



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Valorización y modelamiento de la
extracción de aceites a partir de la semilla
de mango (*Mangifera indica* L.)
utilizando técnicas no convencionales**

Luis Miguel Buelvas Puello

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química
Bogotá, Colombia

2018

Valorización y modelamiento de la extracción de aceites a partir de la semilla de mango (*Mangifera indica* L.) utilizando técnicas no convencionales

Luis Miguel Buelvas Puello

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ingeniería Química

Director:

Ph.D Fabián Parada Alfonso

Codirector:

Ph.D Hugo Alexander Martínez Correa

Línea de Investigación:

Valorización de subproductos agroindustriales

Grupo de Investigación:

Química de Alimentos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química

Bogotá, Colombia

2018

(Dedicatoria)

A Dios, por llenarme de paz, inteligencia y sabiduría necesaria.

A mi madre, Liliana Margarita Buelvas Puello, a mi madrina, tía y segunda madre, Lina Puello Gamarra, y a mi abuelo Álvaro Enrique Buelvas Coronel, mi eterna gratitud por toda la entrega, la confianza, el amor y el esfuerzo de todos estos años de vida.

Una especial motivación por dos personas: mi hermana, Stephanie, su niñez representa la grandeza de seguir soñando y a Hanier Fajardo, porque su amor ha llenado a rebosar de encanto y deleite mi vida.

Finalmente, a la vida, por sus momentos de plenitud, inspiración y motivación. Me ha enseñado que aquellos que se arriesgan son aquellos que triunfan.

Agradecimientos

A mis directores Fabián Parada Alfonso, del Departamento de Química y Hugo Alexander Martínez Correa, del Departamento de Ingeniería de la Universidad Nacional de Colombia, por su orientación, amistad y fraternidad constante durante estos años de crecimiento académico y personal.

A los profesores: Luz Patricia Restrepo, Cecilia Anzola, Blanca Laura Ortiz, Carlos Narváez, Liliam Palomeque y Luis Ignacio Rodríguez del Departamento de Química y Diego Miranda Lasprilla, de la Facultad de Agronomía, de la Universidad Nacional de Colombia, por sus críticas y recomendaciones que permitieron mejorar la construcción y desarrollo del trabajo. Finalmente, al profesor Wolfram Baumann, de la Universidad de Los Andes, por su disposición y apoyo instrumental relacionado con los estudios de espectrometría de masas.

A mis amigos y compañeros del grupo de investigación en Química de Alimentos: Gabriela Franco, Mónica Ospina, Mary Lucia, Paola Ortega, Diego Ballesteros, Fabio Cuellar, Luis Alfonso, Rogelio Rodríguez, Andrés García y Andrea del Pilar por su apoyo y compañía fraterna.

A la Fundación Juan Pablo Gutierrez Cáceres, por la beca que me otorgaron para culminar mis estudios de segundo año de maestría. A Colciencias por la convocatoria 775 de 2017 de Jóvenes Investigadores que me permitió profundizar en los alcances planteados en este trabajo. A la Universidad Nacional de Colombia y a la DIB por el apoyo dado al proyecto “*Obtención de compuestos funcionales a partir de mango de azúcar (Mangifera indica L.) empleando estrategias emergentes de extracción*” (cód. 37767; QUIPU 201010027080), mediante la convocatoria del programa nacional de proyectos para el fortalecimiento de la investigación, la creación y la innovación en posgrados de la Universidad Nacional de Colombia 2016-2018. Al igual que al Convenio Especial de Cooperación Derivado 2. Corredor Tecnológico Agroindustrial - CTA, “*INVESTIGACIÓN, DESARROLLO Y TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL CON EL FIN DE MEJORAR TODO EL DEPARTAMENTO, CUNDINAMARCA, CENTRO ORIENTE*” con financiación de

recursos del Sistema General de Regalías, de la Secretaría de Ciencia y Tecnología del Departamento de Cundinamarca, la Secretaria Distrital de Desarrollo Económico de Bogotá D.C. y contrapartidas de la Universidad Nacional de Colombia y la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA.

Resumen

El trabajo evaluó el potencial industrial del aprovechamiento de extractos antioxidantes obtenidos a partir de la almendra de la semilla de mango de azúcar (ASMA). Para lo cual, se realizó el estudio técnico- económico del proceso de extracción con fluidos supercríticos (EFS) a partir de la ASM, con el propósito de plantear una posible aplicación de este residuo agroindustrial. En una primera etapa, se evaluó el efecto de la presión (11-21 MPa), la fracción de cosolvente (5-15 %) y la temperatura (40 - 60 °C) durante un proceso EFS. Se evaluaron como variables de respuesta: (i) Rendimiento, (ii) Contenido total de Fenoles (CTF), (iii) Contenido total de flavonoides (CTFl), (iv) actividad antioxidante mediante el ensayo de atrapamiento de radical DPPH y (v) el efecto de los extractos sobre el índice de estabilidad oxidativa (t_i) de aceites enriquecidos usando el método Rancimat. Por medio de un diseño experimental central compuesto, se determinaron como mejores condiciones de extracción: 21 MPa, 60 °C y 15% de EtOH, el extracto obtenido generó un t_i en los aceites comerciales de hasta $6,05 \pm 0,25$ h, siendo la composición de la fase extractante la variable más influyente en EFS.

En una segunda etapa se realizó el modelamiento, la simulación y la evaluación económica de un proceso EFS para la obtención de antioxidantes de aceites comerciales. Para esto, se realizó la curva cinética de extracción supercrítica a las mejores condiciones obtenidas en la primera etapa, recolectando fracciones de extracto a diferentes tiempos y ajustándola a modelos simplificado. Los modelos permitieron describir de forma adecuada el comportamiento de la cinética de extracción. Mediante el criterio de escalamiento seleccionado (Qd/M) y empleando un software comercial se evaluó económicamente el costo de manufactura (COM) del proceso a distintos tiempos de extracción, para dos extractores de 1m^3 , se logró un COM mínimo de 68 USD/kg en un tiempo de 60 minutos de extracción alcanzo de un rendimiento de 4,7%. Los principales costos que afectaron el COM correspondieron al costo de inversión inicial asociados a los sistemas de presurización y extractores y los costos de materia prima asociados al CO_2 y etanol.

Palabras Claves: Extracción con fluidos supercríticos, antioxidantes naturales, Rancimat, *Mangifera indica* L, simulación a escala industrial, costo de manufactura.

Abstract

In the present work, the industrial potential of use antioxidant extracts from mango seed kernel (MSK) was evaluated. For which, the technical study of the process of extraction with supercritical fluids was carried out from the MSK to propose a possible application of this agroindustrial waste. The extraction process was carried out using mango seed kernel. The effect of the extraction pressure (11-21 MPa), fraction of cosolvent (5-15%) and temperature (40-60 ° C) in the SFE process was evaluated. Selected response variables were: (i) Yield, (ii) Total Phenol Content (CTF), (iii) Total Flavonoid Content (CTFl), (iv) Antioxidant activity by DPPH radical assay and (v) Oxidative stability of the enriched oils using the Rancimat method. By means of a composite central experimental design, optimum conditions were: 21.0 MPa, 60 ° C and 15% EtOH; the extract obtained under these conditions increased the oxidative stability of commercial oils up to 6.05 ± 0.25 h, with the cosolvent as the most influential variable

In a second stage, modeling, simulation and the economic evaluation of SFE process was carried out to obtain commercial oil antioxidants. For this, the kinetic curve of supercritical extraction was performed at the best conditions previously, collecting fractions of extract at different times and adjusted to simplified models. The models allowed to describe the behavior of the extraction kinetics. Through the selected scaling criterion (Qd/M) and the use of commercial software, the manufacturing cost (COM) of the extraction time was economically evaluated, for two extractors of 1m³, a minimum COM of 68 USD / kg in a time of 60 minutes of extraction and yield of 4.7% was obtained. The main costs that affect the COM correspond to the initial investment cost associated with the pressurization and extractor systems and the raw material costs associated with CO₂ and ethanol.

Keywords: Supercritical fluid extraction, Cost of manufacturing, Industrial scale simulation, natural antioxidants, Rancimat, *Mangifera indica* L.

Contenido

Resumen	IV
Abstract.....	V
Contenido	VI
Lista de Figuras	IX
Lista de Tablas.....	XI
Lista de Símbolos y Abreviaturas	XII
Introducción	1
1 Residuos agroindustriales del mango como fuente promisoría de compuestos bioactivos y estrategias para su aprovechamiento industrial	5
1.1 El Mango (<i>Mangifera indica</i> L)	5
1.2 Aspectos económicos sobre la cadena productiva del mango	7
1.2.1 Producción y mercados mundiales	7
1.2.2 Contexto Nacional.....	8
1.3 Residuos de la cadena productiva del mango y su potencial valor agregado como fuente de compuestos bioactivos.	9
1.3.1 Caracterización de la semilla de mango.	10
1.3.2 Usos y aplicaciones de las biomoléculas de la semilla de mango	11
1.3.3 Grasa a partir de la almendra de la semilla de mango	12
1.4 Técnicas de extracción no convencionales: fluidos presurizados como una tecnología verde para el aprovechamiento de residuos del mango.....	13
1.4.1 Extracción con Fluidos Supercríticos	14
1.4.2 Extracción con Líquidos Presurizados	15
1.4.3 Modelamiento y escalamiento de la cinética de extracción con fluidos presurizados.....	16
1.5 La biorefinería como estrategia integral para el aprovechamiento de los subproductos o residuos de la cadena productiva del mango.	18
1.5.1 Aprovechamiento integral de cadenas productivas agrícolas	20
1.5.2 Las reglas de biorefinerías verdes.....	21
2 Evaluación técnica de la extracción con CO₂ supercrítico y EtOH como cosolvente para la obtención de antioxidantes a partir de la almendra de mango.	23
2.1 Introducción.....	23
2.2 Materiales y métodos	25

2.2.1	Material vegetal y reactivos	25
2.2.2	Extracción soxhlet	25
2.2.3	Diseño experimental: Extracción con fluidos supercríticos usando CO ₂ y EtOH como modificador.....	26
2.2.4	Determinación del contenido total de fenoles (CTF).....	28
2.2.5	Determinación del contenido total de flavonoides (CTFI).....	28
2.2.6	Evaluación de la actividad antioxidante: Ensayo de eliminación de radicales DPPH	28
2.2.7	Evaluación de la estabilidad oxidativa de aceites enriquecidos con extractos mediante el método Rancimat	29
2.2.8	Ensayo Análisis por Cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (CLAE-EM) del mejor extracto.....	29
2.2.9	Análisis estadístico	30
2.3	Resultados y discusión.....	30
2.3.1	Rendimientos	30
2.3.2	Contenido total de Fenoles-CTF y Contenido total de Flavonoides-CTFI.....	33
2.3.3	Estabilidad oxidativa de aceite - EOA mediante Rancimat	45
2.3.4	Análisis por Cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (CLAE-EM) del mejor extracto.....	50
2.4	Conclusiones.....	54
3	Modelamiento de la extracción con fluidos supercríticos para la obtención de bioactivos a partir de la almendra de mango	56
3.1	Introducción	57
3.2	Materiales y método.....	58
3.2.1	Modelamiento matemático	58
3.2.2	Simulación del proceso y escalamiento.	62
3.2.3	Costo de manufactura (COM)	65
3.3	Resultados y discusión.....	65
3.3.1	Ajuste de modelos matemáticos de la cinética de extracción	65
3.3.2	Costo de manufactura (COM)	68
3.4	Conclusiones.....	73
4	Recomendaciones	74
5	Bibliografía	76
6	Anexos	86

6.1	Evaluación del efecto de la presión, temperatura y fracción cosolvente sobre las variables estudiadas	87
6.2	Superficies de respuestas para las variables estudiadas a 60°	92
6.3	Cromatograma de extractos supercríticos y Soxleth	93
6.4	Costo de manufactura y costos de equipos	96
6.5	Producción Académica	97

Lista de Figuras

Figura 1-1: Partes del fruto de mango (<i>Mangifera indica</i> L.).....	6
Figura 1-2: Top 5 de productores mundiales [3].....	7
Figura 1-3: Producción nacional y principales productores nacional de mango en Colombia...8	
Figura 1-4: Esquema general de la cadena productiva del mango y sus subproducto o residuos generados. Elaboración propia.....	9
Figura 1-5: Principales técnicas de extracción no convencionales.....	13
Figura 1-6: Diagrama de fases [26].	15
Figura 1-7: Componentes y estructura general de una biorefinería [48], [49].	19
Figura 1-8: Estructura de una biorefinería de acuerdo a sus componentes [50]	20
Figura 1-9: Relación entre estructura, conceptos, materia prima, productos y conocimiento en una biorefinería verde [51]–[53]	22
Figura 2-1: Diagrama de flujo del sistema de extracción con CO ₂ supercrítico y EtOH como cosolvente.	26
Figura 2-2 Rendimiento para el proceso por EFS y soxhlet (SX) y análisis de efectos principales.	32
Figura 2-3: Diagrama de Pareto estandarizado para: (A) Rendimiento Total, (B) Rendimiento F.APolar, (C) Rendimiento F.Polar.....	33
Figura 2-4: Contenido Total de Fenoles en los extractos y grafica de efectos principales	35
Figura 2-5: Contenido total de Flavonoides-CTFl en los extractos y análisis de efectos principales	36
Figura 2-6: Diagrama de Pareto para CTF (A) y CTFl (B) en extractos.....	38
Figura 2-7: Resultados obtenidos para CTF en la muestra y análisis de efectos principales	39
Figura 2-8: Resultados obtenidos para CTFl en la muestra y análisis de efectos principales...40	
Figura 2-9: Diagrama de Pareto para CTF(A) y CTFl (B) para la extracción con CO ₂ supercrítico + EtOH.....	41
Figura 2-10: Resultados obtenidos para %Inhibición del radical DPPH mediante extracción CO ₂ + EtOH y Soxhlet (SX) y análisis de efectos principales.....	42

Figura 2-11: Actividad antioxidante de extractos mediante ensayo de DPPH y análisis de efectos principales.....	43
Figura 2-12: Diagrama de Pareto (A) y correlación con CTF (B) para la actividad antioxidante DPPH.....	44
Figura 2-13: Tiempo de inducción(t_i) de aceite de girasol adicionado con extractos y grafica de efectos principales.....	46
Figura 2-14: Diagrama de Pareto para el tiempo de inducción mediante el método Rancimat (A) y su correlación con el ensayo DPPH de los extractos obtenidos mediante CO ₂ supercrítico y EtOH (B).....	47
Figura 2-15: Superficie de respuesta generada para la estabilidad oxidativa de extractos obtenidos mediante CO ₂ + EtOH con un 15% EtOH	49
Figura 2-16 Cromatograma del mejor extracto con tiempo de inducción obtenido por	50
Figura 2-17: Espectro de masas señal 1 ($t_R=9,007$).....	51
Figura 2-18: Espectro de masas señal 2 ($t_R=9,762$).....	51
Figura 2-19: Espectro de masas señal 4 ($t_R=16,082$).....	52
Figura 2-20: Espectro de masas señal 5 ($t_R=17,706$).....	52
Figura 3-1 Modelo de un sistema EFS en continuo y Esquema de modelos para transferencia de masa interna: la línea gruesa representa la interfaz.	59
Figura 3-2 Diagrama de flujo del proceso de extracción.....	64
Figura 3-3 Curva cinética de extracción datos experimentales vs modelos	67
Figura 3-4 Costos de Equipos	69
Figura 3-5 Estructura de costos del COM.....	70
Figura 3-6 COM específico por tiempo de proceso a 60 °C / 21 MPa, 1 m ³	72
Figura 6-1 Superficies de respuestas para las variables estudiadas a 60°C	92
Figura 6-2 Cromatograma de extractos supercríticos y Soxleth	93

Lista de Tablas

Tabla 2-1 Diseño experimental para la extracción con CO ₂ supercrítico y EtOH.	27
Tabla 2-2: Análisis de varianza de las variables de respuesta estudiadas obtenido mediante Statgraphics®.	31
Tabla 2-3 Señales cromatográficas y tiempos de retención para el extracto ASMA obtenido por EFS	50
Tabla 3-1 Análisis estadístico de ajuste de modelos	67
Tabla 3-2 Lista de parámetros económicos establecidos.....	68
Tabla 3-3 Productividad y Principales costos de producción	69

Lista de Símbolos y Abreviaturas

<i>Abreviatura</i>	<i>TÉRMINO</i>
<i>DPPH</i>	2,2 difenil-1-picrilhidrazilo
<i>AG</i>	Ácido gálico
<i>AA</i>	Actividad antioxidante
<i>A</i>	Área transversal del lecho
<i>D_{ax}</i>	Coefficiente de difusión en el sólido
<i>D_{ay}</i>	Coefficiente de dispersión axial
<i>A_d</i>	Coefficiente de modelo adimensional
<i>CTF</i>	Contenido Total de Fenoles
<i>CTF_f</i>	Contenido total de Flavonoides
<i>COM</i>	Costo de Manufactura
<i>K_d</i>	Constante de desorción respecto al analito
<i>CLAE-EM</i>	Cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas
<i>QTOF</i>	Cuadrupolo-tiempo de vuelo
<i>ρ</i>	Densidad del disolvente
<i>ρ_s</i>	Densidad del sólido
<i>SD</i>	Desviación estándar
<i>d_i</i>	Diámetro interno
<i>EOA</i>	Estabilidad Oxidativa de aceites
<i>EtOH</i>	Etanol
<i>SWE</i>	Extracción con agua subcrítica
<i>EFS</i>	Extracción con Fluidos Supercríticos
<i>FP</i>	Factor de Protección
<i>Q</i>	Flujo másico
<i>J(X, Y)</i>	Flux de transferencia
<i>C</i>	Fracción cosolvente
<i>Fr</i>	Fracción del soluto total que se libera rápidamente
<i>x_o</i>	Fracción másica del extracto en el lecho
	Generalmente Reconocido como Seguro
<i>b</i>	La coordenada axial en el lecho de extracción

L	Longitud del lecho
w_b	Masa en el lecho
m_{ti}	Masa total extraíble
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la agricultura
ϵ	Porosidad
P	Presión
Querc	Quercetina
RBD	Refinado, blanqueado y desodorizado
T	Temperatura
t	Tiempo
t_i	Tiempo de Inducción
BPR	Válvula reguladora de presión

Introducción

En Colombia, el mango se encuentra entre los cultivos frutícolas permanentes más importantes. Según la última encuesta nacional agropecuaria (2016), la producción del fruto en ese año alcanzó aproximadamente 260 000 t en el país. El mesocarpio del mango es procesado industrialmente para la producción de jugo, pulpa y rebanadas. Durante su procesamiento agroindustrial, los principales residuos son el epicarpio y la semilla, en función de las variedades y los productos fabricados pueden ser emitidos entre un 35-60% de residuos.

Los residuos agrícolas representan un problema cada vez mayor a nivel mundial. Éstos causan graves problemas ambientales, como la contaminación del agua, olores desagradables, asfixia, daños a la vegetación y emisiones de gases de efecto invernadero. Además, su disposición es costosa y se añade a los costos producción; por ejemplo, 10 millones de dólares/año se gastan en algunas cadenas agrícolas en EE. UU. Se ha reportado que cerca del 39% de los residuos de las cadenas productivas son causados por las industrias de procesamiento de alimentos en los países desarrollados, los cuales se encuentra en aumento debido al crecimiento en la producción y en la industria de procesamiento.

En Colombia se podrían estimar que se generan cerca de 160 000 t de residuos del mango, del cual representará hasta 60 000 t/año, equivalente al 23% de la producción. No obstante, estos residuos agrícolas poseen biomoléculas importantes que pueden ser aprovechadas. Por ejemplo, la semilla del mango está compuesta por altas cantidades de grasa y almidón; el aceite que se obtiene de ella puede ser utilizado como un sustituto de la manteca de cacao, al igual que se encuentra enriquecidos de compuestos fenólicos de interés para la industria alimentaria (p.e el ácido gálico, ácido elágico, mangiferina, entre otros).

Las técnicas de extracción con alta presión, incluyendo fluidos supercríticos y líquidos presurizados, se han propuesto como alternativas sostenibles y más eficientes para obtener los compuestos presentes en estos tipo de matrices vegetales, dado que emplean solventes verdes

a altas presiones o altas temperatura, que mejoran la solubilidad y desorción de compuestos y acorta los procesos de extracción. El uso de CO₂ como disolvente en este tipo de procesos, permite reducir el consumo de disolvente líquido y los pasos de evaporación (debido a que es gaseoso a condiciones normales), además proporciona un ambiente inerte que ayuda a prevenir la degradación de compuestos sensibles. Estas tecnologías pueden desarrollarse para aprovechar la semilla de mango y se pueden integrar bajo concepto de **biorefinerías**, las cuales permiten aprovechar integralmente las cadenas productivas agrícolas.

Con este horizonte, se ha propiciado el desarrollo del presente trabajo investigativo, partiendo del siguiente objetivo principal:

Valorizar la semilla mango mediante el estudio de la viabilidad técnica y económica de la extracción de antioxidantes empleando fluidos presurizados

Para lo cual se plantearon cuatro objetivos específicos:

- Evaluar el efecto de la temperatura, la presión y el porcentaje de cosolvente de un proceso de extracción con fluidos presurizados sobre la actividad antioxidante in vitro y los contenidos totales de fenoles y flavonoides totales, en los extractos obtenidos a partir de la almendra de la semilla de mango.
- Evaluar la estabilidad oxidativa de aceites comerciales enriquecidos con los extractos obtenidos para la identificar su aplicabilidad en la industria.
- Modelar la extracción de aceites con fluidos presurizados mediante la evaluación experimental de las cinéticas de extracción con el fin de estimar la viabilidad económica de un proceso a escala industrial.
- Estimar la viabilidad económica del proceso de extracción de compuestos bioactivos a partir de almendra de semilla de mango utilizando fluidos presurizados, haciendo uso de un software comercial para su posible aplicación en una planta a escala industrial.

El proyecto se desarrolló del presente trabajo consistió en dos etapas, a saber:

Una primera etapa donde se buscó la obtención de extractos mediante extracción con CO₂ supercrítico y etanol (EtOH) como cosolvente a partir de la almendra de la semilla de mango. Los extractos fueron obtenidos siguiendo un diseño experimental central compuesto

empleando tres variables independientes: temperatura, presión y fracción de cosolvente, un total de 19 extractos fueron obtenidos. Simultáneamente, fueron obtenidos extractos mediante extracción soxhlet empleando EtOH como disolvente. Los análisis realizados a los extractos obtenidos correspondieron a: (i) contenido total de fenoles y (ii) flavonoides totales, (iii) ensayo de actividad antioxidante mediante captación del radical DPPH y (iv) ensayo de estabilidad oxidativa de aceites comerciales enriquecidos con extracto supercríticos mediante el método Rancimat. Finalmente, en cada una de las técnicas se evaluó el rendimiento obtenido y se optimizaron las condiciones de extracción.

Finalmente, una segunda etapa en donde se realizó el modelamiento, la simulación y la evaluación económica de la extracción de aceites con fluidos presurizados. Para lo cual se realizaron curvas cinéticas para la extracción supercrítica utilizando las mejores condiciones obtenidas en la primera etapa y partiendo de resultados previos reportados dentro del Grupo de Investigación en Química de Alimentos de la Universidad Nacional de Colombia. Posteriormente se ajustaron los resultados a modelos matemáticos reportados en la literatura y con criterios de escalamiento seleccionados, se procedió a realizar la simulación en un software comercial (Aspen HYSYS®). Con los generados finalmente se realizó la evaluación económica del proceso, determinando el costo de manufactura del extracto obtenido.

1 Residuos agroindustriales del mango como fuente promisoría de compuestos bioactivos y estrategias para su aprovechamiento industrial

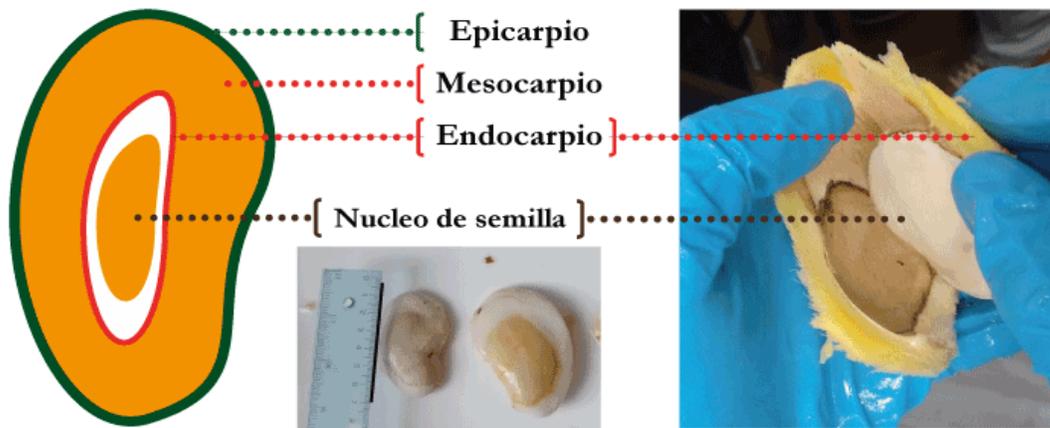
En el presente capítulo se discuten los aspectos más relevantes que definen y contextualizan el trabajo de maestría “Valorización y modelamiento extracción de aceites a partir de la semilla de mango (*Mangifera indica* L.) utilizando técnicas no convencionales”. Inicialmente, se describen algunos aspectos económicos y ambientales de la cadena productiva del mango, sus dificultades para su aprovechamiento y los residuos que de esta se generan; lo que plantea la necesidad de valorizar la cadena productiva mediante la obtención de sustancias de alto valor agregado. Seguidamente, se expone el potencial de las distintas partes del fruto del mango como fuente de agentes antioxidantes, al igual que se plantea el desarrollo y los procesos secuenciales de las biorefinerías a partir de residuos como una estrategia para el aprovechamiento integral de la cadena agrícola. Finalmente, se plantea la extracción con fluidos presurizados para la obtención de extractos con actividad antioxidante, siendo una estrategia para la obtención selectiva de productos, con altos rendimientos y libres de disolventes orgánicos perjudiciales para la salud, los cuales pueden ser de interés para el control de enfermedades, aditivos para la industria alimentaria y farmacéutica u otras aplicaciones.

1.1 El Mango (*Mangifera indica* L)

Taxonomía: el mango (**Figura 1-1**|Error! No se encuentra el origen de la referencia.) es un fruto tropical común en Centroamérica, Asia, India y China, aunque es originario del sur de Asia de donde se dispersó por el mundo [1]; pertenece al género *Mangifera*, conformado por varias especies de la familia Anacardiaceae, la cual está constituida por aproximadamente 73

géneros y 850 especies de amplia distribución a nivel mundial, incluye árboles, arbustos y lianas [2]. Más de 1000 variedades de mango están disponibles en todo el mundo. De éstas, sólo unas pocas se cultivan y comercializan a gran escala [3].

Figura 1-1: Partes del fruto de mango (*Mangifera indica* L.)



El fruto es clasificado como una drupa y dependiendo de la variedad pueden ser muy cambiante en forma, color, sabor y textura. Puede pesar de menos de 50 g y llegar a más de 2 Kg, es carnosos, su forma es ovalada, su piel es lisa y gruesa y su color varía desde el verde, amarillo con tonos rosados, rojos, violetas, donde recibe la luz directa del sol. Su pulpa o mesocarpio tiene color amarillo o anaranjado y tiene semilla fibrosa; por lo general es dulce y con ligero sabor a trementina.

Las frutas llegan a madurar de 2 a 4 meses después de la florescencia. Las especies silvestres son de aproximadamente 3,5 a 10 cm de largo, mientras que las de la mayoría de las variedades de cultivo son considerablemente más grandes, por lo general de 8 a 20 cm de largo y de 6 a 12 cm de ancho, ligeramente aplastados y angostos en la región del ápice [2], [4].

Cada fruto contiene una sola semilla, de forma ovoide u oblonga y cuando maduran están rodeadas por un endocarpio fibroso, la testa es fina y permeable. Existen dos tipos de semilla, las que contienen un embrión cigótico (monoembriónicas) y las que contienen varios embriones (poliembriónicas), generalmente de éstos solo uno es cigótico y los otros se generan del tejido maternal [5].

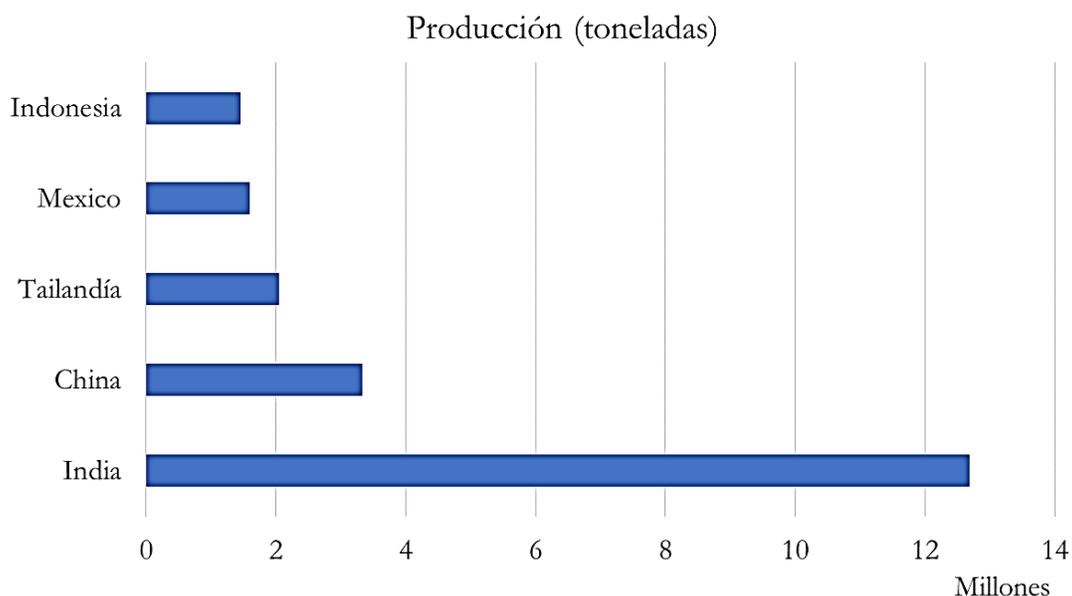
1.2 Aspectos económicos sobre la cadena productiva del mango

1.2.1 Producción y mercados mundiales

El mango (*M. indica* L.) es la segunda fruta tropical más comercializada en el mundo, luego cultivo del banano en términos de producción y la superficie utilizada [6], y la quinta en la producción total de frutas [5].

A nivel mundial, la producción de mango se estima en 42 millones de t/año, debido al comercio que se ha incrementado de manera significativa. India es el mayor productor de mango, con el 30% de la participación en la producción total, seguido por China, Tailandia, México e Indonesia (**Figura 1-2**). México ha sido el mayor exportador con 287 771 t/año según la FAO, en el 2015 [3].

Figura 1-2: Top 5 de productores mundiales [3].

