

**Análisis de prefactibilidad de la extracción de antioxidantes con CO₂ supercrítico a partir
de especies de *Lippia*.**

Andrea Gómez Fernández

Giocarlo Vásquez Giraldo

**Trabajo de grado en modalidad de investigación, presentado para optar al título de
Ingeniero Químico**

Director

Jairo René Martínez

Químico. PhD.

Co-director

Ing. Anderson Julián Arias

Estudiante Doctorado en Ingeniería Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Físicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2017

Agradecimientos

A la Dra. Elena Stashenko y al Dr. Jairo René Martínez por darnos la oportunidad de hacer parte de este gran centro de investigación, por cada enseñanza y reflexión y por su respaldo en el transcurso y desarrollo de este proyecto.

A las entidades que financiaron este proyecto Colciencias - Patrimonio Autónomo Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación, Francisco José de Caldas, Contrato RC-0572-2012; permiso de colecta contrato No. 101 de acceso a recursos genéticos y productos derivados para investigación científica con fines de prospección biológica entre el Ministerio del Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible y la Unión Temporal Bio-Red-CO-CENVAM.

A Anderson Julián Arias, codirector de este proyecto, por ser la cabeza principal y su apoyo en las actividades desarrolladas

A Cristián Oliveros, Jessica Mejía y Diego Castiblanco por su colaboración y compañerismo, por ser como son

A cada persona que compartió momentos con cada uno de nosotros en este tiempo y espacio, muchas gracias.

Dedicatoria

Este logro lo dedico al ser más incondicional en mi vida, mi madre Leila Fernández, y a cada persona que conocí en el transcurso del tiempo hasta aquí.

Andrea Gómez Fernández

Dedicatoria**A Dios.**

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud y paciencia para cumplir mis objetivos.

A mi madre Rubiela (QEPD).

Por haberme apoyado en todo momento, incluso cuando ya no estabas aquí, por tus consejos, por enseñarme todos tus valores, por mantener hasta el último minuto la motivación para permitirme ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor incondicional.

A mi padre Rafael.

Por mantenerte fuerte en los momentos más difíciles, por su perseverancia y constancia la cual me ha infundado, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mis hermanos.

*A Rafael David, Jhon Franco y Nazly Juliana, por ser mi apoyo incondicional en los momentos más difíciles de mi vida, por estar ahí justo cuando mamá tuvo que partir.
¡Gracias!*

A mis maestros.

A cada uno de mis maestros, que dejaron en mi parte de sus conocimientos en pro de mi formación profesional. A la Dra. Elena y el Dr. Jairo por su gran apoyo y motivación para la culminación de mi trabajo, y enseñarme lo más importante en mi carrera universitaria, creer lo grande que puedo llegar a ser.

A mis amigos.

A Julián, mi codirector, por ser ese gran amigo que en el momento en que más necesitaba, a Andrea mi compañera, por no desfallecer nunca, a Andres Ramírez por ser el apoyo en largas jornadas de trabajo, a Yoniris, por ser la persona que me hizo creer en mí mismo y ser mi apoyo en momentos de flaqueza. A todos mis compañeros y amigos del CENIVAM, a Jesica, Gloria, Fausto, Anderson Paipa, Delver, Lili, Jhon, Julián, Giovanni, Andrés C., y a los que me falta por nombrar ¡GRACIAS!.

Giocarlo Vásquez Giraldo

Contenido

	Pág.
Introducción	15
1. Planteamiento del problema	17
2. Objetivos	18
2.1 Objetivo General	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
3. Marco Teórico	19
3.1 Análisis de prefactibilidad.....	19
3.1.1 Estimación de costo de inversión (FCI).	20
3.1.2 Análisis de costo de fabricación (COM).	20
3.2 Género Lippia.....	22
3.2.1 Lippia origanoides.....	22
3.2.2 Lippia graveolens.	22
3.3 Flavonoides.	23
3.4 Fluidos supercríticos.	23
3.5 Extracción con CO ₂ supercrítico (CO ₂ -SE).	24
3.5.1 Dióxido de carbono, CO ₂	24
3.5.2 Proceso de extracción.....	25
3.5.3 Efecto de las variables de extracción.	26
3.6 Reproducibilidad.	27

3.7 Optimización simplex.	27
3.8 Espectrofotometría UV-vis.	28
3.9 Calibración multivariada.	29
3.10 Regresión múltiple y modelamiento.	30
4. Metodología	31
4.1 Acondicionamiento de materia prima.	31
4.2 Extracción con fluido supercrítico.	31
4.3 Análisis de reproducibilidad y optimización simplex.	33
4.4 Espectrofotometría UV-Vis.	34
4.5 Modelamiento y validación.	34
4.6 Análisis de costo de fabricación (COM).	35
5. Resultados y Análisis	38
5.1 Análisis de reproducibilidad.	38
5.2 Optimización SIMPLEX.	39
5.2.1 Lippia organoides Quim. Carvacrol.	39
5.2.2 Lippia graveolens.	44
5.3 Análisis de costo de fabricación (COM).	47
5.3.1 Condiciones de operación	47
5.3.2 Estimación del costo de Inversión.	47
5.3.3 Cálculo del COM para L. organoides	50
6. Conclusiones	54
Citas Bibliográficas	56
Referencias Bibliográficas	65
Apéndices	71

Lista de Figuras

	Pág.
<i>Figura 1.</i> Diagrama del proceso CO ₂ -SE.....	33
<i>Figura 2.</i> Gráfica de superficie de respuesta para la concentración de flavonoides extraídos de <i>L. origanoides</i> usando el porcentaje de etanol del 9,83%, tiempo de extracción de 2,1 horas.	43
<i>Figura 3.</i> Gráfica de superficie de respuesta para el rendimiento de extracción de <i>L. origanoides</i> , usando el porcentaje de etanol del 9,83%, tiempo de extracción de 2,1 horas.	44
<i>Figura 4.</i> Gráfica de superficie de respuesta para la concentración de flavonoides extraídos de <i>L. graveolens</i> , usando el porcentaje de etanol del 8,85%, tiempo de extracción de 1,83 horas.	46
<i>Figura 5.</i> Comparación de la estimación del costo de inversión para diferentes capacidades usando las metodologías de Turton <i>et al.</i> [20] y Shariaty-Niassar <i>et al.</i> [21].	49
<i>Figura 6.</i> Comparación del COM para <i>L. origanoides</i> según la capacidad del equipo, usando las metodologías expuestas por Turton [20] y Shariaty-Niassar [21].	51
<i>Figura 7.</i> Distribución de costos que componen el COM del extracto de <i>L. origanoides</i> para diferentes capacidades (metodología Turton).	52
<i>Figura 8.</i> Distribución de costos que componen el COM del extracto de <i>L. origanoides</i> para diferentes capacidades (metodología Shariaty-Niassar).	52

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. <i>Órdenes de magnitud de las propiedades físicas de solventes en diferentes estados [29].</i>	24
Tabla 2. <i>Condiciones de operación para análisis de reproducibilidad usando L. origanoides quim. Carvacrol como MV.</i>	34
Tabla 3. <i>Rangos de normalización de las variables independientes.</i>	35
Tabla 4. <i>Número de operadores usados por equipo según su capacidad.</i>	37
Tabla 5. <i>Resultados de las pruebas de reproducibilidad con respecto a la concentración total de flavonoides.</i>	39
Tabla 6. <i>Resultados de la optimización simplex para L. origanoides Quim. Carvacrol.</i>	40
Tabla 7. <i>Resultados de la optimización simplex para L. graveolens.</i>	46
Tabla 8. <i>Condiciones de extracción para las unidades SFE según su capacidad.</i>	49

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice A. Datos complementarios a la optimización	71
Apéndice B. Datos complementarios al análisis del COM	78

RESUMEN

TITULO: Análisis de prefactibilidad de la extracción de antioxidantes con CO₂ supercrítico a partir de especies de *Lippia*.*

AUTORES: Andrea Gómez Fernández.

Giocarlo Vásquez Giraldo. **

PALABRAS CLAVE: Fluido supercrítico, extracción, productos naturales, antioxidantes, simplex, prefactibilidad.

La creciente demanda de productos y alimentos con antioxidantes de origen natural, ha impulsado la investigación sobre la extracción de compuestos activos a partir de la biodiversidad, unas de las plantas promisorias correspondientes al género *Lippia*, que han sido ampliamente estudiadas debido a su gran variedad de actividades biológicas, las cuales pueden ser aplicables en las industrias farmacéutica y cosmética, una de estas actividades es la antioxidante; para la obtención de los extractos de estas plantas se utiliza la extracción con CO₂ supercrítico, pero esta tecnología no está implementada a escala industrial en Latinoamérica. Se realizó el análisis de prefactibilidad a la obtención extractos de las especies *L. origanoides*, carvacrol y *L. graveolens* usando CO₂ supercrítico, para determinar las condiciones de operación que favorecen el rendimiento de extracción y la concentración de flavonoides se realizó una optimización simplex. La máxima respuesta combinada para el extracto de *L. origanoides* carvacrol fue de 1,24% en rendimiento y 120,6 mg de flavonoides/g de extracto, obtenidas a unas condiciones de P (379 bar), F (54,6 g/min), t (2,1 horas), E (9,8%); el análisis de prefactibilidad para la obtención de compuestos antioxidantes a partir de *L. origanoides* carvacrol concluye como favorable con una escala mínima de operación de 0,2 m³: y un costo de fabricación del extracto de 147 \$USD/kg. La extracción de compuestos antioxidantes a partir de *L. graveolens* no se justifica debido a que su concentración es baja comparada con otras plantas de *Lippia*

*Proyecto de Grado.

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Jairo René Martínez. Codirector: Anderson Julián Arias.

ABSTRACT

TITLE: Prefeasibility analysis from antioxidants extraction using supercritical CO₂ method on *Lippia* species*

AUTHORS: Andrea Gómez Fernández.

Giocarlo Vásquez Giraldo. **

KEYWORDS: Supercritical fluid, extraction, natural products, antioxidants, simplex, prefeasibility.

The growing demand on food and products with natural antioxidants, has boost research about the extraction of active composites from biodiversity, one of the most promissory plants is from *Lippia* gender, which has been widely studied due to its great variety of biological activity, these activities can be used in pharmaceutical and cosmetic industry, one of this activities is the antioxidant one; To extract antioxidants from this plants, is used the supercritical CO₂ method, but this technology is not implemented at industrial level in Latin America. A prefeasibility analysis has been done with extracts from species *L. origanoides*, carvacrol y *L. graveolens* using supercritical CO₂ method, to decide the operation conditions which are most convenient for the performance of extraction and concentration of flavonoids it has been done a simplex optimization. The better answer for *L. origanoides* carvacrol extract was 1,24% in performance y 120,6 mg on flavonoids/g from extract, obtained in the following conditions of pressure (379 bar), F (54,6 g/min), t (2,1 horas), E (9,8%); prefeasibility analysis for the extraction of antioxidant compounds from *L. origanoides* carvacrol has a favorable conclusion with a minimal scale of operation of 0,2 m³ and a production cost of the extract of 147 \$USD/kg. The extraction of antioxidant compounds from *L. graveolens* is not profitable because its concentration is lower in comparison with other *Lippia* species

*Bachelor thesis.

**Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Jairo René Martínez. Codirector: Anderson Julián Arias.

Introducción

La creciente demanda de productos y alimentos con antioxidantes de origen natural, ha impulsado la investigación sobre la extracción de compuestos activos a partir de la biodiversidad [1]. Diferentes entidades en Colombia han identificado en el sector cosmético y de productos de aseo un mercado potencial que va en aumento. Según PROCOLOMBIA, Colombia es un polo de producción y un destacado HUB logístico¹ en América [2]. El mercado del sector cosmético y de productos de aseo en Colombia ha ido en aumento, al pasar de \$ 2.793.000.000 USD en ventas el 2009 a \$ 3.952.000.000 USD en el 2015, con una proyección para 2019 de \$ 4.735.000.000 USD. En el mismo informe se discuten las nuevas oportunidades de inversión, donde la investigación, desarrollo e innovación (I+D+i) van enfocadas a implementar ingredientes naturales aprovechando la biodiversidad presente en el territorio nacional [2].

Una de las técnicas más versátiles y recientes para obtener compuestos naturales es la extracción con CO₂ supercrítico (CO₂-SE, por sus siglas en inglés), ya que este proceso aprovecha la selectividad del solvente cuando las condiciones termodinámicas superan su temperatura y presión críticas [3], además los tiempos de extracción son menores que otros métodos convencionales de extracción [4]. Actualmente se conocen, entre otras, tres aplicaciones de esta técnica (la extracción de lúpulo, la descafeinización del café y la extracción de la lecitina a partir de la soya), todas, podría decirse, son aplicaciones agroindustriales. En Latinoamérica esta tecnología aún se encuentra en etapa de desarrollo y uno de sus enfoques más relevantes

¹ El Hub logístico es un centro de distribución unimodal que permite a los clientes reducir los costes de gestión y aumentar la rapidez de circulación de las mercancías.

tiene que ver con la aplicación agroindustrial, puesto que existen grupos de investigación a lo largo del continente dedicados al estudio de la extracción de compuestos bioactivos usando CO₂ supercrítico, con el propósito de generar valor agregado a materias primas conocidas y material vegetal promisorio obtenido a partir de la biodiversidad [5].

Para poder desarrollar completamente esta técnica y dar el paso hacia su implementación industrial, se hace necesario estudiar entre otras cosas, el escalamiento del proceso y realizar análisis de la inversión requerida. Una de las metodologías empleadas con frecuencia en etapas tempranas de desarrollo de proyectos de ingeniería es el análisis de prefactibilidad. Este análisis es relevante en cuanto que proporciona información sobre la conveniencia técnica y económica del proyecto [6]. Es por esta razón que el objetivo de este trabajo fue realizar el análisis de prefactibilidad al proceso de extracción de flavonoides (unas moléculas con importante actividad biológica) usando CO₂ supercrítico, con el fin de contribuir al desarrollo del sector económico de productos naturales del país, mediante la generación de conocimiento necesario para su crecimiento.

