicación: 2 144 097. España.



9. Dang, K., Singh, Z. and Swinny, E. (2009). Impact of Postharvest Disease Control Methods and Cold Storage on Volatiles, Color Development and Fruit Quality in Ripe 'Kensington Pride' Mangoes. *Journal of Agricultura and Food Chemistry article*, Horticulture Research Laboratory, School of Agriculture and Environment, Faculty of Science and Engineering, Curtin University of Technology, GPO Box U1987, Perth, Western Australia.
10. Day, R. y Underwood, A. (1989). *Química Analítica Cuantitativa*. Quinta Edición. Prentice Hall Hispanoamericana. México.
11. Dzamic, A. and Marin, P. (2008). Chemical composition of *Mangifera indica* essential oil from Nigeria. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 22. University of Belgrade, Faculty of Biology, Institute of Botany and Botanical Garden "Jevremovac". Belgrade, Serbia.
12. Equipos y Laboratorio de Colombia. Consultado el día 20 de marzo de 2012 de la World Wide Web: [http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos\\_mo.php?it=3081](http://www.equiposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=3081)
13. Espinal, C., Martínez, H. y Peña, Y. (2005). La cadena de los frutales de exportación en Colombia. *Documento de trabajo No. 67*. Extraído de: [http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Archivos/Foros/caracterizacion\\_frutales1.pdf](http://www.corpoica.org.co/sitioweb/Archivos/Foros/caracterizacion_frutales1.pdf)
14. Esquivel, A. y Vargas, P. (2007). Uso de aceites esenciales extraídos por medio de fluidos supercríticos para la elaboración de alimentos funcionales. *Tecnología en Marcha*. Vol. 20-4 - Octubre - Diciembre 2007 P. 41-50
15. Esteban, D. (2006). Técnicas de adsorción de compuestos orgánicos volátiles. Cromatografía y técnicas afines. [Artículo en línea]. Disponible en [www.secyta.orginteiordescargasArticulos](http://www.secyta.orginteiordescargasArticulos).



## Referencias bibliográficas

---

16. Estudio de la deshidratación en polvo del Mango-Sipriam Damas Damas. En *Bibliotecas de cadenahortofruticola.org*. Extraído de: <http://www.cadenahortofruticola.org/biblioexp.php?opt=mango>
17. Fernández, D. y Fernández, R. (1997). Fluidos supercríticos. *Ciencia hoy*. 8 (43). Extraído de: <http://www.cienciahoy.org.ar/hoy43/fluid3.htm>
18. Fernández, C. y Piñeiro, M. (2005). Superficies de Respuesta. Métodos y Diseños. Extraído de: [http://bellman.ciencias.uniovi.es/d\\_experimentos/d\\_experimentos\\_archivos/sr.pdf](http://bellman.ciencias.uniovi.es/d_experimentos/d_experimentos_archivos/sr.pdf)
19. Frederic, D. (2005). GC / MS análisis. *Scientific Testimony an Online Journal*. Extraído de: [www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html](http://www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html)
20. Gallego, I. y Castañeda, D. (2004). Diseño conceptual de un sistema de extracción supercrítica, a escala banco, utilizando dióxido de carbono como solvente. Universidad de EAFIT. *Resumen de los trabajos de grado desarrollados en ingeniería de procesos durante el año 2003*. Medellín. pp. 46-53.
21. Gholap, A. and Bandyopadhyay, C. (1984). Characterization of mango-like aroma in Curcuma amada Roxb. *Journal of Agricultura and Food Chemistry*, 32 (1), pp 57-59.
22. González, M., Bustos, H., Hernández, A., González, S. y Rosales, T. (2009). Comparación de dos métodos de extracción de compuestos volátiles en sandía (*Citrullus lanatus* T.). *Quehacer Científico en Chiapas* 1(7) 23-27.
23. Green, D. y Perry, R. (2001). *Manual del Ingeniero Químico*. Séptima Edición volumen IV pag. 22-97.
24. Guadayol, J. (1994). Estudio de los parámetros para la determinación de los compuestos orgánicos volátiles de la oleorresina de pimentón. Universidad Politécnica de Catalunya. Tesis Doctoral. Pag.: 32.



25. Guillen, C. y Hernández, A. (2003). Evaluación del rendimiento de tres procesos diferentes de extracción para la obtención de esencia de piña. Universidad de Carobobo. Facultad de Ingeniería, Venezuela.
26. Gutiérrez, C. (2009). Análisis del Mercado para Mango. *Proyecto de Desarrollo Productivo Cadena de Valor Frutícola*. El Salvador. Extraído de: <http://es.scribd.com/doc/55366548/Mango>.
27. Herrero, M., Cifuentes, A. and Ibañez, E. (2006). Sub-and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food by products, algae and microalgae. *Food chemistry* 98: 136-148.
28. Kosterman, A. and Bompard, J. (1993). The mangoes, their Botany, Nomenclature, Horticulture and Utilization. Londres, *Academic Press*. 233 p.
29. Lluch Essence. Químicos Aromáticos Sintéticos. Consultado el día 7 de mayo de 2012 de la World Wide Web: <http://www.lluche.com/cas/ficha.php?n=00584FQQQL>
30. Macleod, A. and González, N. (1982). Volatile flavour components of mango fruit. *Phytochemistry*, vol. 21, No. 10, pp. 2523-2526. University of London. Department of Chemistry. Campden Hill Road, London.
31. Manthey, J. and Perkins, P. (2009). Influences of Harvest Date and Location on the Levels of  $\beta$ -Carotene, Ascorbic Acid, Total Phenols, the in Vitro Antioxidant Capacity, and Phenolic Profiles of Five Commercial Varieties of Mango (*Mangifera Indica* L.). *Journal of Agricultura and Food Chemistry article*, 57(22), pp. 10825-30. Citrus and Subtropical Products Laboratory, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Winter Haven, Florida.