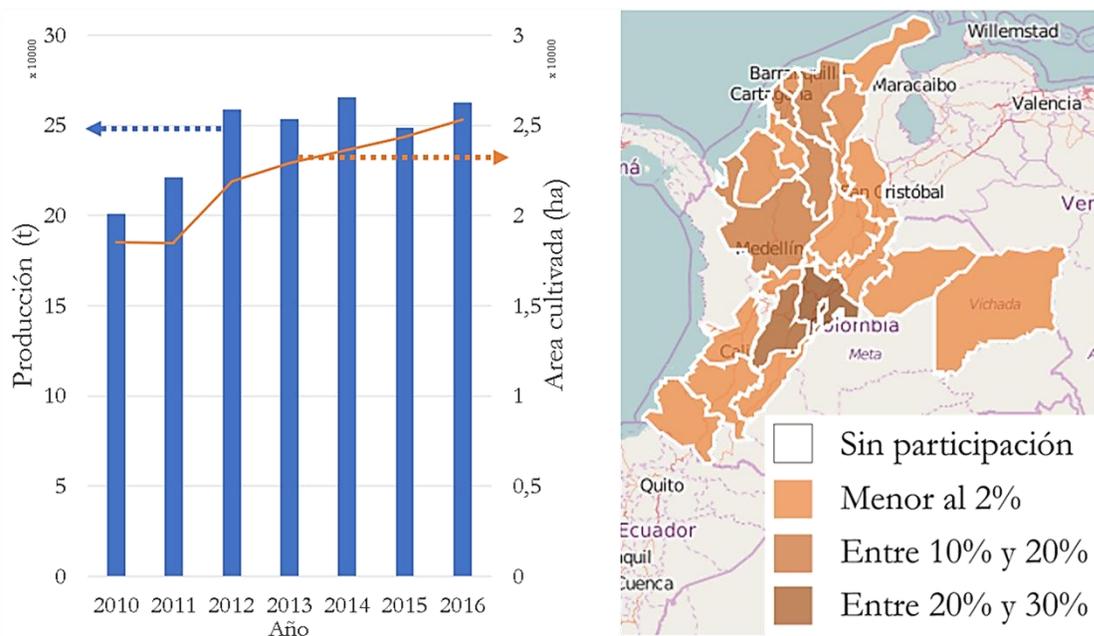


Las variedades provenientes del sur de Florida (Estados Unidos), Haden, Tommy Atkins, Palmer y Kent, son interesantes en los mercados para consumo en fresco, ya que presentan la calidad y atributos que demandan los consumidores [8]. La pulpa de mango puede ser consumida en verde o madura. Los principales productos agroindustriales que se han identificado son: rodajas en almíbar, néctar, encurtidos, conservas, rebanadas en salsa picante, enlatados, congelados como concentrados, puré, deshidratado, productos mínimamente procesados o preparados como zumos y mermeladas[5].

1.2.2 Contexto Nacional

En Colombia, el mango se encuentra entre los cultivos frutícolas permanentes más importantes. En 2016, Tolima fue el primer departamento productor de mango, seguido de Cundinamarca (Figura 1-3). Según la última encuesta nacional agropecuaria, la producción de mango ese mismo año alcanzó aproximadamente 260 000 t en todo el país [9].

Figura 1-3: Producción nacional y principales productores nacional de mango en Colombia [9].



El país tan sólo exporta entre el 0,25% y 0,5% de su producción total de mango, debido a que la oferta exportable es relativamente escasa ya que las cadenas de supermercados y los grandes centros de acopio absorben la producción interna. Además, los precios internacionales no son lo suficientemente atractivos para exportar volúmenes importantes, en especial desde el interior del país, debido a los costos adicionales de transporte y al exigente control sanitario que obligan estos mercados. No obstante, según el modo de inserción en los mercados, Colombia presentaría un desempeño ideal en Japón, España, Estados Unidos y Suiza; la exportación tanto de la fruta fresca como procesada es un negocio creciente a nivel internacional [10].

Finalmente, respecto a la demanda interna, se tiene un crecimiento acelerado en términos de número de hogares y cantidad consumida por hogar. No obstante, la estacionalidad de la producción crea volatilidad en los precios al productor, generando una sustitución de las variedades internas para satisfacer la demanda nacional. Por otra parte, el 67% de las personas

consumen mango fuera del hogar en forma de fruta entera o en trozos y el 33% lo hacen en forma de jugos naturales, generando un potencial muy grande pues se ha posesionado como la segunda fruta en preferencia por los consumidores colombianos fuera del hogar [2].

1.3 Residuos de la cadena productiva del mango y su potencial valor agregado como fuente de compuestos bioactivos.

Los residuos agrícolas representan un problema cada vez mayor a nivel mundial. Estos causan graves problemas ambientales, como la contaminación del agua, olores desagradables, asfixia, daños a la vegetación y emisiones de gases de efecto invernadero. Además, su disposición es costosa y se añade al costo total de la producción; por ejemplo, aproximadamente 10 millones de dólares/ año se gastan en algunas cadenas agrícolas en EE.UU [6]. Se ha reportado que cerca del 39% de los residuos las cadenas productivas son causados por las industrias de procesamiento de alimentos en los países desarrollados, los cuales se encuentra en aumento debido al crecimiento en la producción y de la industria [9],[10].[5]

El mesocarpio del mango se aprovecha para la producción de jugo, pulpa y rebanadas para la industria. Durante el procesamiento agroindustrial, los principales residuos generados son el epicarpio y la semilla. En función de las variedades y los productos fabricados, pueden representar entre un 35-60% del peso total del fruto [13]. En general, los residuos que pueden llegar a generarse en toda la cadena productiva del mango pueden observarse en la **Figura 1-4**.

Figura 1-4: Esquema general de la cadena productiva del mango y sus subproducto o residuos generados. Elaboración propia.



A partir de lo anterior en Colombia a 2016 se podrían estimar que se generan cerca de 160 000 t/año de residuos. No obstante, existen compuestos de interés económico que se pueden obtener a partir de estos, por ejemplo, la semilla del mango está compuesta por altas cantidades de grasa y almidón y el aceite obtenido puede ser utilizado como un sustituto de la manteca de cacao [4].

1.3.1 Caracterización de la semilla de mango.

La semilla del mango, dependiendo de su variedad, puede representar entre 9% y 23% en peso del fruto. Su núcleo o almendra puede llegar a representar entre 46% a 73% de la semilla [11], del cual 15% en peso puede corresponder a aceites extraíbles [14]. Se ha reportado que más de un millón de toneladas pueden llegar a ser producidas en el mundo y no están siendo utilizadas con fines comerciales [5]. Aunque existen suficientes reportes sobre el uso racional de la semilla de mango como ingrediente en alimentos para animales, la mayor parte se considera residuo y se convierte en una fuente de contaminación del medio ambiente.

La grasa de la semilla ha atraído considerable interés debido a sus características físicas y químicas únicas, que son similares a las de la manteca de cacao [5], [6], [11], [14]–[18]. Es una buena fuente de hidratos de carbono (58-80%) y proteínas (6-13%) y tiene un perfil atractivo de aminoácidos esenciales y lípidos (6-16%); que es rico en ácidos oleico y esteárico. Al igual que se han reportado como fuente de antioxidantes naturales, almidón, harina y de alimentación [19].

La almendra de la semilla de mango contiene algunos fitoquímicos de interés que pueden ser utilizados como antioxidantes naturales en diferentes matrices [16], [19]. Varios compuestos de interés se han identificado mediante la extracción con solventes de distinta polaridad; como metanol, etanol y agua, y mediante diferentes técnicas de extracción. Compuestos de interés como mangiferina, ácidos fenólicos y sus glucosilados como; ácido gálico, etil galato, ácido elágico, entre otros, han sido identificados y tienen potenciales aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética o alimenticia ya que pueden ser buenos agentes antioxidantes [20], [21].

1.3.2 Usos y aplicaciones de las biomoléculas de la semilla de mango

Los principales ácidos grasos que se encuentran en el aceite obtenido de la semilla de mango son el ácido esteárico (35%) y ácido oleico (45%) [14]. Es por esto que diversas aplicaciones se han identificado para diferentes sectores de la industria; a nivel internacional, el aceite de la semilla se ha utilizado en la industria cosmética como ingrediente en jabones, champús y lociones, ya que es una buena fuente de compuestos fenólicos incluyendo microelementos como el selenio, cobre y zinc [14]. Así mismo, para la industria alimenticia la fracción lipídica de la semilla se ha extraído y se ha explorado su potencial para reemplazar mantecas en productos de cereales cocido al horno. Los resultados han indicado que la grasa se funde a 26,2 °C y por lo tanto puede ser utilizado para reemplazar la base de ingredientes en la producción galletas [16].

Por estas propiedades, en Europa se ha admitido la adición hasta de un 5% proveniente de otra fuente distinta del cacao para elaboración de chocolate y otros productos, siendo la grasa de semilla de mango una de las seis grasas tropicales permitidas para el reemplazo parcial [17]. No obstante, en Colombia hasta el momento se han hecho pocos esfuerzos para utilizar la almendra de la semilla para la preparación de productos alimenticios de valor añadido. Internacionalmente, el precio de la fracción lipídica de este subproducto se ha reportado en hasta 28 dólares/ 4 onza [16]. Si bien la almendra contiene un contenido representativo de aceite, ningún estudio planificado se ha documentado hasta ahora en el que se centre en la utilización y gestión de los residuos de mango a nivel industrial.

Recientes aplicaciones en el área de la salud han encontrado que se pueden tener extractos con actividad antiproliferativa de cierto de tipo de células de cáncer; colon y mama. Así mismo, se ha verificado su actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas; mientras que otros estudios han demostrado que es un potencial antibiótico y antifúngico natural abundante y rentable que puede ser utilizado en el tratamiento de intoxicación alimentaria y las infecciones causadas por microorganismos patógenos en la industria alimentaria [5], [11]. Finalmente, han habido reportes con el objetivo extraer y caracterizar nanocristales de celulosa de la semilla de mango por hidrólisis ácida para obtener un material adecuado como un agente de refuerzo en la fabricación de nanocompuestos [15].

1.3.3 Aceites y grasa a partir de la almendra de la semilla de mango

En Colombia, estudios recientes han evaluado el rendimiento de extracción y las propiedades fisicoquímicas de los lípidos de semilla de 20 variedades de mango. La grasa obtenida no presentó un contenido considerable de fenoles totales mediante el método y solvente empleado. No obstante, los resultados demostraron que la obtención de grasa comestible, a partir de subproductos del mango, constituye una alternativa viable del aprovechamiento de recursos naturales, debido a sus altos los rendimientos y su composición química que posibilita su aplicación en la sustitución de grasas vegetales o la posible generación de nuevos productos [17].

El precio de la manteca de cacao es uno de los más altos entre todas las grasas y aceites comerciales debido a la baja disponibilidad y alta demanda. En consecuencia, hay un intenso esfuerzo por parte de las compañías de alimentos para desarrollar métodos para producir sustitutos de la manteca de cacao para los mercados emergentes. Con el fin de obtener una grasa equivalente a la manteca de cacao de primera calidad, a partir del desperdicio del núcleo de la semilla de mango, recientemente se ha usado CO₂ supercrítico para la extracción, en donde se han estudiado seis variedades diferentes para realizar su extracción a presiones entre 35 y 42,2 MPa, y temperaturas entre 60°C y 72°C, con un flujo constante de CO₂ de 3,4 ml/min. Las propiedades fisicoquímicas y los componentes de ácidos grasos de grasas de extraídas a través del método han sido comparables a los de la manteca de cacao comercial [13].

Por otro lado, extracciones asistidas por microondas han sido desarrolladas para obtener extractos ricos en antioxidantes de semilla de mango. Las variables estudiadas han sido: contenido de agua en la mezcla de acetona/agua como agentes de extracción, relación de volumen de semilla peso disolvente, número de pasos, el tiempo de extracción y pH del agua. Los resultados han sugerido que la composición de extracción y la relación de volumen de semillas de peso a disolvente son los factores más significativo [22]. En Colombia se han reportado ensayos preliminares empleando ultrasonido obteniendo rendimientos de hasta un 12% [23].

1.4 Técnicas de extracción no convencionales: fluidos presurizados como una tecnología verde para el aprovechamiento de residuos del mango.

Desde el punto de vista fenomenológico, la extracción es un proceso de transferencia de masa de uno o más componentes de una fase a otra. Cuando se trata de productos naturales, en la mayoría de los casos, la muestra que se extrae es un material sólido, aunque en algunos casos se utilizan muestras líquidas. El disolvente de extracción es generalmente un líquido, pero también puede ser un sólido o un fluido supercrítico. Aunque los enfoques pueden variar, según la aplicación (analítica, semipreparativa, preparativa o producción industrial), dichas técnicas tienen características y objetivos específicos, que se rigen por los mismos procesos y mecanismos, y están influenciadas básicamente por las mismas variables del proceso.

Actualmente, las principales dificultades relacionadas con la extracción convencional radican en largos tiempos de extracción, bajos niveles de pureza en los productos obtenidos, altos costos de consumo energético debido a la evaporación de las grandes cantidades de disolvente, bajo rendimiento y selectividad de la extracción, así como la descomposición térmica de compuestos termolábiles [24], [25]. Para superar estas limitaciones, se estudian nuevas técnicas de extracción, las cuales se conocen como técnicas de extracción no convencionales. Algunas de las técnicas más prometedoras pueden ser observadas en la **Figura 1-5** [26].

Figura 1-5: Principales técnicas de extracción no convencionales



Ahora bien, algunas de estas técnicas se consideran “verdes” mientras cumplan con las normas establecidas por la Agencia de Protección Ambiental de EE.UU (EPA), [25]. Éstas incluyen pautas como: el empleo de síntesis química menos peligrosas, disolventes no tóxicos, materias primas renovables, catalizadores, así como el diseño de productos más seguros, sistemas

eficientes energéticamente; que reduzcan la producción de residuos, eviten la degradación y permitan generar “economía atómica”, y el análisis en tiempo real para la prevención de la contaminación y de accidentes [28].

Los principales objetivos del proceso de un extracción están relacionados con una o más propiedades, a saber:

- **Alto rendimiento:** el compuesto objetivo se forma o se recupera de forma exhaustiva.
- **Alta selectividad o pureza:** el extracto resultante posee baja cantidad de interferentes o de compuestos indeseables, que han sido extraídos simultáneamente.
- **Alta sensibilidad:** al aplicar diferentes técnicas de cuantificación se obtiene una elevada pendiente en las curvas de calibración.
- **Bajo límite de detección o cuantificación:** los analitos son detectados o cuantificados a niveles de concentración bajos, debido al mínimo nivel de ruido del sistema analítico.

1.4.1 Extracción con Fluidos Supercríticos

Los fluidos supercríticos fueron descritos por primera vez en 1879 por Hannay y Hogarth. A pesar de sus ventajas asociadas como agentes de extracción, no fue hasta alrededor de 1960 que esta técnica comenzó a ser investigada a fondo como una alternativa a los métodos de extracción convencionales [26].

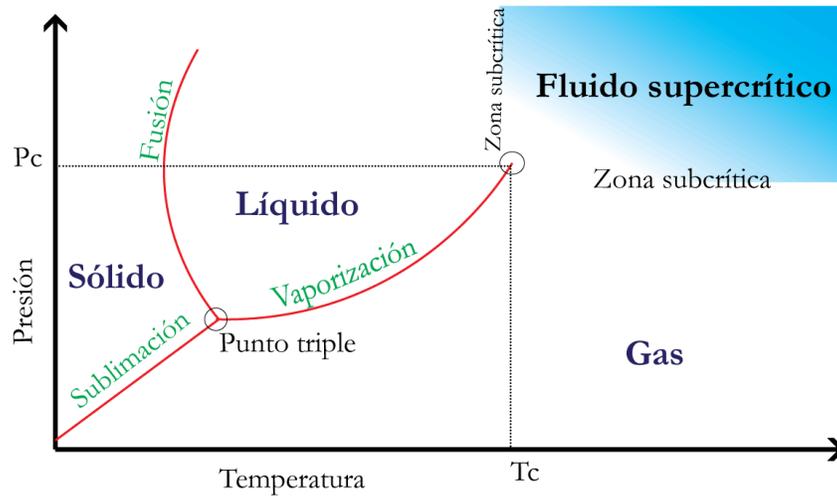
A medida que la sustancia se acerca a su temperatura y presión crítica, las propiedades de sus fases gaseosas y líquidas convergen, lo que resulta en una sola fase en el punto crítico: un fluido supercrítico homogéneo. El calor de vaporización es cero por lo tanto no existe una distinción entre las dos fases. En el diagrama de presión-temperatura (**Figura 1-6**), el punto en el que la temperatura y presión crítica se reúnen se llama el punto crítico de la sustancia. En las proximidades del punto crítico, un pequeño aumento de la presión provoca un gran aumento de la densidad de la fase supercrítica [25].

Los fluidos supercríticos tienen propiedades tanto de gases como de líquidos. Por ejemplo, su densidad es similar a la de un líquido, mientras su viscosidad es similar a la de un gas, y su difusividad es intermedia entre gas y líquido. La conductividad térmica es relativamente alta y aumenta cerca del punto crítico. La tensión superficial es mínima, similar a la de los gases. Muchas otras propiedades físicas tales como solubilidad, altamente relacionada con la densidad, muestran grandes cambios en cercanías al punto crítico. Los cambios en estas propiedades son

cruciales, ya que éstos afectan los cambios de solubilidad y los coeficientes de transferencia de masa, y por tanto la selectividad del disolvente [26].

Entre los disolventes considerados “verdes” en la extracción con fluidos supercríticos (EFS), el CO_2 es sin duda el más empleado ($T_c = 31^\circ\text{C}$ y $P_c = 74\text{ bar}$). El CO_2 es económico, respetuoso del medio ambiente y, en general, reconocido como seguro (GRAS), éste es atractivo debido a su alta difusividad. Otra ventaja es que es gaseoso a condiciones ambientales, lo que hace que la recuperación del extracto sea simple, que dicho extracto sea libre de disolventes y que no sea sometido a transgresiones térmicas ni oxidativas. No obstante, una limitante es la poca afinidad de CO_2 supercrítico por compuestos polares, la cual puede ser superada al emplear cosolventes modificadores polares [25], [28]–[30].

Figura 1-6: Diagrama de fases [26].



1.4.2 Extracción con Líquidos Presurizados

El método de extracción en el que se emplean líquidos a alta presión puede aplicarse en la extracción de productos naturales. Las ventajas más importantes que se han reportado incluyen altos rendimientos, reducción del tiempo de procesamiento y bajo consumo de disolvente [31]. El solvente frecuentemente utilizado es el agua, a temperaturas superiores al punto de ebullición atmosférico (100°C ; $0,1\text{ MPa}$) pero por debajo del punto crítico (374°C ; $22,1\text{ MPa}$), por lo que puede llamarse extracción con agua subcrítica (SWE, por sus siglas en inglés), extracción sobrecalentada o extracción acelerada con agua como disolvente. El uso de SWE en química

analítica comenzó con el trabajo en el análisis medioambiental por Hawthorne y sus colegas en la década de 1990 y existe bastante literatura sobre las aplicaciones actuales [32]–[36].

Se ha sugerido que el fenómeno responsable del alto rendimiento de extracción en esta técnica es la irrupción de los tejidos (debido a la alta presión hidrostática), mejorando la velocidad de transferencia de masa del disolvente en la matriz y el producto intracelular libre. La principal ventaja de esta técnica sobre la extracción sólido-líquido convencional es el uso de densidades relativamente altas (ya que el disolvente está como líquido a temperaturas superiores a las del punto de ebullición normal), lo que mejora la solubilidad y la transferencia de masa [26].

1.4.3 Modelamiento y escalamiento de la cinética de extracción con fluidos presurizados.

La mayoría de los estudios que emplean fluidos presurizados para obtener extractos, buscan que tenga la capacidad de ser escalados y utilizados industrialmente. Para esto, el diseño de los procesos de extracción debe estar fundamentado en el conocimiento de los mecanismos de transferencia de masa del proceso de extracción y su representación matemática apropiada.

Dentro de la variedad de modelos matemáticos que se han propuestos, existen tres que son relativamente simples y han sido bien desarrollados y usados para describir la extracción de compuestos a partir de matrices sólidas: la difusión en una bola caliente, la célula rota e intacta, el núcleo que se contrae y algunos modelos simplificados. Todos tienen una descripción e identificación de parámetros y ejemplos de aplicación bien definidos en la literatura, en donde se incluye la disolución del analito del sólido, la difusión del analito en la matriz y su transporte dentro fluido supercrítico [37].

El modelamiento de la extracción con fluidos presurizados implica el análisis de curvas de extracción, en donde los aspectos cinéticos y termodinámicos se relacionan cuantitativamente con el objetivo de realizar optimización y mejora al proceso, así como para las evaluaciones económicas y escalamientos. Otro aspecto que toma el tema del modelamiento concierne al uso de diseño de experimentos y metodología de superficies de respuesta, como métodos estadísticos que permiten identificar condiciones de operación que tengan un impacto positivo sobre los resultados que se esperan y también a describir los resultados experimentales cuando los datos fundamentales son escasos o inexistentes [38].

Modelos empíricos: cuando los resultados se describen mediante expresiones matemáticas simples, los modelos empíricos brindan soluciones fáciles y rápidas. Se pueden encontrar expresiones en la literatura que describen fácilmente la forma de las curvas EFS. Estos modelos generalmente se construyen en relación con la concentración inicial de solutos en la matriz y comprenden un parámetro ajustable que no tiene ninguna interpretación física. A pesar de ser capaces de proporcionar datos confiables, los modelos empíricos no permiten que se determinen los coeficientes de transferencia de masa y, por lo tanto, son de poca ayuda para una comprensión profunda del proceso, concretamente cuando se apuntan objetivos de ampliación.

Modelos simplificados: la derivación de modelos fenomenológicos para los procesos de EFS incluye ecuaciones de velocidad y balances de masa tanto para el fluido supercrítico como para las fases sólidas, y requiere datos cinéticos y de equilibrio, y posiblemente algunas características de la estructura física de la matriz. Debido a la falta de información habitual tanto a nivel cinético y termodinámico, y también a la complejidad implícita de las matrices naturales, los investigadores han publicado y adoptado modelos simplificados que proporcionan soluciones aproximadas. La aplicación de modelos simplificados puede proporcionar pistas útiles sobre las limitaciones que prevalecen en un proceso de EFS, que permite descartar fenómenos de insignificante importancia en futuros modelos rigurosos.

Su adecuación puede ser probada caso por caso al ajustar las ecuaciones propuestas a las curvas experimentales de extracción. Normalmente incorporan uno o dos parámetros ajustables (constantes relacionadas con la transferencia de tiempo o de masa) y normalmente necesitan al menos la concentración de soluto inicial en la biomasa.

En cuanto a los residuos agroindustriales del mango, en los últimos años las hojas del árbol de mango son la parte que han presentado el principal interés para el diseño de proceso y escalamiento de procesos empleando técnicas de extracción no convencionales [39]. Es así como se ha planteado la ampliación de los procesos de alta presión desde la escala de laboratorio (0,1 L) a la escala de planta piloto (5,0 L) mediante la aplicación de modelos matemáticos como el desarrollado por Sovová y diferentes criterios de similitud [40]. Los resultados han indicado que el modelo puede predecir satisfactoriamente las curvas cinéticas. De donde se encuentra que el mejor criterio de similitud para escalamiento es mantener una relación constante de masa de disolvente en flujo de alimentación que incluye el diámetro extractor.

Para la extracción con líquidos presurizados, los conceptos de difusión y velocidad de difusión, que dependen del gradiente de concentración, junto a la muestra, hacen parte del modelamiento y se sustentan bajo la ley de Fick [41].

Entre ambas técnicas de extracción mencionadas, las limitaciones de los procesos de extracción son distintas. Por ejemplo, para la extracción fluidos supercríticos son debidas principalmente a la difusión, mientras que la extracción con líquidos presurizados es controlada tanto por la difusión como la convección.

1.5 La biorefinería como estrategia integral para el aprovechamiento de los subproductos o residuos de la cadena productiva del mango.

La Comisión Europea (2012) define **la bioindustria** como el segmento de la economía de base biológica (bioeconomía) que reduce las emisiones de gases de efecto invernadero y se desarrolla sobre la base biológica de bajo carbono. Es decir que utiliza los recursos biológicos renovables en procesos industriales para la fabricación de productos innovadores y servicios derivados de la biomasa.

Con lo anterior, se entiende que la bioeconomía será la principal potencia impulsadora para generar un crecimiento inteligente e incluyente; reducir la dependencia de combustibles fósiles al igual que reducir el consumo de energía y de recursos; promoverá la creación de empleos verdes y apoyará el desarrollo sostenible [43]. La Agencia Internacional de Energía busca apoyar los avances tecnológicos alrededor de los conceptos de biomasa y biorefinerías, los cuales se pueden desarrollar a través de las denominadas “42 Task” [44].

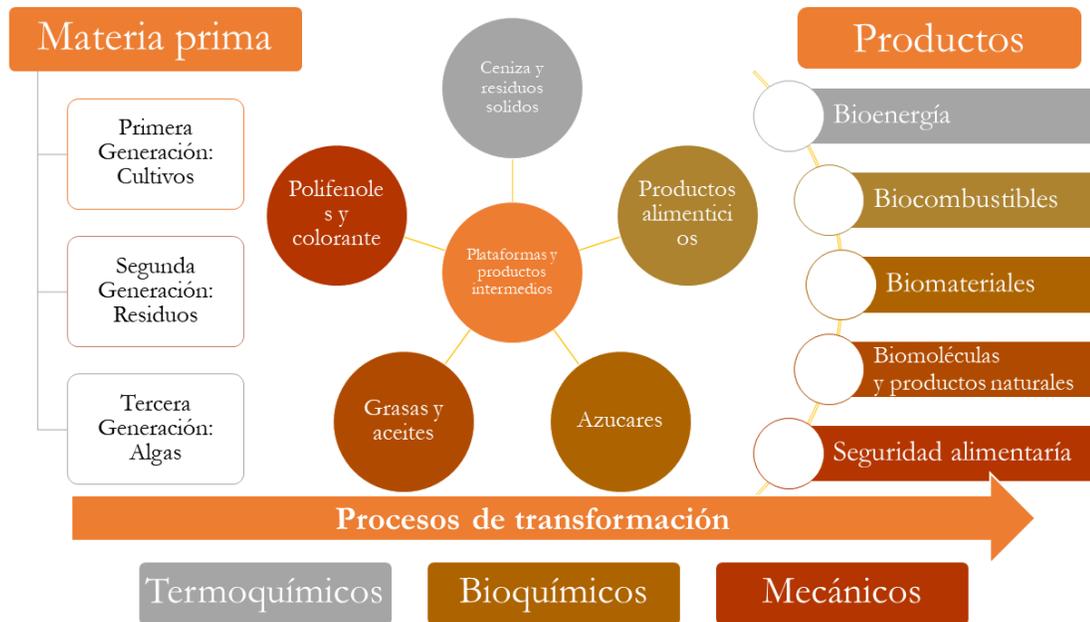
La biomasa puede ser definida como *"cualquier materia orgánica que se encuentra disponible en una base renovable o recurrente (con exclusión de la madera de bosques de edad), incluyendo cultivos dedicados a energía y árboles, residuos de cultivos agrícolas de alimentos, plantas acuáticas, la madera y sus residuos, desechos animales y otros materiales de desecho"* [45].

El concepto de **biorefinería** tuvo su origen a finales de 1990, como resultado de la escasez de combustibles fósiles y el aumento de las tendencias de uso de la biomasa como materia prima para la producción de productos no alimenticios [46]. El Laboratorio Nacional Americano de Energía Renovable [47] definió biorefinería como: *“una instalación que integra los procesos de conversión de biomasa para producir combustibles, productos químicos, poder y energía”*.

En este contexto, el concepto de biorefinería verde se considera como el tratamiento sostenible de la biomasa y la integración de todos los procesos de transformación de residuos que culmina

en productos de base biológica. El concepto también se relaciona con la recuperación de energía en un solo proceso integrado de los desechos; lo anterior permite ser autosuficiente y altamente sostenible, lo cual implica un enfoque unificado altamente beneficioso (Figura 1-7) [48], [49]. Este término está estrechamente relacionado con la Ecología y la Simbiosis Industrial.

Figura 1-7: Componentes y estructura general de una biorefinería [48], [49].

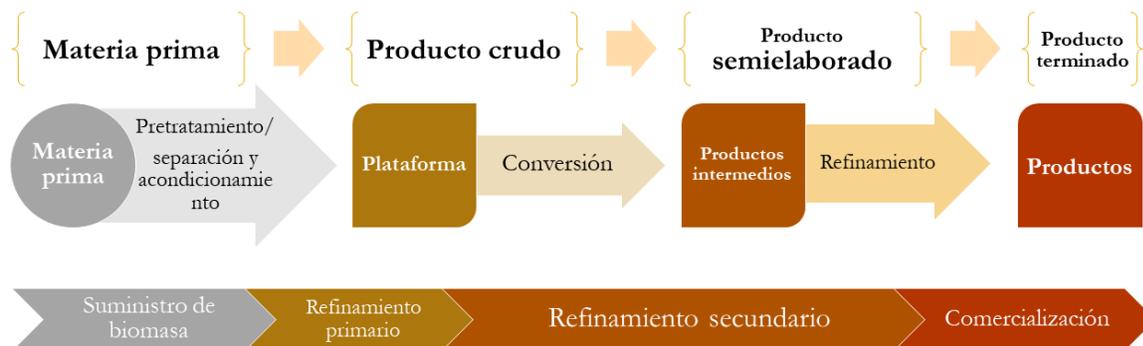


La ecología de la simbiosis industrial se refiere a las sinergias que se producen entre los actores de biorefinerías integrada. En principio, toman la forma de intercambios comerciales de productos secundarios dentro de un fenómeno de cascada industrial, donde el producto de una empresa industrial se convierte en un insumo para otra empresa. Esta cascada puede continuar a través de varios niveles en un marco de integración vertical. Algunos intercambios pueden tomar la forma de servicios [46].

Las biorefinerías se clasifican en función de sus componentes del sistema o plataformas, productos, materias primas y procesos de conversión. Las plataformas determinan la complejidad del sistema en el que se representan los procesos intermedios que enlazan la biorefinería; los productos pueden ser energía o productos químicos valiosos (bloques de construcción), es decir, ácidos orgánicos; las materias primas pueden referirse a cultivos comestibles, residuos agrícolas y forestales y desechos industriales o domésticos. Actualmente cuatro grupos principales de procesos de conversión están involucrados en los sistemas de

biorefinería y definen la jerarquía del proceso. Estos son termoquímicos, mecánico, y bioquímicos. Esta jerarquía de clasificación puede ser visto en la **Figura 1-8** [50]

Figura 1-8: Estructura de una biorefinería de acuerdo a sus componentes [50] .



1.5.1 Aprovechamiento integral de cadenas productivas agrícolas

El aprovechamiento integral de una cadena agrícola se refiere a transformar y utilizar completamente el producto generado en el campo, lo que implica valorizar la cadena agrícola mediante la obtención de productos de alto valor agregado. Para lograr esto, la biorefinería emplea la secuenciación en el diseño de procesos.