En este trabajo se plantea usar dos especies vegetales como caso de estudio. La primera especie es *Lippia origanoides* (orégano de monte) que se encuentra ampliamente distribuida en el departamento de Santander (zona del Cañón del Chicamocha) y es una planta promisorio debido a su uso en la medicina tradicional por sus efectos antiinflamatorio, antioxidante y citotóxicos [7,8]. La segunda planta es la *Lippia graveolens* (orégano mexicano), que es utilizada en la medicina tradicional de los países tropicales de centro y sur América, principalmente en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales y respiratorias [9]. En ambas plantas, muy parecidas entre sí, se han identificado compuestos fenólicos (flavonoides) con alta capacidad antioxidante y funcionalidad en productos cosméticos [10,11].

1. Planteamiento del problema

Colombia es reconocida por tener gran biodiversidad vegetal, muchas de las plantas son usadas en la medicina tradicional para desarrollar tratamientos ante afecciones comunes, pero del total de las especies vegetales nativas de Colombia (1.656 especies) sólo el 12,5% han sido reportadas por su uso terapéutico tradicional [12]. Es por eso que en los últimos años se ha incrementado el estudio sobre los compuestos activos presentes en las plantas aromáticas y medicinales de Colombia. Esto con el fin de fortalecer un nuevo sector económico basado en la obtención de productos naturales para las industrias cosmética, farmacéutica y de alimentos, aprovechando esta ventaja comparativa frente a otros países de la región.

Para incursionar en cualquier industria es necesario demostrar que la inversión a realizar va a generar rentabilidad. Es por esto que un análisis de prefactibilidad es importante, pues proporciona información sobre la conveniencia de tecnología a implementar, además de estimar los ingresos, gastos, y la inversión necesaria para ejecutar el proyecto [6]. Una de las tecnologías con la que se pueden obtener ingredientes para las industrias cosméticas, farmacéutica y de alimentos es la extracción de compuestos antioxidantes utilizando CO₂ supercrítico [13]. Puesto que es una tecnología reciente, con bajo impacto ambiental y una eficiencia mejorada frente a metodologías convencionales [14], aún existe poco estudio en lo referente a su escalamiento y el impacto económico que podría generar, razón por la cual se ha obstaculizado su implementación en Latinoamérica.

Con el fin de avanzar en el escalamiento y contribuir al desarrollo de la creciente industria de productos naturales, el propósito de este trabajo fue realizar un análisis de prefactibilidad al

proceso de extracción con CO₂ supercrítico de flavonoides a partir de las plantas *Lippia graveolens* y *Lippia origanoides*. Los flavonoides son compuestos antioxidantes que previenen el daño celular oxidativo producido por radicales libres y por la generación de compuestos reactivos del oxígeno [15,16]. Estudios realizados han demostrado que los extractos del género *Lippia* (especies de estudio) tienen capacidad antioxidante debida a la presencia de flavonoides [17].

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

- Realizar el análisis de prefactibilidad inicial del proceso de extracción con CO₂ supercrítico de flavonoides a partir de las plantas *Lippia graveolens* y *Lippia origanoides*.

2.2 Objetivos específicos

- Utilizar una optimización determinística simplex para encontrar las mejores condiciones de operación para la extracción de flavonoides con CO₂ supercrítico a partir de plantas del género *Lippia*.
- Determinar los costos de fabricación (COM) asociados al proceso de extracción supercrítica de flavonoides a diferentes escalas de proceso, utilizando diferentes

metodologías de estimación, con el fin de determinar la prefactibilidad económica del proceso.

- Determinar la influencia de los costos directos, indirectos y fijos en el costo de fabricación a diferentes escalas del proceso para establecer la escala mínima de operación rentable.

3. Marco Teórico

3.1 Análisis de prefactibilidad

El análisis de prefactibilidad de un proyecto se basa principalmente en información de fuentes secundarias para estimar las inversiones probables, los costos de operación y los ingresos que demandará y generará el proyecto. Este estudio se caracteriza fundamentalmente por descartar soluciones con mayores elementos de juicio. Para ello se profundizan los aspectos señalados preliminarmente como críticos por el estudio de perfil, aunque esto sigue siendo una investigación basada en información secundaria (no demostrativa) [6].

Los resultados del análisis de prefactibilidad son la recomendación de aprobación, su continuación a niveles más profundos de estudios, su abandono o su postergación hasta que se cumplan determinadas condiciones (técnicas, económicas, sociales o ambientales). [6].

La industria de extracción supercrítica en Latinoamérica es inexistente, debido a que su implementación se asocia con altos costos de inversión. A su vez existen muy pocos estudios que determinen el escalamiento de este tipo de procesos usando especies vegetales endémicas [18], a

pesar de que se ha demostrado que su implementación a escala industrial podría llegar a ser favorable [19], debido a que los tiempos de retorno son cortos comparados con los de otras tecnologías de extracción.

3.1.1 Estimación de costo de inversión (FCI). El costo de inversión (costo de equipos, infraestructura, etc.) es un factor decisivo en la implementación de la tecnología supercrítica, debido a que estos procesos están asociados con altos valores, tanto que el costo de la unidad extractora representa el 70 - 85 % de la inversión total de una planta.

Algunas metodologías de estimación de costos de inversión son basadas en las relaciones entre los costos de las unidades a diferentes escalas. Turton *et al.* [20], por ejemplo, propusieron una metodología para estimar el costo de un equipo a partir del precio de un equipo conocido de diferente capacidad (**ecuación 1**).

$$\frac{C_2}{C_1} = \left(\frac{A_2}{A_1}\right)^n \quad (1)$$

Donde A es el atributo usado (generalmente es la capacidad), C es el costo del equipo, los números 1 y 2 hacen referencia al equipo conocido y al equipo requerido respectivamente, y n es el exponente de costo que para unidades de alta presión se encuentra en valores cercanos a 0,6.

Por otro lado, Shariaty - Niassar *et al.* [21] utilizaron la correlación índices de precios de Perrut (PI) para estimar los costos fijos de los equipos SFE basados en el precio de un equipo a pequeña escala, lo que dio como resultado la expresión dada en la **ecuación 2**.

$$\frac{C_2}{C_1} = \left(\frac{V_2 Q_2}{V_1 Q_1}\right)^{0,24} \quad (2)$$

Donde V es el volumen total del extractor y Q es el caudal del solvente

3.1.2 Análisis de costo de fabricación (COM). Los costos de fabricación son los costos asociados con la operación diaria de la planta. Estos costos pueden ser determinados como la

suma de los costos directos (DMC), costos fijos (indirectos) (FMC), y los gastos generales (GE) (**ecuación 3**) [21, 22].

$$COM = DMC + FMC + GE \quad (3)$$

Los costos directos de fabricación se componen de los gastos que varían con la tasa de producción; en esta categoría se incluyen los costos correspondientes a la materia prima, mano de obra, servicios industriales y tratamiento de residuos. Los costos fijos están relacionados con la depreciación, los impuestos y los seguros; estos costos no dependen directamente de la tasa de producción, y deben ser considerados incluso si el proceso se detiene. Estos costos se dan en relación al costo de inversión. Para el caso de los impuestos y seguros estos no superan el 3% del FCI, y para la depreciación se estipula entre 10-15% del FCI [22]. Los gastos generales hacen referencia a los costos administrativos, de ventas e investigación y desarrollo.

Prado [23] desarrolló un método sencillo para la estimación de los costos de fabricación (COM) de extractos por fluidos supercríticos, y lo aplicó a la producción de extracto de clavo de olor. El COM se estimó en términos de cinco costos principales: materia prima (CRM), mano de obra (COL), servicios industriales (utilidad) (CUT), tratamiento de residuos (CWT), e inversión (FCI). Estos términos se expresan en la **ecuación 4** propuesta por Turton *et al.* [20]:

$$COM = 0,304 FCI + 2,73 COL + 1,23 * (CUT + CWT + CRM) \quad (4)$$

Donde el CRM se considera el costo de la materia prima (siembra, mantenimiento y cosecha), el costo del pretratamiento (secado, molienda, limpieza y clasificación) y el costo de CO₂ que se debe adicionar por pérdidas del sistema, el CWT representa el costo del tratamiento de residuos que son catalogados como nocivos ambientalmente por la ley. El CUT estima el costo de la energía involucrada en el ciclo del CO₂ (bombas e intercambiadores de calor); en el COL se debe hacer una estimación en costo de hora-persona por hora de operación, y la FCI está dada por la estimación del costo (**ecuación 1**) total del equipo multiplicado por la depreciación anual.

Shariaty-Niassar *et al.* [21] realizaron otra metodología de estimación de costos donde consideraron que los costos directos eran la suma de los costos de materia prima, mano de obra y servicios públicos. Los costos fijos sumaban el 14% del FCI (seguros 1%, mantenimiento 2%, impuestos 1%, depreciación 10%) y los gastos generales eran el 5% del FCI.

3.2 Género *Lippia*.

El género *Lippia* está constituido por cerca de 200 especies, entre ellas hierbas y arbustos, que se encuentran distribuidas principalmente en América Central, América del Sur y África tropical. Son especies de interés económico, por sus diversos usos, como fuentes de aceites y extractos con propiedades antimicrobianas, larvicida, insecticida, antibacterial, antifúngica y antioxidante, entre otras [24]. En los últimos años, las investigaciones de especies del género *Lippia* se han enfocado en el análisis de compuestos fenólicos de extractos vegetales [17].

3.2.1 *Lippia organoides*. Es un arbusto de 1 a 3,5 m de altura muy ramificado, con hojas ovaladas y flores pequeñas, muy aromáticas. Conocida comúnmente como “Orégano de monte” o “Orégano cimarrón”, en Colombia puede ser encontrada en los departamentos de la Guajira, Magdalena, Norte de Santander, Santander, Cundinamarca y Cauca. Esta planta tiene tres quimiotipos identificados (timol, carvacrol y felandreno) [6]. Es usada en la medicina tradicional para aliviar problemas gastrointestinales y respiratorios [24]. Del extracto de esta planta se ha reportado actividad antioxidante, antimicrobiana, antimalárica y antígenotóxica [17].

3.2.2 *Lippia graveolens*. Conocida como orégano mexicano, es un arbusto aromático originario de Centroamérica y norte de Suramérica. En la medicina tradicional, las partes aéreas

de la planta se usan como antiséptico, antipirético, analgésico, abortivo, antiespasmódico, antiinflamatorio y para el tratamiento de trastornos menstruales y diabetes [24]. Los extractos de esta planta presentaron alta capacidad antioxidante y actividad antimutagénica [25].

3.3 Flavonoides.

Son pigmentos naturales presentes en las plantas, compuestos de dos anillos fenilos ligados mediante un anillo pirano [26]. Se ha reportado gran actividad biológica de los flavonoides, una de ella es la capacidad antioxidante. Esto es debido a la capacidad de óxido-reducción de los grupos hidrofénólicos que están en su estructura [27]. En el trabajo realizado por Stashenko *et al.* [17], se identificaron cinco flavonoides presentes en los extractos hidroalcohólicos y obtenidos con CO₂ de las especies *L. origanoides* y *L. graveolens*: apigenina, luteonina, naringenina, pinocembrina y quercetina.

3.4 Fluidos supercríticos.

Cuando una sustancia pura se encuentra en una condición termodinámica (presión y temperatura) por encima del punto crítico, se dice que se comporta como un fluido supercrítico. En esta región la sustancia se comporta como líquido y gas al mismo tiempo, en esta condición la sustancia adquiere una mayor capacidad solvente y grandes variaciones en las propiedades del solvente se ven representados por pequeños cambios de presión y temperatura, esto hace que el solvente se comporte selectivamente en los procesos de extracción [28]. En la **tabla 1** se muestra la diferencia de magnitudes en las propiedades físicas del fluido supercrítico, el líquido y el gas.

Tabla 1.

Órdenes de magnitud de las propiedades físicas de solventes en diferentes estados [29].

Propiedad física	Estado		
	Gas	Fluido supercrítico	Líquido
Densidad, ρ (g/cm ³)	10 ⁻³	0,3	1
Viscosidad, η (g/cm*s)	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻²
Difusividad, D (cm ² /s)	10 ⁻¹	10 ⁻³	5*10 ⁻⁶

3.5 Extracción con CO₂ supercrítico (CO₂-SE).

3.5.1 Dióxido de carbono, CO₂. El dióxido de carbono es un compuesto adecuado como solvente en procesos de extracción debido a que es inerte, inodoro, no tóxico y considerado como seguro [29]. En condiciones ambientales el CO₂ se encuentra en estado gaseoso, por lo que permite una fácil separación después de la extracción. Sus condiciones críticas son relativamente bajas (73,8 bar y 31,1 °C).

La naturaleza apolar del CO₂, hace que el proceso de extracción se limite a obtener compuestos no polares o con ligera polaridad [29]. En ocasiones, se hace necesario el uso de modificadores de polaridad (co-solvente), con el propósito de extraer sustancias con mayor polaridad como los antioxidantes, la adición de estos compuestos facilita la disolución en la extracción [30].

Cuando el CO₂ se encuentra en estado supercrítico, pequeñas variaciones de presión y temperatura generan grandes variaciones en la densidad. En la región cercana al punto crítico, la densidad se incrementa directamente con la presión e inversamente con la temperatura. La variación de la densidad debida a la presión es mucho menor con respecto a la que ocurre con la temperatura [31].

3.5.2 Proceso de extracción. El proceso de extracción se da en tres etapas:

- Acondicionamiento del solvente.
- Extracción de los metabolitos.
- Separación y colección.

Acondicionamiento del solvente: El CO₂ ingresa en condiciones de líquido saturado a una temperatura y presión de 4 °C y 57 bares aproximadamente. Al fluido se le incrementa la presión y temperatura hasta las condiciones de operación que superan las condiciones críticas (73 bares y 31 °C).