32. Martínez, A. (2003). *Aceites Esenciales*. Universidad de Antioquía, Facultad Química Farmacéutica. Medellín, Colombia. Extraído de: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>
33. Meléndez, J., Castellanos, P., Cañongo, G. y Machado, L. (1999). Potencialidades del estado Aragua para la producción de mangos para la exportación. *Informe técnico preparado para FUNDACITE ARAGUA, Septiembre de 1999*.
34. Mohamed, R. (1997). Extração e fracionamento de productos de ocorrência natural con fluidos supercriticos. *Ciência y tecnología de alimentos*. 17 (4).
35. Montgomery, D. (1994). *Diseño y Análisis de experimentos*. Editorial Iberoamericana. México.
36. Montgomery, D. y Runger, G. (1996). *Probabilidad y Estadística Aplicada a la Ingeniería*. Primera Edición. McGraw Hill. México.
37. Moreno, A., León, D., Giraldo, G. y Ríos, E. (2010). Análisis del perfil de compuestos volátiles del mango (*Mangifera Indica* L. Var. Tommy Atkins) tratado por métodos combinados. *Revista Colombiana de Química*, vol. 39 no. 1. Bogotá. Extraído de [http://www.scielo.unal.edu.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-28042010000100005&lng=en&nrm=&tlng=es](http://www.scielo.unal.edu.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28042010000100005&lng=en&nrm=&tlng=es)
38. Muñoz, C. (1998). *Cómo elaborar y asesorar una investigación de tesis*. Primera edición. Prentice Hall Hispanoamericana. México. pág 217.
39. Narain, N. and Galvao, M. (2004). Volatile Aroma Compounds in Mango cv. "Tommy Atkins"- A Preliminary Study. *Acta Horticulturae*. (ISHS) 645:671-676.
40. Napolitano, H. (2006). Diseño de Experimentos. *Industria & Química. Educación en Ciencias Químicas N<sup>a</sup> 354: 62-69*.



41. Ornelas, J., Yahia, E. and Gardea, A. (2007). Identification and Quantification of Xanthophyll Esters, Carotenes, and Tocopherols in the Fruit of Seven Mexican Mango Cultivars by Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry [LC-(APCI+)-MS]. *Journal of Agricultura and Food Chemistry article*, 55, pp. 6628-6635. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Hermosillo, Sonora, México, and Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.
  
42. Ortuño, M. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales aromas y perfumes*. Ediciones AIYANA. Extraído de:  
[http://books.google.co.ve/books?id=cW5TsDKqx9wC&printsec=frontcover&dq=que+es+el+aceite+esencial&hl=es&ei=e3fZTr-DLoH40gGy49TGDQ&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&ved=0CDUQ6AEwAA#v=onepage&q=que%20es%20el%20aceite%20esencial&f=false](http://books.google.co.ve/books?id=cW5TsDKqx9wC&printsec=frontcover&dq=que+es+el+aceite+esencial&hl=es&ei=e3fZTr-DLoH40gGy49TGDQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CDUQ6AEwAA#v=onepage&q=que%20es%20el%20aceite%20esencial&f=false)
  
43. Palomino, A. (2003). Construcción modular de un equipo de extracción supercrítica de aceites esenciales y avances en el modelo matemático. *Consejo Superior de investigaciones*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Boletín 50. Extraído de:  
<http://www.csi.unimsm.edu.pe>.
  
44. Perfumería on line Argentina. Consultado el día 12 de abril de 2012 de la World Wide Web: <http://www.ecortassa.com.ar/informaccontactenosion/.asp>
  
45. Perfumes 2006 .Universidad de Santiago de Compostela Dpto de farmacia y tecnología farmacéutica. Extraído de: <http://es.scribd.com/doc/22183256/Perfumes-2006>
  
46. Pino, J., Marbot, R., Martí, M., Mesa, J. and Muñoz, Y. (2005). Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. vol. 53 pp. 2213-2223.
  
47. Ramírez, R., Quijada, O., Castellano, G., Burgos, M., Camacho, R. y Marin, C. (2010). Características físicas y químicas de frutos de trece cultivares de mango (*Mangifera Indica* L.) en



el municipio mara en la planicie de Maracaibo. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 10, núm. 2, 2010, pp. 65-72. Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C. Hermosillo, México. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=81315091002>

48. Romero, R. y Zúnica, R. (2008). *Métodos Estadísticos en Ingeniería*. Editorial Limusa. México.

49. Sánchez, R. y Restrepo, J. (2009). Comparación de la composición de aceites esenciales de salvia amarga (*Eupatorium odoratum*) obtenidos por hidrodestilación y dióxido de carbono supercrítico *El hombre y la máquina*, Vol. XXI, Núm. 32, enero-junio, 2009, pp. 76-85. Universidad Autónoma de Occidente Colombia. Extraído de: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=47811604007>

50. Skoog, D., Crouch, S., Holler, F. and West, D. (2005). *Fundamentos de Química Analítica*. Editorial Thomson. 8ª edición. México. Pags: 933,959-961,966-969.