La secuenciación en el diseño de una biorefinería es un término que se utiliza para establecer un orden lógico para relacionar las tecnologías y productos que lleva a involucrar ciertas restricciones. Por ejemplo, los primeros pasos de secuenciación deben ser la extracción de compuestos fenólicos y luego el tratamiento con ácido para recuperar pectinas, seguido de otros productos debido a que no es posible producir pectinas primero y luego extraer los compuestos fenólicos, una de las limitaciones es que los metabolitos se han diluido en un medio ácido lo que conduce a una degradación y un menor aprovechamiento de sus capacidades funcionales. Por otra parte, podría ser posible que incluso estos compuestos no se puedan recuperar a partir del licor debido a las pequeñas cantidades en comparación con los grandes volúmenes en la extracción de la pectina. De esta manera la secuencia se relaciona con la jerarquía de los productos[51].

1.5.2 Las reglas de biorefinerías verdes

La aplicación de los conceptos de jerarquía, secuenciación e integración anteriormente mencionados pueden ser desarrollado mediante el cumplimiento de un conjunto de reglas creadas para poder diseñar una “biorefinería verde” [51]–[53]:

- Las tecnologías integradas deben tener prioridad sobre las tecnologías separadas.
- Las materias primas deben ser originarias de fuentes naturales, buscando siempre la integración de las distintas generaciones de biomasas.
- Se deben reducir los residuos y lograr la integración de productos con materias primas en las biorefinerías de multiprocesamiento.
- Los ecosistemas y la biodiversidad deben ser preservados
- El desarrollo soluciones de ingeniería deben ser innovadoras.
- Se debe evaluar el impacto social.
- Se debe adoptar el término del ciclo de vida.
- Tanto el consumo de energía y la generación de subproductos de bajo valor se deben reducir.
- Se deben emplear herramientas y estrategias de análisis y evaluación de impacto ambiental, técnico y económico.
- Se deben analizar las consecuencias para la seguridad alimentaria objetivamente, incluyendo el impacto social, ambiental y económico.
- Los procesos que se van a diseñar deben ser más seguros.
- Se deben diseñar procesos para las moléculas innovadoras de alto valor añadido. Los antioxidantes, azúcares funcionales y biopolímeros son un buen ejemplo de esta regla.
- Se debe adoptar una cadena de suministro y logística como parte esencial de una biorefinería verde.

Todos estos puntos se fundamentan en los pilares de la sostenibilidad (medio ambiente, sociedad y economía). Las biorefinerías que siguen estos principios son consideradas como sostenibles o verdes y se puede observar en la imagen **Figura 1-9**.

Figura 1-9: Relación entre estructura, conceptos, materia prima, productos y conocimiento en una biorefinería verde [51]–[53]



2 Evaluación técnica de la extracción con CO₂ supercrítico y EtOH como cosolvente para la obtención de antioxidantes a partir de la almendra de mango.

El presente capítulo presenta los resultados del estudio técnico del proceso de extracción con fluidos supercríticos a partir de la almendra de la semilla de mango, con el propósito de plantear una posible aplicación de este residuo agroindustrial, el cual posee un alto contenido de bioactivos con potencial antioxidante. Para esto, se evaluó el efecto de la presión (11-21 MPa), la fracción de cosolvente (5-15 %) y la temperatura (40 - 60 °C) durante un proceso de extracción con fluidos supercríticos (EFS). Se evaluaron como variables de respuesta: (i) Rendimiento, (ii) Contenido Total de Fenoles (CTF), (iii) Contenido Total de Flavonoides (CTFI), (iv) actividad antioxidante mediante el ensayo de atrapamiento de radical DPPH y (v) el efecto de los extractos sobre el índice de estabilidad oxidativa de aceites enriquecidos usando el método Rancimat; empleando aceite de girasol a 120 °C, con aireación de 20 L/h y una concentración de extracto de 1000 ppm. Por medio de un diseño experimental central compuesto, se determinaron como mejores condiciones de extracción: 21,0 MPa, 60 °C y 15% de EtOH como cosolvente, el extracto obtenido a dichas condiciones generó un tiempo de inducción en los aceites comerciales de hasta $6,05 \pm 0,25$ h. La variable de proceso de la EFS que más afectó de forma positiva la estabilidad oxidativa fue la composición de la fase extractante.

2.1 Introducción

El mango generalmente se consume directamente, pero existe un aumento en el consumo de productos procesados del mango como jugos, néctar, polvo, rebanadas de mango en almíbar y jaleas. Su procesamiento agroindustrial genera una cantidad significativa de subproductos como

25 cáscaras y semillas que representan del 35% al 60% de la fruta, aproximadamente. En Colombia,
26 a 2016 se podrían estimar que se generaron cerca de 160 000 toneladas de residuos, del cual la
27 semilla pudo alcanzar hasta 60 000 t/año, equivalente al 23% de la producción del fruto. La
28 emisión de este tipo de residuos causa graves problemas ambientales, como la contaminación
29 del agua, olores desagradables, asfixia, daños a la vegetación, y la emisión de gases de efecto
30 invernadero [11-12]; así mismo su disposición es costosa y es añadido al costo total de la
31 producción [6]. No obstante, estos residuos agrícolas poseen biomoléculas importantes que
32 pueden ser aprovechados. Se ha demostrado que la ingesta diaria en la dieta de estos compuestos
33 bioactivos tiene posibles beneficios para la salud debido a sus potenciales propiedades
34 antioxidantes (actividades antivirales, antibacterianas, analgésicas, antiinflamatorias e
35 inmunomoduladores).

36 Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que se sintetizan durante el desarrollo
37 normal de la planta en respuesta a las condiciones de estrés, por lo que juegan un papel protector
38 o antioxidante sea en productos con fines farmacéuticos o aditivos alimentarios, como aditivos
39 antioxidantes protectores de aceites comerciales. Los principales compuestos fenólicos y otros
40 compuestos polares identificados en el frutos de mango son los glucósidos de flavonol, xantona,
41 galotaninos y benzofenona que son derivados de quercetina, kaempferol, mangiferina, entre
42 otros [21].

43 En la actualidad, las técnicas convencionales de extracción consumen tiempo y alta cantidad de
44 disolventes, presentan una baja eficiencia y generalmente requieren muchas etapas para la
45 concentración, a temperaturas relativamente altas que pueden promover la degradación de
46 compuestos activos. Con el fin de superar estas dificultades, en los últimos años se ha
47 investigado nuevos métodos de extracción en los últimos años. Las técnicas de extracción de
48 alta presión, incluyendo fluidos supercríticos y líquidos presurizados, se han propuesto como
49 alternativas sostenibles y más eficientes porque emplean solventes verdes a alta presión y/o
50 moderadas temperaturas, que mejoran la solubilidad y desorción de compuestos activos desde
51 la matriz o muestra y acorta los procesos de extracción. El uso de CO₂ como disolvente de
52 extracción bajo estas técnicas, permite reducir el consumo de solvente líquido y los pasos de
53 evaporación, debido a que es gaseoso a condiciones ambientales, además proporciona un
54 ambiente inerte durante el proceso de extracción que ayuda a prevenir la degradación de
55 compuestos sensibles a la oxidación. Así mismo, la adición de cantidades de cosolventes polares
56 al CO₂ como EtOH aumenta sustancialmente el rendimiento global y la obtención compuestos

57 como la mangiferina, ácido gálico o elágico en el mango [31], [54], [55]. El presente trabajo tiene
58 como objetivo estudiar la posibilidad de obtener extractos mediante el uso de CO₂ supercrítico
59 y EtOH como cosolvente, con el fin de evaluar su aplicabilidad en la industria alimentaria como
60 antioxidantes de aceites comerciales.

61 **2.2 Materiales y métodos**

62 **2.2.1 Material vegetal y reactivos**

63 La semilla de *M. indica* L. Var mango de azúcar, se obtuvo a partir de un proceso agroindustrial
64 de un lote suministrado por la empresa Pulpas Oni® de Colombia. La pulpa residual fue retirada
65 y la almendra separada manualmente de la semilla. La muestra se secó al vacío y con temperatura
66 de 50 °C, posteriormente fue molida y tamizada a un tamaño de partícula promedio < 0,300
67 mm usando un sistema de tamices marca Tyler. La muestra fue almacenada en oscuridad a
68 temperatura ambiente (aproximadamente 18°C) hasta el momento de su uso.

69 Se contó con el reactivo de Folin-Ciocalteu (sodio 3,4-dioxo-3,4-dihidronaftaleno-1-sulfonato)
70 y ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico) marca Merck®; el carbonato de sodio anhidro
71 de JT Baker®; el radical 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Trolox y Quercetina de Aldrich®;
72 el EtOH de Panreac®; y la TBHQ de butilhidroquinona terciaria de TCI-Tokyo Kasei®.

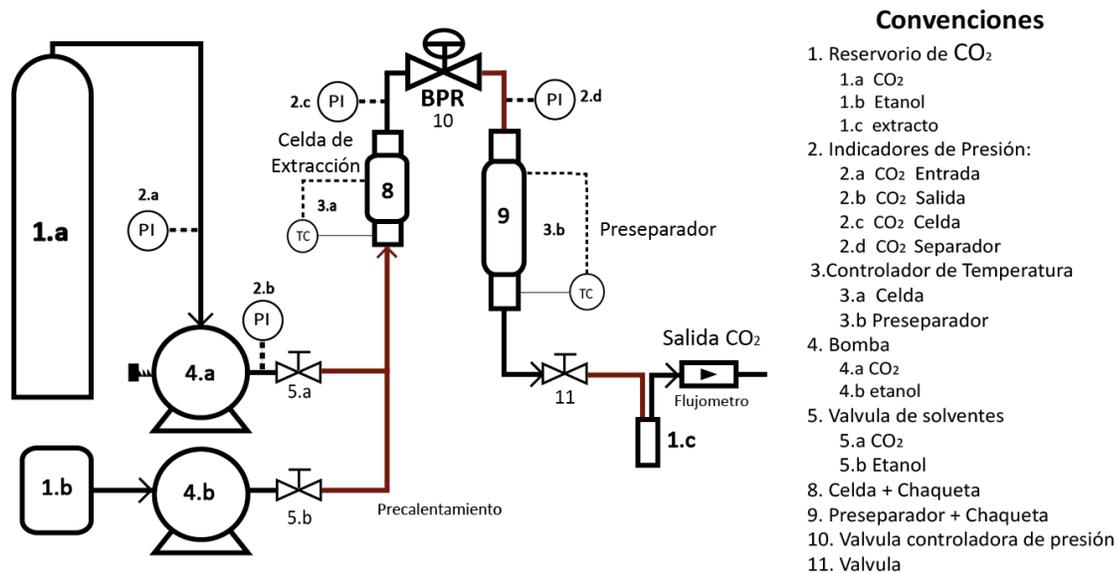
73 **2.2.2 Extracción soxhlet**

74 La extracción se realizó con EtOH al 96%, por 8 h a presión reducida y temperatura de
75 ebullición a 40°C, evitando la degradación de analitos termosensibles. Luego de la extracción se
76 observó la formación dos fases (una apolar y otra polar) las cuales se separaron mediante
77 enfriamiento de los extractos a -20°C, filtración y centrifugación (centrífuga Hettich Universal
78 320R). El rendimiento obtenido en cada fase se cuantificó y los extractos polares fueron
79 reconstituidos a 10mg/mL en EtOH y almacenados en oscuridad a -20 ° C hasta su uso.

2.2.3 Diseño experimental: Extracción con fluidos supercríticos usando CO₂ y EtOH como modificador

El equipo de extracción con fluidos supercríticos (**Figura 2-1**) estaba conformado por una celda de extracción de 10 mL en acero inoxidable 316S, con camisa de calentamiento eléctrica, controlador de temperatura PID y bomba de diafragma conectado un regulador de frecuencia para presurizar el CO₂ y bomba de HPLC (Beckman modelo HPLC 140) para impulsar el EtOH. La celda de extracción y el sistema de tuberías (d.i 1/8") fueron de acero inoxidable 316S. Para evitar la formación de nieve carbónica en el momento de la descarga, se realizaba una primera despresurización moderada a 5 MPa y 60°C mediante una válvula reguladora de presión (BPR), posteriormente se despresurizaba a condiciones ambientales. Las líneas de tubería se calentaban con alambre de resistencia revestido conectado a un controlador de temperatura PID.

Figura 2-1: Diagrama de flujo del sistema de extracción con CO₂ supercrítico y EtOH como cosolvente.



La celda de extracción se llenó con aproximadamente 5,0 g de muestra con un tamaño de partícula menor a 300 mm, y se establecieron las condiciones de temperatura, presión y fracción de cosolvente para la extracción, que se llevó a cabo en modo continuo respecto a la fase extractante. Se implementó un diseño experimental central compuesto rotatable basado en los límites de operación máximos del equipo de extracción y en trabajos previos realizados para epicarpio de mango en el cual emplearon fluidos presurizados [31, 39, 56]; el cosolvente fue

98 EtOH al 96%; se estudió un rango de fracción másica de 5-15% respecto al flujo de CO₂, la
 99 presión y la temperatura (11-21 MPa; 40 °C – 60 °C). Se realizaron 19 ensayos, incluyendo cinco
 100 repeticiones en el punto central del diseño experimental.

101 Se determinó el rendimiento de extracción (mg extracto / g de biomasa seca), considerando las
 102 dos fases obtenidas: fase etanólica (polar) y fase insoluble (apolar), separadas según como se
 103 hizo en la extracción soxhlet. Se realizó una extracción continua durante 3 h y un flujo de CO₂
 104 de 10 g/min. Los extractos fueron reconstituidos a 10 mg/mL en EtOH y almacenados a -20°C
 105 para los posteriores análisis. La muestra las
 106 condiciones de presión (MPa), temperatura (°C) y porcentaje de cosolvente del diseño
 107 experimental con sus respectivas codificaciones en el diseño experimental.

108 **Tabla 2-1** Diseño experimental para la extracción con CO₂ supercrítico y EtOH.

Nº	Presión (MPa)	Temperatura (°C)	Cosolvente (%)
1	-1	11	1
2	0	16	0
3	-√2	7,6	0
4	√2	24,4	0
5	0	16	0
6	0	16	-√2
7	1	21	-1
8	0	16	0
9	-1	11	-1
10	1	21	1
11	-1	11	-1
12	1	21	1
13	0	16	0
14	0	16	√2
15	0	16	0
16	-1	11	1
17	1	21	-1
18	0	16	0
19	0	16	0

109

110

111

112 Tanto a los extractos obtenidos por soxhlet como a los obtenidos por EFS, les fue separada la
113 fase apolar de la polar. A cada fase polar, por separado, se le determinó el contenido total de
114 fenoles (CTF), el contenido total de flavonoides (CTFI), la actividad antioxidante por DPPH y
115 el efecto de los extractos obtenidos sobre la estabilidad oxidativa de aceites por Rancimat.

116 **2.2.4 Determinación del contenido total de fenoles (CTF)**

117 Se realizó por el método Folin-Ciocalteu [57]–[61], usando ácido gálico (AG) como estándar a
118 partir de una solución stock de ácido gálico. Para ello se mezcló 100 μ L de extracto reconstituido
119 a 10 mg/mL, con 1,5 mL de agua destilada y 100 μ L del reactivo de Folin y se dejó reaccionar
120 por 5 min en oscuridad. Luego se adicionó 300 μ L de Na_2CO_3 (20%_{p/v}) y se dejó reaccionar
121 en oscuridad por 60 min. La absorbancia del color azul fue medida en un espectrofotómetro a
122 765 nm. El contenido total de fenoles fue expresado como mg equivalentes de AG/ g de
123 muestra de material seco y por g de extracto.

124 **2.2.5 Determinación del contenido total de flavonoides (CTFI)**

125 El CTFI se determinó mediante el método del cloruro de aluminio (III), siguiendo
126 procedimientos previamente desarrollados [62]. Para ello, se dispuso de 100 μ L las soluciones
127 de los extractos obtenidos (10mg/mL) y se les adicionó 300 μ L de EtOH al 95%, 50 μ L AlCl_3
128 (10%), 50 μ L acetato de sodio (1 M) y 500 μ L agua destilada. La reacción se incubó por 30 min
129 a temperatura ambiente. Posteriormente, se midieron los valores de absorbancia a 415 nm en
130 un espectrofotómetro (Thermo Scientific Evolution 600) UV/Vis. La curva de calibración se
131 realizó con quercetina (Querc) como patrón. El CTFI se expresó como mg de Querc/100 g de
132 muestra seca y mg de Querc /100 g de extracto.

133 **2.2.6 Evaluación de la actividad antioxidante: Ensayo de eliminación de** 134 **radicales DPPH**

135 Se utilizó la metodología de Carrillo y cols, con modificaciones [57]. La prueba se llevó a cabo
136 con 975 μ L de una solución de DPPH 0,1 mM, que se preparó en EtOH, mezclado con 25 μ L
137 de extracto reconstituido, o el estándar, en EtOH, como referencia. Las mezclas se agitaron y
138 se dejaron reaccionar a temperatura ambiente en oscuridad 30 min. La absorbancia se midió a

139 como 517 nm. Los resultados se expresaron como $\mu\text{mol eq-trolox} / \text{g}$ de extracto a través de la
140 construcción de una curva de calibración usando varias concentraciones del antioxidante
141 Trolox.

142 **2.2.7 Evaluación de la estabilidad oxidativa de aceites enriquecidos con** 143 **extractos mediante el método Rancimat**

144 La prueba de oxidación acelerada para aceite vegetal comercial se llevó a cabo por el Método
145 Rancimat [63]. Se trabajó con un aceite de girasol libre de antioxidantes [64], proporcionado
146 por la empresa Team Foods. Un flujo de 20 L/h de aire y 120 °C de temperatura fueron
147 empleados, cada uno de los extractos obtenidos fue adicionado a 3 g de aceite a una
148 concentración de 1000 ppm. Se utilizó un aceite control para comparar los efectos del aceite
149 con y sin extractos. Así mismo se tuvo como control positivo TBHQ a 200 ppm en el aceite
150 comercial, de acuerdo al Codex Alimentario [65], [66]. Los resultados se expresaron como el
151 tiempo de inducción (t_i en [h]). Cada ensayo se realizó por triplicado.

152 **2.2.8 Ensayo Análisis por Cromatografía líquida de alta eficiencia** 153 **acoplada a espectrometría de masas (CLAE-EM) del mejor extracto**

154 El mejor extracto seleccionado fue estudiado empleando CLAE-EM. Para ello se empleó un
155 cromatógrafo (AgilentR 1260 Infinity) acoplado a un espectrómetro de masas de alta resolución
156 (AgilentR 6520). El sistema CLAE consistió en dos bombas binarias (G1312B), un
157 desgasificador (G1379B) y un inyector automático con sistema de refrigeración (G1367E). Para
158 la separación de los compuestos se empleó una columna (Phenomenex Luna Phenil-hexil (15 x
159 4,6 mm d.i 5 μm) y un gradiente de elución: A) agua ácido fórmico 0.1%, B) acetonitrilo
160 t(min)/B: 0/0, 2/0,20/15,28/50,30/70,40/90,45/90 y 50/0.

161 La ionización se realizó mediante electrospray en modo negativo, ESI (-), el voltaje del capilar
162 fue de 3,5 kV. Como gas nebulizador se empleó nitrógeno a 5 L/min, 25 psi y 300 °C. La
163 separación de iones se realizó con un analizador cuadrupolo-tiempo de vuelo (QTOF) en un
164 rango de 50-1500 m/z. La adquisición de datos se realizó mediante el software Mass Hunter
165 (Workstation Software Agilent TechR.0.21 2.210).

166 La identificación de los compuestos fenólicos de la almendra de la de la semilla de mango se
167 realizó mediante la comparación del tiempo de retención del análisis de HPLC con MS. El peso
168 molecular se comparó con la literatura científica, la base de datos del software y patrones
169 disponibles.

170 **2.2.9 Análisis estadístico**

171 Para el análisis estadístico, las variables CTF, CTFI y la AA fueron medidas por triplicado,
172 mientras que el porcentaje de rendimiento no tuvo replicas en la EFS. El rendimiento de
173 extracto obtenido mediante extracción soxhlet y CO₂+EtOH, los resultados de CTF y CTFI,
174 la inhibición porcentual de DPPH y el tiempo de inducción mediante Rancimat, se expresan
175 como promedios ± SD (desviación estándar). El análisis de las diferencias estadísticas de los
176 datos obtenidos se realizó a través de un ANOVA con p<0.05, empleando el software
177 STATGRAPHICS XVI.II . Así mismo, los datos luego se ajustaron a un modelo estadístico
178 con el fin de identificar las condiciones donde se tiene un extracto que permite maximizar el
179 tiempo de inducción de los aceites enriquecidos. Todas las variables de respuestas estudiadas
180 fueron ajustadas a un primer modelo estadístico de segundo orden, a saber:

181
182 **Ecuación 1 Modelo estadístico general para las variables de respuesta estudiadas Presión (P),**
183 **Temperatura (T) y fracciones de Cosolvente EtOH (C).**

$$184 \quad \text{Variable respuesta} = aP + bT + cC + dP^2 + ePT + fPC + gTC + hC^2$$

185
186 Finalmente se realizaron pruebas de correlación entre el CTF, CTFI y la actividad antioxidante
187 mediante pruebas de correlación de Pearson

188 **2.3 Resultados y discusión**

189 **2.3.1 Rendimientos**

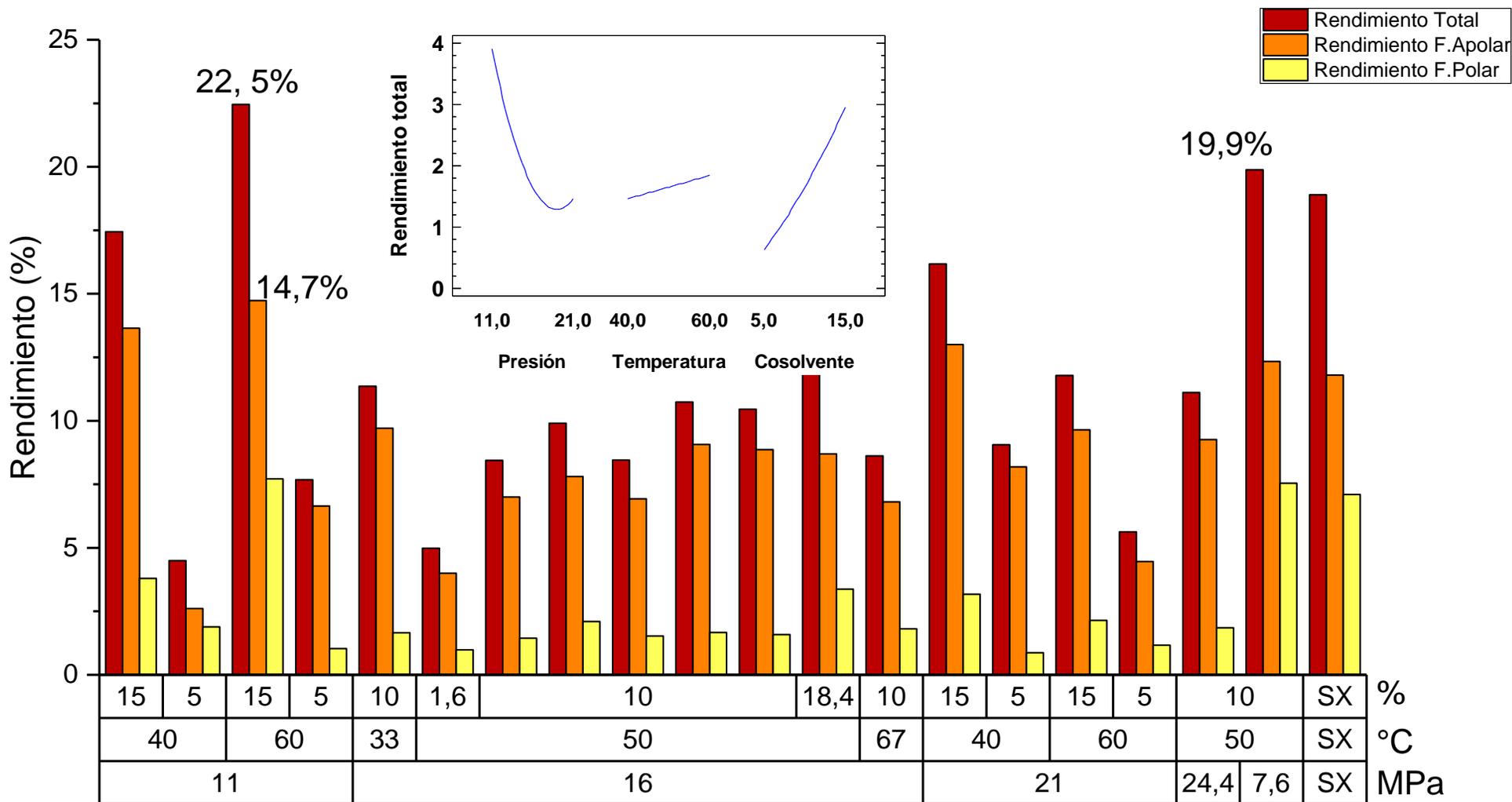
190 Los resultados obtenidos para rendimiento total, fracción polar y apolar pueden observarse en
191 la . En todas las condiciones experimentales la fracción apolar superó la fracción polar. Los
192 mayores rendimientos en extracto total y en fracción polar mediante EFS fueron obtenidos a:

193 11 MPa-60°C-15% EtOH (22,5% de rendimiento total, 7,7% en fracción polar); por extracción
 194 Soxhlet se alcanzó un rendimiento en extracto de 18,9% y fracción polar de 7,1%.
 195 Los rendimientos F. apolar fueron similares a los obtenidos por Jahurul y cols (2014), el cual
 196 reportó valores de hasta 13,7% de grasa mediante CO₂ supercrítico para 6 variedades de mango
 197 provenientes de Malasia [67]; además, fueron superiores a los reportados por Nzikou y cols
 198 (2010), para la variedad Kibangou, con 13,3% (p/p), obtenida mediante extracción Soxhlet con
 199 éter de petróleo [68], para variedades comerciales como Kent se han obtenido rendimientos de
 200 12,3% con extracción soxhlet [69]. Finalmente, para un estudio con 20 variedades colombianas,
 201 el máximo rendimiento reportado mediante extracción Soxhlet con éter de petróleo fue de
 202 11,8% correspondiente a la variedad Rosa [70].
 203 El alto rendimiento total (22%) obtenido es superior a todos los reportes encontrados, y puede
 204 deberse a las propiedades que ofrece la técnica EFS; cambios en la presión y cosolvente
 205 generaron incremento en la densidad y la polaridad, lo que traduce en el aumento de la
 206 solubilidad de los compuestos, debido a la mayor interacción entre el agente extractante y la
 207 matriz [55], [72]. Del mismo modo, la temperatura disminuye la viscosidad y facilita la difusión
 208 de los compuestos, permitiendo un agotamiento rápido de la muestra. Finalmente, el uso de un
 209 modificador permite cambia la polaridad y diversifica los compuestos que se obtienen.
 210 La **Tabla 2-2** muestra el análisis de varianza, variables con p-valor menor a 0,05 indica que el
 211 cambio en las variables independientes generó cambios significativos en las variables de
 212 respuesta estudiadas. Todas las variables cumplieron este criterio a excepción del CTFI, lo cual
 213 puede deberse a la baja concentración de éstos, teniendo en cuenta el largo tiempo de extracción
 214 empleado (3 h), el CTFI pudo agotarse rápidamente. En el **anexo 1** se reporta la ecuación que
 215 ajusta los datos al modelo cuadrático, los coeficientes de regresión y significancia.
 216 **Tabla 2-2:** Análisis de varianza de las variables de respuesta estudiadas obtenido mediante
 217 Statgraphics®.

Modelo	g de extracto			Muestra			Rendimiento			Inhibición	Tiempo
	CTF	DPPH	CTFI	CTFI	CTF	DPPH	Total	Apolar	Polar	DPPH	Inducción
Modelo d.f.	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
P-valor	0,0087	0,0058	0,0839	0,0839	0,0049	0,0048	0,0007	0,0023	0,0017	0,0118	0,0054
Error d.f.	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Std. error	6,9898	0,36248	19,81	2,5676	65,853	3,4946	2,15	1,6313	0,97069	9,7517	0,40227
R-cuadrado	80,78	82,47	67,07	67,07	83,11	83,22	89,06	85,76	86,6	79,44	82,72
Adj. R-cuadrado	65,4	68,44	40,73	40,73	69,59	69,79	80,3	74,36	75,88	62,99	68,89

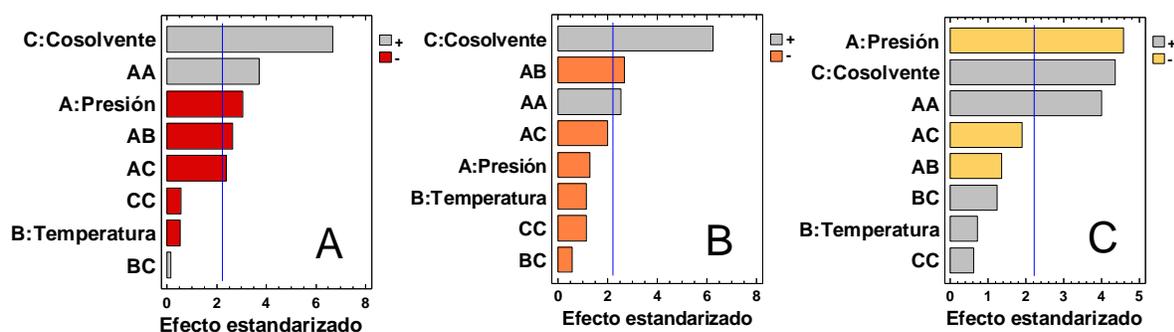
Figura 2-2 Rendimiento para el proceso por EFS y soxhlet (SX) y análisis de efectos principales.

219



220 El efecto de las variables estudiadas sobre los distintos rendimientos puede ser observado en el
 221 diagrama de Pareto de la Figura 2-3: Diagrama de Pareto estandarizado para: (A) Rendimiento
 222 Total, (B) Rendimiento F.APolar, (C) Rendimiento **Figura 2-3**, valores por encima de la línea
 223 azul representan p-valor menores a 0,05. Para el rendimiento total y la fracción apolar (**Figura**
 224 **2-3-A** y **Figura 2-3-B**), la variable más influyente correspondió a la fracción de cosolvente.
 225 Respecto al rendimiento F. Apolar, las variables más influyentes fueron la presión y la
 226 composición de la fase extractante. (**Figura 2-3-C**).
 227

Figura 2-3: Diagrama de Pareto estandarizado para: (A) Rendimiento Total, (B) Rendimiento F.APolar, (C) Rendimiento F.Polar.



228

229 2.3.2 Contenido total de Fenoles-CTF y Contenido total de Flavonoides- 230 CTFI

231 Los resultados del contenido total de fenoles-CTF y del contenido total de flavonoides-CTFI
 232 se expresó por gramo de extracto y por 100 gramos de material vegetal seco. En la **Figura 2-4**
 233 y **Figura 2-5** se muestra el CTF y CTFI, respectivamente. El mayor valor en CTF y CTFI se
 234 obtuvo por Soxhlet-SX (62,48 mg-eq AG/g de extracto); por EFS los mayores valores se
 235 presentaron a 11 MPa-60 °C-15% EtOH (13,63 mg-eq Querc/ g extracto).