Extracción de metabolitos: El CO₂ supercrítico ingresa en la cámara de extracción donde entra en contacto con la matriz vegetal y según las condiciones de extracción el CO₂ solubiliza diferentes compuestos (extracción selectiva). La extracción se divide en tres fases, dependiendo de la velocidad de agotamiento del soluto en la matriz. La primera fase es de extracción constante, gobernada por la convección forzada. La segunda es una fase de transición donde la velocidad de extracción decrece, y en la última etapa la difusión es la encargada de realizar todo el proceso de extracción, lo que implica que la velocidad de extracción cae drásticamente hasta agotar totalmente la matriz [32].

Separación y colección: el fluido con el extracto disuelto pasa a una cámara de colección donde se varían la presión y la temperatura con el fin modificar la solubilidad del CO₂, para producir una precipitación del extracto.

3.5.3 Efecto de las variables de extracción.

- **Presión y temperatura.**

La presión y la temperatura son variables de gran influencia en la extracción. Según Reverchon [10], la presión define la selectividad de la extracción; a mayor presión mayor poder solvente pero menor es la selectividad de la extracción. Gopalakrishnan *et al.* [33] demostraron la afirmación realizada por Reverchon, al encontrar que el rendimiento de extracción de compuestos no volátiles del jazmín a presiones de 100 y 500 bar fue de 4,5 y 9,5% respectivamente. La temperatura también influye en la selectividad de la extracción, las temperaturas más usadas en la extracción de compuestos fenólicos a partir de matrices vegetales están entre 40 y 60°C [33, 34].

- **Flujo de solvente.**

El flujo apropiado de solvente depende de la naturaleza del sistema, geometría del extractor, además de la presión y la temperatura [35]. Si el flujo es grande, no hay tiempo de residencia suficiente para saturar el solvente y no deja actuar a la difusión, y si el flujo es muy bajo el fenómeno de dispersión axial aumenta, lo que disminuye el rendimiento total de extracción [36].

- **Tiempo de extracción.**

Según Reverchon y de Marco [10], el tiempo de extracción se relaciona con el flujo de solvente, el tamaño y porosidad de partícula, ya que el rendimiento depende del tiempo que tenga el fluido para interactuar con la matriz vegetal. Estudios de extracción de romero, salvia y hojas

de guayaba han encontrado que en un lapso de aproximadamente dos horas se obtiene más del 50% del extracto total contenido en la matriz [37].

- **Co-solvente.**

Se sabe que la solubilidad de las sustancias polares en CO₂-SE, es muy bajo debido a que el CO₂ es de naturaleza apolar; sin embargo, si se añade una pequeña cantidad de co-solvente polar, la solubilidad de los solutos polares puede aumentar significativamente. El co-solvente se puede seleccionar para interactuar fuertemente con los solutos de interés y facilitar su extracción. El metanol y el etanol son dos co-solventes muy utilizados en CO₂-SE gracias a que generan puentes de hidrógeno e interacciones dipolo-dipolo con fenoles [38]. El uso del metanol es restrictivo por su alta toxicidad [30].

3.6 Reproducibilidad.

En la optimización de un proceso es importante el efecto del error experimental en la variación del observable. El estudio de reproducibilidad en experimentos consiste en realizar pruebas a las mismas condiciones, con el fin de determinar el coeficiente de variación (CV) en la respuesta dada por las variables que no se tienen en cuenta en la optimización, como son: el efecto de la matriz de extracción y el error de los instrumentos de medición. Para la extracción CO₂-SE, un valor de CV superior de 12% hace referencia a que algunas variables que no se controlan y afectan significativamente la respuesta. [39,40].

3.7 Optimización simplex.

Un simplex es un polígono de $n+1$ vértices en un espacio n -dimensional, donde n es el número de variables presentes en el sistema [41]. Se calcula el punto central del polígono (centroide) y se hace una reflexión, expansión o contracción sobre la recta que hay entre el centroide y el peor vértice, para generar un nuevo polígono de acuerdo con el paso [42]. Esto se hace las veces que sea necesario hasta que la respuesta no mejore más. Este método, es fácil de implementar. Sin embargo, se dice que converge más lentamente que otros métodos de optimización, debido a que requiere mayor número de iteraciones [42].

La optimización simplex se ha aplicado a una gran cantidad de problemas de optimización de índole teórico y con aplicabilidad industrial, por ejemplo: problemas de optimización y diseños ingenieriles [43]. Tinoi *et al.* [44], Martínez *et al.* [45], Sun *et al.* [46], son algunos de los autores que han usado este método para conseguir valores óptimos en extracciones vegetales.

3.8 Espectrofotometría UV-vis.

La espectrofotometría UV-vis es uno de los métodos de análisis químico más usados en química analítica, debido a que los instrumentos se consiguen con facilidad y su manejo es muy sencillo. Este método se basa en la relación entre la radiación electromagnética absorbida (sea UV o visible) por una solución y la concentración de una sustancia (analito) en la solución (ley de Beer) [47].

La radiación UV se extiende en el espectro electromagnético en el rango de 10-380 nm, si bien la región más útil para el análisis comprende los 200 - 380 nm, ya que el aire absorbe la radiación de menos de 200 nm (UV del vacío). La región visible abarca desde UV cercano (380 nm) hasta

el infrarrojo cercano (780 nm). El rango de longitudes de onda que absorben los compuestos fenólicos esta entre 200-470 nm [47].

La ley de Beer dice que la radiación incidente, con una potencia P_0 , atraviesa una solución de una sustancia absorbente con concentración C recorriendo una trayectoria L (longitud de la celda donde está la muestra); de aquí sale como radiación emergente (o transmitida) con una potencia P . La relación entre las potencias (absorbancia) y la concentración está dada por la **ecuación 5**.

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = k l C \quad (5)$$

Donde A es la absorbancia, T es la transmitancia, k es índice de absorbancia (absortividad).

3.9 Calibración multivariada.

La calibración multivariada es una metodología que sirve para la obtención de información cuantitativa a partir de datos de múltiples variables [48]. Si se tiene el espectro de una muestra con concentración desconocida, pero se conocen sus compuestos, es posible relacionar la concentración de estos compuestos con la absorbancia obtenida de la muestra según la **ecuación 6** [49].

$$R = C * S \quad (6)$$

Donde \mathbf{R} es la matriz generada por las absorbancias medidas de la muestra, \mathbf{C} es la matriz de concentraciones de los compuestos en la muestra y \mathbf{S} es la matriz del factor espectral medido para cada patrón de dichos compuestos. La predicción de la concentración en la muestra se puede calcular mediante la siguiente ecuación:

$$C = (S'S)^{-1}S'R \quad (7)$$

Donde \mathbf{S}' es la matriz transpuesta de \mathbf{S} .

3.10 Regresión múltiple y modelamiento.

El análisis de regresión tiene como objetivo modelar en forma matemática el comportamiento de una variable de respuesta en función de una o más variables independientes (factores). Dichos modelos pueden ser usados para propósitos de predicción, optimización o control. Para estimar los parámetros de un modelo de regresión son necesarios experimentos planeados [50].

Sean X_1, X_2, \dots, X_k variables independientes o regresoras, y sea Y una variable de respuesta; entonces, el modelo de regresión lineal múltiple con k variables independientes es el polinomio de primer orden (**ecuación 8**):

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k + \varepsilon \quad (8)$$

Donde β_j $j: 1, 2, \dots, k$ son los coeficientes de regresión. Este modelo describe a un hiperplano en el espacio de k dimensiones de las variables regresoras X_j . El parámetro β_j representa el cambio esperado en la respuesta por cambio unitario de X_j . La **ecuación 9** se puede escribir en forma matricial [51].

$$Y = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix} \quad X = \begin{bmatrix} 1 & x_{21} & x_{31} & \dots & x_{k1} \\ 1 & x_{22} & x_{32} & \dots & x_{k2} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 1 & x_{2n} & x_{3n} & \dots & x_{kn} \end{bmatrix} \quad \beta = \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \\ \vdots \\ \beta_k \end{bmatrix} \quad \varepsilon = \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \vdots \\ \varepsilon_n \end{bmatrix}$$

$$Y = X\beta + \varepsilon \quad (9)$$

Para la obtención de los coeficientes de regresión, se realiza una estimación por mínimos cuadrados mediante operaciones matriciales (**ecuación 10**) [51].

$$\hat{\beta} = [X'X]^{-1}X'Y \quad (10)$$

4. Metodología

4.1 Acondicionamiento de materia prima.

El material vegetal (MV) fue colectado de una parcela experimental de 100 m² (26 kg), ubicada en la Universidad Industrial de Santander. Después de colectado se realizó una reducción de tamaño a 2 cm en la picadora de material vegetal PE800 (Penagos, Girón, Colombia), posterior a eso se realizó la destilación por arrastre con vapor del MV en el equipo piloto de 0,1 m³ ubicado en el complejo CENVAM, a una presión de operación de 40 psi y un flujo de condensado de 200 mL/min. Posterior al destilado el MV fue secado a la sombra en los viveros del complejo. Una vez seco se realizó a una segunda reducción de tamaño en el molino de corte SM100 (RETSCH, Haan, Alemania). El MV fue reducido a un tamaño de 2 mm con el fin de aumentar el área de contacto entre el soluto y el solvente, se obtuvieron aproximadamente 15 kg de cada especie vegetal.

El MV fue almacenado en dos recipientes plásticos (uno para cada especie) recubiertos de aluminio, para evitar la contaminación del mismo. Los recipientes estuvieron en un ambiente controlado a una temperatura entre 22 y 26 °C, con una humedad entre 8 y 12%.

4.2 Extracción con fluido supercrítico.

El equipo de extracción con fluido supercrítico a escala piloto-laboratorio SFE 2000 (*Thar Technology, Pittsburgh, EEUU.*) modificado, fue usado para realizar las extracciones. El equipo cuenta con dos cámaras de extracción cilíndricas de 0,42 m de alto y diámetro interno de 0,076 m

para un volumen de 0,002 m³. Las cámaras de extracción están conectadas a dos colectores en serie, cada uno con una capacidad de 5*10⁻⁴ m³. Todas las cámaras y colectores cuentan con control de temperatura y presión. La válvula de aguja automática de estrangulamiento (ABPR, *Automated back pressure regulator*) controla la presión de extracción. La **figura 1** muestra el diagrama de proceso de extracción SFE.

En cada extracción se cargaron aproximadamente 500 g de MV en una canasta de malla metálica con un volumen de 0,00178 m³, con una densidad aparente de 280 kg/m³. El CO₂ tomado de cilindros de 25 kg con un grado de pureza de 95,5% (PRAXAIR, Oxígenos de Colombia), fue enfriado a 3 °C y por medio de una bomba de desplazamiento positivo (Thar P200), fue comprimido hasta llegar a la presión de operación. Una vez presurizado fue calentado hasta la temperatura de operación. Alcanzadas las condiciones de operación la ABPR reguló el paso de CO₂ a los colectores los cuales se mantuvieron a una presión de 50 bares. El CO₂ al final del proceso fue liberado al ambiente en estado gaseoso. Después de terminar la extracción se despresurizó el sistema, se retiró el MV ya extraído y se colectó el extracto.

El extracto obtenido estaba mezclado con etanol (co-solvente), por lo que fue necesario realizar un proceso de concentración a presión reducida (200 mbar), usando un rotoevaporador Büchi R Style (*BÜCHI Labortechnik AG*, Flawil, Suiza) y corriente de nitrógeno.

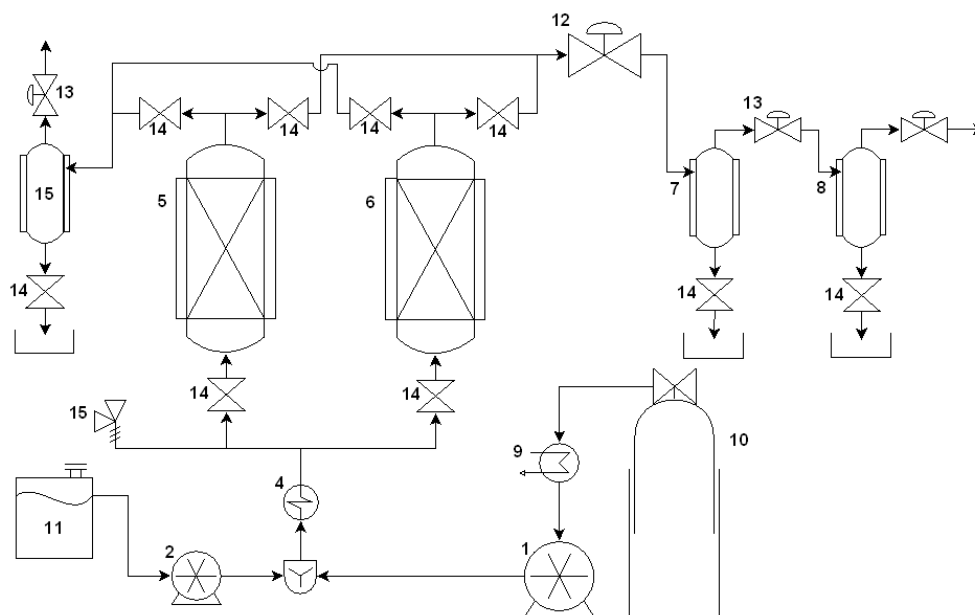


Figura 1. Diagrama del proceso CO₂-SE.

1. Bomba de CO₂ 2. Bomba de co-solvente 3. Mezclador 4. Intercambiador de calor 5. Extractor I 6. Extractor II 7. Colector I 8. Colector II 9. Intercambiador de calor 10. Cilindro CO₂ 11. Tanque de cosolvente 12. ABPR 13. Válvula reguladora de presión manual 14. Válvulas de aguja 15. Colector de despresurización.

Una vez colectado y concentrado, el extracto fue almacenado en frascos ámbar a una temperatura de 4 °C para evitar su degradación.

4.3 Análisis de reproducibilidad y optimización simplex.

Para el análisis de reproducibilidad se realizaron experimentos a dos condiciones totalmente diferentes (ver **tabla 2**) y tres réplicas (n=3), el MV fue *L. organoides* quim. Carvacrol, para conocer el error experimental del observable.