51. Statgraphics Plus 5.1, Software estadístico.

52. Terence, O. (1971). *Caracterización de compuestos orgánicos por métodos químicos*. Editorial Reverté.

53. Torres, J. (2007). Optimización de las condiciones de operación de tratamientos osmóticos destinados al procesado mínimo de mango (*Mangifera Indica L.*). Universidad Politécnica de Valencia. España.

54. Vanaclocha, B. y Cañigueral, S. (2003). *Fitoterapia*. Vademécum de Prescripción. Cuarta Edición. Editorial Masson. El seivier, España.

55. Yépez, B. (2010). Aplicación de la tecnología de fluidos supercríticos en el procesamiento de alimentos. *Programa de Ingeniería de Alimentos*. Universidad Jorge Tadeo Lozano Carrera 4 No 22- 61 Bogotá – Colombia.



### APÉNDICE A. TABLAS DE DATOS

En esta sección se presentan las tablas con los valores experimentales que permitieron la realización de la investigación.

**TABLA A.1. RECOLECCIÓN DE DATOS DE LA EXPERIMENTACIÓN PRELIMINAR (EDS).**

Número de corridas	Valor de las variables estudiadas			Masa de la muestra ( $m \pm 0,0001$ )g	Masa del recolector vacío ( $m \pm 0,0001$ )g	Masa del recolector lleno ( $m \pm 0,0001$ )g	Rendimiento ( $R \pm 0,03$ )%	Calidad (% $\delta$ -3-Careno)
	( $V_a \pm 0,5$ ) mL	( $V_{ste} \pm 0,5$ ) mL	( $t_c \pm 1$ ) min					
1	300,0	20,0	30	100,2673	64,3529	64,6153	0,26	27,53
2	300,0	20,0	60	100,3246	64,2673	64,4738	0,20	84,14
3	400,0	20,0	60	100,6811	64,2671	64,4272	0,16	84,95
4	400,0	30,0	90	100,1225	64,2563	64,4985	0,24	63,52
5	300,0	30,0	90	100,0697	64,3359	64,6348	0,29	46,19



TABLA A.2. DISEÑO FACTORIAL DE LA EXTRACCIÓN-DESTILACIÓN SIMULTÁNEA.

Número de corridas	Valor de las variables estudiadas			Masa de la muestra (m±0,0001)g	Masa del recolector vacío (m± 0,0001)g	Masa del recolector lleno (m±0,0001)g	Rendimiento (R± 0,03)%	Calidad (% δ-3-Careno)
	(V <sub>a</sub> ±0,5) mL	(V <sub>ste</sub> ±0,5) mL	(t <sub>c</sub> ±1) min					
1	400,0	20,0	90	100,4882	64,3531	64,6659	0,31	68,77
2	400,0	20,0	60	100,1623	64,1910	64,5163	0,32	75,85
3	400,0	30,0	90	100,3181	64,2430	64,6250	0,38	62,54
4	300,0	30,0	90	100,6008	64,1231	64,4955	0,37	74,78
5	400,0	30,0	60	100,5796	64,2356	64,6440	0,40	72,70
6	300,0	20,0	60	100,4238	66,5182	66,7895	0,27	84,95
7	300,0	20,0	90	100,5313	64,1173	64,4220	0,30	22,79
8	300,0	30,0	60	100,0876	64,3149	64,5569	0,24	46,19
9*	400,0	20,0	90	100,3254	64,3532	64,5143	0,16	69,98
10*	400,0	20,0	60	100,1376	64,1267	64,5618	0,43	78,54
11*	400,0	30,0	90	100,7341	64,2734	64,6742	0,39	60,34
12*	300,0	30,0	90	100,1425	64,263	64,3495	0,08	75,06
13*	400,0	30,0	60	100,0237	64,3556	64,644	0,28	71,8
14*	300,0	20,0	60	100,1833	66,3672	66,5785	0,21	84,14
15*	300,0	20,0	90	100,3113	64,1343	64,4625	0,32	36,57
16*	300,0	30,0	60	100,0326	64,3527	64,5728	0,22	27,53

\*: Réplica



## APÉNDICE B. CÁLCULOS TÍPICOS

*En esta sección se presentan los modelos matemáticos utilizados para el desarrollo y logros de los objetivos planteados, así como también los cálculos típicos involucrados en la determinación del rendimiento y análisis estadístico*

### B.1. Determinación del rendimiento del extracto obtenido.

$$\%R = \frac{M_e}{M_p} \cdot 100 \quad (I)$$

Donde:

R: rendimiento (%)

M<sub>e</sub>: masa del extracto (g)

M<sub>p</sub>: masa de la pulpa (g)

Introduciendo los datos del primer extracto obtenido para la EDS, y mediante la siguiente ecuación, se tiene que:

$$\%R = \frac{0,3128}{100,4882} \cdot 100 = 0,3113\%$$

- **Cálculo del error.**

Aplicando el criterio de las derivadas parciales, se tiene:

$$\Delta R = \frac{\partial R}{\partial M_e} \cdot \Delta M_e + \frac{\partial R}{\partial M_p} \cdot \Delta M_p \quad (II)$$

Donde:

Δ: error de la variable en estudio (%)

$$\Delta R = \frac{100}{M_e} \cdot \Delta M_e + -\frac{M_e}{M_p^2} \cdot \Delta M_p$$



Sustituyendo los respectivos errores de cada una de las variables, queda:

$$\Delta R = \frac{100}{0,3128} \cdot 0,0001 + -\frac{0,3128}{100,4882^2} \cdot 0,0001$$
$$\Delta R = 0,03197 + 0,00000000031 = 0,0319 \cong 0,03$$

**B.2. Determinación del cálculo de cada uno de los factores reflejados en el análisis de varianza (ANOVA, ver tabla 4.5) arrojado por el software estadístico Statgraphics Plus 5.1.**

Para los siguientes cálculos se tomó como ejemplo representativo el factor A: volumen de agua destilada.