236 Los resultados obtenidos fueron inferiores a los reportados por Khammuang y cols (2011),
 237 118,1 mg-eq AG y 110,11 mg-eq Querc por gramo de extracto para la variedad Thai [58], no
 238 obstante fueron mayores a los reportados por Ballesteros para un extracto metanólico de la
 239 almendra de mango de azúcar con 16,2 mg-eq AG y 2,030mg-eq Querc. por gramo de extracto
 240 [72].

241 El diagrama de Pareto, de la **Figura 2-6**, muestra el efecto de las variables de proceso estudiadas
242 sobre CTF y CTFl. Para ambas respuestas, la variable más influyente correspondió al efecto
243 cuadrático de la presión, mientras que la temperatura presentó un efecto positivo únicamente
244 para el CTF. Por el contrario, la presión y su interacción con la temperatura generó un efecto
245 negativo en la extracción de fenoles.

246 El hecho a que la extracción Soxhlet presente mayor CTF es debido a que es un metodo de
247 extracción poco selectivo, mientras que el la tecnica EFS de acuerdo a las condiciones de
248 presión, temperatura y cosolvente, agota la matriz en función de un conjunto de compuestos
249 especificos. Esto puede ser soportado al analizar desde un punto cualitativo los cromatogramas
250 obtenidos entre los diferentes metodos (Anexo 3), en donde se observa que el extracto 10 (21
251 MPa – 60 °C – 15% EtOH) diferenciado y relevante, respecto a los picos obtenidos en la
252 extracción soxhlet.

253 Por otra parte, la causa de que la presión tenga un efecto cuadrático significativo implica que a
254 presiones bajas o altas incrementa la extracción de fenoles, esto es verificable a: 7,6 MPa-60 °C-
255 15% y 11 MPa-60°C-15%; lo anterior se entiende debido a que a pequeños cambios de presión
256 se modifica la solubilidad del agente extractante, lo cual es más notorio a presiones cercanas a
257 las del punto crítico; es por esto que condiciones cercanas a la presión critica permitieron altos
258 CTF y CTFl. Este resultado es promisorio para un futuro posible escalamiento industrial, dado
259 que la extracción podría hacerse a condiciones menos exigentes en presión, lo cual implica un
260 menor costo energético en el sistema de bombas.

261 **Figura 2-4:** Contenido Total de Fenoles en los extractos y grafica de efectos principales

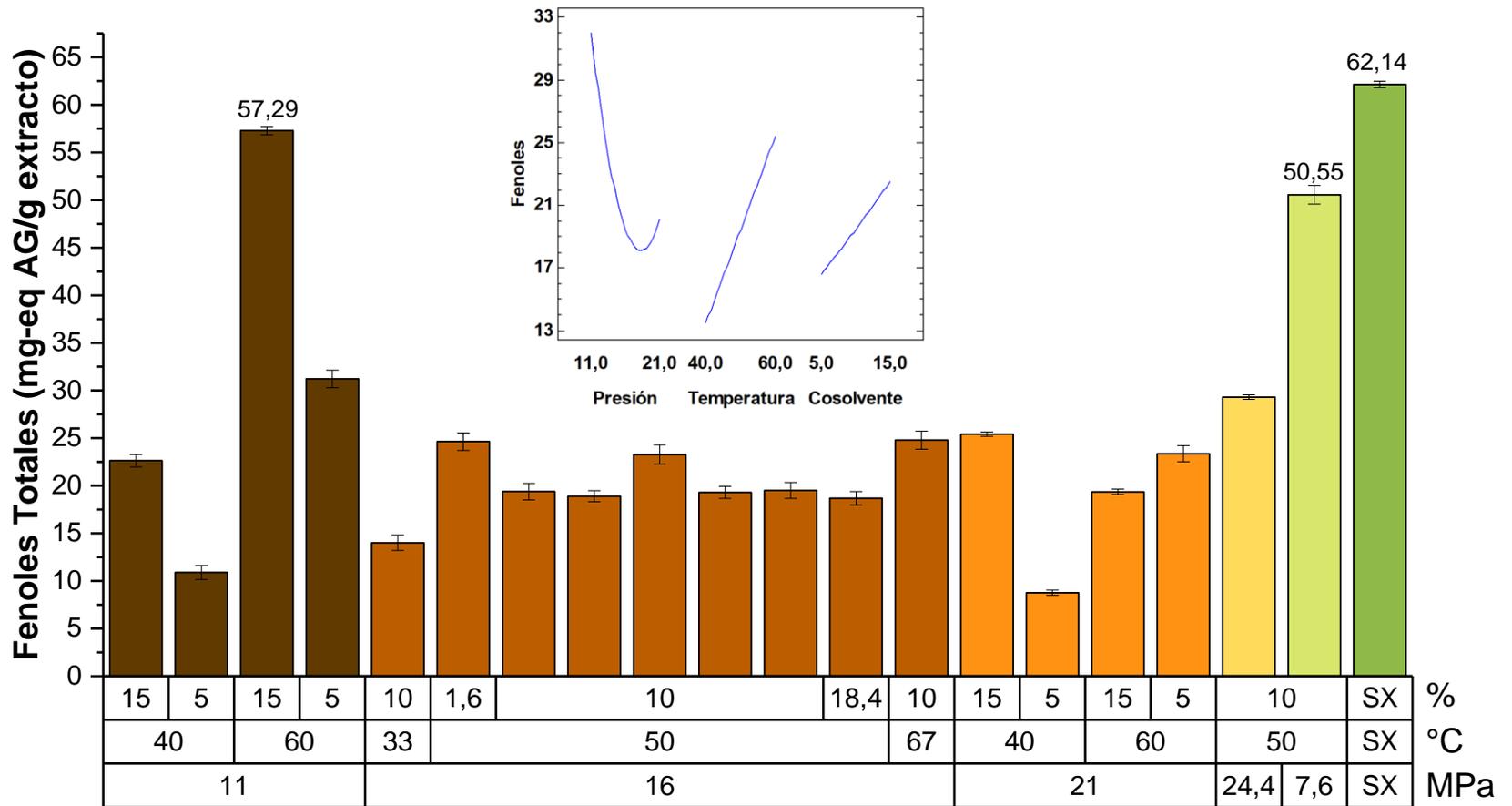
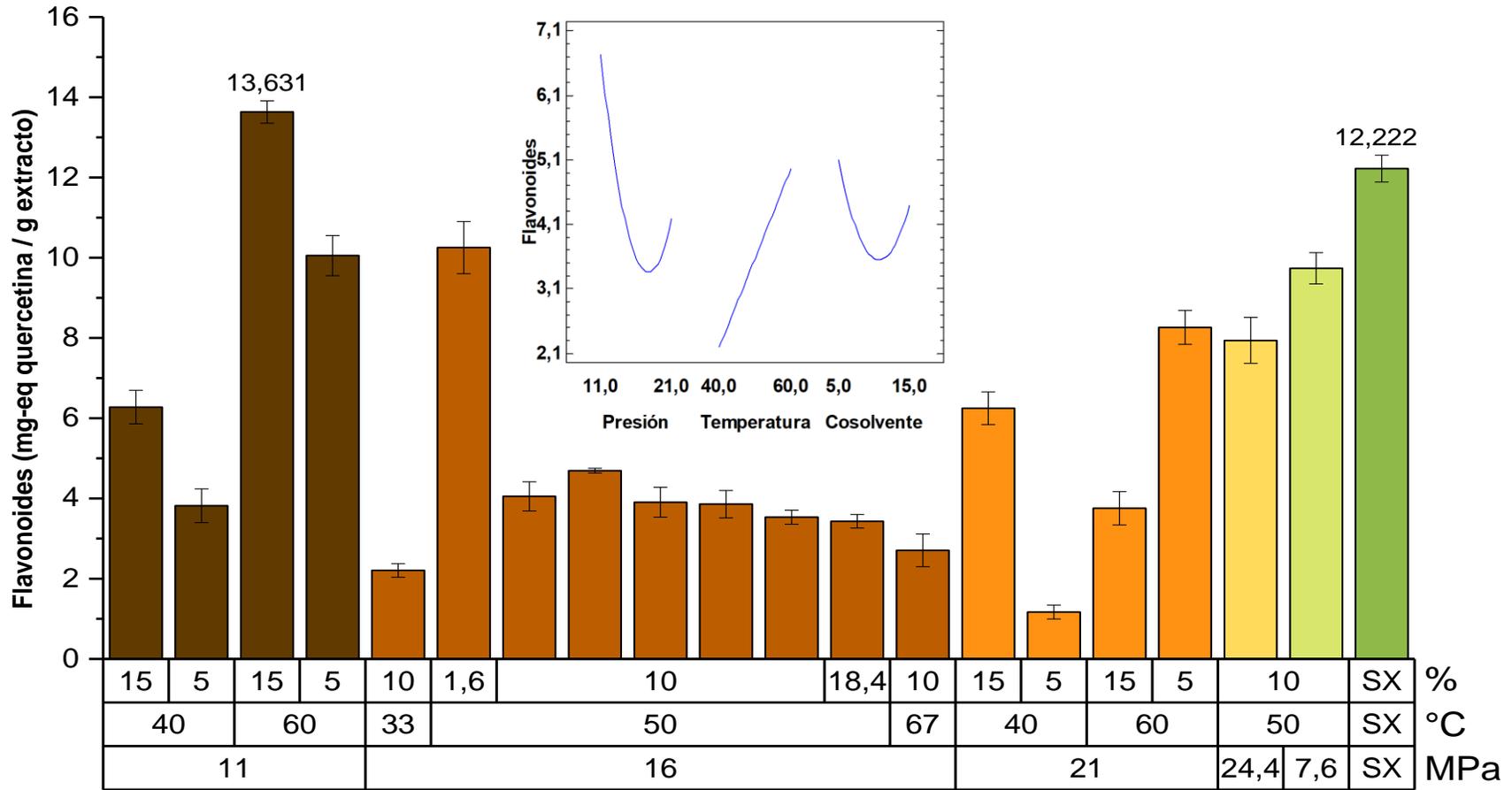


Figura 2-5: Contenido total de Flavonoides-CTFI en los extractos y análisis de efectos principales



265 Los resultados para el CTF y CTFI en la muestra seca se pueden observar en las ~~¡Error!~~ La
266 autoreferencia al marcador no es válida. y **Figura 2-8**, respectivamente. Para el CTF y CTFI,
267 la extracción con CO₂ + EtOH fue superior en comparación a la extracción Soxhlet, obteniendo
268 valores de hasta 442,00 mg-eq AG y 105,18 mg-eq Querc. por 100 g de muestra seca para CTF
269 y CTFI, respectivamente. Las mejores condiciones para la extracción supercrítica
270 correspondieron a 11 MPa- 60 °C-15% de EtOH; no obstante, una condición más moderada
271 extrajo una cantidad significativa de fenoles, correspondió a 7,6 MPa-50°C-10% de EtOH,
272 (381,38 mg-eq AG/100 g muestra seca) sin embargo, para CTFI esta particularidad se observó
273 para múltiples condiciones.

274

275 Mutua y cols., reportan contenidos mayores a los obtenidos en el presente trabajo para extractos
276 metanólicos con 6900 mg-eq AG/100 g muestra [11]. Por otro lado, Baroty y cols realizaron
277 un estudio en diferentes variedades obteniendo valores inferiores (hasta 92,12 mg-eq AG/100
278 g muestra seca) [20]. Así mismo, Ballesteros reportó un valor de 48,6 mg-eq AG/ 100 g muestra
279 en un extracto metanólico proveniente de la almendra de la semilla de mango de azúcar [72].
280 Las causas de estas diferencias respecto a la literatura pueden variar teniendo en cuenta la
281 ubicación geográfica de la muestra estudiada, la variedad, nutrientes de la tierra y otros factores.

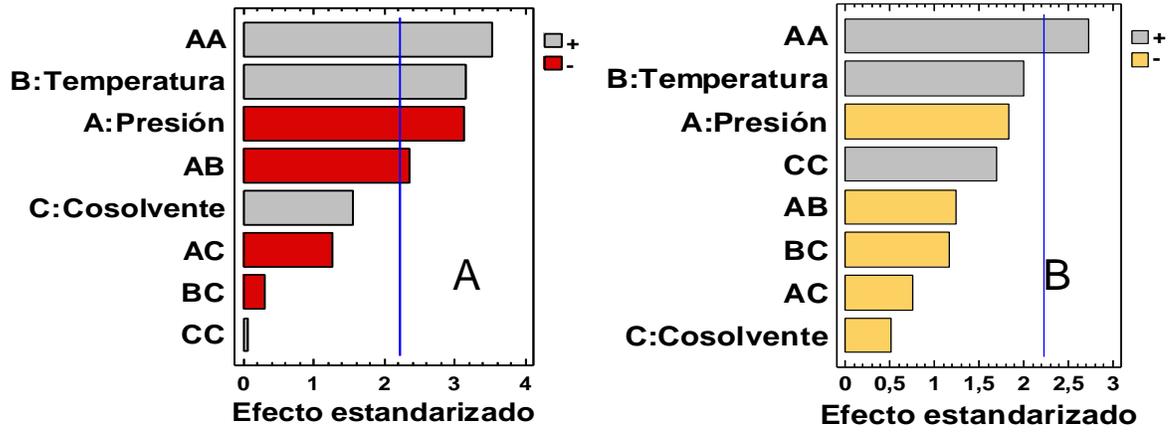
282

283 Para el CTFI, Dorta y cols reportaron contenidos mayores a los obtenidos en el presente
284 estudio, para variedades de Keitt, mediante extracción asistida con microondas, se obtuvieron
285 1300 mg-eq Querc./100 g muestra seca [22]; Ballesteros reportó un extracto metanólico de la
286 almendra de semilla de mango de azúcar de 6,09 mg-eq Querc/ 100 g muestra seca [72].

287

288

Figura 2-6: Diagrama de Pareto para CTF (A) y CTFI (B) en extractos



289 **Figura 2-7:** Resultados obtenidos para CTF en la muestra y análisis de efectos principales

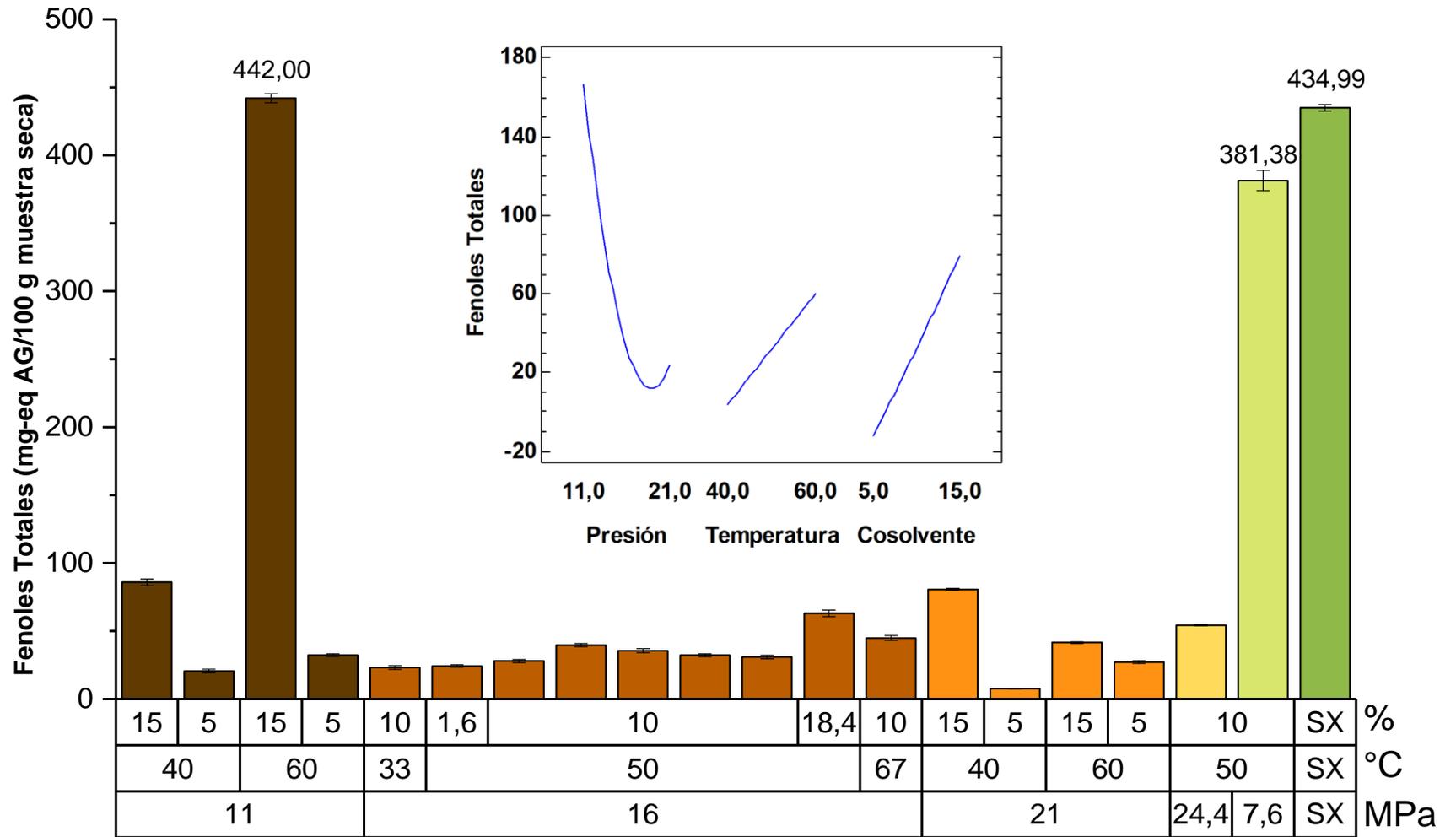
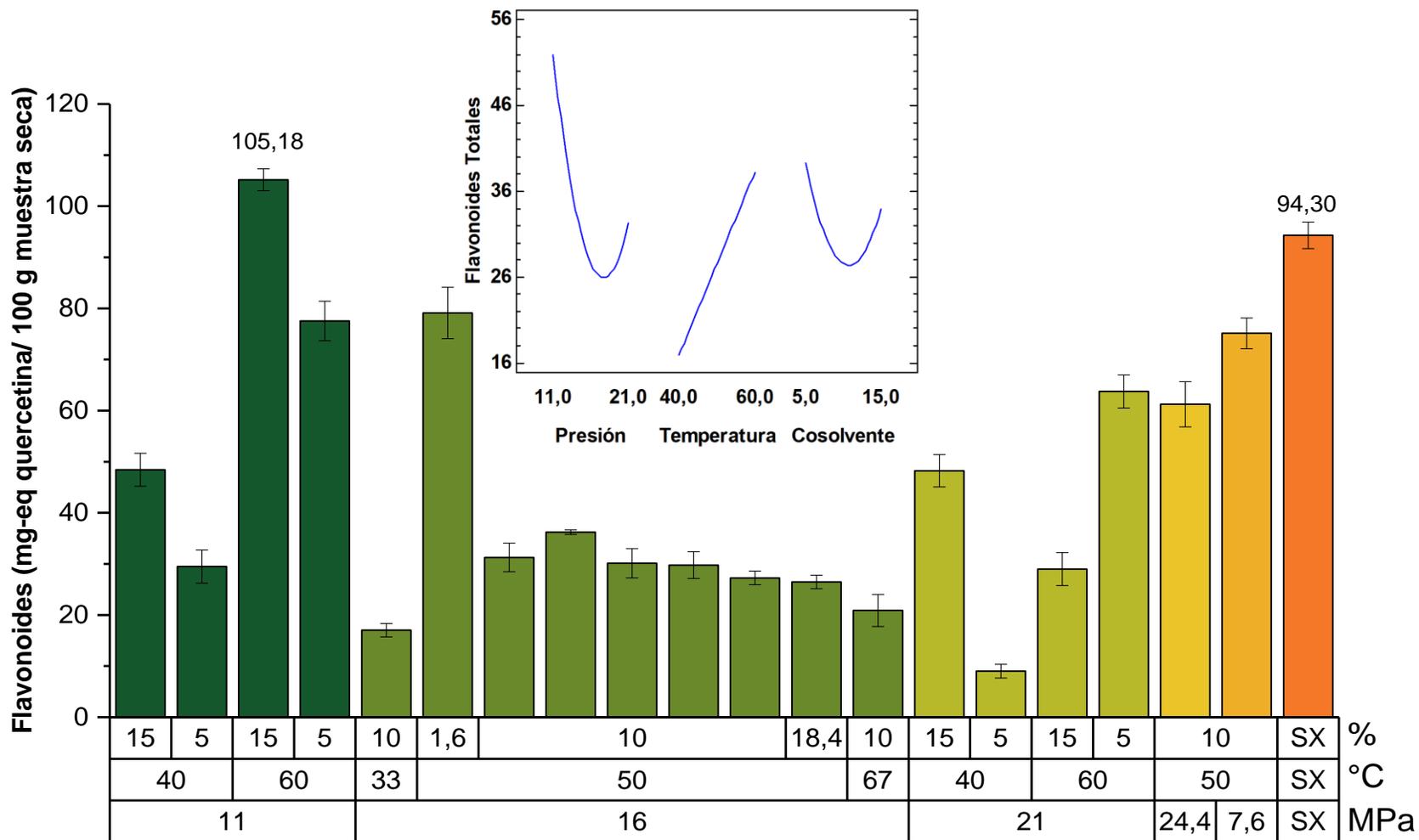


Figura 2-8: Resultados obtenidos para CTFI en la muestra y análisis de efectos principales



292 La **Figura 2-9** muestra el Diagrama de Pareto de CTF y CTFI en muestra para la extracción
 293 con CO₂ + EtOH. Para CTF la variable más influyente correspondió a la presión, la cual afectó
 294 de forma negativa la extracción, mientras que para CTFI el cuadrado de ésta fue la más
 295 influyente y favoreció la extracción. Este contraste que se presenta para la presión puede deberse
 296 a un aumento en la selectividad por lo flavonoides; como estos son menores en proporción a
 297 los fenoles totales que puede haber en la matriz, disminuyen el contenido total de fenoles
 298 extraídos. Así mismo, el hecho de que a bajas presiones se obtengan más fenoles que a altas
 299 presiones, puede deberse a los cambios en las propiedades fisicoquímicas que suceden a
 300 condiciones cercanas al punto crítico. Finalmente, el cambio en las condiciones de extracción
 301 también puede afectar el tipo de sustancias extraídas, lo cual puede afectar la actividad
 302 antioxidante de los extractos.

303 La **Figura 2-10** muestra los resultados de la actividad antioxidante de los extractos, expresada
 304 como % de inhibición del radical DPPH. El mejor valor fue obtenido mediante EFS a 11 MPa,
 305 60 °C, 15% de EtOH (22,38 μmol-eq trolox/100 g de muestra seca), correspondiendo al
 306 80,61% de inhibición, mientras que el extracto Soxhlet alcanzó el 55,49%. Estos resultados
 307 también se pueden expresar como mmol-eq trolox/100 g muestra, ver la **Figura 2-11**.

309 **Figura 2-9:** Diagrama de Pareto para CTF(A) y CTFI (B) para la extracción con CO₂ supercrítico + EtOH.

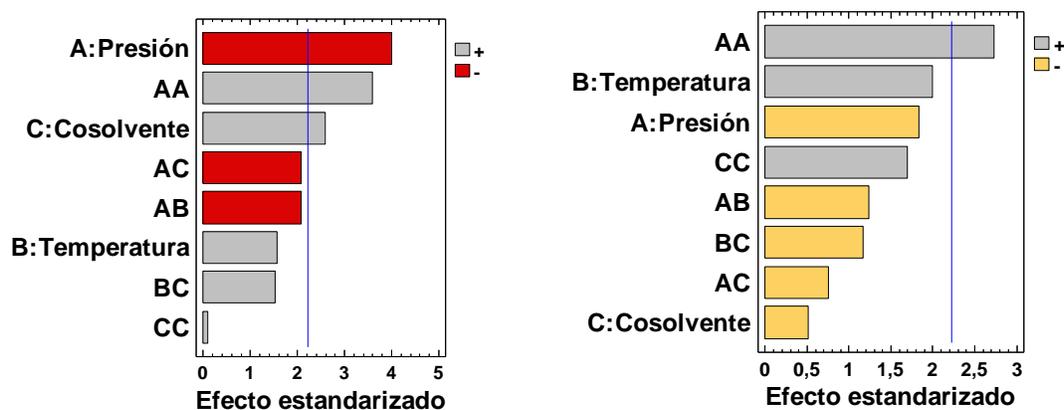


Figura 2-10: Resultados obtenidos para %Inhibición del radical DPPH mediante extracción CO₂ + EtOH y Soxhlet (SX) y análisis de efectos principales

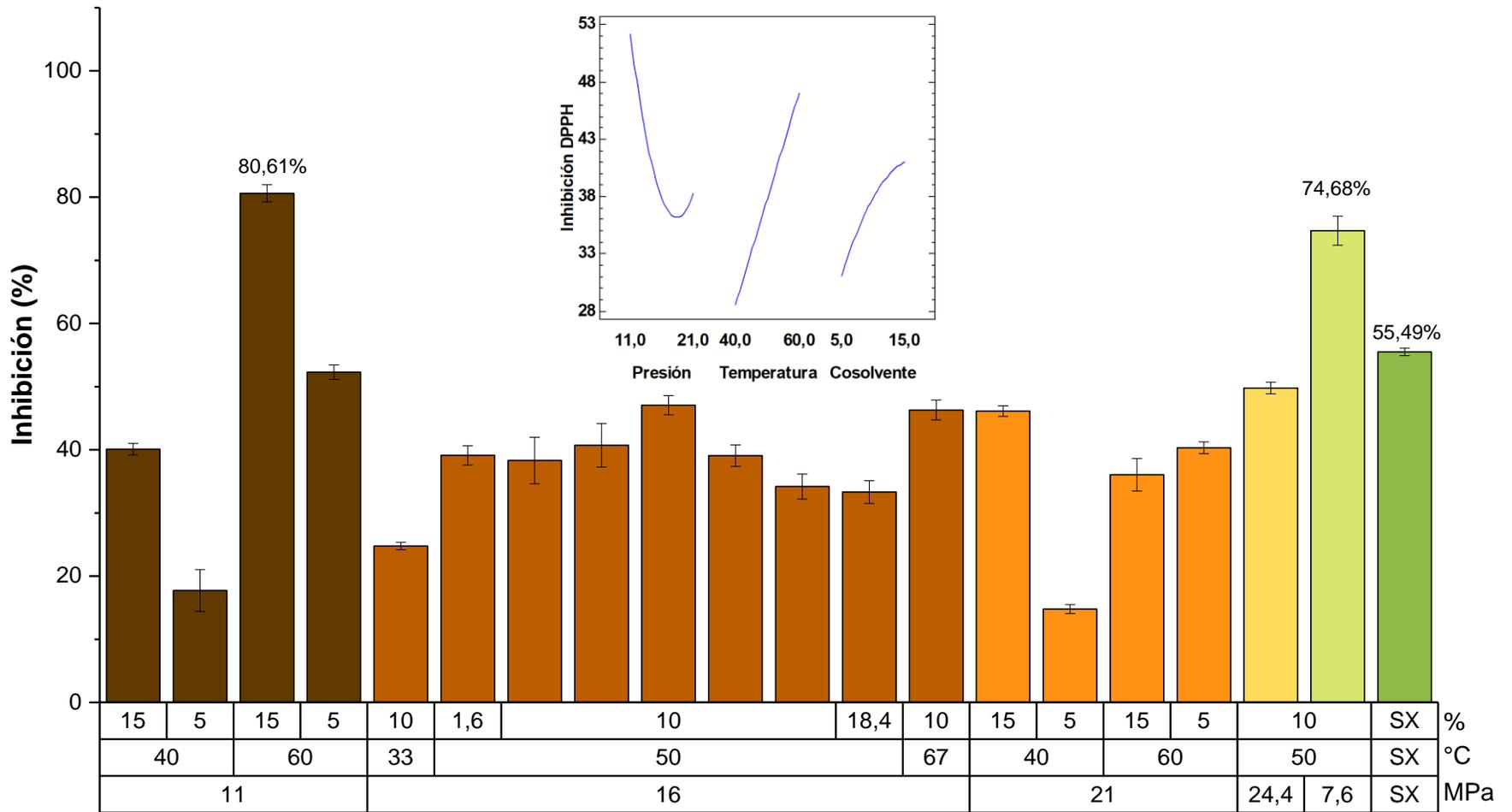
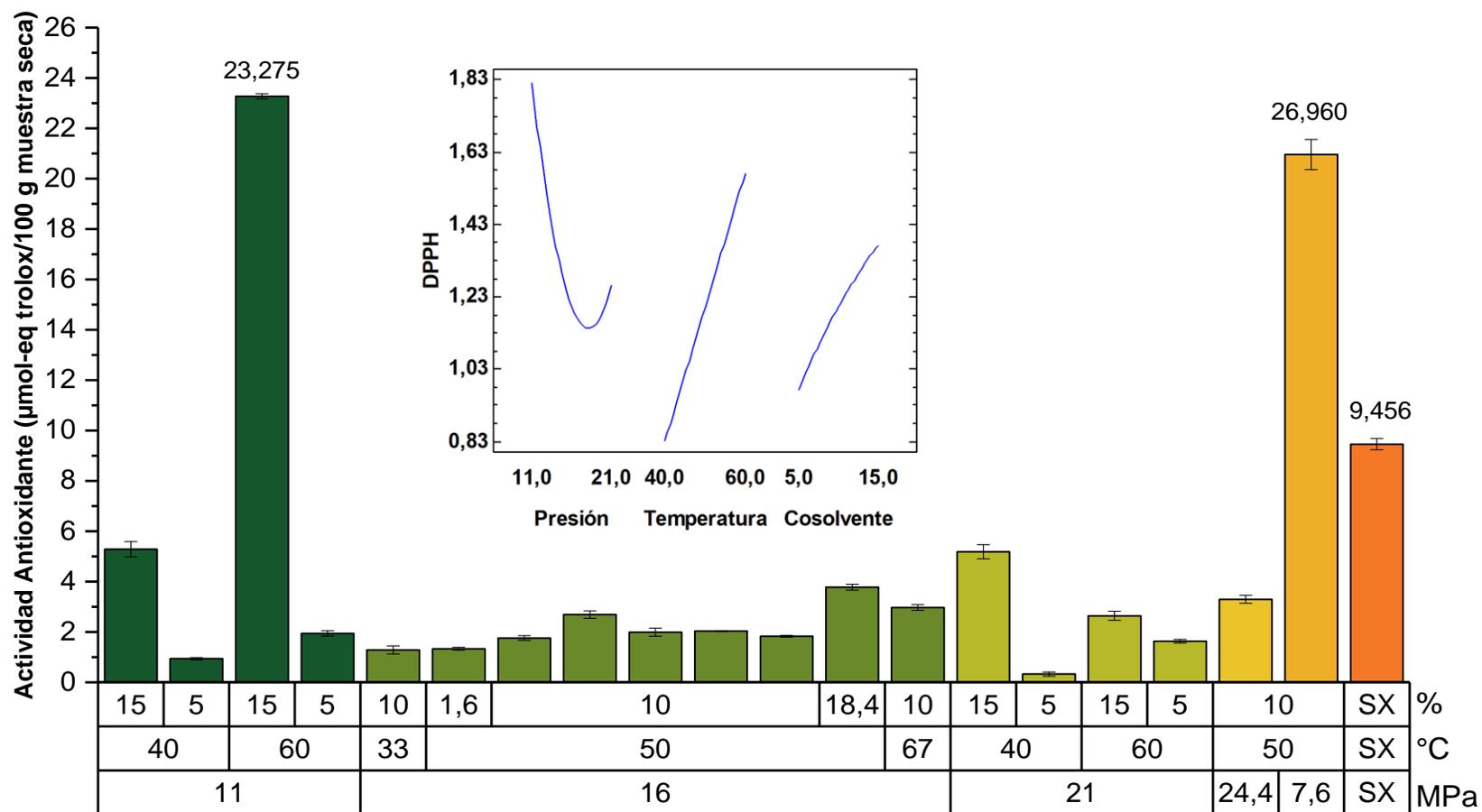


Figura 2-11: Actividad antioxidante de extractos mediante ensayo de DPPH y análisis de efectos principales



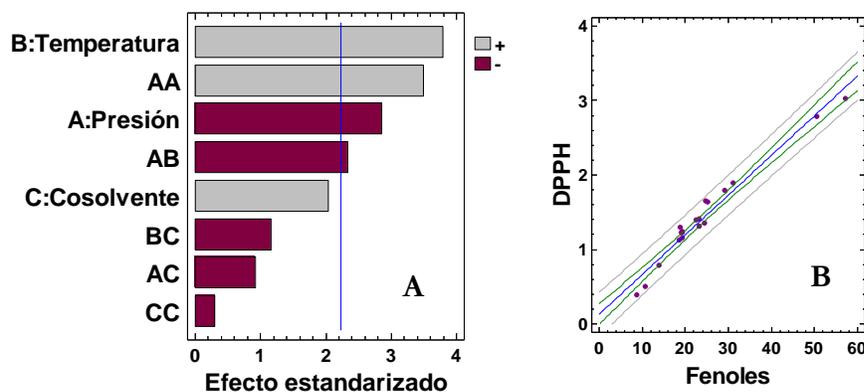
312 Los resultados obtenidos para el mejor extracto antioxidante son comparable a los obtenidos
313 por Baroty y cols, donde alcanzaron inhibiciones similares para extractos metanólicos y acuosos
314 (porcentajes de hasta 89%) para la variedad Zebdeia [20], [73]. Sin embargo son menores a los
315 reportados por Dorta y cols, quienes obtuvieron valores de 127,85 mmol-eq trolox/100 g
316 muestra para la variedad Keitt, para extractos obtenidos mediante extracción asistida con
317 microondas [22]; también son menores a los reportados por Sogi y cols para extractos de la
318 almendra de mango var. Tommy Atkins (180 mmol-eq trolox/100 g de muestra seca).