En el trabajo realizado por Castiblanco [52], se encontró que las variables que tienen influencia significativa en la extracción de flavonoides a partir de *L. organoides* quim. Timol

son: la presión, el flujo, el tiempo y el porcentaje de co-solvente. En el mismo trabajo se realizó la optimización simplex de las condiciones de extracción con CO₂ supercrítico de *L. origanoides* quim. Timol, realizando un total de 20 experimentos, y se concluyó que la extracción realizada a una presión de 400 bar, un flujo de solvente de 50 g/min y un porcentaje de etanol del 10% en un tiempo de extracción de 2 horas conseguiría el mejor rendimiento de extracción.

A partir de esta información, se realizó una optimización determinística simplex con las cuatro variables para cada una de las especies vegetales, con tamaño de paso variable el cual determinó si se realizaba reflexión, contracción o expansión.

Tabla 2.

Condiciones de operación para análisis de reproducibilidad usando L. origanoides quim. Carvacrol como MV.

N°	Presión [bar]	Temperatura [°C]	Cosolvente [%]	Tiempo [h]
1	323	50,5	8	1,5
2	398	36,5	13,5	2,25

4.4 Espectrofotometría UV-Vis.

Se tomó una muestra del extracto (10 mg) que fue diluida en metanol grado analítico (1 mL). De la solución obtenida se tomó una alícuota (125 µL) para ser diluida en metanol (5 mL). La solución fue analizada en un espectrofotómetro UV-Vis *Perkin Elmer* Lambda 10. La velocidad de lectura se estableció en 240 nm/min, un suavizado de 6 y el rango de longitudes de onda de lectura fue entre 200 y 500 nm.

4.5 Modelamiento y validación.

Inicialmente se realizó la normalización de los datos (ver **tabla 3**). Para la obtención de los modelos se utilizaron *Microsoft Office Excel* y *Statgraphics Centurion XV* (versión de prueba). Se utilizó el método de validación cruzada dejando uno por fuera, LOO (*leave One Out*), donde se escogió el mejor ajuste a partir de los parámetros de RMSEC, R², R²_{adj} y la diferencia entre el valor predicho y el experimental.

Tabla 3.

Rangos de normalización de las variables independientes.

	0	1
Presión [bar]	200	500
Flujo [g/min]	20	70
Cosolvente [%]	5	15
Tiempo [h]	1	3

4.6 Análisis de costo de fabricación (COM).

El análisis de costos se realizó bajo las metodologías expuestas por Prado [47] (**ecuación 4**) y Shariaty-Niassar *et al.* [21], con la finalidad de comparar los resultados. Para la estimación del costo de inversión (FCI) se usaron las dos metodologías mostradas en la sección **4.1.1**. La unidad THAR SFE 2000 modificada ubicada en el complejo CENIVAM, la cual está valorada en \$86.000 USD, se tomó como base para la estimación. Tiene una capacidad de 0,002 m³, y el flujo de operación está dado por las condiciones óptimas de extracción que se determinaron experimentalmente de acuerdo con la metodología de optimización expuesta en la sección anterior.

El costo de materia prima (CRM) fue calculado a partir de la **ecuación 11**, que involucra la cantidad de MV utilizado y las pérdidas de solventes. En el precio del material vegetal (P_{MV}) se tomaron dos casos: 1) incluyendo costos de cultivo (\$140 USD/Ton), 2) como producto de desecho de la destilación (\$35 USD/Ton). En ambos casos se incluyeron los costos del pretratamiento (secado y molienda). El costo del CO₂ (P_{CO_2}) fue de \$1,41 USD/kg (Praxair Oxígenos de Colombia, 2015) y el de etanol (P_s) fue de \$2,61 USD/kg.

$$CRM = V_E \rho_B \frac{W}{t_B} P_{MV} + W_h W_d (f_{CO_2} I_{CO_2} P_{CO_2} + f_s I_s P_s) \quad (11)$$

El costo de mano de obra (COL) (**ecuación 12**) considera el número de operadores de acuerdo al tamaño del equipo [50] (ver **tabla 4**) y el costo operario/hora (P_w) (\$3 USD/h [53]). El cálculo del costo de utilidad (CUT, o servicios industriales) (**ecuación 13**), Utilizó el programa SuperPro Designer V.10 (versión de prueba) para estimar la energía necesaria para la operación (bombas, calentamiento, compresor, refrigeración). El precio de la energía eléctrica (P_E) fue de \$0,13 USD/kWh (electrificadora de Santander, 2017). El costo de manejo de residuos se consideró inexistente ya que estos residuos pueden usarse como abono orgánico o sub producto de la operación.

$$COL = N_w W P_w \quad (12)$$

$$CUT = (P_E P_O + m_s P_s + m_c P_c) W \quad (13)$$

Rosa y Meireles [18] observaron que mantener constantes el tamaño de partícula, la relación entre la masa del solvente (S), y la masa de material vegetal (F_{MV}), es posible obtener rendimientos a escala industrial como los obtenidos a escala laboratorio; este fue el criterio utilizado en el escalamiento para el análisis económico.

Tabla 4.

Número de operadores usados por equipo según su capacidad.

Capacidad de la Unidad SFE (m ³)	N° de Operadores
0,005	1
0,05	2
0,2	3
0,5	3
1	4

Las demás consideraciones fueron:

- El valor del dólar se instauró con el valor promedio entre enero y mayo de 2017 (\$1 USD= \$2.914 COP).
- La depreciación fue del 10%.
- Recirculación de CO₂ y cosolvente (anexo B).
- Las pérdidas de CO₂ y cosolvente en cada proceso son del 2% [23, 53].
- La densidad aparente del lecho se consideró igual a los datos experimentales (280 kg/m³).
- La unidad SFE operará 300 días/año, las 24 horas.
- El tiempo de carga y descarga es menor que el tiempo extracción (operación en “semi-continuo”).
- La unidad trabaja solo con electricidad (bombas, compresor, intercambiadores de calor).
- Las condiciones de extracción (presión, tiempo, relación S/F_{MV}, cosolvente) y el rendimiento fueron tomados del punto óptimo del simplex de *L. origanoides* quim. carvacrol.

5. Resultados y Análisis

5.1 Análisis de reproducibilidad.

Los valores de concentración de cada flavonoide, medidos por medio de la calibración multivariada utilizada, no fueron reproducibles para tres extracciones del mismo material vegetal y las mismas condiciones, véase **Tabla A1**. Sin embargo, para la concentración total de flavonoides, es decir la suma de cada uno de ellos por gramo de extracto, se obtuvieron valores de coeficiente de variación (CV) incluso inferiores a los reportados en la literatura, véase **tabla 5** [39,40]. Por esta razón la variable de respuesta u observable se definió cómo la concentración total de flavonoides por gramo de extracto.

Tabla 5.

Resultados de las pruebas de reproducibilidad con respecto a la concentración total de flavonoides.

Presión [bar]	Flujo [g/min]	% de etanol	Tiempo [h]	Obs. [mg/g]	Promedio [mg/g]	Desviación Estándar	CV
323	50,5	8	1,5	42,42	40,52	1,72	4,24
				39,07			
				40,07			
398	36,5	13,5	2,25	92,62	92,08	4,05	4,40
				95,83			
				87,78			

5.2 Optimización SIMPLEX.

Los cinco puntos iniciales del simplex para cada una de las especies se tomaron aleatoriamente a partir de los rangos óptimos de las variables para la optimización de *L. origanoides* quim. Timol [52] (P: 250-420 bar; F: 27-60 g/min; %: 5-11; t: 1-2 h). Los resultados de los experimentos realizados en las optimizaciones se muestran en las **tablas 6 y 7**, donde los valores sombreados pertenecen a los experimentos con mejor respuesta. Para la optimización el observable fue la concentración de flavonoides (mg/g de extracto) y en el caso de la *L. origanoides* Quim. Carvacrol paralelamente se relacionó el rendimiento de extracción con el fin de realizar el análisis económico.

5.2.1 *Lippia origanoides* Quim. Carvacrol. Se realizaron los 5 primeros puntos escogidos al azar. El primer punto eliminado fue el punto 1, se realizó una reflexión con un paso de 1 contraria a la dirección de ese punto. El tamaño de paso se mantuvo hasta el simplex N° 6 (punto 12)

donde se comenzaron a observar valores altos y cercanos de concentración, por lo que se disminuyó el paso a 0,5 (Contracción); este tamaño de paso se conservó hasta el simplex N° 9 (punto 14) donde los valores se mantuvieron cercanos, por lo que se realizó una extracción más con un paso de 1 con el fin de variar las condiciones de extracción (principalmente la presión). El resultado de esta extracción fue la obtención de un buen valor de concentración pero una disminución en el rendimiento de la extracción.

Para analizar el comportamiento de las condiciones de extracción y su aporte a la concentración como al rendimiento, se decidió dividir los resultados en tres grupos:

- Concentración (30, 50] [mg de flav / g de extracto]
- Concentración (50, 93] [mg de flav / g de extracto]
- Concentración [mg de flav / g de extracto] > 93

Tabla 6.

Resultados de la optimización simplex para L. origanoides Quim. Carvacrol.

Simplex	Condiciones de las extracciones				Concentración [mg/g extracto]	Rto. de extracción %	
	P [bar]	F [g/min]	%	t [h]			
1	323	50,5	8	1,5	-	1,01	
2	323	50,5	8	1,5	42,42	0,85	
3	350	27,0	11	1,5	42,54	1,39	
4	400	45,0	10	2	71,98	1,46	
5	300	50,0	5	1	40,60	0,85	
6	1	398	36,5	13,5	2,25	92,62	1,09
7	2	412,5	29,0	13,25	2,13	54,43	1,01
8	3	323	50,5	8	1,5	39,87	0,75
9	4	372	64,25	8,75	2,13	69,79	1,14
10	5	423,5	47,63	12,13	2,44	88,21	1,21

Simplex	Condiciones de las extracciones				Concentración	Rto. de extracción	
	P [bar]	F [g/min]	%	t [h]	[mg/g extracto]	%	
11	6	400,25	25,56	13,06	1,97	115,38	0,63
12	7	379,1	54,58	9,83	2,1	120,58	1,24
13	8	438,71	43,64	13,04	2,54	102,14	1,48
14	9	416,49	53,32	10,12	2,28	94,74	1,29
15	10	393,65	50,67	9,4	2,02	132,74	0,91

El primer grupo, los valores de concentración son muy similares (experimentos 1, 2, 3, 5, 8); lo característico de este grupo fue que la presión no superó los 350 bar. Basado en lo deducido por Reverchon [10], se afirma que en operaciones con presiones menores que 350 bar, se disminuye la selectividad de la extracción. Con respecto al rendimiento, sólo el punto 3 superó el 1% de rendimiento (1,39%); esto se puede deber a que tiene las condiciones de presión y porcentaje de co-solvente más altas de este grupo.

En el segundo grupo (experimentos 4, 6, 7, 9, 10), la presión y el tiempo de extracción superaron los 350 bar y las 2 horas respectivamente. Esto afectó positivamente la concentración de flavonoides. Flujos inferiores a 40 g/min y superiores a 60 g/min no favorecieron la extracción (baja concentración y rendimiento); esto se debe a que si el flujo es menor que 40 g/min el fenómeno de dispersión axial se torna significativo, y si el flujo es mayor que 60 g/min el tiempo de residencia es muy corto y el solvente no se satura por completo [36]. El rendimiento de la extracción en este grupo superó el 1% y llegó a tener un valor cercano al máximo (experimento 4=1,46%). Esto fue por el aumento en la presión de operación (400 bar) y que el flujo estaba en el rango de 40 – 60 g/min, pero su concentración es relativamente baja (71,98 mg/g) porque este valor es menor que el de otros resultados.

Los experimentos 11, 12, 13, 14, 15, fueron los de mayor concentración de flavonoides (94,74 – 132,74 mg/g). El mejor caso en relación a la concentración y al rendimiento fue el experimento 12 (P: 379 bar, F: 54,58 g/min, %: 9,83% t: 2,1 h) con una concentración y rendimiento de 120,58 mg/g y 1,24% respectivamente.

Las **ecuaciones 13 y 14** corresponden a los modelos estadísticos ajustados para predecir la concentración y rendimiento respectivamente, para la extracción con CO₂ supercrítico de *L. origanoides* Quim. Carvacrol.

$$\begin{aligned} \text{mg/g} = & -565,271 + 2157,17 * P - 1019,84 * F - 338,146 * t - 1484,98 * P^2 + \\ & 3102,22 * F^2 - 2113,56 * F^3 + 268,082 * E^3 \end{aligned} \quad (13)$$

$$R^2 = 85,71\% \quad R^2_{\text{Ajustada}} = 73,20\%$$

$$\begin{aligned} \text{RTO} = & -2,11293 + 10,1129 * P + 9,85722 * F - 2,83776 * F * E - 25,5441 * F^2 - \\ & 12,1336 * P^3 + 15,3917 * F^3 - 3,52605 * E^3 + 8,18861 * t^3 \end{aligned} \quad (14)$$

$$R^2 = 94,12\% \quad R^2_{\text{Ajustada}} = 87,40\%$$

Donde:

- mg/g es la concentración de flavonoides en mg/g de extracto.
- RTO es el rendimiento de la extracción en porcentaje.
- P es la presión (normalizado).
- F es el flujo total (normalizado).
- t es el tiempo (normalizado)
- E es el porcentaje de cosolvente (normalizado)

De los gráficos de superficie de respuesta generados a partir de los dos modelos anteriores, véase **figuras 2 y 3**, se observa una tendencia a mejorar la respuesta en zonas diferentes del

espacio experimental, por lo que el valor óptimo debe estar en la región de superposición de las zonas de mayor concentración y mayor rendimiento.