- **Cálculo del contraste.**

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

Donde:

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

Sustituyendo los valores de la tabla 4.5, se obtiene:

$$\text{Contraste}_A = 154,39 + 144,50 + 138,75 + 122,88 - 169,09 - 73,72 - 59,36 - 149,84 = 108,51$$

- **Cálculo de la suma de cuadrados ( $SS_A$ ).**

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

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



Donde:

Contraste<sub>A</sub>: respuesta total de cada una de las combinaciones de factores (Adim.)

k: número de factores (Adim.)

n: número de observaciones por efecto

Sustituyendo los valores se obtiene:

$$SS_A = \frac{(108,51)^2}{2^3 \cdot 2} = 705,901$$

- **Cálculos de grados de libertad (GL):**

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

Donde:

a: cantidad de niveles del factor A (Adim.)

Sustituyendo se obtiene:

$$GL = 2 - 1 = 1$$

- **Cálculo del cuadrado medio (MS<sub>A</sub>).**

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

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

Sustituyendo se obtiene:

$$MS_A = \frac{705,901}{1} = 705,901$$



- **Cálculo del error cuadrático medio ( $MS_E$ ).**

Se determina mediante la siguiente ecuación:

$$MS_E = \frac{SS_E}{a \cdot b \cdot c \cdot n - 1} \quad (\text{VII})$$

Donde:

$SS_E$ : Suma de cuadrados del error cuadrático (Adim.)

b: cantidad de niveles del factor B (Adim.)

c: cantidad de niveles del factor C (Adim.)

Sustituyendo se obtiene:

$$MS_E = \frac{2575,18}{2 \cdot 2 \cdot 2 \cdot 2 - 1} = 321,898$$

- **Cálculo del factor de Fisher ( $F_o$ ).**

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

$$F_o = \frac{MS_A}{MS_E} \quad (\text{VIII})$$

Donde:

$F_o$ : factor de Fisher (Adim.)

Sustituyendo los valores se obtiene:

$$F_o = \frac{735,901}{321,898} = 2,286$$

## APÉNDICE C. METODOLOGÍA DE LOS PROCESOS DE EXTRACCIÓN.

En esta sección se presenta el manual de operación del equipo para llevar a cabo el proceso de extracción supercrítica y la metodología a seguir en la técnica de extracción destilación simultánea, aplicadas en el desarrollo de ésta investigación.

### C.1. Manual de operación del SFE

#### 1. Encender el compresor de aire.

El compresor de aire se encuentra en la parte exterior del CIQ (Centro de Investigaciones Químicas). Se enciende pulsando el botón A (ver figura C.1).

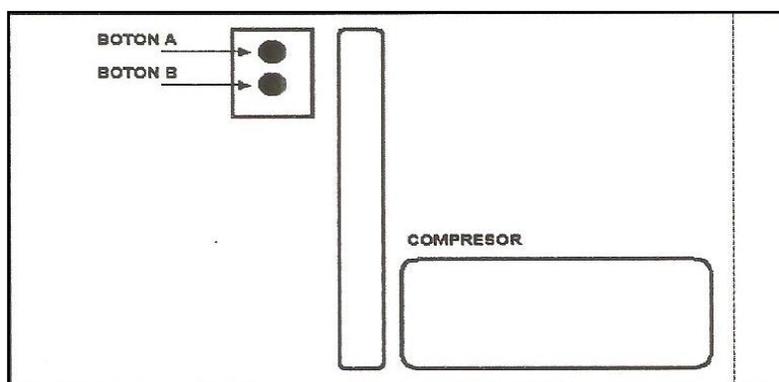


Figura C.1. Esquema del compresor de aire.

#### 2. Encender el baño recirculante.

El baño recirculante posee dos interruptores (encendido y enfriamiento), hacia abajo apagan y hacia arriba encienden. Para encender el baño recirculante se pasan los dos interruptores hacia arriba. Abrir la llave de recirculación (ver figura C.2).

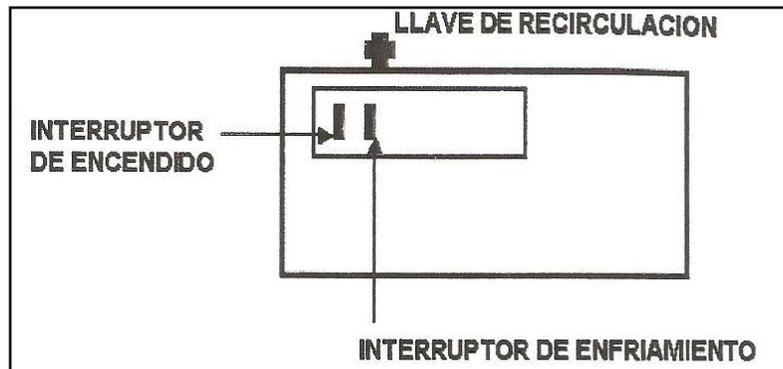


Figura C.2. Esquema del baño recirculante.