319

320 La **Figura 2-12-A** muestra el análisis estadístico correspondiente al efecto de las variables
321 analizadas sobre la actividad antioxidante por DPPH. Se puede observar que la variable que
322 más favoreció la obtención de extractos con mayor actividad antioxidante fue la temperatura,
323 seguido del efecto cuadrático de la presión. Es conocido que la temperatura es responsable de
324 aumentar la difusividad en el solvente de extracción, por lo que, para el tiempo de extracción
325 establecido, y por el efecto positivo del cuadrado de la presión (que aumenta la solubilidad), se
326 favoreció la extracción de fenoles en comparación con otros analitos presentes. Por otra parte,
327 al comparar los mejores resultados de CTF y DPPH, estos correspondieron a las mismas
328 condiciones de extracción, por lo que se realizó un análisis de correlación que se observa en la
329 **Figura 2-12-B**. El valor del coeficiente de correlación Pearson (0,98) implica que, a mayor
330 cantidad de fenoles en el extracto, mayor será la actividad antioxidante mediante DPPH que se
331 puede obtener.

332

333 **Figura 2-12:** Diagrama de Pareto (A) y correlación con CTF (B) para la actividad antioxidante DPPH.



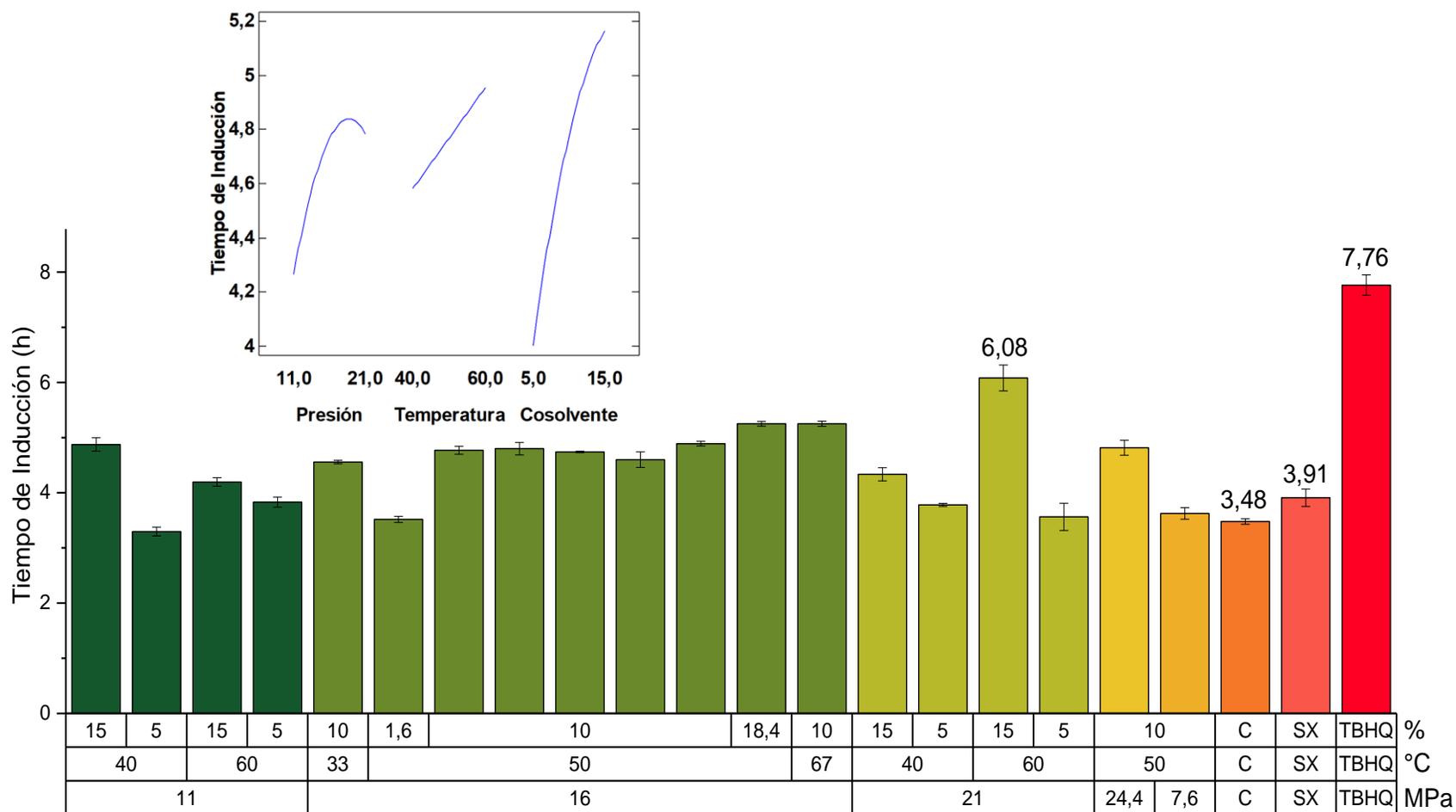
334 2.3.3 Estabilidad oxidativa de aceite - EOA mediante Rancimat

335 La **Figura 2-13** muestra los resultados obtenidos para la estabilidad oxidativa de aceite-EOA
336 de girasol enriquecido con los extractos obtenidos. La mayoría de los extractos generaron un
337 aumento en el tiempo de inducción (t_i) respecto al control (3,48 h). No obstante, el TBHQ
338 generó el mayor t_i . El extracto con mayor t_i correspondió al obtenido a 21 MPa-60 °C-15% de
339 EtOH (6,06 h), equivalente a un 60,7% del efecto generado por el TBHQ (7,76 h).

340
341 No han sido encontrado estudios de EOA enriquecidos con extractos obtenidos de la almendra
342 de la semilla de mango. Sin embargo, estos resultados pueden ser comparados con extractos de
343 otras biomásas: Asnaashari y cols (2015) evaluaron extractos obtenidos de *Rubus fruticosus*
344 mediante extracción convencional con metanol en aceite de girasol a 120 °C y 20 L/h [74],
345 determinando que a 1000 ppm los extractos podían alcanzar t_i de 10,85 h, valor superior al
346 emplear BHT a 200 ppm (9,76 h). Los resultados también pueden ser comparados
347 determinando el factor de protección (FP, t_i obtenido con el extracto respecto al t_i del control
348 (3,48 h)); para el aceite adicionado con el extracto de *R. fruticosus* el FP fue de 2,09, siendo mayor
349 al valor correspondiente del presente estudio (1,74). Otro estudio realizado por Upadhyay y
350 cols(2015) con extractos obtenidos de *Rosmarinus officinalis* y, ensayado a las mismas condiciones,
351 obtuvo un FP similar de 1,6 [75].

352
353 La **Figura 2-14-A** muestra el efecto de las variables estudiadas sobre la capacidad de aumentar
354 el t_i de los extractos obtenidos. Aunque la mayoría de las variables junto a sus interacciones
355 tuvieron un efecto estadísticamente significativo, se observa que la fracción de cosolvente fue
356 la variable que más influyó positivamente en la EOA, seguido de la presión. Considerando que
357 el EtOH es un disolvente polar, el aumento de la concentración de éste en la fase extractante
358 genera mayor polaridad en dicha fase, favoreciendo la extracción de analitos polares, lo cual
359 muestra el efecto modificador del cosolvente.

Figura 2-13: Tiempo de inducción(t_i) de aceite de girasol adicionado con extractos y grafica de efectos principales.



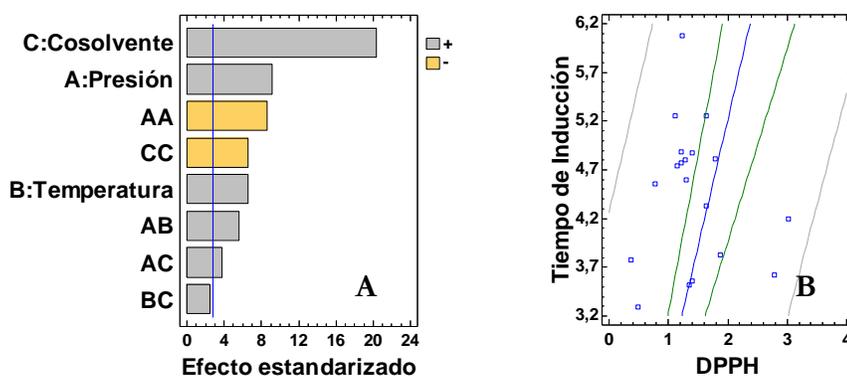
El control positivo es un aceite adicionado con TBHQ, el control negativo (C) es un aceite sin adición de extracto.

361 Por otra parte, se entiende que el t_i es otra forma de evaluar la oxidación, por lo que se esperaría
362 que exista una correlación entre DPPH y t_i . La **Figura 2-14-B** representa lo anterior, con una
363 correlación del 90% (R^2 de 80%), no obstante, al comparar las mejores condiciones de
364 extracción entre ambas variables de respuesta éstas no son equivalentes.

365
366 Para lo anterior, hay que entender que en un aceite comercial como el de girasol existen muchos
367 factores que afectan la estabilidad oxidativa de la matriz. Los mecanismos de oxidación son
368 diversos y aunque en la literatura se reporten distintos métodos no unificados para la evaluación
369 de la oxidación de aceites, solo pretenden estudiar alguna de las rutas y productos finales
370 formados durante las reacciones que se llevan a cabo.

371
372 Respecto al método Rancimat, el cual evalúa los productos secundarios de oxidación (ácido
373 fórmico y acético, los cuales son compuestos volátiles), éste no detecta algunos productos
374 primarios de oxidación (p.e. hidroperóxidos que no se volatilizan tan fácilmente). Por otra parte,
375 las altas temperaturas usadas no permiten predicciones confiables de la efectividad antioxidante
376 a temperaturas más bajas. Adicionalmente, los antioxidantes volátiles pueden ser eliminados del
377 aceite por el flujo de aire en las condiciones de prueba [76].

Figura 2-14: Diagrama de Pareto para el tiempo de inducción mediante el método Rancimat (A) y su correlación con el ensayo DPPH de los extractos obtenidos mediante CO_2 supercrítico y EtOH (B).



378 Entre los mecanismos de oxidación que se dan, se encuentran aquellos en los que intervienen
379 radicales libres. Para evaluar la capacidad de los extractos de atrapar estos radicales se realizan
380 los ensayos in vitro anteriormente utilizados. Los radicales sintéticos más comúnmente usados
381 son DPPH y radicales ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)). Sin
382 embargo, se ha sugerido que estos métodos artificiales sin sustrato no siempre imitan

383 adecuadamente los procesos en los sistemas alimentarios, sin llegar a predecir la efectividad del
384 antioxidante en los alimentos [77]. Es claro que para evaluar la capacidad de retardar la
385 oxidación de aceites de un extracto es necesario realizar múltiples pruebas que evalúen varios
386 mecanismos de oxidación.

387 Considerando todo lo anterior, con el objetivo de optimizar las variables de operación y
388 teniendo en cuenta que el método Rancimat permite evaluar los procesos de oxidación de una
389 matriz alimentaria, se escogió esta variable como la de principal interés para la selección de las
390 mejores condiciones. Es recomendable obtener un modelo estadístico que permita predecir a
391 qué condiciones de extracción se obtienen compuestos con mayor capacidad de aumento del
392 tiempo de inducción. Considerando las variables con un efecto significativo sobre las respuestas,
393 se obtiene la **Ecuación 2**, que representa el modelo estadístico del t_i , se evidenció que la
394 temperatura y la presión presentaron un efecto positivo a altos contenidos de EtOH en la fase
395 extractante, ver **Figura 2-15**.

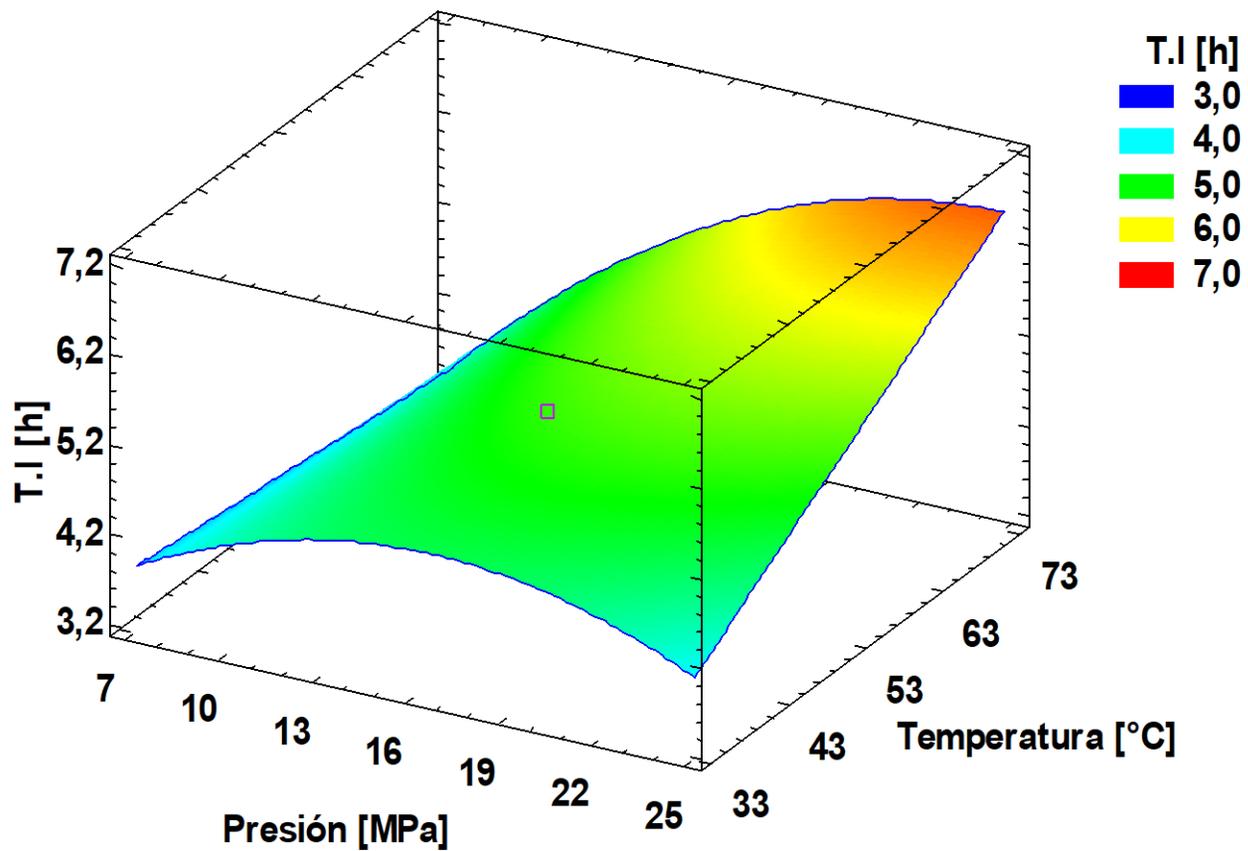
396 El modelo estadístico se ajusta en un 92% a los resultados obtenidos. De acuerdo con esta
397 ecuación el punto óptimo en la región explorada correspondería a 22 MPa-67 °C-16,4% de
398 EtOH, la cual es similar al tratamiento con condiciones de 21 MPa-60 °C-15% EtOH, bajo la
399 que se obtuvo el mejor t_i , por lo que éstas fueron seleccionadas como las mejores condiciones
400 para ser modeladas y evaluar una curva cinética que permita obtener parámetros para escalar un
401 proceso industrial.

402

403 **Ecuación 2 Modelo estadístico para predecir el tiempo de inducción a diferentes condiciones de Presión (P), Temperatura (T) y fracciones de Cosolvente EtOH (C) de extractos con CO₂ supercrítico + EtOH**

$$\text{Tiempo de Inducción} = -8,8966 + 0,89107P + 0,18687T + 1,3504C - 0,0097163P^2 - 0,011688PT - 0,073733PC - 0,0074014C^2 - 0,023529CT + 0,0015875PTC$$

404 **Figura 2-15:** Superficie de respuesta generada para la estabilidad oxidativa de extractos obtenidos mediante CO₂ + EtOH con un 15%



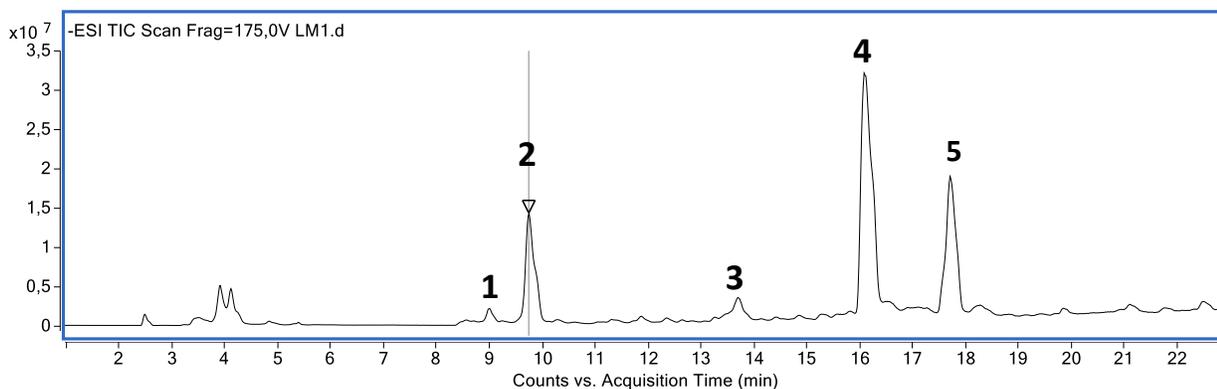
2.3.4 Análisis por Cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (CLAE-EM) del mejor extracto

El extracto crudo obtenido por EFS (21 MPa, 60°C-15% de EtOH) fue sometido a análisis por CLAE-Q/TOF. El cromatograma obtenido presentó señales en su mayoría resueltas y separadas algunas de las cuales pudieron ser identificadas de manera tentativa (**Figura 2-16**), de acuerdo con los espectros de masas, los valores de m/z y las fórmulas sugeridas por el análisis realizado con el software del equipo MassHunter y la revisión bibliográfica. En la **Tabla 2-3** se relacionan las señales cromatográficas y los respectivos tiempos de retención (t_R).

Tabla 2-3 Señales cromatográficas y tiempos de retención para el extracto de la almendra de la semilla de mango obtenido por EFS

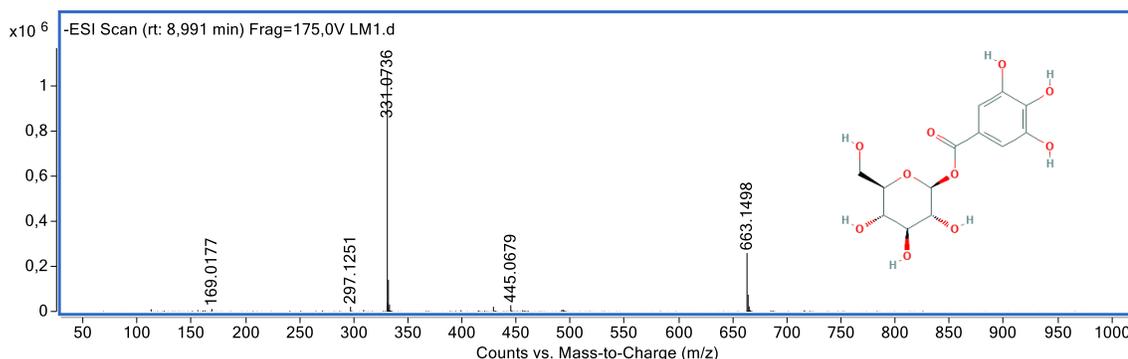
Señal cromatográfica	Tiempo de retención (t_R min)
1	9,007
2	9,762
3	13,696
4	16,082
5	17,706

Figura 2-16 Cromatograma del mejor extracto con tiempo de inducción obtenido por Fluidos supercríticos



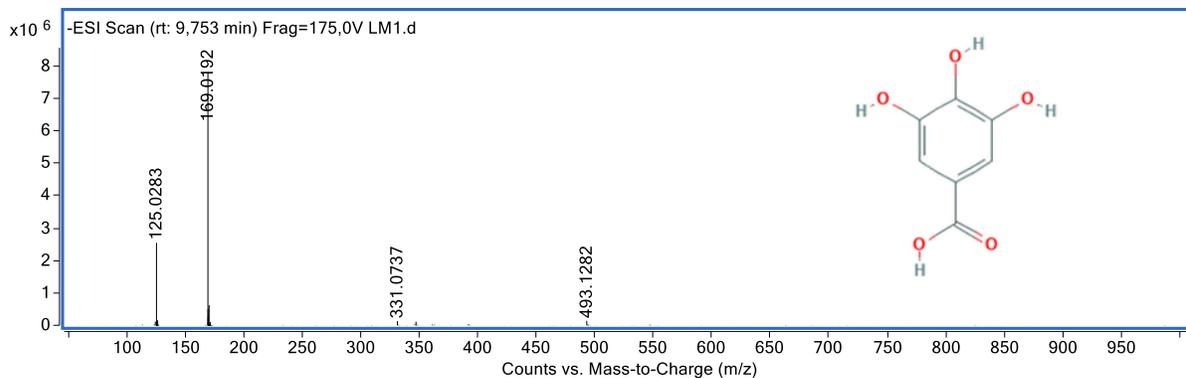
La señal 1 ($t_R = 9,007$ min) presentó el ion pseudo-molecular $[M-H]^-$ con m/z 331.0736, **Figura 2-17**, con una fórmula molecular sugerida $C_{13}H_{16}O_{10}$ (332.0743 Da) Esta señal puede ser tentativamente relacionada con el compuesto glucogalina, el cual se ha encontrado en el fruto de *M. indica* variedades Keitt, Osteen, Sensación y Gomera en dicho trabajo reportaron las señales $m/z = 331.0671$ y $t_R = 8,3$ min, asociadas a este compuesto [78].

Figura 2-17: Espectro de masas señal 1 ($t_R = 9,007$)



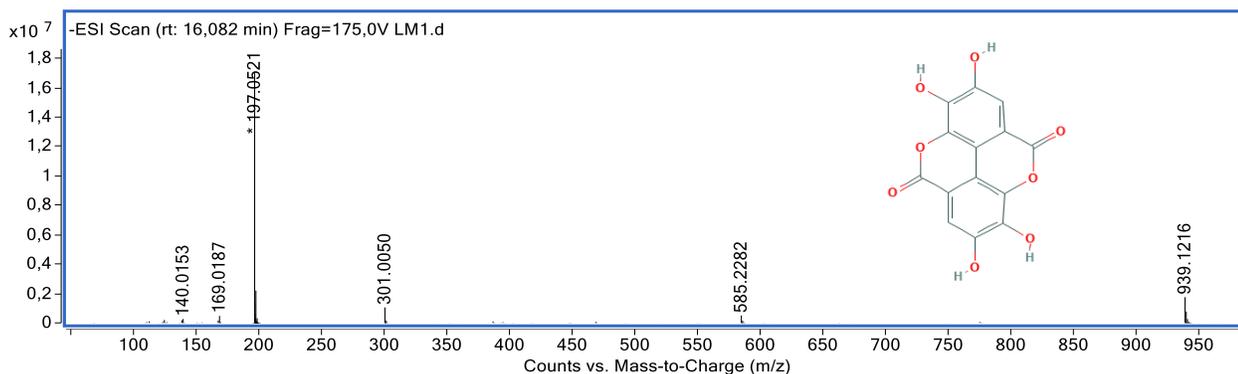
La señal 2 ($t_R = 9,762$ min) presentó el ion pseudo-molecular $[M-H]^-$ con m/z 169.0192, **Figura 2-18**, con una fórmula molecular sugerida $C_7H_6O_5$ (170.122Da). Esta señal puede ser tentativamente relacionada con el compuesto ácido gálico, el cual se ha encontrado en el fruto de *M. indica* Keitt, Osteen, Azúcar, Sensación y Gomera, en dicho trabajo las señales $m/z = 169.0142$ y $t_R = 9,2$ min, corresponden a dicho compuesto [78], [79]. Este compuesto fue verificado mediante un patrón de ácido gálico.

Figura 2-18: Espectro de masas señal 2 ($t_R = 9,762$)



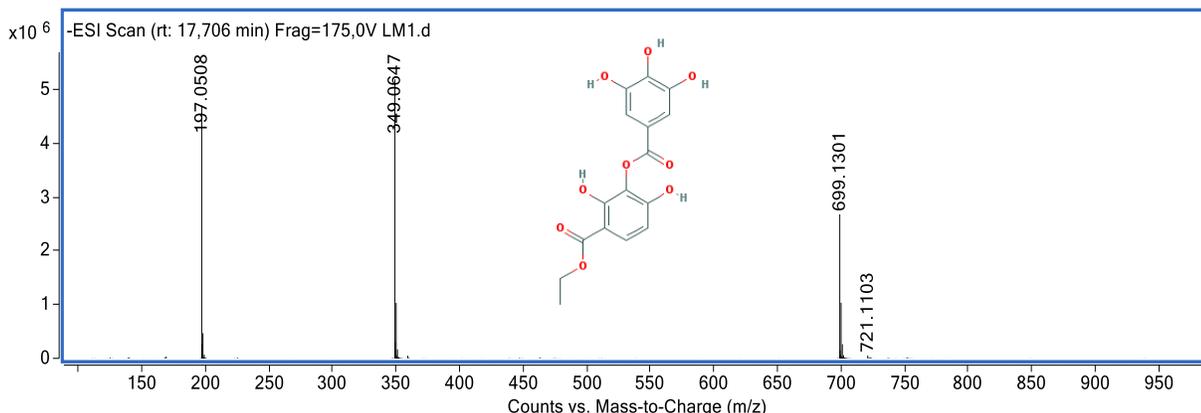
La señal 4 ($t_R = 16,082$ min) presentó el ion pseudo-molecular $[M-H]^-$ con m/z 301.0050, **Figura 2-19**, con una formula molecular sugerida $C_{14}H_6O_8$ (302.197 Da). Esta señal puede ser relacionada con el compuesto ácido elágico, el cual se ha encontrado en el fruto de *M. indica* variedades Keitt, Osteen, Sensación y Gomera, en dicho trabajo las señales $m/z = 300.9990$ y $t_R = 40$ min, asociadas a este compuesto [21], [78], [80], [81]. Este compuesto fue verificado empleando un patrón de ácido elágico.

Figura 2-19: Espectro de masas señal 4 ($t_R=16,082$)



La señal 5 ($t_R = 17,706$ min) presentó el ion pseudo-molecular $[M-H]^-$ con m/z 349.0647, **Figura 2-20**, con una formula molecular sugerida $C_{16}H_{14}O_9$ (350.279 Da). Esta señal puede ser tentativamente relacionada con el compuesto etil,2,4-dihidroxy-3-(3,4,5-trihydroxibenzoil) oxibenzoato, el cual se ha encontrado en el fruto de *M. indica* variedades Keitt, Osteen, Sensación y Gomera, en dicho trabajo las señales $m/z = 349.0576$ y $t_R = 45.8$ min, asociadas a este compuesto [21, 73, 75, 76].

Figura 2-20: Espectro de masas señal 5 ($t_R=17,706$)



Como se puede observar, varios de los compuestos corresponden a derivados del ácido gálico, los cuales se caracterizan por tener propiedades antioxidantes aprobadas para uso alimentario. A su vez éstos han reportado actividad sinérgica con varios antioxidantes secundarios. Se ha reportado que actúan adecuadamente con BHT y BHA[82].

2.4 Conclusiones

Fue posible obtener extractos empleando EFS que presentarán actividad antioxidante y modificarán la estabilidad oxidativa de aceites comerciales. La extracción con CO₂+EtOH permitió obtener rendimientos, CTF y CTFI iguales o mayores a los obtenidos por extracción soxhlet. Las mejores condiciones de extracción fueron 11 MPa-60 °C-15% de EtOH, bajo las cuales se logró obtener un rendimiento de 22,5%, CTF de 442,00 mg-eq AG y CTFI de 105,18 mg-eq Querc por 100 g de muestra seca.

El extracto supercrítico, el cual tenía el mayor CTF y CTFI, presentó una inhibición del DPPH mayor a la del extracto soxhlet (80,81 y 55,49%, respectivamente). Posiblemente los analitos obtenidos por EFS son más afines a mejorar el atrapamiento de radicales libres; de tal forma, la actividad antioxidante mediante DPPH está directamente relacionada con el CTF de los extractos. Lo anterior demuestra la selectividad de la EFS para obtener mayoritariamente compuestos fenólicos, comparativamente con la extracción soxhlet.