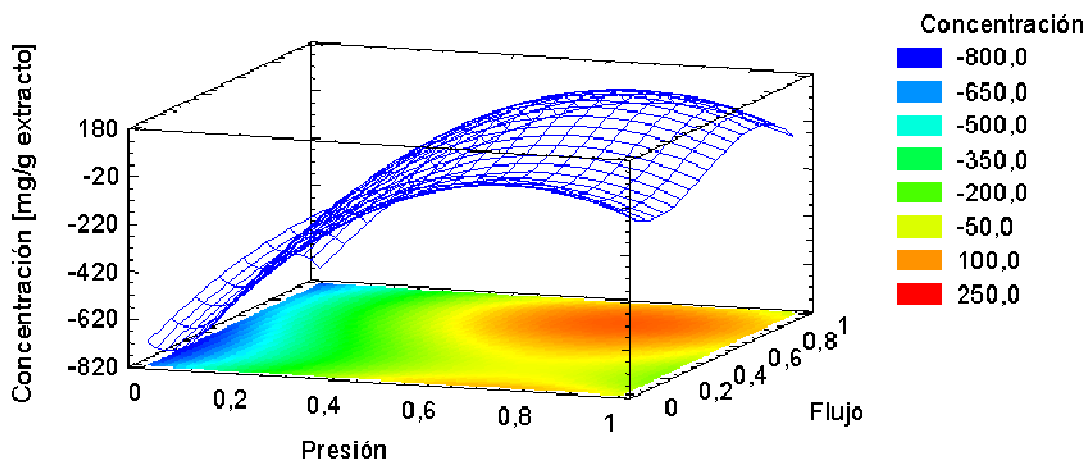


Figura 2. Gráfica de superficie de respuesta para la concentración de flavonoides extraídos de *L. origanoides* usando el porcentaje de etanol del 9,83%, tiempo de extracción de 2,1 horas.

Un ejemplo de las diferencias en las zonas óptimas de concentración y rendimiento son los puntos 3, 4, y 11. En los puntos 3 y 4 se observan altos rendimientos pero baja concentración, mientras que el punto 11 tiene un comportamiento opuesto, debido a las diferencias en las variables más influyentes en la extracción (presión y el flujo). Los gráficos de contorno del **anexo A** muestran los valores predichos por los modelos para los mejores valores obtenidos experimentalmente.

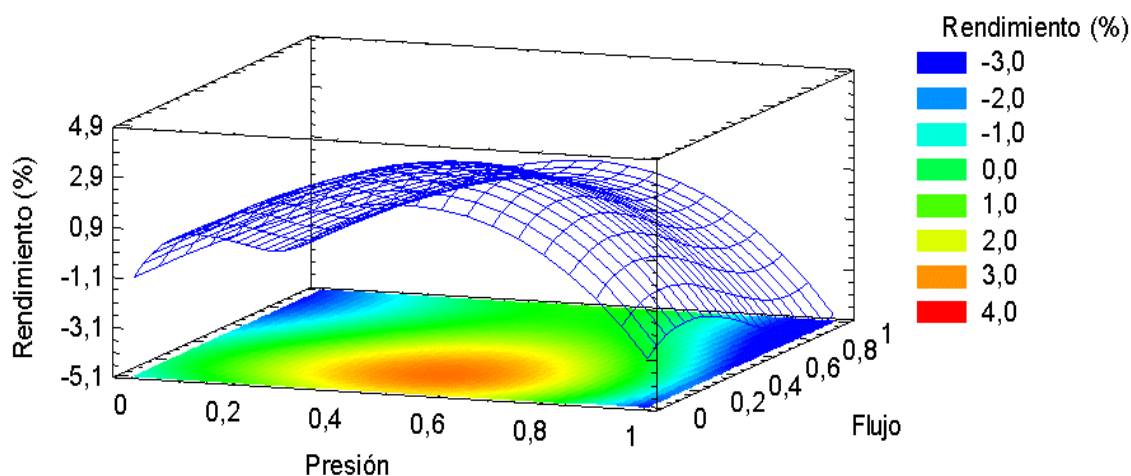


Figura 3. Gráfica de superficie de respuesta para el rendimiento de extracción de *L. origanoides*, usando el porcentaje de etanol del 9,83%, tiempo de extracción de 2,1 horas.

5.2.2 *Lippia graveolens*. En el primer paso del SIMPLEX se eliminó el punto 3 con un paso $b=1$; en los demás pasos se realizaron contracciones ($b=0,5$) puesto que se esperaba que el óptimo estuviera dentro del espacio experimental cubierto por los puntos iniciales. Los experimentos 10 y 14 se obtuvieron con reflexión ($b=1$), puesto que los valores eran muy bajos. El experimento 13 se obtuvo con una expansión ($b=1,5$) y el experimento 16 se obtuvo realizando una reducción ($b=0,25$) porque este punto superaba los límites operacionales de la unidad extractora. Para analizar el comportamiento de las condiciones de extracción los resultados se dividieron en dos grupos:

- Concentración < 36 mg/g extracto
- Concentración ≥ 36 mg/g extracto

Los valores de presión en los experimentos del primer grupo fueron muy similares, excepto por los experimentos 3, 5 y 14 donde la presión estuvo por encima de 400 bar, de estos experimentos (3, 5, 14) se esperaban un valor de concentración mayor puesto que para otras

plantas del genero *Lippia* a una presión por encima de 400 bar los valores de concentración son cercanos al punto óptimo [52]. Las demás variables no mostraron un comportamiento parecido.

En el segundo grupo se utilizaron los valores más altos de presión, siendo la máxima presión de 444,8 bar; el flujo se mantuvo en un rango similar al mostrado en las optimizaciones de *L. origanoides* carvacrol mostradas anteriormente y timol desarrolladas por Castiblanco [52] (54-61 g/min); el tiempo de extracción se mantuvo en un rango de 1,5 - 2 horas, el porcentaje de etanol se mantuvo en valores cercanos al 8%. El mejor punto en relación a la concentración de flavonoides en el extracto de *L. graveolens* fue el 16 (P: 438,45 bar, F: 51,64 g/min, %: 8,85, t: 1,83 h) (47,82 mg/g extracto).

La optimización se detuvo debido a que el valor calculado para de experimento 19 sobrepasaba el límite de la presión de operación recomendada para el equipo. Para esta planta no se tuvo en cuenta el rendimiento de extracción debido a que el extracto tiene una muy baja concentración de flavonoides. Además, contenía gran cantidad de grasas que dificultaban la medición espectroscópica; estas grasas fueron separadas por centrifugación, y su peso no se tuvo en cuenta en el peso del extracto.

La **ecuación 15** corresponde al modelo de predicción de concentración de flavonoides para la extracción con CO₂ supercrítico de *L. graveolens*.

$$\text{mg/g} = 42,7492 + 62,0853 * P + 46,8381 * F * t - 101,304 * E * t - 269,486 * P^2 + 276,402 * P^3 - 43,751 * F^3 \quad (15)$$

$$R^2 = 87,16\% \quad R^2_{\text{Ajustada}} = 80,15\%$$

El gráfico de superficie de respuesta generado por el modelo (**figura 5**) muestra que el punto óptimo se encuentra fuera de los límites operacionales de la unidad extractora (presión superior a 500 bar). Los valores de concentración de flavonoides son la tercera parte de los hallados para la

L. origanoides carvacrol. Por esa razón esta planta podría no ser promisoría para la extracción de compuestos bioactivos a partir de CO₂ supercrítico.

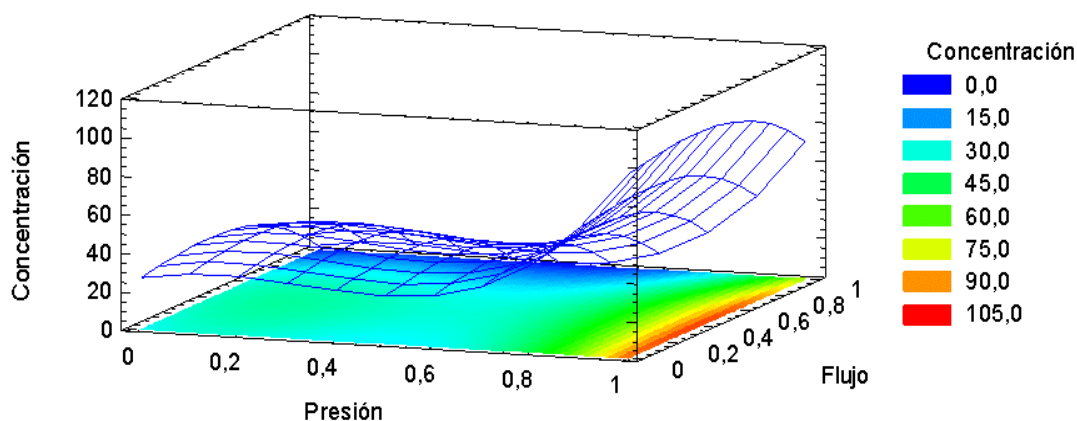


Figura 4. Gráfica de superficie de respuesta para la concentración de flavonoides extraídos de *L. graveolens*, usando el porcentaje de etanol del 8,85%, tiempo de extracción de 1,83 horas.

Tabla 7.

Resultados de la optimización simplex para *L. graveolens*.

Simplex	Condiciones de las extracciones				Concentración [mg/g extracto]	
	P [bar]	F [g/min]	% etanol	t [h]		
1	250	40	10	2	26,71	
2	250	60	8	1,5	27,42	
3	420	60	8	1,5	25,87	
4	350	50	9	1,5	28,23	
5	420	40	10	2	33,78	
6	1	415	58,75	8,13	1,44	36,93
7	2	368,75	53,75	8,63	1,63	27,93
8	3	247,04	56,04	8,37	1,49	32,18
9	4	243,4	53,7	8,61	1,73	26,87
10	5	208,97	50,49	8,93	1,70	32,21

	Simplex	Condiciones de las extracciones				Concentración [mg/g extracto]
		P [bar]	F [g/min]	% etanol	t [h]	
11	6	328,80	52,94	8,7	1,65	30,39
12	7	268,89	51,71	8,81	2,29	29,47
13	8	373	48,51	9,15	1,923	24,68
14	9	406,4	43,44	9,67	1,91	27,45
15	10	423,73	55,91	8,41	1,99	38,87
16	11	438,45	51,64	8,85	1,83	47,82
17	12	444,84	54,39	8,57	1,93	45,52
18	13	442,56	61,24	7,90	1,53	44,26

5.3 Análisis de costo de fabricación (COM).

5.3.1 Condiciones de operación. A partir de las mejores condiciones de extracción obtenidas de la optimización de *L. origanoides* carvacrol (experimento 12) y del diagrama de flujo del proceso SFE (**Figura B1**), se realizó el análisis de costos para unidades SFE de diferentes capacidades (0,002-1 m³). De las condiciones de extracción se obtuvo la relación S/F_{MV} para realizar el escalamiento. En la **tabla 8** se exponen los datos correspondientes a las condiciones de extracción para cada unidad, la energía y cantidad de MV usada por extracción.

5.3.2 Estimación del costo de Inversión. Con las condiciones de operación para cada capacidad se realizó la estimación usando las dos metodologías. En la **figura 5** se muestra la variación en las estimaciones según la capacidad, donde se observa una gran diferencia en los valores que toman unidades a gran escala, por lo que la estimación tiene un rango amplio de valores.

Tabla 8.

Condiciones de extracción para las unidades SFE según su capacidad.

	capacidad (m ³)					
	0,002	0,02	0,05	0,2	0,5	1
Presión (bar)	379	379	379	379	379	379
Flujo total (kg/h)	3,3	32,7	81,9	327,5	818,7	1637,4
Flujo CO₂ (kg/h)	3,0	29,6	74,1	296,4	740,9	1481,8
Flujo etanol(kg/h)	0,3	3,1	7,8	31,1	77,8	155,6
Tiempo (h)	2	2	2	2	2	2
MV (kg/extracción)	0,56	5,6	14	56	140	280
Relación S/F (kg CO₂/kg MV)	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6
Energía (kWh/extracción)	0,61	6,02	14,44	57	139,56	283,44

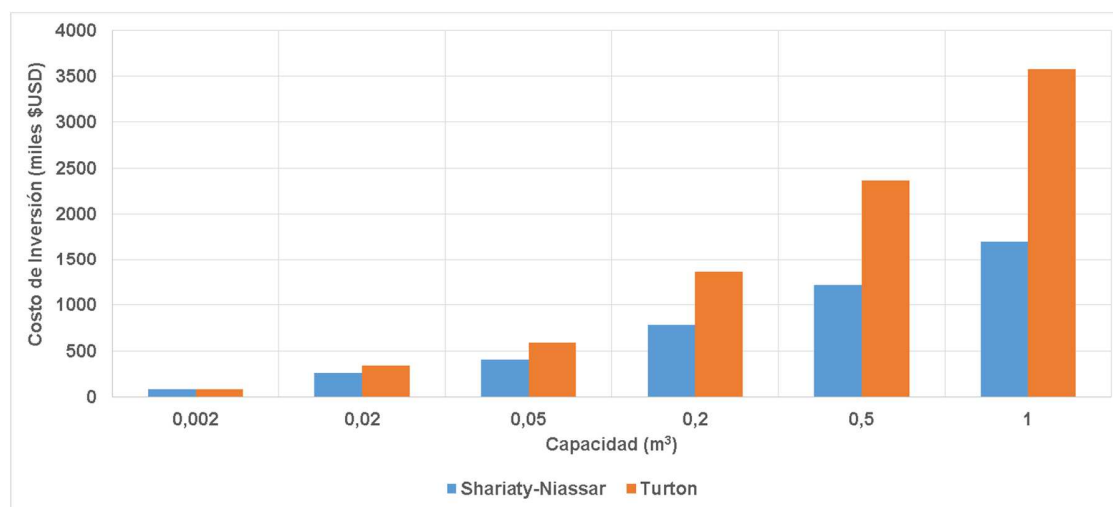


Figura 5. Comparación de la estimación del costo de inversión para diferentes capacidades usando las metodologías de Turton *et al.* [20] y Shariaty-Niassar *et al.* [21].

5.3.3 Cálculo del COM para *L. origanoides*. Con las consideraciones tomadas en la sección 5.6 se realizó el cálculo del COM mediante las dos metodologías [20, 21]; en la **figura 6** se observa la variación del COM con el aumento de la capacidad de la unidad SFE.