### 3. Encender el SFE.

El SFE consta de:

- El panel de temperaturas
- Módulo de control y colección
- Horno
- Bomba

El panel de temperaturas consta de: tres interruptores de encendido (encendido del SFE, encendido del calentamiento del horno y del módulo de control y colección), tres pantallas de temperatura (temperatura del horno, temperatura de control y colección y temperatura del envase) y dos módulos de control de temperaturas (temperatura del horno y temperatura del módulo de control y colección). Ver figura C.3.

Para poner en marcha el SFE se pasa el interruptor de encendido del SFE (C) y el interruptor de encendido de la bomba (ver figura C.4).

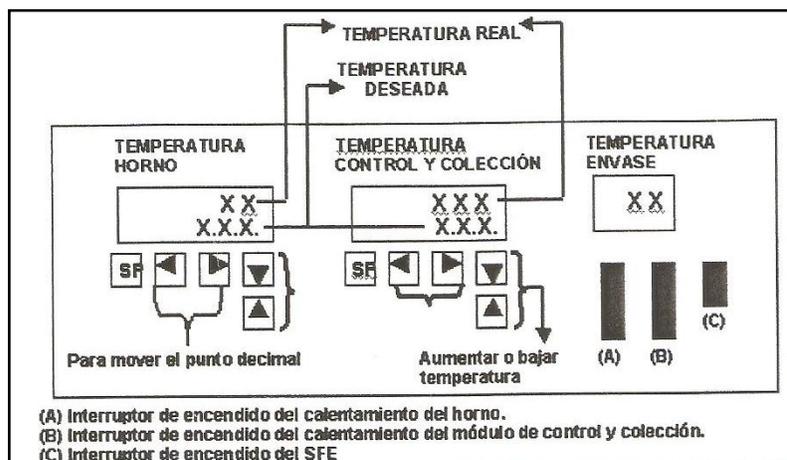


Figura C.3. Esquema del módulo de temperaturas.



Figura C.4. Esquema de la parte frontal del módulo de la bomba.

#### 4. Establecer las temperaturas de operación.

En cada pantalla de temperatura (horno y módulo de control y colección) se observarán dos temperaturas, la de abajo indica la temperatura deseada y la de arriba la temperatura a la cual se encuentra horno y módulo de control y colección.

Las temperaturas de operación se fijan antes de pasar los interruptores de encendido del calentamiento horno y módulo de control y colección (ver figura C.3). Para fijar las temperaturas de operación en el horno y módulo de control y colección, se siguen los siguientes pasos:

- Pulsar el cursor derecho o izquierdo, aparecerá un punto intermitente en la temperatura de abajo. Mover el punto intermitente hasta la posición del dígito a variar.



- Pulsar la tecla de valor de arriba para disminuir el dígito o la de abajo para aumentar el dígito.
- Mover nuevamente el punto intermitente hacia el otro dígito que se va a variar y cambiarlo con la tecla de valor (arriba o abajo).
- Pulsar la tecla SP cuando se haya colocado el valor de la temperatura deseada.
- Pasar el interruptor de calentamiento para que enciendan los controladores de temperatura.

### 5. Verificar que todas las válvulas estén cerradas.

En los laterales del SFE se encuentran las llaves correspondientes a las válvulas de carga, y descarga y salida de CO<sub>2</sub> (ver figura C.5).

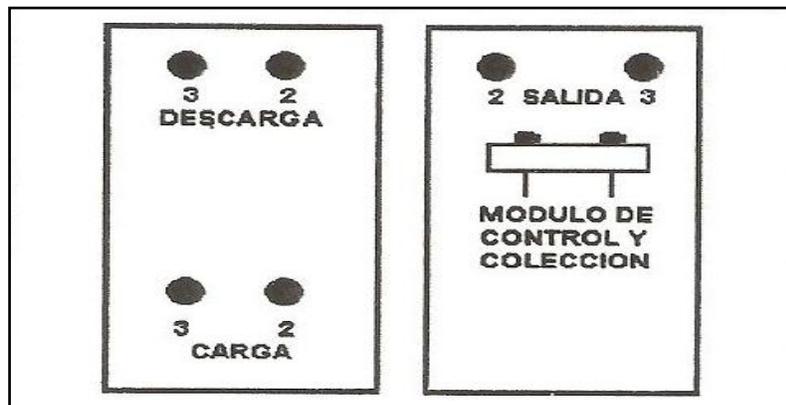
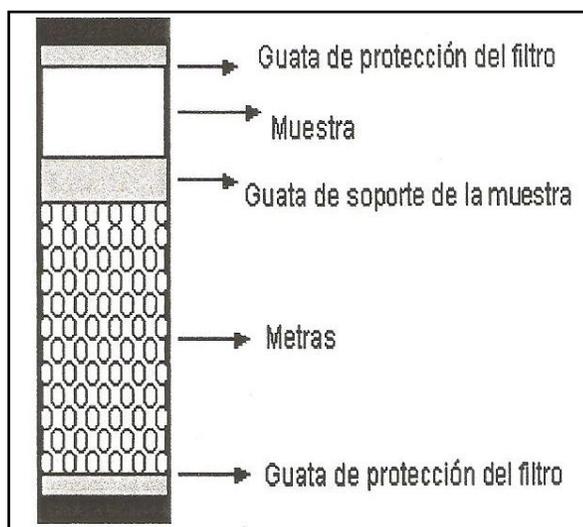


Figura C.5. Vistas laterales del SFE.