La adición de los extractos a aceites comerciales permitió aumentar el tiempo de inducción-t_i o la estabilidad oxidativa de los mismos. Así mismo, los extractos supercríticos presentaron en promedio mejores t_i que los obtenidos mediante extracción soxhlet. Las mejores condiciones de extracción fueron 21 MPa-60 °C-15% EtOH.

En el extracto con mejor t_i en aceites comerciales, mediante espectrometría de masas, fueron identificados tentativamente ácido gálico y algunos derivados de éste, corroborando la presencia de compuestos polifenólicos en los extractos obtenidos.

El análisis ANOVA de las variables estudiadas indica que la presión es una variable altamente influyente sobre las respuestas estudiadas, al igual que la fracción cosolvente. Lo anterior es debido a la capacidad que tienen los fluidos supercríticos de alterar su capacidad de solubilidad y selectividad mediante los cambios en estas variables.

Finalmente se puede definir y evaluar una estrategia de extracción en dos etapas. La primera puede ser una extracción que permita obtener la mayor cantidad de grasa de la matriz a

condiciones relativamente bajas (7,6 MPa-50 °C-10% EtOH), seguida de una segunda etapa en la que se obtenga un extracto más polar (21 MPa-60 °C-15% EtOH), éste último con la posibilidad de ser empleado para aumentar la estabilidad de aceites comerciales almacenados.

3 Modelamiento de la extracción con fluidos supercríticos para la obtención de bioactivos a partir de la almendra de mango

El presente capítulo presenta los resultados del estudio del modelamiento de la cinética de extracción para la obtención de antioxidantes de aceites comerciales, así como la evaluación económica del proceso de extracción con fluidos presurizados. Para esto, se realizó la curva cinética de extracción supercrítica para la almendra de la semilla de mango a las mejores condiciones obtenidas en el capítulo anterior, equivalentes a 15% EtOH, 21 MPa y 60 °C, recolectando fracciones de extracto a diferentes tiempos. Las curvas fueron ajustadas a modelos planteados en la literatura científica con el fin de describir las etapas de extracción y poder hacer el escalamiento y la evaluación económica del proceso empleando un software como MATLAB® y AspenTech®. Los modelos simplificados permitieron describir de forma adecuada el comportamiento de la cinética de extracción. Mediante el criterio de escalamiento seleccionado (Qd/M), se evaluó económicamente el costo de manufactura (COM) de un proceso de obtención de extractos a partir de la semilla de mango de azúcar a distintos tiempos de extracción. Para dos extractores en paralelo de 1m³ cargado con 550 Kg de biomasa cada uno, se logró un COM mínimo de 68 USD/kg en un tiempo de 60 minutos de extracción y un rendimiento de 4,7%. Este tiempo correspondió a la etapa de extracción donde los fenómenos de convección priman. Los principales costos que afectaron el COM correspondieron al costo de inversión inicial, asociados a los sistemas de presurización y extractores, y los costos de materia prima asociados al CO₂ y etanol.

3.1 Introducción

El modelamiento de la extracción con fluidos comprimidos implica el análisis de curvas de extracción, en donde los aspectos cinéticos y termodinámicos se relacionan cuantitativamente tanto con la optimización al proceso, así como con las evaluaciones económicas y escalamientos de procesos. Otro aspecto que toma el tema del modelamiento, concierne al uso de diseño de experimentos y metodología de superficies de respuesta como métodos estadísticos, que permiten identificar condiciones de operación que tengan un impacto positivo sobre los resultados que se esperan, y también permitan describir los resultados experimentales cuando los datos son escasos o inexistentes [38].

La tecnología de fluido presurizados actualmente ya no es una curiosidad de laboratorio, ya que se han puesto en marcha con éxito procesos de extracción de cafeína, té, especias, lúpulo y sabores en gran escala comercial en EE. UU. y Europa [83].

Para extractos a partir de la almendra de la semilla de mango se han identificado múltiples aplicaciones que son de interés tanto para la industria alimenticia como farmacéutica [16], [84]–[88]. Así mismo, se ha realizado la identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos presentes en dicha matriz y se han relacionado con sus posibles aplicaciones [89]–[92]. No obstante, solo han sido algunos estudios que han pretendido realizar un salto para estudiar la cinética de extracción con fluidos presurizados con el objetivo de obtener parámetros que aporten a la descripción del proceso para ser escalado industrialmente [56], [93].

La tecnología EFS está asociada a un alto costo fijo de inversión [94], sin embargo, el análisis del costo de manufactura (COM) de diversos extractos han demostrado que EFS es de hecho una alternativa competitiva a la producción de extractos bioactivos, demostrando ser una técnica y económicamente factible y que muestra varias ventajas en comparación con métodos de extracción tradicionales [95]–[98] [21-32].

En vista de los procesos y aplicaciones de ingeniería, hay dos factores principales que afectan el desarrollo de las tecnologías de extracción fluidos presurizados, y son la solubilidad del soluto extraído en el fluido supercrítico y la tasa de transferencia de masa de solutos de las matrices materiales. Por lo anterior, en el presente capítulo se emplean algunos de los modelos matemáticos para fluidos supercríticos que han sido empleado para modelar otras matrices con el objetivo de hacer una comprensión del proceso de extracción de interés, para investigar sistémicamente las influencias de diversos parámetros en el rendimiento de extracción, y por lo

tanto tener mejor control del proceso EFS con el fin de poder ser escalado y evaluado económicamente mediante determinación del COM a través de su evaluación en distintos tiempos de extracción para determinar el mínimo costo del extracto obtenido.

3.2 Materiales y método

3.2.1 Modelamiento matemático

3.2.1.1 Descripción de matemática de los modelos

La mayoría de los modelos matemáticos presentados en la literatura para describir las curvas cinéticas de EFS se basan en el balance de masa para el lecho de extracción y los fenómenos de transporte que ocurren dentro de él. El lecho de extracción se puede dividir en dos fases: 1) una fase sólida, compuesta de la materia prima de donde se obtiene el extracto y 2) una fase fluida, compuesta del solvente supercrítico con el extracto disuelto.

La EFS se trata como un lecho cilíndrico de partículas sólidas, y el solvente supercrítico fluye axialmente a través de él, eliminando los compuestos solubles de la fase sólida, como se muestra en la **Figura 3-1**. Se considera que ambas fases involucradas en el proceso ocupan todo el volumen del lecho de extracción. Con estas suposiciones, el balance de masa tanto en la fase fluida como en la sólida puede expresarse mediante la **Ecuación 3** **Ecuación 4**, respectivamente.

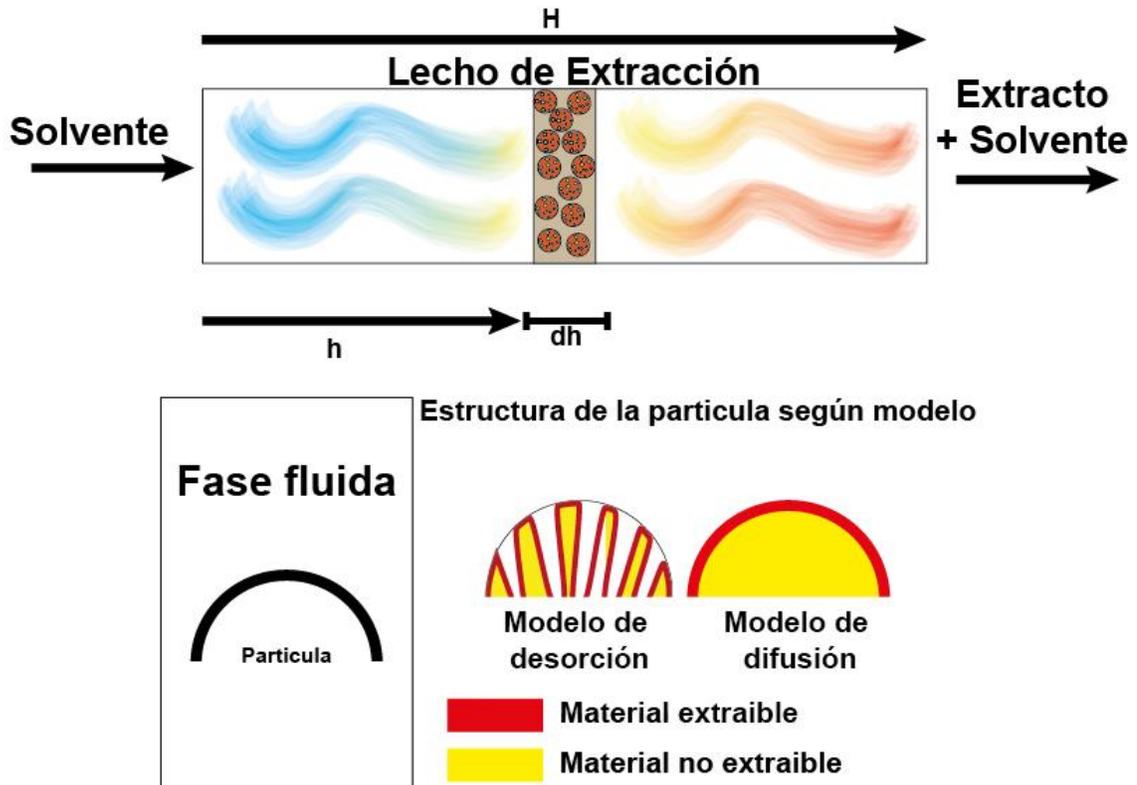
En las **Ecuación 3** **Ecuación 4**, X e Y son las proporciones de masa de soluto en las fases sólida y fluida, respectivamente; **u** es la velocidad intersticial del disolvente; **h** es la coordenada axial en el lecho de extracción; D_{ay} es el coeficiente de dispersión axial; D_{ax} es el coeficiente de difusión en el sólido; ρ es la densidad del disolvente; ρ_s es la densidad del sólido; ϵ es la porosidad del lecho; y $J(X, Y)$ es el flujo de la transferencia de masa interfacial.

$$\text{Ecuación 3} \quad \frac{\partial Y}{\partial t} + u \frac{\partial Y}{\partial h} = \frac{\partial \left(D_{ay} \frac{\partial Y}{\partial h} \right)}{\partial h} + \frac{J(X, Y)}{\epsilon}$$

$$\text{Ecuación 4} \quad \frac{\partial X}{\partial t} = \frac{\partial \left(D_{ax} \frac{\partial X}{\partial h} \right)}{\partial h} - \frac{J(X, Y) \rho}{1 - \epsilon \rho_s}$$

Como se puede observar, en las **Ecuación 3****Ecuación 4** se tienen en cuenta todos los fenómenos de transporte que pueden ocurrir durante el proceso SFE: acumulación en ambas fases, convección y dispersión en la fase fluida, difusión en la fase sólida y transferencia de masa interfacial. La diferencia entre los diversos modelos en la literatura radica en la interpretación dada para cada fenómeno y en la posibilidad de omitir algunos de ellos.

Figura 3-1 Modelo de un sistema EFS en continuo y Esquema de modelos para transferencia de masa interna: la línea gruesa representa la interfaz.



Modelo logístico

El modelo Logístico propuesto por Martínez y cols (2003) [99], es un modelo simplificado que omite la dispersión axial y la acumulación en el lecho, y sugiere que la transferencia de masa interfacial solo depende de la composición del extracto a lo largo del proceso y los efectos de la convección. Entonces, la ecuación del balance de masa para la fase fluida se puede simplificar de la siguiente forma:

Ecuación 5

$$u \frac{\partial Y}{\partial h} = \frac{J(X, Y)}{\epsilon}$$

Con condiciones de frontera:

$$Y(h = 0, t) = 0 \text{ y } m(h = H, t = 0) = 0$$

Donde \mathbf{m} es la masa extraída en el tiempo \mathbf{t} .

El término interfacial de transferencia de masa, representado como $J(X, Y)$, se puede interpretar de diferentes maneras. En este modelo se definió como una función \mathbf{S} que depende de la composición del extracto a lo largo del proceso. La ecuación logística, generalmente aplicada al crecimiento poblacional en otro tipo de situaciones, fue elegida para describir la variación de la composición del extracto, y una de sus soluciones se incorporó al término interfacial de transferencia de masa, representado en la Ecuación 5,

$$J(X, Y) = S = \sum_{i=1}^n S_i$$

Donde \mathbf{S}

$$S = \frac{A_i b_i \exp[b_i(t_{mi} - t)]}{\{1 - \exp[b_i(t_{mi} - t)]\}^2}$$

El modelo entonces se puede resolver integrando la ecuación 5 respecto a las condiciones de frontera definidas, lo que resulta en la curva cinética de extracción. Esta solución se puede observar en la **Ecuación 6**:

$$\text{Ecuación 6} \quad m_i(h = H, t) = \frac{m_{ti}}{\exp(b_i t_{mi})} \left\{ \frac{1 + \exp(b_i t_{mi})}{1 - \exp[b_i(t_{mi} - t)]} - 1 \right\}$$

Como se puede ver en la **Ecuación 6**, el parámetro A_i se eliminó, y la masa total extraíble, m_{ti} , apareció en la ecuación. La ventaja de esta reorganización es que el nuevo parámetro tiene un claro significado físico y se puede determinar experimentalmente si se conoce la masa total extraíble y la composición total del extracto. En este caso, el modelo se puede reducir a dos parámetros ajustables por grupo de compuestos: b_i y t_{mi} . De lo contrario, si estos datos no se determinan experimentalmente, el parámetro m_{ti} , también debe ajustarse para cada grupo de compuestos.

Modelo de desorción.

El modelo propuesto por Tan y Liou [37], [100], asume que no hay acumulación en el lecho y que la transferencia interfacial de masa de la extracción está bien descrita por una expresión cinética de primer orden que es la constante de desorción respecto al analito (k_d):

$$J(X, Y) = k_d S$$

Para

$$t = 0, S = 0$$

Ecuación 7
$$\text{Rendimiento} = \frac{A}{k_d} [1 - \exp(k_d B)] * [\exp(-k_d t) - 1]$$

Donde,

$$A = \frac{Q(1 - \epsilon)x_o\rho_s}{w_b\epsilon\rho} \text{ y } B = \frac{\epsilon La\rho}{Q_{CO_2}}$$

Donde, Q es el flujo másico de la mezcla solvente, L es la longitud del lecho, a es el área transversal del lecho, w_b es la masa en el lecho, x_o fracción másica del extracto en el lecho.

Alternativamente, algunos investigadores han intentado el denominado modelo de desorción de una sola unidad para evaluar cuantitativamente el comportamiento de disolución y desorción de los productos químicos en condiciones supercríticas. Si se puede asumir un equilibrio rápido entre el analito y las matrices durante el proceso de extracción, este modelo se puede dar a continuación para definir la curva de extracción:

Ecuación 8
$$\text{Rendimiento} = 1 - A_d \exp(-k_d t)$$

donde A_d es un coeficiente de modelo adimensional.

Sin embargo, para muchos otros sistemas, puede aplicarse un modelo de disolución/desorción no equilibrada. En este caso, el comportamiento de no equilibrio se puede representar utilizando un modelo de dos sitios en el que una fracción del soluto en las matrices es rápidamente liberado y otra fracción se libera lentamente [101]. En términos generales, la fracción del soluto total que se libera rápidamente (F_r) de las matrices se supone comúnmente que es representativa de las condiciones de liberación de equilibrio mientras que la fracción restante de la masa total se libera lentamente ($1 - F_r$) se considera que tiene una cinética de velocidad limitada. Con este modelo, se supone que la disolución/desorción se produce en dos sitios diferentes en las matrices originales. Estos son "sitios" conceptuales ya que se reconoce que la desorción del analito indudablemente ocurre desde muchas ubicaciones reales en las matrices.

El modelo de desorción cinética de dos sitios puede escribirse mediante dos expresiones de primer orden, como sigue:

Ecuación 9
$$\text{Rendimiento} = 1 - F_r \exp(-k_{d_1} t) - (1 - F_r) \exp(-k_{d_2} t)$$

donde F_r es la fracción del analito liberada rápidamente, $(1 - F_r)$ es la fracción del analito liberada lentamente; k_{d_1} es una constante de velocidad de primer orden que describe la fracción de liberación rápida (min^{-1}); y k_{d_2} es la constante de velocidad de primer orden que describe la fase lenta (min^{-1}).

3.2.1.2 Desarrollo de la cinética de extracción con fluidos supercrítico

A partir de los resultados obtenidos del Capítulo 2 del presente trabajo se obtuvo como mejores condiciones: 15% EtOH, 21 MPa y 60°C. Con estas condiciones de extracción se realizó la curva cinética (por duplicado), para lo cual se emplearon falcón de 30 mL para recoger el extracto resultante en fracciones de tiempo distinta; intervalos de 5, 10, 30 y 60 minutos para un total de 6 horas de extracción. Con el fin de mejorar los fenómenos de transferencia de masa, la muestra cargada en el lecho fue mezclada en una relación 2:1 almendra de mango y arena de mar, respectivamente, empleando un flujo de agente extractante de 15 g/min, en una celda de extracción de 5 mL. Los extractos obtenidos fueron secados mediante rotoevaporación y pesados con el fin de evaluar su extracción en peso y finalmente almacenados a -20°C hasta el momento de realizar otros ensayos.

Para el ajuste de los datos experimentales se empleó el software MATLAB® (2017) empleando el paquete incluido de ajuste de curvas, el cual se basa en la minimización de la función de mínimos cuadrados entre los datos experimentales y los datos teóricos. Los modelos descritos anteriormente (Logístico y desorción y desorción en dos sitios) fueron los seleccionados para estudiar el modelamiento. Los estadísticos seleccionados para evaluar la calidad del modelo correspondieron al (coeficiente de correlación, R^2) y el error cuadrático medio (RMSE). Los resultados obtenidos fueron utilizados para determinar el COM durante el proceso de evaluación económica.

3.2.2 Simulación del proceso y escalamiento.

El diseño conceptual del proceso de extracción para la simulación se basó en criterios de similitud respecto a la escala laboratorio. Las especificaciones de costos de los equipos se encuentran en la sección de Anexos 4 y los parámetros de costos fueron tomados del trabajo de distintas fuentes.

Con el fin de simular una planta piloto se escogió un volumen de 1 m³ para la vasija de extracción. Con base a esto, se escaló el proceso basado en criterios de similitud como lo reportan Fernández-Ponce [39] y se puede observar en la **Ecuación 10**, lo que permitió determinar el flujo CO₂ y de EtOH, así como la nueva capacidad de la vasija, necesarios para la escala trabajada y mantener los resultados generados a escala laboratorio.

Ecuación 10

$$E = Qd/M_{Biomasa}$$

Donde **Q**, es el flujo de solvente, **d** el diámetro y **M** masa en el extractor.

El software empleado para simular el proceso fue Aspen Hysys®. El modelo termodinámico seleccionado para la simulación del proceso fue Peng-Robinson (PR-Twu, con función Twu modificadora) el cual permitió modelar las condiciones críticas del dióxido de carbono, EtOH y agua [102]. Por otra parte, el *software* Aspen Hysys no tiene un módulo de lixiviación, por lo que fue necesario simular el proceso de separación del CO₂ del extracto a modo de un separador flash. El paquete termodinámico seleccionado permitió simular compuestos alta (agua), mediana (EtOH) y baja polaridad (Dióxido de carbono). La ecuación de estado PR-Twu puede usarse para hidrocarburos y gases livianos a presión atmosférica o superior.

La **Figura 3-2** muestra el diagrama de flujo del proceso planteado. Se realizó la simulación del proceso, requiriendo un sistema de bombas de diafragma para el CO₂ y el EtOH con el fin de alcanzar la presión de operación. Estas dos corrientes se unen en un punto de mezcla y seguido ésta se somete a un precalentamiento a través de un intercambiador para alcanzar la temperatura deseada. Posteriormente, la mezcla pasa al extractor con biomasa donde la transferencia de masa toma lugar y es posible realizar la extracción. Posteriormente, ocurren los procesos de despresurización en dos etapas, mediante dos separadores flash. Una primera llevada a cabo a 5 MPa y recalentamiento a 50 °C para evitar la caída abrupta de la temperatura, en la que la mayoría del CO₂ es separado del extracto obtenido y es reutilizado en el proceso mediante la condensación con ayuda de un compresor y un intercambiador de calor. Finalmente, una segunda etapa donde se llevaba el extracto a presión atmosférica y 50 °C y se recolectaba. Finalmente se consideró una pérdida de CO₂ del 12% y el EtOH no era recirculado.

3.2.3 Costo de manufactura (COM)

El costo de manufactura (COM) del extracto supercrítico fraccionado se estimó mediante la metodología propuesta por Meireles [103]. Para lo cual se tomaron los resultados obtenidos de la simulación y el paquete de Aspen Procces Economic Analyzer ®, el cual permite estimar los costos de equipos y procesos.

El COM está influenciado por los costos directos, que son directamente dependientes de la tasa de producción: involucra materia prima, pérdida de solvente durante el proceso, demandas de vapor y sistemas de enfriamiento para el evaporador y el condensador, electricidad y trabajo operativo; costos fijos, que involucran gastos con equipo, instalación, depreciación, impuestos y seguro, etc .; y gastos generales, que consiste del costo administrativo, gastos de ventas, investigación y desarrollo, entre otros [104].

El COM proporciona un conjunto de datos que pueden ser comparados con los costos de otros procesos de extracción. Luego para la estimación de este indicador económico se utilizó la expresión de la siguiente ecuación [105]:

$$COM_{me} = 0.304FCI + 2.73C_{OL} + 1.23(C_{UT} + C_{RM} + C_{WT})$$

El cual representaría el costo de producción del extracto de almendra de mango. **FCI** son los costos fijos de inversión o costo de capital, C_{OL} es el costo de mano de obra durante el proceso de producción, C_{UT} es el costo de servicios o utilidades, C_{RM} es el costo de materia prima, C_{WT} es el costo de tratamiento de residuos.

El COM proporciona el análisis de datos que se pueden comparar con los costos de otros procesos de extracción, creando nuevas atracciones para el desarrollo de las industrias de mango.

3.3 Resultados y discusión

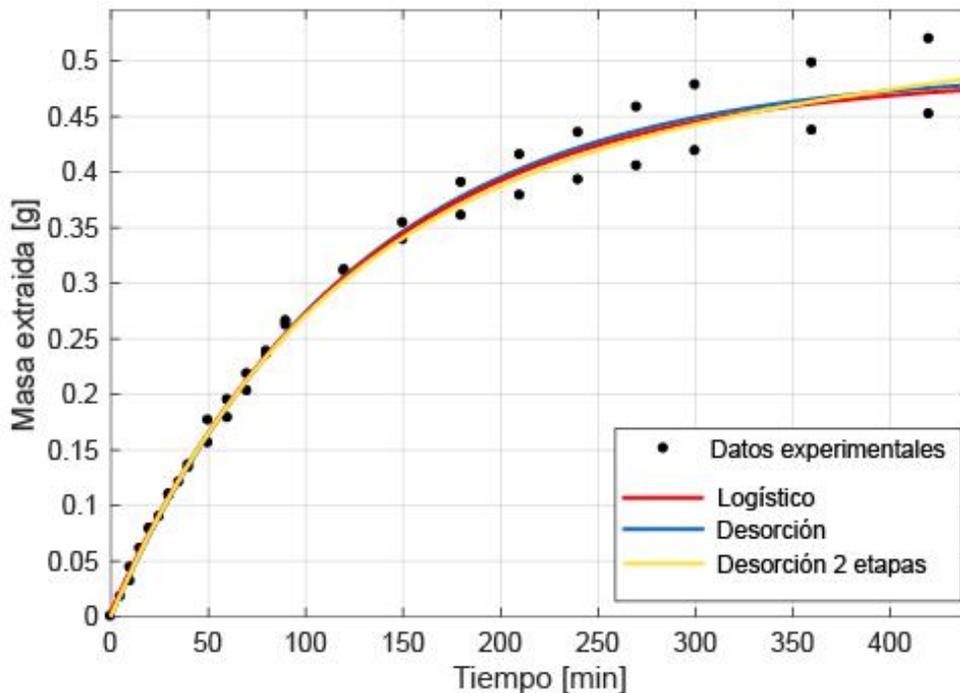
3.3.1 Ajuste de modelos matemáticos de la cinética de extracción

Las curvas cinéticas de extracción experimentales para la almendra de semilla de mango se ajustaron satisfactoriamente a los modelos propuestos (**Figura 3-3**). Teniendo en cuenta la masa empleada para el sistema de extracción (**3.98 g**) se alcanzó un rendimiento de hasta **14%** en extracto a las condiciones de 21MPa-60°C-15% EtOH.

Los parámetros ajustados de cada modelo junto con el grado de ajuste de los modelos son mostrados en el análisis estadístico de la **Tabla 3-1**. Todos presentaron un R^2 mayor al 0,98, lo que indica un buen ajuste de los datos. Por otra parte, se puede observar un aumento en la dispersión de los datos en la fase final del proceso de extracción. Estas diferencias pueden ser causadas por múltiples factores, por ejemplo, la falta de un sistema de control automatizado del flujo másico, junto con el uso de una muestra pequeña, pudo generar variaciones en las factores de proceso fijados, lo que altera la cantidad de extracto que puede ser obtenido.

La concentración de extracto obtenido disminuyó significativamente con el tiempo, lo que sugiere que en un proceso viable se podría emplear un menor tiempo de extracción dependiendo de los compuestos de interés a obtener. No obstante, los modelos proporcionaron curvas de extracción que describen bien el período inicial del proceso EFS. En este período, para la mayoría de las curvas experimentales se presentó un comportamiento casi lineal. Este período puede ser bien descrito por modelos como el de Sovová [106], en donde se plantea que esta etapa de extracción corresponde a un proceso regido por los fenómenos de convección y es debido a que se extraen los analitos de fácil acceso, los cuales se encuentran libres en la matriz debido al rompimiento de las células vegetales durante el pretratamiento.

Figura 3-3 Curva cinética de extracción datos experimentales vs modelos



El significado físico de los parámetros ajustados en cada modelo es importante para la comprensión y discusión de la aplicabilidad en otras condiciones operacionales. Esto es importante para el próximo paso en el estudio es verificar su capacidad de predecir curvas de extracción en escalas más altas, para calcular la viabilidad económica de una unidad industrial EFS. Para que este análisis sea posible, es necesario encontrar la forma en que los parámetros ajustados varían con algunas condiciones operativas, como el flujo del solvente, diámetro de la partícula, tamaño y geometría del lecho de extracción. El modelo de disolución/desorción mediante el análisis de sus K_2 que el proceso fue regido principalmente por los fenómenos donde el analito se encontraba libre.

Tabla 3-1 Análisis estadístico de ajuste de modelos

Modelo	Parámetro	Valor	R ²	R ² ajd	RMSE
Modelo logístico	B [min ⁻¹]	0.008126	0.98886	0.9883	0.01663
	T_m [min]	-1162			
Modelo desorción	E_o	0.9379	0.9886	0.9883	0.01663
	K_d [min ⁻¹]	0.008127			
Modelo disolución/desorción	Fr	0.8942	0.989	0.9884	0.01656
	K_{d1} [min ⁻¹]	4,77e-05			
	K_{d2} [min ⁻¹]	0.009406			

3.3.2 Costo de manufactura (COM)

El COM se estimó a las condiciones de 60°C-21 MPa-15% EtOH para diferentes tiempos de extracción (0 a 420 min) considerando que la planta piloto contenía dos extractores de 1 m³ con una densidad de lecho de 564,7 kg / m³. En estas condiciones de temperatura, presión y fracción cosolvente, se obtuvo el mejor extracto que permitía aumentar el tiempo de inducción de un aceite comercial y así prolongar su vida útil. Para permitir una mejor interpretación de la alternativa planteada, se determinó el COM por masa de extracto dividiéndola por la producción anual producto. No se consideró un costo de tratamiento porque se considera que la torta resultante de la extracción podrá emplearse en un proceso posterior si se considera que el proceso está asociado a un complejo industrial de biorefinería. La **Tabla 3-2** muestra la lista de suposiciones que respaldan los resultados económicos.

Tabla 3-2 Lista de parámetros económicos establecidos

Lista parámetros económicos establecidos

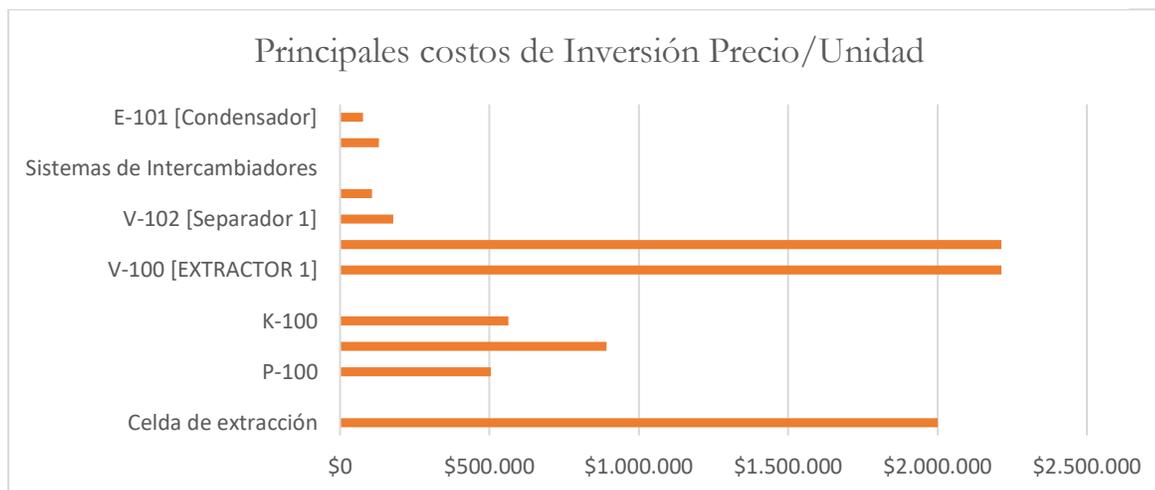
Información Económica	Valor	Unidad	Fuente
Días de trabajo	330	Días/año	
Horas productivas de extracción /año	3960	h/año	
Servicios			
Electricidad	0,19	USD\$/KWh	Codensa
Costo de enfriamiento	0,97	USD\$/h	Aspen®
Costo de aceite térmico	0,52	USD\$/h	Aspen®
Materia Prima			
CO ₂	1,61	USD\$/Kg	Linde
Etanol	0,71	USD\$/Kg	Fedebiocombustibles
Almendra de mango	0,00	USD\$/Kg	
Mano de Obra			
			#
Operario	3,57	USD\$/h	3 Salario de Colombia
Supervisor	5,36	USD\$/h	1 Salario de Colombia

Los resultados para el consumo de materia prima y los parámetros de productividad se presentan en la **Tabla 3-3**. Es posible observar que la cantidad de CO₂ influye fuertemente en el consumo de electricidad y en la demanda del sistema de enfriamiento del proceso de SFE, así como también en la presión de trabajo [97]. La **Figura 3-4** indica los costos de equipos que influyeron significativamente sobre los costos de inversión, estos se encuentran principalmente representados por los costos de los extractores los cuales fueron tomados del trabajo de Prado (2009) [107] y los costos de bomba y compresores que son determinados por el software.