Se observó una variación en los valores del COM para las dos metodologías en un equipo de la misma capacidad; estas variaciones fueron más notorias en unidades de pequeña escala, debido a que la ecuación de Turton representa los costos directos, fijos y generales en términos de costos de mano de obra, utilidad, inversión, materia prima y residuos. Cuando el equipo supera los 0,1 m³ las diferencias se hacen mucho menores, hasta llegar a una diferencia aproximada de \$10 USD cuando la capacidad es de 1 m³ (ver **anexo B**); el comportamiento del COM fue similar al reportado por Prado [23], porque hay mayor producción del extracto en el mismo tiempo que opera la unidad, por lo que el costo disminuye.

La distribución de los costos que componen el COM para las diferentes capacidades estudiadas (ver **figura 7**) muestra una tendencia similar a la del extracto de cúrcuma [46] en los costos de mano de obra, utilidad y materia prima, mientras que el costo fijo de inversión mostró un aumento entre las capacidades de 0,002 m³ y 0,2 m³, y a volúmenes mayores de 0,2 m³ este disminuye por la importancia que toma la materia prima.

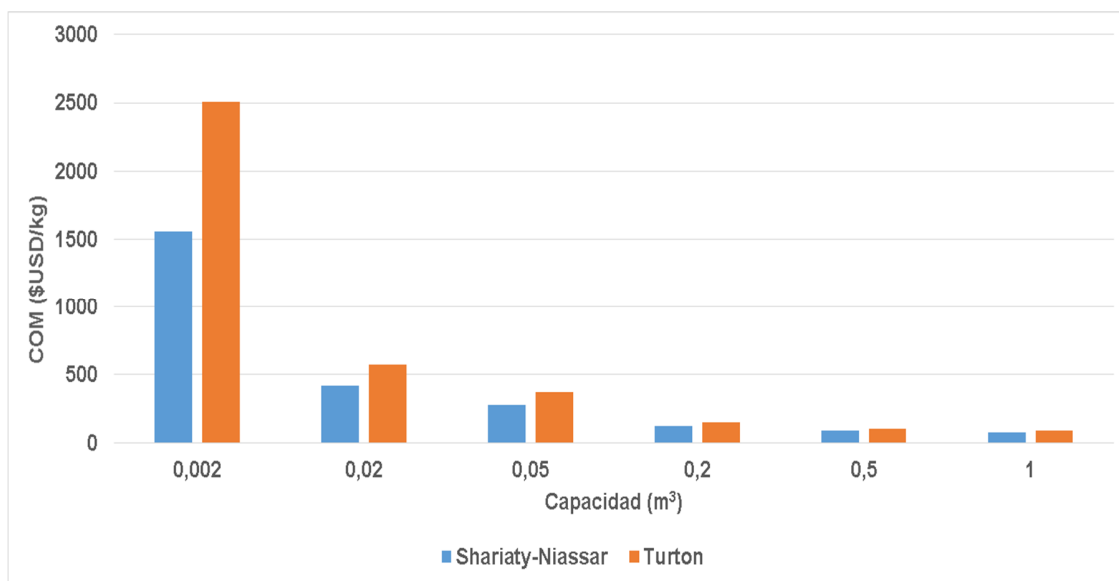


Figura 6. Comparación del COM para *L. origanoides* según la capacidad del equipo, usando las metodologías expuestas por Turton [20] y Shariaty-Niassar [21].

En las unidades de pequeña escala el costo que más repercutió en el COM fue el de mano de obra (COL), puesto que la cantidad de materia prima utilizada era mucho menor que en unidades de mayor capacidad, así como la energía necesaria para realizar las extracciones; el costo de materia prima (CRM) y el costo de utilidades (CUT) se vuelven importantes a medida que se aumenta la capacidad, debido al aumento de la potencia requerida en las bombas e intercambiadores de calor, y al aumento del MV usado por extracción y las corrientes de solventes.

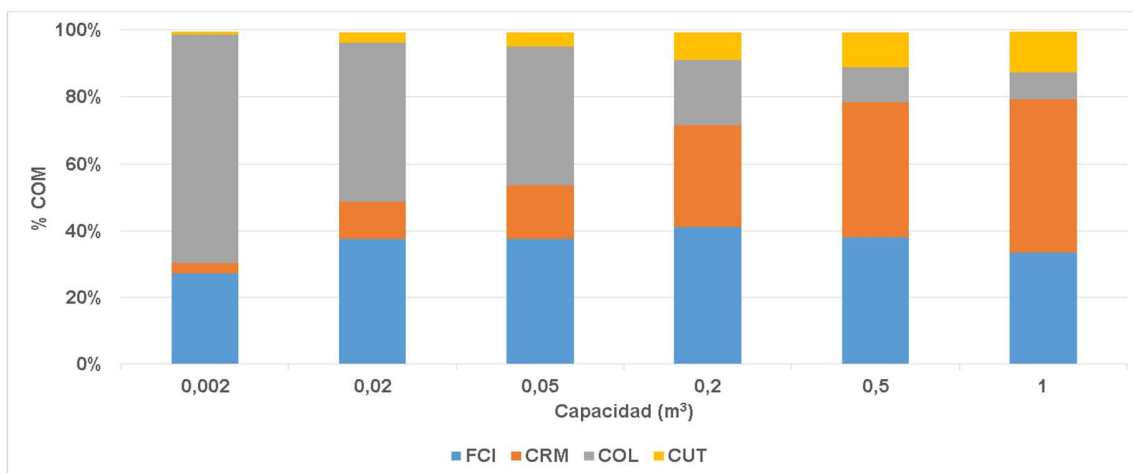


Figura 7. Distribución de costos que componen el COM del extracto de *L. origanoides* para diferentes capacidades (metodología Turton).

En el caso de la metodología realizada por Shariaty-Niassar *et al.* [21], la distribución varió debido a que se muestran por separado los costos correspondientes a los gastos generales (ver **figura 8**), se observa que los gastos generales tienen un comportamiento similar al FCI (aumenta hasta que el equipo es 0,2 m³ y luego disminuye), los demás costos tienen un comportamiento similar al mostrado con la metodología de Turton *et al.* [20].

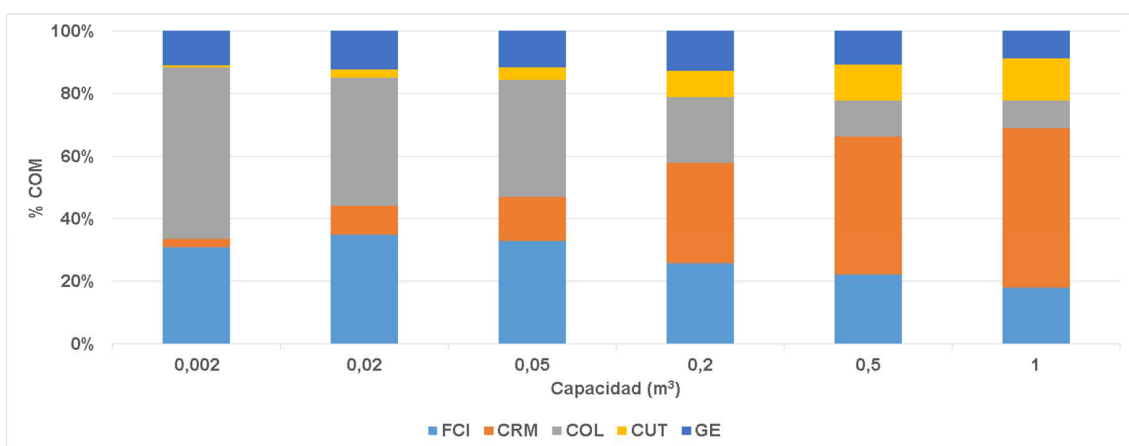


Figura 8. Distribución de costos que componen el COM del extracto de *L. origanoides* para diferentes capacidades (metodología Shariaty-Niassar).

La composición del extracto SFE de *Origanum vulgare* también se encuentra enriquecida en compuestos antioxidantes (flavonoides) [54], pero al comparar los costos de fabricación de este extracto con el costo del extracto de *L. origanoides*, y usando un equipo de 0,4 m³ de capacidad [55], se muestra que los costos son mayores (extracto de *O. vulgare* = \$ 202 USD; extracto de *L. origanoides* = \$ 108 USD), por lo que la *L. origanoides* se puede considerar como una fuente alternativa de compuestos antioxidantes.

6. Conclusiones

La mejor respuesta combinada entre la concentración de flavonoides y el rendimiento de extracción con CO₂ supercrítico para *Lippia organoides* quimiotipo carvacrol fue conseguida experimentalmente a una presión de 379 bar, un flujo de total de 54,58 g/min y un porcentaje de co-solvente del 9,83% en un tiempo de 2,1 horas (concentración y rendimiento de 120,58 mg/g, 1,24% respectivamente).

No se encuentra evidencia que justifique la extracción de flavonoides a partir de *Lippia graveolens* usando CO₂ supercrítico debido a que su concentración es relativamente baja comparado con otras plantas del género *Lippia*.

Las metodologías usadas para el cálculo del COM muestran grandes variaciones en unidades a pequeña escala (COM_{0,002 m³}: Shariaty=1557,00 y Turton=2505,19 \$USD/kg), mientras que a gran escala los valores no tienen una gran variación (COM_{1m³}: Shariaty=77,72 y Turton=87,93 \$USD/kg). La metodología más apropiada en todas las escalas trabajadas es la desarrollada por Turton *et al.* [47] dado que calcula de forma más precisa los costos asociados a la fabricación (costos directos, fijos y gastos generales).

Se constató en el escalamiento del proceso de extracción supercrítica que el COM sufre poca variación (87,93 -147,3 \$USD/kg) cuando se trabaja con equipos de gran capacidad (>0,2 m³), debido a que el principal factor en estas unidades es el costo de materia prima (39,8% - 45,5%), seguido del costo fijo de inversión (34% - 39%). En los equipos de pequeña escala (0,002 – 0,05 m³) el factor principal es el costo de mano de obra (68,6%, 41,7%) debido a la baja productividad anual en el mismo tiempo de operación.

El análisis de prefactibilidad concluye como favorable la obtención de compuestos antioxidantes a partir de *L. origanoides* usando CO₂ supercrítico usando una capacidad mínima de extracción de 0,2 m³. Esta especie es viable como fuente alternativa de compuestos antioxidantes.

Citas Bibliográficas

- [1]. DIAZ-REINOSO, B., MOURE, A., DOMINGUEZ, H., PARAJO, J. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006. Vol. 54. p, 2441-2469.
- [2]. PROCOLOMBIA. Inversión en el sector de cosméticos y productos de aseo. 2016. En: www.inviertaencolombia.com.co/sectores/manufacturas/cosmeticos-y-productos-de-aseo.
- [3]. REVERCHON, E., DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. En: *Journal of Supercritical Fluids*. 2006. Vol. 38. p. 146 – 166.
- [4]. DEL VALLE, J. M., AGUILERA, J. M. Revision: Extracción con CO₂ a alta presión. Fundamentos y aplicaciones en la industria de alimentos/Review: High pressure CO₂ extraction. Fundamentals and applications in the food industry. *Food Science and Technology International*. 1999, Vol. 5(1). p. 1-24.
- [5]. DEL VALLE, J.M., NÚÑEZ, G.A., ARAVENA, R. I. Supercritical CO₂ oilseed extraction in multi-vessel plants. 1. Minimization of operational cost. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2014. Vol. 92. p. 197-207.

[6]. CHAIN, N.S., CHAIN, R.S. (2004). Preparación y evaluación de proyectos. Chile: Editorial McGraw-Hill Interamericana. ISBN: 9562782069.

[7]. STASHENKO, E., RUIZ, C., MUÑOZ, A., CASTAÑEDA, M., MARTÍNEZ, J. Composition and antioxidant activity of essential oils of *Lippia origanoides* H.B.K. grown in Colombia. En: *Natural Product Communications*. 2008. Vol. 3. No. 4. p, 563-566.

[8]. ZAPATA, B., DURÁN, C., STASHENKO, E., CORREA, J., BETANCUR, L. Actividad citotóxica de aceites esenciales de *Lippia origanoides* H.B.K. y componentes mayoritarios. En: *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud UIS*, 2009. Vol.41. No. p, 215-222.

[9]. RASTRELLI, L., CACERES, A., MORALES, C., DE SIMONE, F., AQUINO, R. Iridoids from *Lippia graveolens*. *Phytochemistry*. 1998. Vol. 49. p. 1829–1832.

[10]. STASHENKO, E., MARTINEZ, J., RUIZ, C., ARIAS, G., DURÁN, C., SALGAR, W., CALA, M. *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. En: *Journal of Separation Science*. 2010. Vol. 3. No. 1. p, 93-103.

[11]. LIN, L.Z., MUKHOPADHYAY, S., ROBBINS, R.J., HARNLY, J.M. Identification and quantification of flavonoids of Mexican oregano (*Lippia graveolens*) by LC-DAD-ESI/MS analysis, *J. Food Comp. Anal.* 2007. Vol. 20. p. 361–369.

[12]. ÁLVAREZ, A., TULIPANI J., ROMANDINI, S., VIDAL, S., BATTINO, A. Methodological aspects about determination of phenolic compounds and in vitro evaluation of

antioxidant capacity in the honey: A review. En: *Analytical Chemistry*. 2009. Vol. 5. No. 4. p, 293-302.

[12]. BERNAL, H., GARCIA, H., LONDOÑO, C., MOLANO, M., QUEVEDO, G., VÁSQUEZ, C. Pautas para el conocimiento, conservación y uso sostenible de las planta medicinales nativas en Colombia. Primera edición. Colombia: instituto Humboldt, 2011. p. 232. ISBN 9789588343556.

[13]. MOURA, P.M., PRADO, G.H.C., MEIRELES, M.A., PEREIRA, C.G. Supercritical fluid extraction from guava (*Psidium guajava*) leaves: Global yield, composition and kinetic data. En: *Journal of Supercritical Fluids*. 2012. Vol. 62. p. 116 -162.