### 6. Cargar el envase de extracción.

Antes de cargar el envase de extracción se debe colocar teflón en las roscas de los tornillos que posee cada tapa del envase. Para cargar el envase de extracción se cuenta con guata (algodón en ramas) de 15x15cm y 15x30cm y 100 perlas de vidrio (metras) que permiten elevar la muestra hasta el tope del envase. El relleno del envase se muestra en la figura C.6. Tener cuidado con las roscas del envase y las tapas ya que las mismas son cortantes.



**Figura C.6. Esquema del relleno del envase.**

### **7. Acoplar el envase de extracción en el horno del SFE.**

En el interior del SFE se pueden observar 5 válvulas (ver figura C.7):

- En la parte inferior: una que distribuye el CO<sub>2</sub> y dos de carga de CO<sub>2</sub>.
- En la parte superior: dos que se combinan para la descarga de CO<sub>2</sub> y la recolección del extracto.

La válvula de carga 3 se acopla, mediante una conexión a la tapa del fondo del envase de extracción. La válvula de carga 2 posee acoplada una conexión para la limpieza. La válvula de descarga 2 ó 3 (corresponden alas válvulas micrométricas 2 ó 3) se acopla a la tapa del tope del envase, según la válvula micrométrica en uso.

### **8. Acoplar la termocupla en el envase de extracción.**

El envase de extracción posee dos orificios: uno en el fondo y otro en el tope del mismo, que permiten acoplar la termocupla que se encuentra en el interior del SFE (ver figura C.8).

Generalmente la termocupla se acopla en el orificio del tope, esto asegura que la muestra estará a la temperatura de extracción, debido a que, entre el fondo y el tope del envase hay una diferencia de temperatura de 10°C al comenzar la extracción.

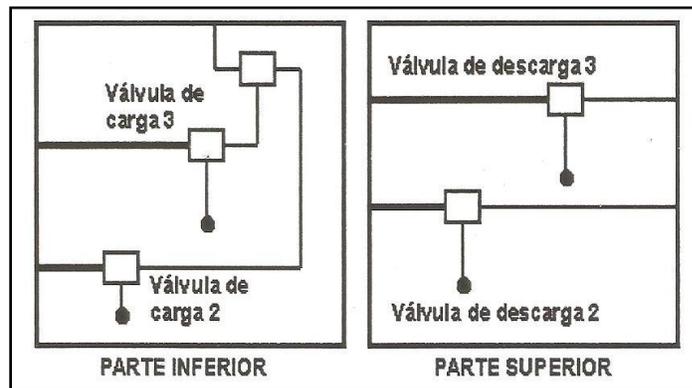


Figura C.7. Esquema inferior del SFE.

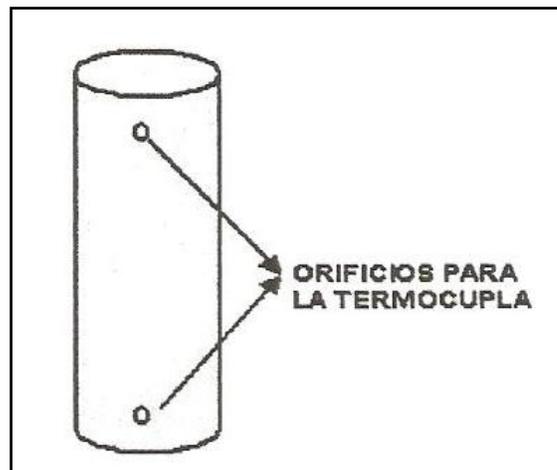


Figura C.8. Localización de los orificios del envase de extracción.

### 9. Abrir la llave de paso de aire comprimido.

La llave de paso de aire comprimido se encuentra al lado de la bomba del SFE.

### 10. Abrir el cilindro de CO<sub>2</sub>.

Al abrir el cilindro de CO<sub>2</sub>, en la pantalla de la bomba se leerá la presión del mismo en bar. Si la presión es menor de 50bar, solo se pueden hacer extracciones debajo de los 90bar. Si las extracciones requieren una presión mayor a 90bar se debe reemplazar el cilindro de CO<sub>2</sub>, anotar en el cilindro (en un tirro) la presión del mismo en psi (ver manómetro del cilindro) y encargar el cilindro de CO<sub>2</sub> a OXICAR.

**11. Abrir la llave de carga de CO<sub>2</sub>.**

La llave de carga de CO<sub>2</sub> (2 ó 3) debe corresponder a la válvula acoplada en el fondo del envase (ver figura C.5 y C.7).

**12. Verificar las fugas en las conexiones de las tapas del envase extracción.**

Las fugas se verifican con ayuda de una jeringa con agua jabonosa.