Tabla 3-3 Productividad y Principales costos de producción

	Valor	Unidad
<i>Temperatura</i>	60	°C
<i>Presión</i>	21	Mpa
<i>Fracción EtOH</i>	15%	%
<i>Relación Qd/M</i>	3,90	
<i>Tiempo Optimo</i>	60	min
Consumo de Materias Primas		
<i>Almendra de Mango</i>	4356	t/año
<i>CO₂</i>	2362	t/año
<i>Etanol</i>	2913	t/año
<i>Electricidad</i>	118,7	KW
<i>Demanda de S. Frio</i>	22572	t/año
<i>Demanda de S. Calor</i>	516,4	GJ/año
Productividad		
<i>Rendimiento</i>	4,70%	
<i>EFS extracto</i>	204,732	t/año

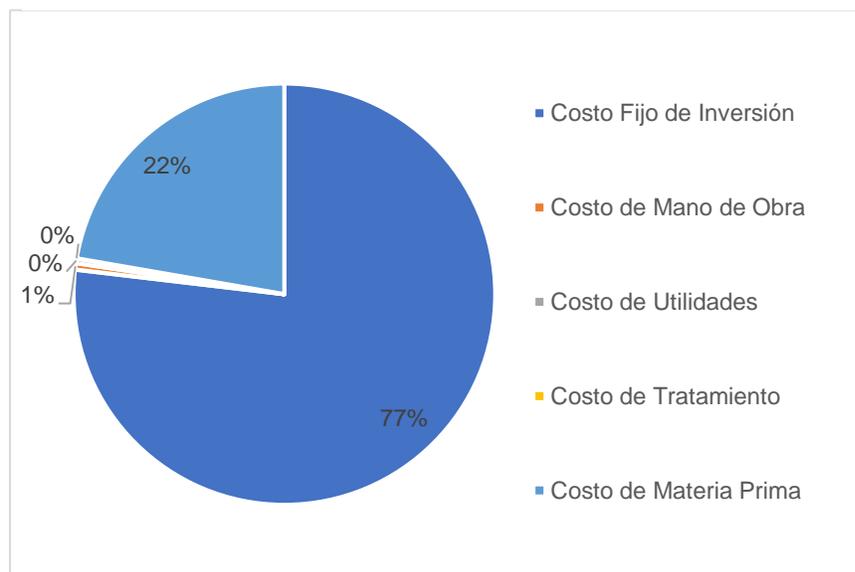
Figura 3-4 Costos de Equipos



La **Figura 3-5** muestra el conjunto de costos que se distribuyen en el COM para la alternativa evaluada. El costo de inversión total fue de alrededor de 20.1 Millones de USD y fue la mayor contribución (77% del COM). Así mismo, la materia prima (**CRM**) contribuyó con alrededor del 22% del costo variable para la producción de extracto de SFE. Dado que la almendra de mango es un subproducto industrial, su costo es cero, no obstante, se esperaría un precio base al momento de establecerse una industria de este tipo, debido a que se genera un precio de demanda. El CRM aumentó con el tiempo de extracción. Estos resultados son similares a

estudios previos [108], [109], en donde el COM se determinó para unidades con capacidades de 0.1 y 0.5 m³ y dieron valores de 124.58 y 109.27 USD/kg de extracto. El COM estimado para el extracto está dentro el rango esperado para los extractos de SFE, que van desde 25-7000 USD/kg dependiendo del costo de la materia prima [109]. Por otra parte, como es sabido, aumentar el tamaño el volumen del extractor, aumenta el costo de inversión, pero disminuye el costo de producción por masa de extracto producido [110].

Figura 3-5 Estructura de costos del COM



El mínimo COM que se obtuvo en términos de producción fue de 68 USD/kg de extracto en un tiempo de 60 min (**Figura 3-6**). Al establecer el valor de venta del extracto obtenido, se podría colocar como una fracción de uno de los componentes principales identificados, el cual podría corresponder el precio del ácido elálgico. Solamente considerando un 0.001% de su precio actual (74 800 USD/ Kg (Sigma®)) el precio correspondería a 74.8 USD/Kg y continuaría siendo un precio de venta viable para el COM calculado.

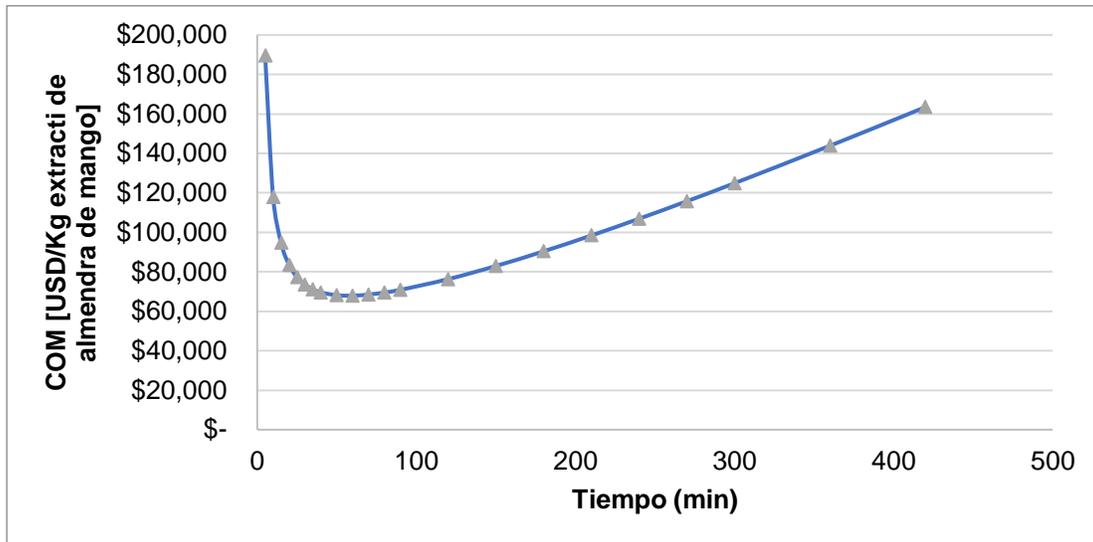
Otro estudio a comparar fue el la obtención de extractos a partir del achiote, realizado por Albuquerque y Meireles (2012) [103]. El proceso fue simulado a 60 °C y 40 MPa con un tiempo de extracción 250 min. El rendimiento del extracto fue 1,89% para la relación solvente /biomasa de 40. El COM del extracto se simuló a escalas de laboratorio e industriales con capacidad (m³) de 0.005, 0.1 y 0.5 y un costo de extractor de USD 200,000; 750,000; y 2,000,000, respectivamente (precios de mercado estadounidenses). Las COM calculadas fueron 1781,62

USD / kg, 382.00 USD / kg y 258.54 USD / kg, respectivamente, lo que resultó en un proceso muchísimo más costoso que el presente trabajo. El estudio mostró que FCI (76%) y COL (20%) comprendieron la mayoría del COM a escala de laboratorio, mientras que el CRM era solo del 3%. Cuando se simuló el aumento de escala (de 0.1 a 0.5 m³), el CRM aumentó (de 14 a 22%), y el FCI disminuyó (de 70 a 62%) siendo igual de similares al presente estudio.

Una serie de estudios que involucran productos naturales han demostrado la viabilidad de EFS a través del análisis del costo de manufactura. En la mayoría de estos estudios, los costos de fabricación de los extractos producidos por EFS fueron menores en comparación con el precio de venta de los extractos [111]. Este es un resultado muy interesante, ya que el uso industrial de la estrategia sería beneficioso para todo el proceso de validación del extracto de mango de azúcar, ya que aumenta el atractivo económico del fruto y permite producir una mayor cantidad de productos con la actual producción de mango.

El producto obtenido del proceso EFS aunque es rico en los compuestos deseados, requiere un proceso de purificación, al igual que la materia prima requerirá de un pretratamiento, lo que podría generar un incremento los costos de producción. No obstante, respecto a la purificación, se puede plantear un fraccionamiento que se puede realizar mediante SFE y extracción con solvente a presión (PLE), aplicando el proceso antisolvente supercrítico (SAS) para recuperar el solvente y purificar el extracto [26], [112]. Finalmente podemos observar que las condiciones óptimas de proceso seleccionados no corresponden a las condiciones con mayores rendimientos de extracción. Esto se justifica teniendo en cuenta que a esas condiciones el agente extractante no es selectivo hacia las sustancias que actúan de forma adecuada en la matriz de aceite que se deseará utilizar. Por otra parte, este proceso permite obtener dos fases que requerirán ser separadas. Se espera que la fase apolar sea rica en ácidos grasos reportados en el mango [113], mientras que la fase polar sea rica en ácido elágico como se determinó en el presente estudio. Lo que representa dos vías en cuanto a los productos que pueden ser aplicados en la industria cosmética y alimenticia.

Figura 3-6 COM específico por tiempo de proceso a 60 °C / 21 MPa, 1 m³



3.4 Conclusiones

Fue posible ajustar modelos matemáticos que permitieran describir la cinética de extracción de un proceso que emplea fluidos presurizados. El estudio cinético de la EFS a partir de la almendra de semilla de mango como función del tiempo afectaron la tasa de transferencia de masa del proceso y el rendimiento de extracción. El rendimiento de extracción alcanzó un valor de hasta el 14% en peso, el cual fue mayor a los reportado por otros investigadores. Lo que fue posible debido a las propiedades que brinda la tecnología estudiada y el uso de un solvente modificador. El proceso de extracción supercrítica demostró que puede recuperar efectivamente la fracción de extracto que era inaccesible por otros procesos. Los modelos simplificados tanto el logístico como el de desorción presentaron un R^2 superior al 0.98.

Fue posible evaluar simular el proceso de extracción con fluidos presurizados que permitiera obtener un extracto rico en bioactivos a partir de almendra de semilla de mango que pueden ser aplicados en la industria alimenticia y cosmética mediante el uso de software comerciales que brindas bases de datos actualizadas para determinar tanto los costos de producción e inversión.

En este estudio, los parámetros del proceso SFE se optimizaron para estimar el COM del extracto de mango. El extracto de mejor calidad fue obtenido a 21 MPa-60°C-15% EtOH. En estas condiciones, se estimó el COM para obtener el valor mínimo. La optimización del proceso disminuyó el COM del extracto y por lo cual fue posible calcular el costo de manufactura de un extracto obtenido mediante el uso de fluidos presurizados, permitiendo optimizar

Respecto a la evaluación económica del uso del proceso EFS, apuntando a la valorización de residuos de procesamiento de la semilla de mango, se demostró que es un enfoque prometedor ya que los costos de fabricación estimados eran menores en comparación con el precio de venta de los extractos.

4 Recomendaciones

Con el propósito de complementar el presente trabajo se recomienda:

- Determinar el perfil lipídico de la fase grasa obtenida e identificar una alternativa económica para ésta.
- Evaluar en los extractos obtenidos la efectividad como antioxidantes en otros alimentos. Al igual que evaluar la efectividad de los extractos en retardar la oxidación de aceites mediante otros ensayos con el sustrato que midan compuestos de oxidación, tales como: TBARs, HLP, índice de peróxido, carbonilos, entre otros.
- Estudiar otras posibles aplicaciones para los extractos obtenidos, p.e. actividad citotóxica, hipoglicemiante, hipolipemiante, etc.
- Cuantificar los compuestos identificados y definir su nivel de incidencia sobre la t_i de aceites comestibles.
- Comparar la viabilidad económica respecto a otros procesos donde se emplean técnicas de extracción convencionales y se incluyan otros sub-productos del mango de azúcar y otras variedades de mango.
- Realizar un análisis de impacto ambiental mediante el análisis de ciclo de vida del proceso, con el fin de identificar los posibles impactos ambientales del mismo.
- Validar las extracciones a las mejores condiciones para el tiempo de inducción, con el fin de verificar el modelo estadístico ajustado.
- Plantear un estudio global sobre el aprovechamiento integral de los residuos provenientes de la cadena productiva del mango que permita plantear la generación de biorefinerías con una perspectiva global.
- integrar los procesos desarrollados al concepto de biorefinería, en ese sentido evaluar la capacidad de la torta obtenida para la producción de energía para autoabastecer el proceso industrial.
- Desarrollar estudios experimentales en escalas distintas y evaluar volúmenes mayores de los sistemas de extracción para verificar los criterios de escalamiento empleados con el fin de identificar los cambios que empiezan a ser relevantes en los modelos planteados.

5 Bibliografía

- [1] A. Rooney-Céspedes, *Mango*, no. 217. 1998.
- [2] J. Andrea, F. Q. I. Aec, L. Adriana, V. Ad, and G. G. B. I. A, *De Mango Criollo*. 2009.
- [3] J. A. Solís-Fuentes and M. del C. Durán-de-Bazúa, “Mango (*Mangifera indica* L.) Seed and Its Fats,” in *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 2011, pp. 741–748.
- [4] J. J. Méndez Arteaga *et al.*, “Estudio de vigilancia tecnológica en frutos promisorios (mango, aguacate, café y chachafruto) para la industria cosmética y de aseo en el departamento del Tolima-Colombia,” no. October, p. 214, (2014).
- [5] C. Torres-León, R. Rojas, J. C. Contreras-Esquivel, L. Serna-Cock, R. E. Belmares-Cerda, and C. N. Aguilar, “Mango seed: Functional and nutritional properties,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 55, no. August, pp. 109–117, (2016).
- [6] M. H. A. Jahurul *et al.*, “Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review,” *Food Chem.*, vol. 183, pp. 173–180, (2015).
- [7] FAO Statistical Database, “Food and Cultural Organization,” *F. and A. organization of the united nations.*, 2015. [Online]. Available: <http://faostat3.fao.org/home/E>.
- [8] S. M. R. Ribeiro, L. C. A. Barbosa, J. H. Queiroz, M. Knödler, and A. Schieber, “Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties,” *Food Chem.*, vol. 110, no. 3, pp. 620–626, (2008).
- [9] Departamento Administrativo Nacional de Encuesta, “Boletín técnico-Encuesta Nacional Agropecuaria 2015,” pp. 1–25, (2016).
- [10] Asohofrucol, “Plan de Negocios de Mango,” (2013).
- [11] J. K. Mutua, S. Imathiu, and W. Owino, “Evaluation of the proximate composition, antioxidant potential, and antimicrobial activity of mango seed kernel extracts,” *Food Sci. Nutr.*, pp. 1–9, (2016).
- [12] N. Mirabella, V. Castellani, and S. Sala, “Current options for the valorization of food manufacturing waste: A review,” *J. Clean. Prod.*, vol. 65, pp. 28–41, (2014).
- [13] M. H. A. Jahurul, I. S. M. Zaidul, N. N. A. Norulaini, F. Sahena, J. M. Jaffri, and A. K. M. Omar, “Supercritical carbon dioxide extraction and studies of mango seed kernel for cocoa butter analogy fats,” *Cyta-Journal Food*, vol. 12, no. 1, pp. 97–103, (2014).
- [14] S. Kittiphoom and S. Sutasinee, “n,” *Int. Food Res. J.*, vol. 20, no. 3, pp. 1145–1149,

- (2013).
- [15] M. A. Henrique, H. A. Silvério, W. P. Flauzino Neto, and D. Pasquini, “Valorization of an agro-industrial waste, mango seed, by the extraction and characterization of its cellulose nanocrystals,” *J. Environ. Manage.*, vol. 121, pp. 202–209, (2013).
- [16] M. S. Saddique *et al.*, “Utilization of mango kernel lipid fraction to replace normal shortenings in cereal baked products,” *Food Sci. Technol. Res.*, vol. 20, no. 1, pp. 13–21, (2014).
- [17] P. López, A. Piedad, S. Aldana, J. Alberto, and V. Montoya, “Physicochemical Characteristics of Seed Fat for,” no. 53, pp. 10–21, (2016).
- [18] S. . Chaparro Acuña, A. . Lara Sandoval, A. Sandoval Amador, S. . Sosa Suarique, J. . Martínez Zambrano, and J. . Gil González, “Functional Characterization of Mango Seeds Kernel (*Mangifera indica* L.),” *Cienc. en Desarro.*, vol. 6, no. 1, pp. 67–75, (2015).
- [19] N. Berardini, R. Fezer, J. Conrad, U. Beifuss, R. Carle, and A. Schieber, “Screening of Mango (*Mangifera indica* L .) Cultivars for Their Contents of Flavonol O - and Xanthone C -Glycosides , Anthocyanins , and Pectin Screening of Mango (*Mangifera indica* L .) Cultivars for Their Contents of Flavonol O- and Xanthone C-Glycosides,” *J Agric Food Chem*, no. 53, pp. 1563–1570, (2005).
- [20] G. S. El-Baroty, M. F. Khalil, and S. H. A. Mostafa, “Natural antioxidant ingredient from by-products of fruits,” *Am. J. Agric. Biol. Sci.*, vol. 9, no. 3, pp. 311–320, (2014).
- [21] A. López-Cobo, V. Verardo, E. Diaz-de-Cerio, A. Segura-Carretero, A. Fernández-Gutiérrez, and A. M. Gómez-Caravaca, “Use of HPLC- and GC-QTOF to determine hydrophilic and lipophilic phenols in mango fruit (*Mangifera indica* L.) and its by-products,” *Food Res. Int.*, vol. 100, pp. 423–434, (2017).
- [22] E. Dorta, M. G. Lobo, and M. González, “Optimization of Factors Affecting Extraction of Antioxidants from Mango Seed,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 6, no. 4, pp. 1067–1081, (2013).
- [23] L. Rodriguez, “Efecto de tratamientos enzimatico, microondas y ultrasonido en la extraccion de grasa de semilla de mango (mangifera indica l.),” (2014).
- [24] T. Bechtold and R. Mussak, “Conventional Separation Approaches,” in *Biorefinery Co-Products: Phytochemicals, Primary Metabolites and Value-Added Biomass Processing*, Ghent, Belgium, 2012, p. 37.
- [25] M. Herrero, A. Cifuentes, and E. Ibañez, “Sub- and supercritical fluid extraction of

- functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae - A review,” *Food Chem.*, vol. 98, no. 1, pp. 136–148, (2006).
- [26] M. Rostagno and J. Prado, *Natural Product Extraction Principles and Applications*. 2013.
- [27] J. H. Clark and D. J. Macquarrie, “Green Chemistry,” 2013. [Online]. Available: <https://www3.epa.gov/>.
- [28] J. Azmir *et al.*, “Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review,” *J. Food Eng.*, vol. 117, no. 4, pp. 426–436, (2013).
- [29] T. P. Hilditch, *Industrial Oil and Fat Products*, vol. 157, no. 3999. 1946.
- [30] L. Wang and C. L. Weller, “Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 17, no. 6, pp. 300–312, (2006).
- [31] M. T. Fernández-Ponce, L. Casas, C. Mantell, and E. M. De La Ossa, “Use of high pressure techniques to produce *Mangifera indica* L. leaf extracts enriched in potent antioxidant phenolic compounds,” *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 29, pp. 94–106, (2015).
- [32] M. Plaza and C. Turner, “Pressurized hot water extraction of bioactives,” *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 71, pp. 39–54, (2015).
- [33] B. G. Oliveira *et al.*, “Chemical profile of mango (*Mangifera indica* L.) using electrospray ionisation mass spectrometry (ESI-MS),” *Food Chem.*, vol. 204, pp. 37–45, (2016).
- [34] S. M. Zakaria and S. M. M. Kamal, “Subcritical Water Extraction of Bioactive Compounds from Plants and Algae: Applications in Pharmaceutical and Food Ingredients,” *Food Eng. Rev.*, vol. 8, no. 1, pp. 23–34, (2016).
- [35] D. T. Santos, R. Vardanega, J. Q. Albarelli, A. V. Ensinas, F. Maréchal, and M. A. A. Meireles, “Energy consumption versus antioxidant activity of pressurized fluid extracts from *pfaffia glomerata* roots,” *Chem. Eng. Trans.*, vol. 35, pp. 1099–1104, (2013).
- [36] M. J. Ko, C. I. Cheigh, and M. S. Chung, “Relationship analysis between flavonoids structure and subcritical water extraction (SWE),” *Food Chem.*, vol. 143, pp. 147–155, (2014).
- [37] Z. Huang, X. han Shi, and W. juan Jiang, “Theoretical models for supercritical fluid extraction,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1250, pp. 2–26, (2012).
- [38] M. M. R. de Melo, A. J. D. Silvestre, and C. M. Silva, “Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 92, pp. 115–176, (2014).

- [39] M. T. Fernández-Ponce, B. R. Parjikolaei, H. N. Lari, L. Casas, C. Mantell, and E. J. Martínez de la Ossa, "Pilot-plant scale extraction of phenolic compounds from mango leaves using different green techniques: Kinetic and scale up study," *Chem. Eng. J.*, vol. 299, pp. 420–430, (2016).
- [40] H. Sovová, "Steps of supercritical fluid extraction of natural products and their characteristic times," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 66, pp. 73–79, (2012).
- [41] P. S. Saravana, A. T. Getachew, R. Ahmed, Y. Cho, Y. Lee, and B. Chun, "Optimization of phytochemicals production from the ginseng by-products using pressurized hot water: Experimental and dynamic modelling," *Biochem. Eng. J.*, vol. 113, pp. 141–151, (2016).
- [42] C. European, "Roadmaps," no. November 2008, pp. 1–5, (2012).
- [43] J. S. Golden and R. B. Handfield, "Why biobased? Opportunities in the emerging bioeconomy," pp. 33–34, (2014).
- [44] D. H. Lee, "Bio-based economies in Asia: Economic analysis of development of bio-based industry in China, India, Japan, Korea, Malaysia and Taiwan," *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 41, no. 7, pp. 4333–4346, (2016).
- [45] S. K. Maity, "Opportunities, recent trends and challenges of integrated biorefinery: Part II," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 43, pp. 1446–1466, (2015).
- [46] H. Ohara, "Biorefinery," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 62, no. 5–6. pp. 474–477, 2003.
- [47] NREL: Biomass Research, "What Is a Biorefinery?," (2009).
- [48] S. Rama Mohan, "Strategy and design of Innovation Policy Road Mapping for a waste biorefinery," *Bioresour. Technol.*, vol. 215, pp. 76–83, (2016).
- [49] M. Venkateswar Reddy, K. Amulya, M. V. Rohit, P. N. Sarma, and S. Venkata Mohan, "Valorization of fatty acid waste for bioplastics production using *Bacillus tequilensis*: Integration with dark-fermentative hydrogen production process," *International Journal of Hydrogen Energy*, 2013.
- [50] A. Elmekawy, L. Diels, H. De Wever, and D. Pant, "Valorization of cereal based biorefinery byproducts: Reality and expectations," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, no. 16, pp. 9014–9027, (2013).
- [51] J. Moncada, "Design and Evaluation of Sustainable Biorefineries from Feedstock in

- Tropical Regions,” p. 162, (2012).
- [52] S. Y. Tang, R. a. Bourne, R. L. Smith, and M. Poliakoff, “The 24 Principles of Green Engineering and Green Chemistry: ‘IMPROVEMENTS PRODUCTIVELY,’” *Green Chem.*, vol. 10, no. 3, p. 268, (2008).
- [53] P. Anastas and N. Eghbali, “Green Chemistry: Principles and Practice,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 39, no. 1, p. 301, (2009).
- [54] S. C. S. Corzzini, H. D. F. Q. Barros, R. Grimaldi, and F. A. Cabral, “Extraction of edible avocado oil using supercritical CO₂ and a CO₂/ethanol mixture as solvents,” *Journal of Food Engineering*, vol. 194. pp. 40–45, 2017.
- [55] S. M. Ghoreishi and E. Heidari, “Extraction of epigallocatechin gallate from green tea via modified supercritical CO₂: Experimental, modeling and optimization,” *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 72. pp. 36–45, 2012.
- [56] M. T. Fernández-Ponce, L. Casas, C. Mantell, M. Rodríguez, and E. Martínez de la Ossa, “Extraction of antioxidant compounds from different varieties of *Mangifera indica* leaves using green technologies,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 72, pp. 168–175, (2012).
- [57] L. C. Carrillo, J. Londoño-Londoño, and A. Gil, “Comparison of polyphenol, methylxanthines and antioxidant activity in *Theobroma cacao* beans from different cocoa-growing areas in Colombia,” *Food Res. Int.*, vol. 60, pp. 273–280, (2014).
- [58] S. Khammuang and R. Sarnthima, “Antioxidant and antibacterial activities of selected varieties of Thai mango seed extract,” *Pak. J. Pharm. Sci.*, vol. 24, no. 1, pp. 37–42, (2011).
- [59] J. A. Manthey and P. V. Penelope, “Influences of harvest date and location on the levels of β -carotene, ascorbic acid, total phenols, the in vitro antioxidant capacity, and phenolic profiles of five commercial varieties of mango (*Mangifera indica* L.),” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, no. 22, pp. 10825–10830, (2009).
- [60] P. Maisuthisakul, “Microencapsulation of Extract From Mango Seed Kernel Waste,” p. 240, (2011).
- [61] P. Maisuthisakul, “Antioxidant Potential and Phenolic Constituents of Mango Seed,” vol. 297, pp. 290–297, (2009).
- [62] A. Hosu, V. M. Cristea, and C. Cimpoiu, “Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: Prediction of antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks,” *Food Chem.*, vol. 150, pp. 113–118, (2014).

- [63] Metrohm, "Oxidation stability of oils and fats – Rancimat method," pp. 2–5, (2013).
- [64] B. Jaselskis, N. L. Stemm, and W. D. Johnston, "Determination of the fatty-acid composition of soybean oil by high-pressure liquid chromatography," *Talanta*, vol. 29, pp. 54–56, (1982).
- [65] FAO, "Norma General del Codex para los Aditivos Alimentarios," (2015).
- [66] M. de C. Salud, "Resolucion 4124 de 1991," (1991).
- [67] M. H. A. Jahurul *et al.*, "Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review," *Food Chem.*, vol. 183, pp. 173–180, (2015).
- [68] J. Nzikou *et al.*, "Extraction and Characteristics of Seed Kernel Oil from Mango (*Mangifera indica*)," *Res. J. Environ. Earth Sci.*, vol. 2, no. 1, pp. 31–35, (2010).
- [69] J. K. J. K. Mutua, S. Imathiu, and W. Owino, "Evaluation of the proximate composition, antioxidant potential, and antimicrobial activity of mango seed kernel extracts," *Food Sci. Nutr.*, vol. 5, no. 2, pp. 1–9, (2016).
- [70] M. del P. López Hernández, "Evaluación del rendimiento de extracción y caracterización de la grasa de semilla de 20 accesiones de mango del banco de germoplasma y materiales nativos.," 2013.
- [71] M. Pilavtepe and O. Yesil-Celiktas, "Mathematical modeling and mass transfer considerations in supercritical fluid extraction of *Posidonia oceanica* residues," *The Journal of Supercritical Fluids*, vol. 82, pp. 244–250, 2013.
- [72] D. Ballesteros, "Estudio comparativo sobre la obtención de extractos con actividad citotóxica a partir de residuos frutícolas," p. 135, (2015).
- [73] D. S. Sogi, M. Siddiq, and K. D. Dolan, "Total phenolics, carotenoids and antioxidant properties of Tommy Atkin mango cubes as affected by drying techniques," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 62, no. 1, (2015).
- [74] M. Asnaashari, R. Tajik, and M. H. H. Khodaparast, "Antioxidant activity of raspberry (*Rubus fruticosus*) leaves extract and its effect on oxidative stability of sunflower oil," *J. Food Sci. Technol.*, vol. 52, no. 8, pp. 5180–5187, (2015).
- [75] R. Upadhyay and H. N. Mishra, "Multivariate Analysis for Kinetic Modeling of Oxidative Stability and Shelf Life Estimation of Sunflower Oil Blended with Sage (*Salvia officinalis*) Extract Under Rancimat Conditions," *Food Bioprocess Technol.*, vol. 8, no. 4, pp. 801–810, (2015).
- [76] J. Pokorny, N. Yanishlieva, and M. Gordon, *Antioxidants in food* .

- [77] M. Antolovich, P. D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald, K. Robards, and K. Robards, "ANALYST Methods for testing antioxidant activity," (2001).
- [78] E. Dorta, M. González, M. G. Lobo, C. Sánchez-Moreno, and B. de Ancos, "Screening of phenolic compounds in by-product extracts from mangoes (*Mangifera indica* L.) by HPLC-ESI-QTOF-MS and multivariate analysis for use as a food ingredient," *Food Res. Int.*, vol. 57, pp. 51–60, (2014).
- [79] D. Ballesteros, "Estudio comparativo sobre la obtención de extractos con actividad citotóxica a partir de residuos frutícolas," (2015).
- [80] J. C. Barreto *et al.*, "Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in Bark , Kernel , Leaves , and Peel of Mango (*Mangifera indica* L .) Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in Bark , Kernel , Leaves , and Peel of Mango (*Mangifera indica*," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, pp. 5599–5610, (2008).
- [81] A. Mar, L. Ana, A. Segura-carretero, and A. Fern, "HPLC-DAD-q-TOF-MS as a powerful platform for the determination of phenolic and other polar compounds in the edible part of mango and its by-products (peel , seed , and seed husk)," pp. 1072–1084, (2016).
- [82] S. Metin and R. W. Hartel, "Fats and Oils," pp. 45–76.
- [83] H. Sovova, "Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation products and extraction curve evaluation," no. January 2005, (2016).
- [84] Z. Sanchez Reinoso, "Evaluación De Propiedades Físicoquímicas, Morfológicas Y Sensoriales De Microencapsulados De Cacao Obtenidos Por Spray Drying," pp. 25–27, (2016).
- [85] F. R. Rodríguez, "Estudio de la aplicación de recubrimientos comestibles de quitosano y su combinación con aceites esenciales sobre la vida útil del mango (*mangifera indica* l.)," *Bdigital.Unal.Edu.Co*, p. 115, (2013).
- [86] M. Calatayud, C. López-De-Dicastillo, G. López-Carballo, D. Vélez, P. Hernández Muñoz, and R. Gavara, "Active films based on cocoa extract with antioxidant, antimicrobial and biological applications," *Food Chem.*, vol. 139, no. 1–4, pp. 51–58, (2013).
- [87] I. Journal, G. Pharmacy, and S. Kumar, "Formulation of anti-halitosis mouthwash using aqueous extract of *Mangifera indica* L. kernel based on the evaluation..." no. January,

- pp. 0–4, (2017).
- [88] S. S. Sagiri, V. Sharma, P. Basak, and K. Pal, “Mango butter emulsion gels as cocoa butter equivalents: Physical, thermal, and mechanical analyses,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 62, no. 47, pp. 11357–11368, (2014).
- [89] M. Kobayashi *et al.*, “Effect of mango seed kernel extract on the adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and in rats fed a high fat diet,” *Health (Irvine. Calif.)*, vol. 5, no. 8A3, pp. 9–15, (2013).
- [90] L. L. Lasure and P. Northwest, “Bioconversion and Biorefineries of the Future,” pp. 1–16.
- [91] G. Anitha and B. S. Kumudini, “Onl Onl ine Cop,” vol. 35, no. July, pp. 627–634, (2014).
- [92] C. D. Alexandrino *et al.*, “Influence of hydrogenation and antioxidants on the stability of soybean oil biodiesels,” *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, vol. 115, no. 6, pp. 709–715, (2013).
- [93] C. Torres-León, R. Rojas, L. Serna-Cock, R. Belmares-Cerda, and C. N. Aguilar, “Extraction of antioxidants from mango seed kernel: Optimization assisted by microwave,” *Food Bioprod. Process.*, vol. 105, pp. 188–196, (2017).
- [94] B. (S. B. . et B. (E. . PEREDA (S.), “Fundamentals of supercritical fluid technology,” in *Supercritical fluid extraction of nutraceuticals and bioactive compounds*, 2008.
- [95] C. G. Pereira and M. A. A. Meireles, “Economic analysis of rosemary, fennel and anise essential oils obtained by supercritical fluid extraction,” *Flavour Fragr. J.*, (2007).
- [96] J. Moncada, J. A. Tamayo, and C. A. Cardona, “Techno-economic and environmental assessment of essential oil extraction from Oregano (*Origanum vulgare*) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in Colombia,” *J. Clean. Prod.*, (2016).
- [97] P.F. Leal, “Comparative study of cost of manufacturing and functional properties of volatile oils obtained by supercritical fluid extraction and steam distillation,” University of Campinas.
- [98] C. L. C. Albuquerque and M. A. A. Meireles, “Defatting of annatto seeds using supercritical carbon dioxide as a pretreatment for the production of bixin: Experimental, modeling and economic evaluation of the process,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 66, pp. 86–94, (2012).
- [99] A. R. Monteiro, P. T. V Rosa, and P. Cx, “Multicomponent Model To Describe Extraction of Ginger Oleoresin with Supercritical Carbon Dioxide,” pp. 1057–1063, (2003).