[14]. DA SILVA, R.P., ROCHA-SANTOS, T.A., DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016. Vol. 76. p. 40-51.

[15]. VENEREO, J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. En: *Revista Cubana de Medicina Militar*. 2002. Vol. 31. No. 2. p, 1-7.

[16]. RODRIGUEZ, J.M., MENÉNDEZ, J.R., TRUJILLO, Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. En: *Revista Cubana de Medicina Militar*. 2001. Vol. 30. No. 1. p. 1-6.

[17]. STASHENKO, E., MARTINEZ, J., CALA, M., DURÁN, C., CABALLERO, D. Chromatographic and mass spectrometric characterization of essential oils and extracts from

Lippia (Verbenaceae) aromatic plants. En: *Journal of Separation Science*. 2011. Vol. 36. No. 1. p. 192 – 202.

[18]. ROSA, P.T.V., MEIRELES, A.A. Rapid estimation of the manufacturing cost of extracts obtained by supercritical fluid extraction. En: *Journal of Food Engineering*. 2005. Vol. 67. p. 235-240.

[19]. DEL VALLE, J.M., JUAN, C., CARDARELLI, D.A. Contributions to supercritical extraction of vegetable substrates in Latin America. En: *Journal of Food Engineering*. 2005. Vol 67(1). p. 35-57.

[20]. TURTON, R., BAILIE, R.C., WHITING, W.B., SHACIWITZ, J.A. (1998) Analysis, Synthesis, and Design of Chemical Processes. EEUU: Editorial Prentice Hall. ISBN 0135129664.

[21]. SHARIATY-NIASSAR, M., AMINZADEH, B., AZADI, P., SOLTANALI, S. Economic evaluation of herb extraction using supercritical fluid. En: *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*. 2009. Vol. 15 (3). p. 143-148.

[22]. ROSTAGNO, M. A., PRADO, J. M. (Eds.). (2013). Natural product extraction: principles and applications. UK: RSC Green Chemistry No. 21.

[23]. PRADO, I.M. Uso de Simulador no Estudo de Aumento de Escala e Viabilidade Econômica do Processo de Extração Supercrítica de Produtos Naturais (Tesis de Maestría en Ing. de Alimentos). En: Universidad Estadual de Campinas. 2009.

- [24]. PASCUAL, M.E., SLOWING, K., CARRETERO, E., SANCHEZ-MATA, D., VILLAR, A. Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. En: *Journal of Ethnopharmacology*. 2001. Vol. 76. p. 201-214.
- [25]. MARTINEZ, A., PUGA, R., HERNANDEZ, L., LOARCA, G., MENDOZA, S. Antioxidant and Antimutagenic Activities of Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth). En: *plant foods human nutrition*. 2008. Vol. 63. p. 1-5.
- [26]. ESCAMILLA, C.I., CUEVAS, E.Y., GUEVARA, J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. En: *revista de la facultad de medicina UNAM*. 2009. Vol. 52. p. 73-75.
- [27]. MARTINEZ, S., GONZÁLEZ, J., CULEBRAS, J., TUÑÓN, M. Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. En: *Nutrición Hospitalaria*. 2002. Vol. 17. No. p, 271-278.
- [28]. MEIRELES, A. (2009). Extracting bioactive compounds for food products. Theory and applications EEUU: Editorial CRC Press. p.272, ISBN 978142006237.
- [29]. MUKHOPADHYAY, M. (2000) Natural extracts using supercritical carbon dioxide. EEUU: Editorial CRC Press. p. 3-28, ISBN 0849308194.
- [30]. LANG, Q., CHIEN M. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies — a practical review. En: *Talanta*. 2001. Vol. 53. p. 771 - 782.

- [31]. REVERCHON, E., SETSI OSSÉO, L., GORGOGNONE, D. Supercritical CO₂ extraction of basil oil: characterization of products and process modeling. En: *Journal of Supercritical Fluids*. 1994. Vol. 7. p. 185-190.
- [32]. SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂. 1. Modeling of extraction curves. En: *Chemical Engineering Science*. 1994. Vol. 49. p. 409 - 414.
- [33]. GOPALAKRISHNAN, N., NARAYANAN, C.S. Carbon dioxide extraction of Indian jasmine concrete. En: *Flavour and Fragrance Journal*. 1991, Vol. 6. p. 135-138.
- [34]. YANG, C., XU, Y., YAO, W. Extraction of pharmaceutical components from Ginkgo biloba leaves using supercritical carbon dioxide. En: *Journal of agricultural and food chemistry*. 2002, Vol. 50(4), p. 846-849.
- [35]. HASAN, M., KUMORO, A. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Andrographolide from *Andrographis paniculata*: Effect of the Solvent Flow Rate, Pressure, and Temperature. En: *Chinese Journal of Chemical Engineering*. 2007. Vol. 15 p. 877-883.
- [36]. ROSA, P.T.V., MEIRELES, M.A.A. Supercritical and pressurized fluid extraction applied to the food industry, in: M.A.A. Meireles (Ed.), *Extracting Bioactive Compounds for Food Products: Theory and Applications*, CRC Press, 2009, pp. 269–327.
- [37]. RODRÍGUEZ, E; ÁRIAS, J; VÁSQUEZ, G; MARTÍNEZ, J; STASHENKO, E. Rendimiento y capacidad antioxidante de extractos de *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* Y

Psidium guajava obtenidos con CO₂ supercrítico. En: *Revista Academia Colombiana de Ciencias Exactas*. Vol. 36. No. 140. p, 305-316.

[38]. MURGA, R., RUIZ, R., BELTRAN, S., CABEZAS, J. Extraction of Natural Complex Phenols and Tannins from Grape Seeds by Using Supercritical Mixtures of Carbon Dioxide and Alcohol. En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000. Vol. 48. p. 3408-3412.

[39]. HAWTHORNE, S.B., MILLER, D.J. Extraction and Recovery of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Environmental Solids Using Supercritical Fluids. En: *Analytical Chemistry*. 1987. Vol. 59. p. 1705-1708.

[40]. SØLTOFT, M., CHRISTENSEN, J.H., NIELSEN, J., KNUTHSEN, P. Pressurised liquid extraction of flavonoids in onions. Method development and validation. En: *Talanta*. 2009. Vol. 80. p. 269-278.

[41]. MILLER, J.N. (2002) Estadística y quimiometria para química analítica. Madrid: Editorial Prentice Hall. p. 213-217. ISBN 8420535141.

[42]. NELDER, J.A., MEAD, R. A simplex method for function minimization. En: *The Computer Journal*. 1965. Vol. 7. p. 308-313.

[43]. GÓMEZ, S., PATIÑO, D., VÉLEZ, C. Variante del método de Nelder & Mead para optimización de funciones multivariadas. En: *Cuaderno Activa*, 2011, vol. 4(4). p. 73-81.

[44]. TINOI, J., RAKARIYATHAM, N., DEMING, R.L. Simplex optimization of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* using hydrolyzed mung bean waste flour as substrate. En: *Process Biochemistry*. 2005. Vol. 40. p. 2551-2557.

[45]. MARTÍNEZ, J., RUIZ, C., ARIAS, G., STASHENKO, E. Optimización de la extracción de antioxidantes de *Salvia officinalis* L. con CO₂ supercrítico En: *Revista Academia Colombiana de Ciencias Exactas*. 2014. Vol. 38, p. 237-249.

[46]. SUN, L., LEE, H.K. Optimization of microwave-assisted extraction and supercritical fluid extraction of carbamate pesticides in soil by experimental design methodology. En: *Journal of Chromatography A*. 2003. Vol. 1014. p. 165-177.

[47]. CHRISTIAN, G.D. (2009) *Química Analítica*. Mexico: Editorial McGraw Hill p. 458-521, .ISBN 9789701072349.

[48]. KOWALSKI, B., BEEBE, K. An introduction to multivariate calibration and analysis. En: *Analytical Chemistry*. 1987. Vol. 59. p. 1007-1017.

[49]. BAUTISTA, R., JIMÉNEZ, A., JIMÉNEZ, F., ARIAS, J. Simultaneous determination of diazepam and pyridoxine in synthetic mixtures and pharmaceutical formulations using graphical and multivariate calibration-prediction methods. En: *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1996. Vol. 15. p. 183-192.

[50]. GUTIERREZ-PULIDO, H., DE LA VARA-SALAZAR, R. (2008) Análisis y diseño de experimentos. Mexico: Editorial McGraw Hill. p. 360-365. ISBN 9701065263.

[51]. MONTGOMERY, D.C., PECK, E.A., VINING, G.G. (2006) Introducción al análisis de regresión lineal. Mexico: Editorial Continental. p. 61-108. ISBN 9702403278.

[52]. CASTIBLANCO-TOPIA, D.E.E, Optimización de la extracción con fluido supercrítico de *Lippia origanoides*, quimiotipo timol (tesis de pregrado en Ing. Química). En: Universidad Industrial de Santander. 2015.

[53]. PRADO, J.M., DALMOLIN, I., CARARETO, N.D.D., BASSO, R.C., MEIRELLES, A.J.A., OLIVEIRA, J.V., BATISTA, E.A.C., MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction of grape seed: Process scale-up, extract chemical composition and economic evaluation. En: *Journal of Food Engineering*. 2012. Vol. 109. p. 249-257.

[54]. CAVERO, S., GARCÍA-RISCO, M. R., MARÍN, F. R., JAIME, L., SANTOYO, S., SENORÁNS, F. J., IBANEZ, E. Supercritical fluid extraction of antioxidant compounds from oregano: Chemical and functional characterization via LC-MS and in vitro assays. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2006. Vol. 38(1). p. 62-69.

Referencias Bibliográficas

- Álvarez, A., Tulipani J., Romandini, S., Vidal, S., Battino, A. (2009) Methodological aspects about determination of phenolic compounds and in vitro evaluation of antioxidant capacity in the honey: A review. En: *Analytical Chemistry*. 2009. Vol. 5. No. 4. p, 293-302.
- Bautista, R., Jiménez, A., Jiménez, F., Arias, J. (1996) Simultaneous determination of diazepam and pyridoxine in synthetic mixtures and pharmaceutical formulations using graphical and multivariate calibration-prediction methods. En: *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*.. Vol. 15. p. 183-192.
- Bernal, H., Garcia, H., Londoño, C., Molano, M., Quevedo, G., Vásquez, C. (2011) Pautas para el conocimiento, conservación y uso sostenible de las planta medicinales nativas en Colombia. Primera edición. Colombia: instituto Humboldt. p. 232. ISBN 9789588343556.
- Castiblanco-Topia, D.E.E (2015) Optimización de la extracción con fluido supercrítico de *Lippia origanoides*, quimiotipo timol (tesis de pregrado en Ing. Química). En: Universidad Industrial de Santander. 2015.
- Cavero, S., García-Risco, M. R., Marín, F. R., Jaime, L., Santoyo, S., Senoráns, F. J., Ibanez, E. (2006) Supercritical fluid extraction of antioxidant compounds from oregano: Chemical and functional characterization via LC-MS and in vitro assays. *The Journal of Supercritical Fluids*. Vol. 38(1). p. 62-69.
- Chain, N.S., Chain, R.S. (2004). Preparación y evaluación de proyectos. Chile: Editorial McGraw-Hill Interamericana. ISBN: 9562782069.
- Christian, G.D. (2009) Química Analítica. Mexico: Editorial McGraw Hill p. 458-521, .ISBN 9789701072349.
- Da Silva, R.P., Rocha-Santos, T.A., Duarte, A. C. (2016) Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*.. Vol. 76. p. 40-51.

- Del Valle, J. M., Aguilera, J. M. (1999) Revision: Extracción con CO₂ a alta presión. Fundamentos y aplicaciones en la industria de alimentos/Review: High pressure CO₂ extraction. Fundamentals and applications in the food industry. *Food Science and Technology International*. Vol. 5(1). p. 1-24.
- Del Valle, J.M., Juan, C., Cardarelli, D.A. (2005) Contributions to supercritical extraction of vegetable substrates in Latin America. En: *Journal of Food Engineering*.. Vol 67(1). p. 35-57.
- Del Valle, J.M., Núñez, G.A., Aravena, R. I. (2014) Supercritical CO₂ oilseed extraction in multi-vessel plants. 1. Minimization of operational cost. *The Journal of Supercritical Fluids*.. Vol. 92. p. 197-207.
- Diaz-Reinoso, B., Moure, A., Dominguez, H., Parajo, J. (2006) Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.. Vol. 54. p, 2441-2469.
- Escamilla, C.I., Cuevas, E.Y., Guevara, J. (2009) Flavonoides y sus acciones antioxidantes. En: *revista de la facultad de medicina UNAM*. Vol. 52. p. 73-75.
- Gómez, S., Patiño, D., Vélez, C. (2011) Variante del método de Nelder & Mead para optimización de funciones multivariadas. En: *Cuaderno Activa*, , vol. 4(4). p. 73-81.
- Gopalakrishnan, N., Narayanan, C.S. (1991) Carbon dioxide extraction of Indian jasmine concrete. En: *Flavour and Fragrance Journal*., Vol. 6. p. 135-138.
- Gutierrez-Pulido, H., DE LA Vara-Salazar, R. (2008) Análisis y diseño de experimentos. Mexico: Editorial McGraw Hill. p. 360-365. ISBN 9701065263.
- Hasan, M., Kumoro, A. (2007) Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Andrographolide from *Andrographis paniculata*: Effect of the Solvent Flow Rate, Pressure, and Temperature. En: *Chinese Journal of Chemical Engineering*. Vol. 15 p. 877-883.
- Hawthorne, S.B., Miller, D.J. (1987) Extraction and Recovery of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Environmental Solids Using Supercritical Fluids. En: *Analytical Chemistry*. Vol. 59. p. 1705-1708.