**13. Colocar los recolectores en el módulo de control y colección.**

Los colectores se acoplan en la salida de la válvula micrométrica que se va a usar. En la figura C.9 se muestran dos esquemas de recolección, un sistema con un recolector y un sistema con dos recolectores en serie. La válvula micrométrica a usar debe ser la correspondiente a la válvula de descarga acoplada en la tapa del tope del envase de extracción.

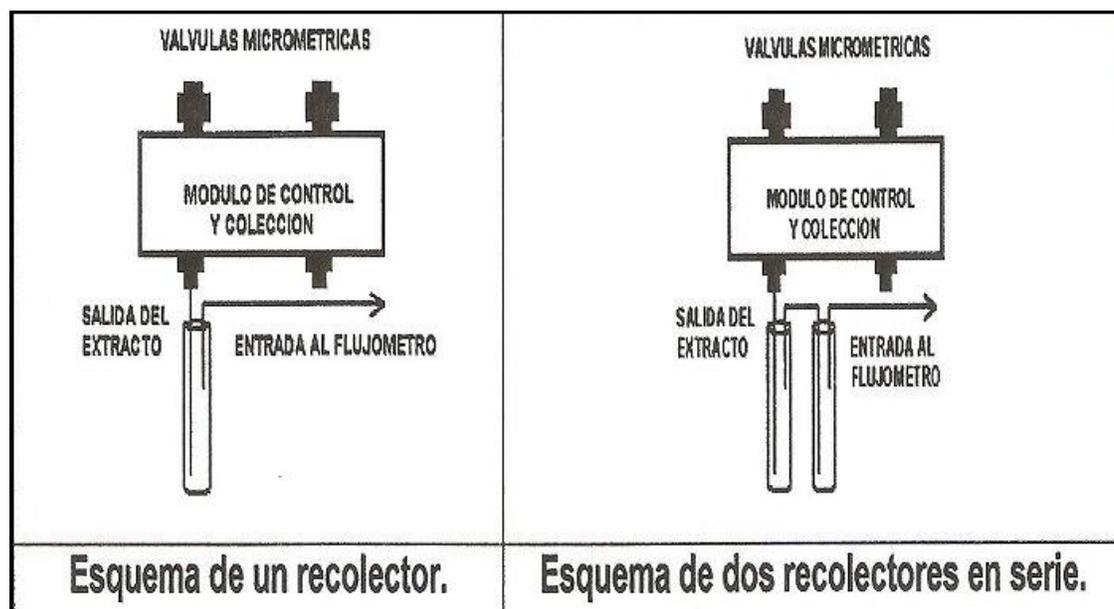


Figura C.9. Esquema de colocación de los recolectores en el módulo de control y colección.

**14. Bombear el CO<sub>2</sub> hasta que la presión sea 10 ó 15 menor que la deseada.**

Para bombear el CO<sub>2</sub> se debe verificar que la temperatura del baño recirculante esté por debajo de 0°C y el agua esté recirculando. Luego comenzar a girar, poco a poco, el controlador de presión



de la bomba (ver figura C.4) hasta que comience el bombeo, esperar que éste se detenga; volver a girar un poco el controlador de presión y esperar a que el bombeo se detenga.

**15. Verificar que la temperatura del envase llegue a la temperatura de extracción.**

En la figura C.3 se muestran las pantallas donde se leen las temperaturas del horno y del envase de extracción.

**16. Cuando la temperatura del envase alcance la temperatura de extracción, bombear CO<sub>2</sub> hasta la presión de extracción.**

Girar poco a poco el controlador de presión, teniendo precaución de que no se pase de la presión deseada.

**17. Cuando la temperatura del envase y la presión alcancen los valores deseados comenzar la extracción.**

Si la extracción es del modo estático-dinámico, al terminar el tiempo estático proceder a la colección del extracto. Para ello se deben seguir los siguientes pasos:

- 17.1. Abrir completamente la válvula de salida acoplada en el lateral derecho del equipo.
- 17.2. Abrir muy lentamente la válvula micrométrica hasta llevar el émbolo del rotámetro al flujo de CO<sub>2</sub> deseado.
- 17.3. Si al abrir la válvula, no hay flujo, se debe cerrar inmediatamente y luego limpiar la tubería porque seguramente está obstruida.

**18. Al terminar el tiempo dinámico, cerrar la válvula de salida y luego la válvula micrométrica.**

Al cerrar la válvula micrométrica tener mucho cuidado de que no se pase del cero, se recomienda que la válvula quede entre el 1 y el 0 ya que es muy delicada.

**19. Cerrar el cilindro de CO<sub>2</sub>, el controlador de presión en la bomba, la llave de paso del aire comprimido y apagar la bomba.**



**20. Abrir la llave de descarga correspondiente, hasta que deje de salir CO<sub>2</sub> por la tubería de descarga.**

Cuando deje de salir CO<sub>2</sub> por la tubería de descarga indica que la descarga se ha completado