- [100] C. Tan and D. Liou, "Modeling of Desorption at Supercritical Conditions," vol. 35, no. 6, pp. 1029–1031, (1989).
- [101] Z. Huang, X. Shi, and W. Jiang, "Theoretical models for supercritical fluid extraction," *J. Chromatogr. A*, vol. 1250, pp. 2–26, (2012).
- [102] C. H. Twu, J. E. Coon, and D. Bluck, "Comparison of the Peng-Robinson and Soave-Redlich-Kwong equations of state using a new zero-pressure-based mixing rule for the prediction of high-pressure and high-temperature phase equilibria," *Ind. Eng. Chem. Res.*, (1998).
- [103] C. L. C. Albuquerque and M. A. A. Meireles, "The Journal of Supercritical Fluids Defatting of annatto seeds using supercritical carbon dioxide as a pretreatment for the production of bixin : Experimental , modeling and economic evaluation of the process," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 66, pp. 86–95, (2012).
- [104] C. G. Pereira, P. T. V. Rosa, and M. A. A. Meireles, "Extraction and isolation of indole alkaloids from *Tabernaemontana catharinensis* A.DC: Technical and economical analysis," *J. Supercrit. Fluids*, (2007).
- [105] J. Antonio, R. Uribe, J. Ivan, N. Perez, C. Araceli, and R. Mercado, "Cost Estimation for CO₂ Supercritical Extraction Systems and Manufacturing Cost for Habanero Pepper," *III Iberoam. Conf. Supercrit. Fluid*, pp. 1–7, (2013).
- [106] H. Sovova, "H. sovova," vol. 49, (1994).
- [107] D. D. E. E. D. E. Alimentos and I. Martin, "Uso de Simulador no Estudo de Aumento de Escala e Viabilidade," (2009).
- [108] P. F. Leal *et al.*, "Brazilian Ginseng extraction via LPSE and SFE: Global yields, extraction kinetics, chemical composition and antioxidant activity," *J. Supercrit. Fluids*, (2010).
- [109] G. L. Zabet, M. N. Moraes, and M. A. a Meireles, "Supercritical Technology Applied To the Production of Bioactive Compounds : Compilation of Researches Done At Lasefi From 2009-2012," pp. 1–12, (2013).
- [110] J. Viganiz^{1/2}, G. L. Zabet, and J. Martiz^{1/2}nez, "Supercritical fluid and pressurized liquid extractions of phytonutrients from passion fruit by-products: Economic evaluation of sequential multi-stage and single-stage processes," *J. Supercrit. Fluids*, (2017).
- [111] C. G. Pereira and M. A. A. Meireles, "Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: Fundamentals, applications and economic perspectives," *Food Bioprocess*

Technol., vol. 3, no. 3, pp. 340–372, (2010).

- [112] M. Miguel, G. María, A. Renata, S. Mariarosa, and C. Giuseppe, “Supercritical Antisolvent Fractionation of Bioactive Compounds From Mango By-Products,” pp. 1–6, (2013).
- [113] M. H. A. Jahurul *et al.*, “Cocoa butter replacers from blends of mango seed fat extracted by supercritical carbon dioxide and palm stearin,” *Food Res. Int.*, vol. 65, no. PC, pp. 401–406, (2014).

6 Anexos

En este apartado se presenta información complementaria que ha sido referida en el desarrollo del documento.

1 Evaluación del efecto de la presión, temperatura y fracción cosolvente sobre las variables estudiadas.

2 Cromatogramas de extractos supercríticos y soxhlet.

3 Costos de Manufactura

4 Producción académica y proyectos enmarcados

5 Producción académica

6.1 Evaluación del efecto de la presión, temperatura y fracción cosolvente sobre las variables estudiadas

Tabla 6-1 Resultados para el diseño experimental

Variables						t _i	Fenoles		DPPH		Flavonoides		Rend. Total	Rend. F.Apolar	Rend. F Polar	Inhibición DPPH	Rancimat Relativo
Presión (MPa)	Temperatura (°C)		Cosolvente (%)			h	mg eq-AG/g extracto	mg eq-AG/100 g muestra	μmol eq-trolox/100 g muestra	mmol eq-Trolox/g extracto	mg eq-Querc/g extracto	mg eq-Querc./100g muestra	%	%	%	%	%
-1	11	1	60	1	15	4,20	57,3	442,002	23,275	3,017	13,632	105,177	22,45	14,74	7,72	80,61	16,69
0	16	0	50	0	10	4,77	19,4	27,935	1,76	1,221	4,052	31,267	8,44	7,00	1,44	38,31	30,12
$-\sqrt{2}$	7,6	0	50	0	10	3,63	50,6	381,384	20,96	2,778	9,737	75,126	19,88	12,34	7,54	74,68	3,39
$\sqrt{2}$	24,4	0	50	0	10	4,82	29,3	54,281	3,297	1,781	7,938	61,246	11,11	9,26	1,85	49,79	31,17
0	16	0	50	$\sqrt{2}$	18	5,25	18,7	63,038	3,782	1,121	3,431	26,473	12,07	8,69	3,37	33,31	41,32
0	16	$-\sqrt{2}$	33	0	10	4,56	14	23,185	1,286	0,778	2,207	17,029	11,36	9,71	1,65	24,76	25,14
1	21	-1	40	-1	5	3,78	8,8	7,619	0,328	0,378	1,168	9,015	9,06	8,19	0,87	14,78	7,00
0	16	0	50	0	10	4,80	18,9	39,648	2,694	1,284	4,692	36,204	9,90	7,81	2,10	40,73	30,82
-1	11	-1	40	-1	5	3,30	10,9	20,573	0,939	0,497	3,821	29,478	4,50	2,61	1,89	17,72	-4,28
1	21	1	60	1	15	6,08	19,4	41,53	2,642	1,232	3,756	28,977	11,79	9,64	2,15	36,05	60,70
-1	11	-1	40	1	15	4,88	22,6	85,914	5,288	1,393	6,278	48,439	17,44	13,64	3,80	40,10	32,57
1	21	1	60	-1	5	3,56	23,4	27,213	1,633	1,402	8,263	63,75	5,63	4,46	1,16	40,32	1,95
0	16	0	50	0	10	4,89	19,3	32,224	2,034	1,218	3,858	29,764	10,74	9,07	1,67	39,06	32,92
0	16	$\sqrt{2}$	67	0	10	5,25	24,8	44,888	2,973	1,642	2,708	20,892	8,62	6,81	1,81	46,30	41,32
0	16	0	50	0	10	4,60	23,3	35,555	1,994	1,305	3,904	30,122	8,46	6,93	1,53	47,07	26,15
-1	11	1	60	-1	5	3,83	31,2	32,251	1,942	1,88	10,052	77,559	7,68	6,65	1,03	52,29	8,17
1	21	-1	40	1	15	4,34	25,4	80,669	5,187	1,635	6,25	48,224	16,18	13,00	3,17	46,14	19,96
0	16	0	50	$-\sqrt{2}$	2	3,52	24,6	24,215	1,331	1,354	10,252	79,1	4,98	4,00	0,98	39,13	0,86
0	16	0	50	0	10	4,74	19,5	30,929	1,833	1,156	3,533	27,26	10,45	8,87	1,59	34,18	29,42

Tabla 6-2 Análisis de Varianza para Rendimiento F.Polar y modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Presión	20,305	1	20,305	309,62	0,0001
B: Temperatura	0,49033	1	0,49033	7,48	0,0522
C: Cosolvente	18,502	1	18,502	282,13	0,0001
AA	14,774	1	14,774	225,28	0,0001
AB	1,8008	1	1,8008	27,46	0,0063
AC	3,5184	1	3,5184	53,65	0,0018
BC	1,4899	1	1,4899	22,72	0,0089
CC	0,264	1	0,264	4,03	0,1153
Falta de ajuste	9,16	6	1,5267	23,28	0,0045
Error puro	0,26232	4	0,065581		
Total (corr.)	70,304	18			

Rendimiento F. Polar

$$= 5,8699 - 0,82372P + 0,084374T + 0,11554C + 0,041233P^2 - 0,0094888PT - 0,026527PC + 0,0086311TC + 0,0055118C^2$$

Tabla 6-3 Análisis de Varianza para Rendimiento F. Polar y su modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Presión	4,1392	1	4,1392	4,08	0,1134
B: Temperatura	3,4474	1	3,4474	3,40	0,1389
C: Cosolvente	100,35	1	100,35	98,99	0,0006
AA	17,147	1	17,147	16,91	0,0147
AB	18,639	1	18,639	18,39	0,0128
AC	10,425	1	10,425	10,28	0,0327
BC	0,83346	1	0,83346	0,82	0,4158
CC	3,0329	1	3,0329	2,99	0,1587
Falta de ajuste	22,557	6	3,7596	3,71	0,1126
Error puro	4,055	4	1,0137		
Total (corr.)	186,83	18			

Rendimiento F. Polar

$$= -18,475 + 0,45142P + 0,50299T + 1,9694C + 0,04442P^2 - 0,030528PT - 0,045662PC - 0,0064554TC - 0,018682C^2$$

Tabla 6-4 Análisis de Varianza para Rendimiento Total y su modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Presión	42,78	1	42,78	35,92	0,0039
B: Temperatura	1,3375	1	1,3375	1,12	0,3490
C: Cosolvente	205,03	1	205,03	172,16	0,0002
AA	63,754	1	63,754	53,53	0,0019
AB	32,027	1	32,027	26,89	0,0066
AC	26,057	1	26,057	21,88	0,0095
BC	0,094669	1	0,094669	0,08	0,7920
CC	1,5073	1	1,5073	1,27	0,3235
Falta de ajuste	41,46	6	6,91	5,80	0,0553
Error puro	4,7639	4	1,191		
Total (corr.)	422,43	18			

Rendimiento Total

$$= -12,605 - 0,3723P + 0,58736T + 2,0849C + 0,085653P^2 - 0,040017PT - 0,072189PC + 0,0021756TC - 0,01317C^2$$

Tabla 6-5 Análisis de Varianza para Tiempo de Inducción y su modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Presión	0,92927	1	0,92927	83,34	0,0008
B:Temperatura	0,47571	1	0,47571	42,66	0,0028
C:Cosolvente	4,6052	1	4,6052	413,02	0,0000
AA	0,82038	1	0,82038	73,58	0,0010
AB	0,3507	1	0,3507	31,45	0,0050
AC	0,15914	1	0,15914	14,27	0,0195
BC	0,070002	1	0,070002	6,28	0,0664
CC	0,47605	1	0,47605	42,69	0,0028
Falta de ajuste	1,5736	6	0,26227	23,52	0,0044
Error puro	0,0446	4	0,01115		
Total (corr.)	9,3644	18			

Tiempo de Inducción

$$= 3,8034 + 0,097322P - 0,067129T + 0,08041C - 0,0097163P^2 + 0,0041875PT + 0,0056417PC + 0,0018708TC - 0,0074014C^2$$

Tabla 6-6 Análisis de Varianza para Flavonoides en extracto y su modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Presión	22,108	1	22,108	121,35	0,0004
B:Temperatura	26,301	1	26,301	144,37	0,0003
C:Cosolvente	1,722	1	1,722	9,45	0,0371
AA	49,082	1	49,082	269,41	0,0001
AB	10,089	1	10,089	55,38	0,0017
AC	3,7292	1	3,7292	20,47	0,0106
BC	8,9591	1	8,9591	49,18	0,0022
CC	19,087	1	19,087	104,77	0,0005
Falta de ajuste	65,197	6	10,866	59,64	0,0007
Error puro	0,72873	4	0,18218		
Total (corr.)	200,21	18			

$$CTFl = -7,544 - 1,2634P + 0,70916T + 0,48684C + 0,075154P^2 - 0,02246PT - 0,02731PC - 0,021165TC + 0,046866C^2$$

Tabla 6-7 Análisis de Varianza para Flavonoides Totales y su modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Presión	1316,1	1	1316,1	121,27	0,0004
B:Temperatura	1565,5	1	1565,5	144,25	0,0003
C:Cosolvente	102,5	1	102,5	9,45	0,0372
AA	2921,7	1	2921,7	269,22	0,0001
AB	600,85	1	600,85	55,37	0,0017
AC	222,0	1	222,0	20,46	0,0106
BC	533,42	1	533,42	49,15	0,0022
CC	1136,2	1	1136,2	104,69	0,0005
Falta de ajuste	3881,0	6	646,83	59,60	0,0007
Error puro	43,41	4	10,852		
Total (corr.)	11918,	18			

Flavonoides Totales

$$= -58,242 - 9,7455P + 5,4722T + 3,7571C + 0,57984P^2 - 0,17333PT - 0,21072PC - 0,16331TC + 0,36159C^2$$

Tabla 6-8 Análisis de Varianza para Fenoles en muestra y su modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Presión	69418,	1	69418,	3430,78	0,0000
B:Temperatura	10763,	1	10763,	531,93	0,0000
C:Cosolvente	28874,	1	28874,	1427,02	0,0000
AA	55990,	1	55990,	2767,12	0,0000
AB	18751,	1	18751,	926,72	0,0000
AC	18791,	1	18791,	928,70	0,0000
BC	10201,	1	10201,	504,17	0,0000
CC	41,869	1	41,869	2,07	0,2237
Falta de ajuste	43285,	6	7214,2	356,54	0,0000
Error puro	80,936	4	20,234		
Total (corr.)	2,5672E5	18			

$$\text{Fenoles Totales} = -42,581 - 27,691P + 11,145T + 3,1204C + 2,5383P^2 - 0,96828PT - 1,9386PC + 0,71419TC + 0,069412C^2$$

Tabla 6-9 Análisis de Varianza para Fenoles y su modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Presión	478,28	1	478,28	145,29	0,0003
B:Temperatura	487,48	1	487,48	148,08	0,0003
C:Cosolvente	120,14	1	120,14	36,49	0,0038
AA	606,97	1	606,97	184,38	0,0002
AB	269,12	1	269,12	81,75	0,0008
AC	79,38	1	79,38	24,11	0,0080
BC	4,805	1	4,805	1,46	0,2935
CC	0,21145	1	0,21145	0,06	0,8124
Falta de ajuste	475,4	6	79,234	24,07	0,0042
Error puro	13,168	4	3,292		
Total (corr.)	2542,0	18			

$$\text{Fenoles} = -49,836 - 2,5813P + 2,6058T + 3,2858C + 0,26429P^2 - 0,116PC - 0,126PC - 0,0155TC + 0,0049328C^2$$

Tabla 6-10 Análisis de Varianza para DPPH muestra y su modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Presión	193,08	1	193,08	1408,14	0,0000
B:Temperatura	30,849	1	30,849	224,98	0,0001
C:Cosolvente	93,236	1	93,236	679,97	0,0000
AA	164,51	1	164,51	1199,76	0,0000
AB	51,157	1	51,157	373,08	0,0000
AC	49,074	1	49,074	357,90	0,0000
BC	21,563	1	21,563	157,26	0,0002
CC	0,032433	1	0,032433	0,24	0,6522
Falta de ajuste	121,57	6	20,262	147,77	0,0001
Error puro	0,54847	4	0,13712		
Total (corr.)	727,73	18			

$$\text{DPPH muestra} = -3,1711 - 1,6358P + 0,63047T + 0,42753C + 0,13759P^2 - 0,050575PT - 0,09907PC + 0,032835TC + 0,0019319C^2$$

Tabla 6-11 Análisis de Varianza para DPPH y su modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Presión	1,0666	1	1,0666	8,12	0,0173
B:Temperatura	1,8852	1	1,8852	14,35	0,0036
C:Cosolvente	0,54563	1	0,54563	4,15	0,0689
AA	1,6088	1	1,6088	12,24	0,0057
AB	0,71162	1	0,71162	5,42	0,0423
AC	0,11186	1	0,11186	0,85	0,3779
BC	0,17582	1	0,17582	1,34	0,2742
CC	0,011719	1	0,011719	0,09	0,7713
Error total	1,3139	10	0,13139		
Total (corr.)	7,4934	18			

$$\text{DPPH} = -3,7974 - 0,14577P + 0,16208T + 0,28715C + 0,013606P^2 - 0,005965PT - 0,00473PC - 0,002965TC - 0,0011613C^2$$

Tabla 6-12 Análisis de Varianza para % Inhibición DPPH y su modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Presión	665,04	1	665,04	30,24	0,0053
B:Temperatura	1173,3	1	1173,3	53,35	0,0019
C:Cosolvente	339,1	1	339,1	15,42	0,0171
AA	766,33	1	766,33	34,85	0,0041
AB	444,48	1	444,48	20,21	0,0109
AC	69,672	1	69,672	3,17	0,1497
BC	110,23	1	110,23	5,01	0,0887
CC	44,795	1	44,795	2,04	0,2267
Falta de ajuste	862,99	6	143,83	6,54	0,0452
Error puro	87,968	4	21,992		
Total (corr.)	4625,2	18			

$$\text{Inhibición DPPH} = -102,38 - 2,2647P + 4,0504T + 8,0336C + 0,29696P^2 - 0,14908PT - 0,11804PC - 0,074239TC - 0,071797C^2$$

Tabla 6-13 Análisis de Varianza para Rancimat Relativo y su modelo estadístico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Presión	506,5	1	506,5	83,34	0,0008
B:Temperatura	259,29	1	259,29	42,66	0,0028
C:Cosolvente	2510,1	1	2510,1	413,02	0,0000
AA	447,15	1	447,15	73,58	0,0010
AB	191,15	1	191,15	31,45	0,0050
AC	86,74	1	86,74	14,27	0,0195
BC	38,154	1	38,154	6,28	0,0664
CC	259,47	1	259,47	42,69	0,0028
Falta de ajuste	857,71	6	142,95	23,52	0,0044
Error puro	24,309	4	6,0773		
Total (corr.)	5104,0	18			

$$\text{Rancimat Relativo} = 7,5497 + 2,2721P - 1,5672T + 1,8773C - 0,22684P^2 + 0,097763PT + 0,13171PC + 0,043677TC - 0,1728C^2$$

1 6.2 Superficies de respuestas para las variables estudiadas a 60°

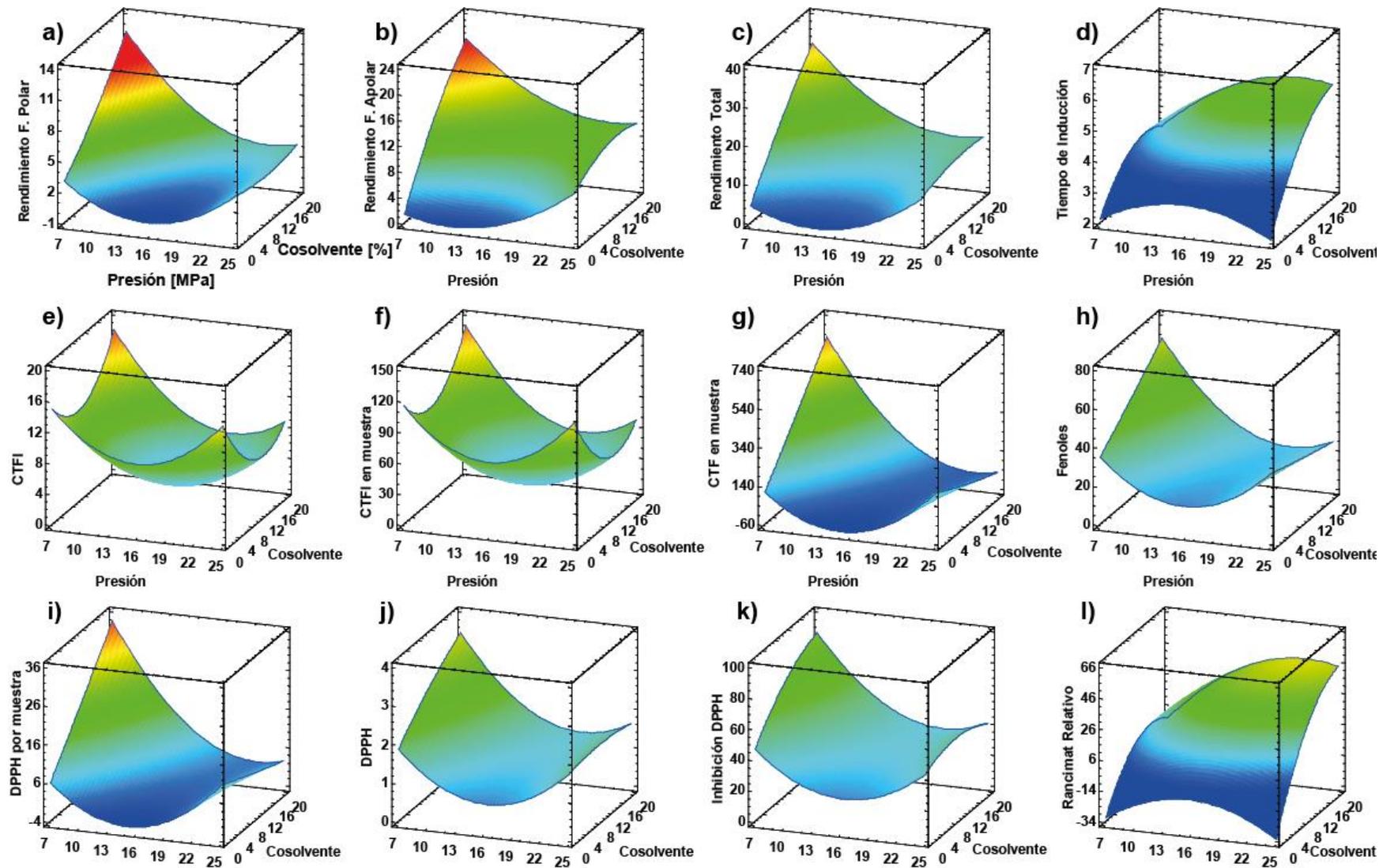


Figura 6-1 Superficies de respuestas para las variables estudiadas a 60°C

2 6.3 Cromatograma de extractos supercríticos y Soxleth

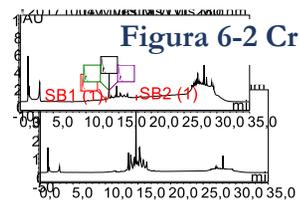
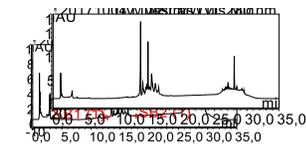
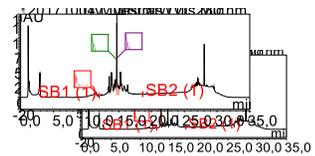
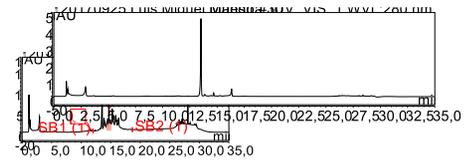
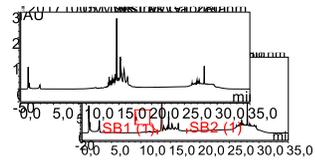
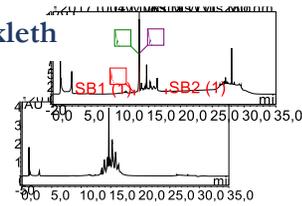
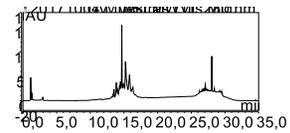
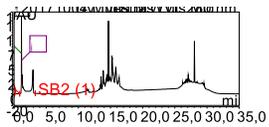
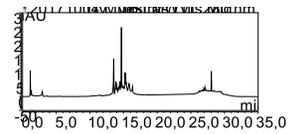
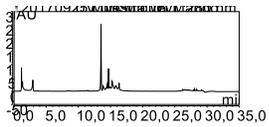
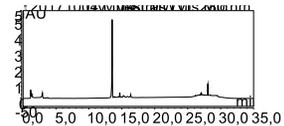
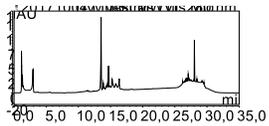
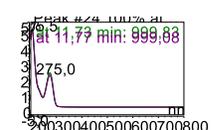
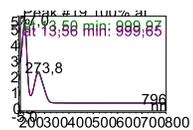
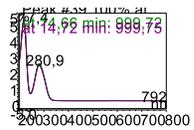
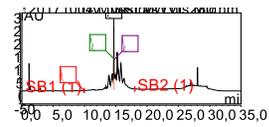
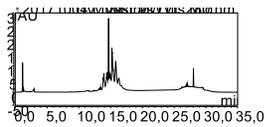
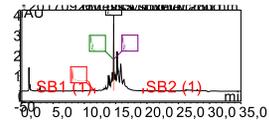
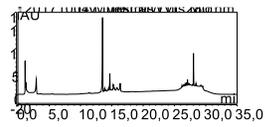


Figura 6-2 Cromatograma de extractos supercríticos y Soxleth





5



6 6.4 Costo de manufactura y costos de equipos

7 Tabla 6-14 Costo de manufactura para extractos de almendra de mango de azúcar a diferentes tiempos de extracción

	Costo Fijo de Inversión	Costo de Mano de Obra	Costo de Utilidades	Costo de Tratamiento	Costo de Materia Prima	Producto Modelo	COM
	FCI	COL	CUT	CWT	CRM		
MIN	0,304	2,730	1,230	1,230	1,230	Kg	
5	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 19.728		\$ 899.349	39.448	\$ 193,054
10	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 31.566	\$ -	\$ 1.670.220	71.592	\$ 119,821
15	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 41.839	\$ -	\$ 2.339.194	97.966	\$ 96,091
20	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 50.819	\$ -	\$ 2.923.992	119.715	\$ 84,735
25	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 58.734	\$ -	\$ 3.439.382	137.713	\$ 78,335
30	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 65.787	\$ -	\$ 3.898.656	152.637	\$ 74,434
35	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 72.089	\$ -	\$ 4.309.196	165.018	\$ 71,956
40	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 77.761	\$ -	\$ 4.678.387	175.281	\$ 70,373
50	\$ 20.177.800	\$ 87.558	\$ 85.585	\$ -	\$ 5.316.349	190.753	\$ 68,243
60	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 95.722	\$ -	\$ 5.847.984	201.096	\$ 68,603
70	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 102.630	\$ -	\$ 6.298.397	207.706	\$ 69,128
80	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 108.557	\$ -	\$ 6.683.832	211.562	\$ 70,144
90	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 113.683	\$ -	\$ 7.017.581	213.364	\$ 71,504
120	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 125.657	\$ -	\$ 7.797.312	210.981	\$ 76,928
150	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 134.209	\$ -	\$ 8.354.052	202.450	\$ 83,604
180	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 140.624	\$ -	\$ 8.771.976	191.546	\$ 91,088
210	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 145.613	\$ -	\$ 9.096.864	180.046	\$ 99,160
240	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 149.605	\$ -	\$ 9.356.774	168.795	\$ 107,692
270	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 152.870	\$ -	\$ 9.569.428	158.184	\$ 116,595
300	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 155.592	\$ -	\$ 9.746.640	148.371	\$ 125,798
360	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 159.868	\$ -	\$ 10.025.748	131.219	\$ 144,898
420	\$ 20.177.800	\$ 128.571	\$ 163.075	\$ -	\$ 10.233.972	117.080	\$ 164,617

Tabla 6-15 Costos de equipos

<i>Principales costos de Inversión</i>		
Equipos	Unidades	Precio/Unidad
Celda de extracción	2	\$ 2.000.000
Sistema de Bombas y Compresores	1	
<i>P-100 [Bomba]</i>	1	\$ 504.100
<i>P-101 [Bomba]</i>	1	\$ 891.700
<i>K-100 [Compresor]</i>	1	\$ 562.900
Separadores		
<i>V-102 [Separador 1]</i>	1	\$ 177.800
<i>V-103 [Separador 2]</i>	1	\$ 107.000
Sistemas de Intercambiadores		
<i>E-100 [Pre calentamiento]</i>	1	\$ 129.800
<i>E-101 [Condensador]</i>	1	\$ 77.200

6.5 Producción Académica

Manuscritos en preparación

- L.M. Buelvas-Puello, G. Franco-Arnedo, D. Ballesteros Vivas, A.d.P Sánchez-Camargo, H.A. Martínez-Correa., F. Parada-Alfonso. Technical evaluation of antioxidant compounds extraction from mango (*Mangifera indica* L.) seed kernel using supercritical CO₂ + ethanol. Manuscrito sometido a Industrial Crops and Products-Elsevier.
- L.M. Buelvas-Puello, G. Franco-Arnedo, A.d.P Sánchez-Camargo, H.A. Martínez-Correa, D. Miranda-Lasprilla, F. Parada-Alfonso. Modeling and economic evaluation of antioxidant extracts obtention by supercritical fluid extraction from mango (*M. indica* var. sugar) seed kernel. Manuscrito en preparación.

Participación en eventos

- L.M. Buelvas-Puello, D. Ballesteros-Vivas, H.A. Martínez-Correa, E. Ibáñez, F. Parada-Alfonso. Poster. Valorization of mango seeds (*M. indica*) through the supercritical fluid extraction of edible oils rich in natural antioxidants. 17th European Meeting of Supercritical Fluids-EMSF (Ciudad Real-España, 2019). Modalidad Poster
- L.M. Buelvas-Puello, G. Franco-Arnedo, H.A. Martínez-Correa, A.P. Sanchez-Camargo, C.E. Narvaez-Cuenca, F. Parada-Alfonso. Ponencia oral. Valorización y modelamiento: extracción de aceites a partir de la semilla de mango (*M. Indica*) utilizando técnicas no convencionales. 33° Congreso Latinoamericano de Química-CLAQ 2018 (La Habana-Cuba, 2018). Modalidad Oral

- L.M. Buevas-Puello, G. Franco-Arnedo, F. Parada-Alfonso, H.A. Martínez-Correa, D. Miranda-Lasprilla. Ponencia oral. Valorización de residuos agroindustriales: antioxidantes para aceites comerciales a partir de la almendra de la semilla de mango. I Simposio Internacional sobre Solanáceas cultivadas en el Trópico y VII Congreso Colombiano de Horticultura (Chia-Colombia, 2017). Modalidad Oral