**21. Desacoplar el envase de extracción.**

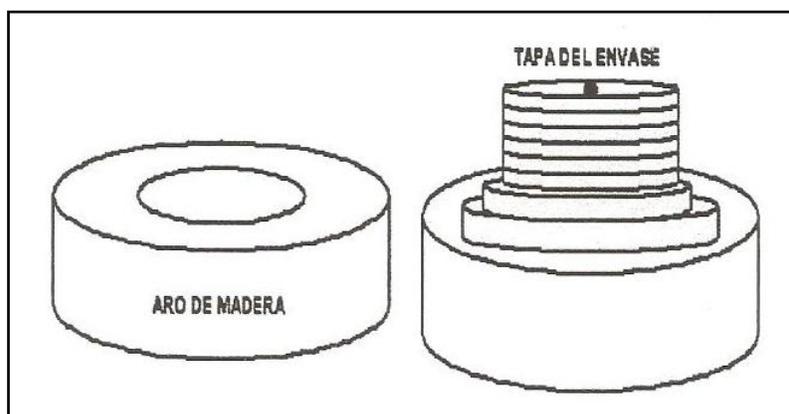
**22. Limpiar la tubería de salida de CO<sub>2</sub>.**

En el horno del SFE se encuentra una tubería acoplada para la limpieza de la tubería. Para limpiar la tubería se debe:

- Cerrar la llave de descarga
- Abrir la llave de salida correspondiente, en el módulo de control y colección
- Abrir la válvula micrométrica
- Acoplar la tubería de limpieza
- Abrir la llave de carga correspondiente y pasar CO<sub>2</sub> por 2 a 5 min, verificando la limpieza del CO<sub>2</sub> que sale por la válvula micrométrica. La limpieza se verifica recogiendo, con ayuda de un tubo de ensayo, el CO<sub>2</sub> que sale por dicha válvula. Cuando no se observen residuos en las paredes del tubo de ensayo, la limpieza se ha completado.

**23. Descargar y limpiar el envase de extracción.**

- **Limpieza de las tapas:** para limpiar las tapas del envase se debe desacoplar los filtros y la estopera. Tener cuidado de no dañar el metal dentro de la estopera y colocarla en un lugar seguro. Lavar la tapa, teniendo cuidado de que no entre agua en el orificio de la tapa y secarla. Cuando las tapas estén secas, se deben acoplar las estoperas. Las tapas se deben colocar en los aros de madera con su rosca arriba (ver figura C.10).
- **Limpieza del envase de extracción:** lavar el envase de extracción con agua y jabón, teniendo cuidado con las roscas (son cortantes) y secarlo.



**Figura C.10. Colocación de la tapa.**

**24. Al terminar las extracciones se procede a apagar y desenchufar el SFE, la bomba y el baño recirculante.**

**25. Apagar el compresor.**

## **C.2. Metodología de EDS**

El proceso consta de las siguientes etapas:

1. Pesar 100g de pulpa de mango Haden.
2. Agregar 300mL de agua destilada y la pulpa en un balón de 500mL.
3. Pesar el balón de fondo redondo (con su tapón) que contendrá el solvente y anotar su masa. Debe estar limpio y seco.
4. Agregar al tubo U del equipo diclorometano y agua destilada, para lograr la interfase.
5. Agregar 25mL de diclorometano en el balón (de fondo redondo) de 100mL.
6. Abrir paso al refrigerante una vez acoplado los dos balones.
7. Conectar la circulación del refrigerante (la temperatura debe ser  $-5^{\circ}\text{C}$ ).
8. Encender la manta de calentamiento y ajustar la temperatura a  $100^{\circ}\text{C}$  para la hidrodestilación.
9. Agregar agua en un beaker de 800mL.
10. Encender la plancha de calentamiento y en ésta colocar el beaker.



11. Introducir el termómetro en el beaker para tomar la temperatura.
12. Introducir el balón con el solvente en el beaker (baño caliente) a unos 40°C, una vez que hayan ascendido los componentes volátiles y el agua.
13. Apagar la manta calefactora y la plancha de calentamiento, cuando haya transcurrido un tiempo de extracción de 1h. Se deja enfriar por unos 15 o 20 min.
14. Cerrar la llave del refrigerante.
15. Deshidratar el extracto obtenido con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.
16. Concentrar con rotaevaporador:
  - 16.1. Curar el rotaevaporador con el diclorometano.
  - 16.2. Acoplar el balón de la muestra y un balón colector en el rotaevaporador, untando de vaselina o silicona las juntas.
  - 16.3. Ajustar la temperatura del baño a 40°C y abrir el agua del serpentín refrigerante.
  - 16.4. Encender el motor y ajustar la rotación a 30 rpm; y bajar el cabezal hasta que el baño de agua cubra el nivel de la muestra.
  - 16.5. Cerrar la llave de conexión con la atmósfera, que está en el extremo superior del serpentín para hacer vacío en el sistema y que se produzca la evaporación.





## APÉNDICE D. TABLAS BIBLIOGRÁFICAS

En esta sección se presentan las tablas bibliográficas que sirvieron de apoyo y sustento en la investigación.

A-12

Tabla V Puntos porcentuales de la distribución  $F$  (continuación)

$f_{0.05, v_1, v_2}$

$v_2$	$v_1$	Grados de libertad del numerador ( $v_1$ )																	
	$v_2$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120
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
2	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
3	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
4	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
5	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
6	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
7	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
8	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
9	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
10	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
11	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
12	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
13	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
14	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
15	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
16	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	2.11	2.06	2.01
17	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	2.01	1.96
18	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	1.97	1.92
19	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	1.93	1.88
20	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
21	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
22	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
23	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
24	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
25	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
26	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
27	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
28	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
29	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
30	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
40	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
60	4.00	3.13	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
120	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	1.37	1.29
$\infty$	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	1.25	1.18

**TABLA D.1. Puntos porcentuales de la distribución F.**

**Fuente: Montgomery, 1996**