- Kowalski, B., Beebe, K. (1987) An introduction to multivariate calibration and analysis. En: *Analytical Chemistry*. Vol. 59. p. 1007-1017.
- Lang, Q., Chien M. (2001) Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies — a practical review. En: *Talanta*. Vol. 53. p. 771 - 782.
- Lin, L.Z., Mukhopadhyay, S., Robbins, R.J., Harnly, J.M. (2007) Identification and quantification of flavonoids of Mexican oregano (*Lippia graveolens*) by LC-DAD-ESI/MS analysis, *J. Food Comp. Anal.* Vol. 20. p. 361–369.
- Martinez, A., Puga, R., Hernandez, L., Loarca, G., Mendoza, S. (2008) Antioxidant and Antimutagenic Activities of Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth). En: *plant foods human nutrition*. 2008. Vol. 63. p. 1-5.
- Martínez, J., Ruiz, C., Arias, G., Stashenko, E. (2014) Optimización de la extracción de antioxidantes de *Salvia officinalis* L. con CO₂ supercrítico En: *Revista Academia Colombiana de Ciencias Exactas*. Vol. 38, p. 237-249.
- Martinez, S., González, J., Culebras, J., Tuñón, M. (2002) Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. En: *Nutrición Hospitalaria*. Vol. 17. No. p, 271-278.
- Meireles, A. (2009). Extracting bioactive compounds for food products. Theory and applications EEUU: Editorial CRC Press. p.272, ISBN 978142006237.
- Miller, J.N. (2002) Estadística y quimiometria para química analítica. Madrid: Editorial Prentice Hall. p. 213-217. ISBN 8420535141.
- Montgomery, D.C., Peck, E.A., Vining, G.G. (2006) Introducción al análisis de regresión lineal. Mexico: Editorial Continental. p. 61-108. ISBN 9702403278.
- Moura, P.M., Prado, G.H.C., Meireles, M.A., Pereira, C.G. (2012) Supercritical fluid extraction from guava (*Psidium guajava*) leaves: Global yield, composition and kinetic data. En: *Journal of Supercritical Fluids*. Vol. 62. p. 116 -162.
- Mukhopadhyay, M. (2000) Natural extracts using supercritical carbon dioxide. EEUU: Editorial CRC Press. p. 3-28, ISBN 0849308194.

- Murga, R., Ruiz, R., Beltran, S., Cabezas, J. (2000) Extraction of Natural Complex Phenols and Tannins from Grape Seeds by Using Supercritical Mixtures of Carbon Dioxide and Alcohol. En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 48. p. 3408-3412.
- Nelder, J.A., Mead, R. (1965) A simplex method for function minimization. En: *The Computer Journal*. Vol. 7. p. 308-313.
- Pascual, M.E., Slowing, K., Carretero, E., SANCHEZ-Mata, D., Villar, A. (2001) Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. En: *Journal of Ethnopharmacology*. 2001. Vol. 76. p. 201-214.
- Prado, I.M. (2009) Uso de Simulador no Estudo de Aumento de Escala e Viabilidade Econômica do Processo de Extração Supercrítica de Produtos Naturais (Tesis de Maestría en Ing. de Alimentos). En: Universidad Estadual de Campinas..
- Prado, J.M., Dalmolin, I., Carareto, N.D.D., Basso, R.C., Meirelles, A.J.A., Oliveira, J.V., Batista, E.A.C., Meireles, M.A.A. (2012) Supercritical fluid extraction of grape seed: Process scale-up, extract chemical composition and economic evaluation. En: *Journal of Food Engineering*. Vol. 109. p. 249-257.
- Procolombia. (2016) Inversión en el sector de cosméticos y productos de aseo.. En: www.inviertaencolombia.com.co/sectores/manufacturas/cosmeticos-y-productos-de-aseo.
- Rastrelli, L., Caceres, A., Morales, C., De Simone, F., Aquino, R. (1998) Iridoids from *Lippia graveolens*. *Phytochemistry*. Vol. 49. p. 1829–1832.
- Reverchon, E., De Marco, I. (2006) Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. En: *Journal of Supercritical Fluids*. Vol. 38. p. 146 – 166.
- Reverchon, E., SETSI Osséo, L., Gorgoglione, D. (1994) Supercritical CO₂ extraction of basil oil: characterization of products and process modeling. En: *Journal of Supercritical Fluids*. Vol. 7. p. 185-190.
- Rodríguez, E; Árias, J; Vásquez, G; Martínez, J; Stashenko, E. (s.f.) Rendimiento y capacidad antioxidante de extractos de *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* Y *Psidium guajava* obtenidos con CO₂ supercrítico. En: *Revista Academia Colombiana de Ciencias Exactas*. Vol. 36. No. 140. p, 305-316.

- Rodríguez, J.M., Menéndez, J.R., Trujillo, Y. (2001) Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. En: *Revista Cubana de Medicina Militar*. Vol. 30. No. 1. p. 1-6.
- Rosa, P.T.V., Meireles, A.A. (2005) Rapid estimation of the manufacturing cost of extracts obtained by supercritical fluid extraction. En: *Journal of Food Engineering*.. Vol. 67. p. 235-240.
- Rosa, P.T.V., Meireles, M.A.A. (2009) Supercritical and pressurized fluid extraction applied to the food industry, in: M.A.A. Meireles (Ed.), *Extracting Bioactive Compounds for Food Products: Theory and Applications*, CRC Press, pp. 269–327.
- Rostagno, M. A., Prado, J. M. (Eds.). (2013). *Natural product extraction: principles and applications*. UK: RSC Green Chemistry No. 21.
- Shariaty-Niassar, M., Aminzadeh, B., Azadi, P., Soltanali, S. (2009) Economic evaluation of herb extraction using supercritical fluid. En: *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*.. Vol. 15 (3). p. 143-148.
- Søltoft, M., Christensen, J.H., Nielsen, J., Knuthsen, P. (2009) Pressurised liquid extraction of flavonoids in onions. Method development and validation. En: *Talanta*. Vol. 80. p. 269-278.
- Sovová, H. (1994) Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO₂. 1. Modeling of extraction curves. En: *Chemical Engineering Science*. Vol. 49. p. 409 - 414.
- Stashenko, E., Martínez, J., Cala, M., Durán, C., Caballero, D. (2011) Chromatographic and mass spectrometric characterization of essential oils and extracts from *Lippia* (Verbenaceae) aromatic plants. En: *Journal of Separation Science*. . Vol. 36. No. 1. p. 192 – 202.
- Stashenko, E., Martínez, J., Ruiz, C., Arias, G., Durán, C., Salgar, W., Cala, M. (2010) *Lippia* organoides chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. En: *Journal of Separation Science*.. Vol. 3. No. 1. p. 93-103.
- Stashenko, E., Ruiz, C., Muñoz, A., Castañeda, M., Martínez, J. (2008) Composition and antioxidant activity of essential oils of *Lippia organoides* H.B.K. grown in Colombia. En: *Natural Product Communications*.. Vol. 3. No. 4. p. 563-566.

- Sun, L., Lee, H.K. (2003) Optimization of microwave-assisted extraction and supercritical fluid extraction of carbamate pesticides in soil by experimental design methodology. En: *Journal of Chromatography A*. Vol. 1014. p. 165-177.
- Tinoi, J., Rakariyatham, N., Deming, R.L. (2005) Simplex optimization of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* using hydrolyzed mung bean waste flour as substrate. En: *Process Biochemistry*. Vol. 40. p. 2551-2557.
- Turton, R., Bailie, R.C., Whiting, W.B., Shaciwitz, J.A. (1998) Analysis, Synthesis, and Design of Chemical Processes. EEUU: Editorial Prentice Hall. ISBN 0135129664.
- Venereo, J. (2002) Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. En: *Revista Cubana de Medicina Militar*. 2002. Vol. 31. No. 2. p. 1-7.
- Yang, C., Xu, Y., Yao, W. (2002) Extraction of pharmaceutical components from Ginkgo biloba leaves using supercritical carbon dioxide. En: *Journal of agricultural and food chemistry*. Vol. 50(4), p. 846-849.
- Zapata, B., Durán, C., Stashenko, E., Correa, J., Betancur, L. (2009) Actividad citotóxica de aceites esenciales de *Lippia origanoides* H.B.K. y componentes mayoritarios. En: *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud UIS*. Vol.41. No. p, 215-222.

Apéndices

Apéndice A. Datos complementarios a la optimización

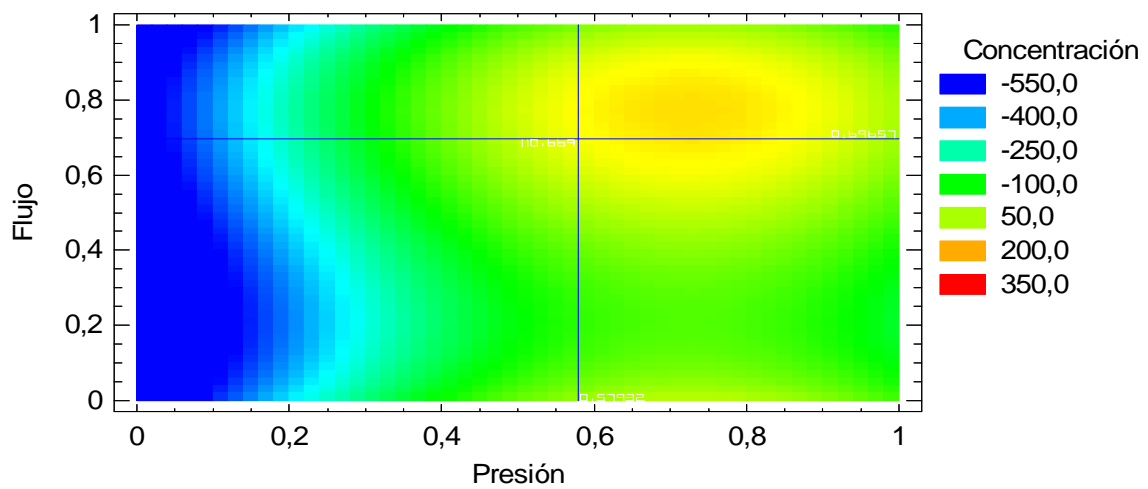


Figura A1. Gráfico de contorno para la concentración de flavonoides usando un porcentaje de etanol del 9,83%, tiempo de extracción de 2,1 horas.

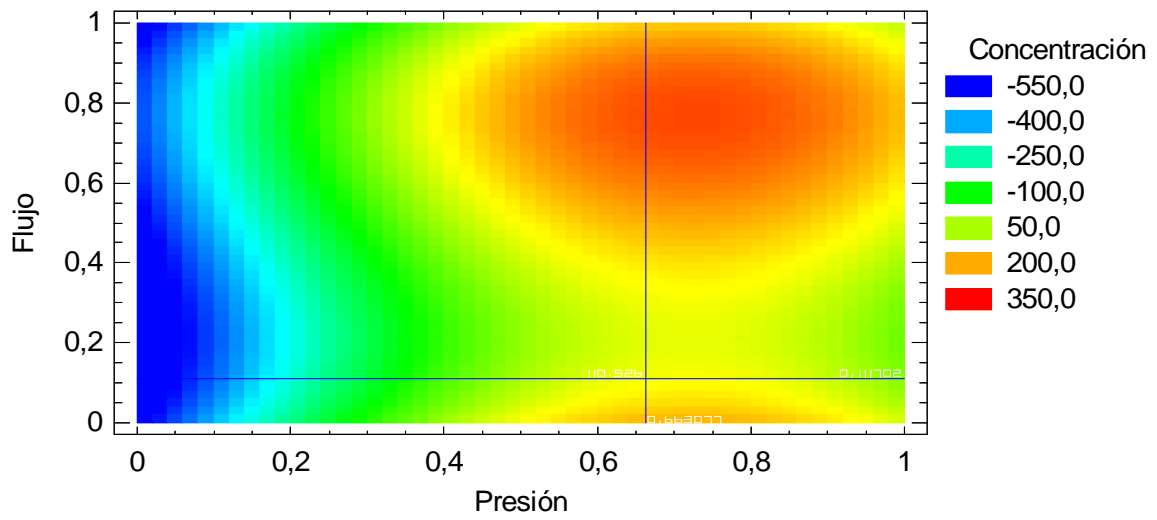


Figura A2. Gráfico de contorno para la concentración de flavonoides usando un porcentaje de etanol del 13%, tiempo de extracción de 1,97 horas.

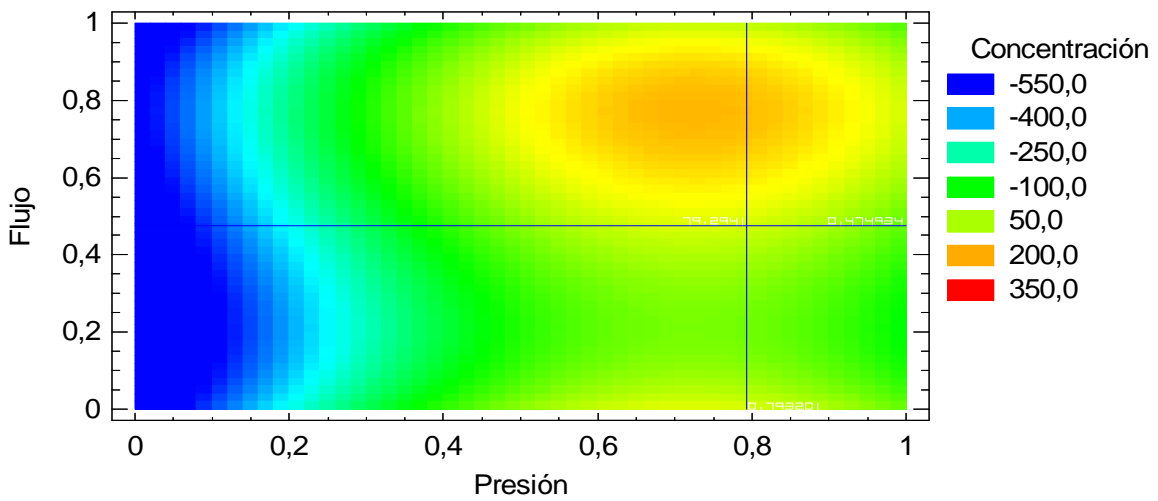


Figura A3. Gráfico de contorno para la concentración de flavonoides usando un porcentaje de etanol del 13%, tiempo de extracción de 2,54 horas.

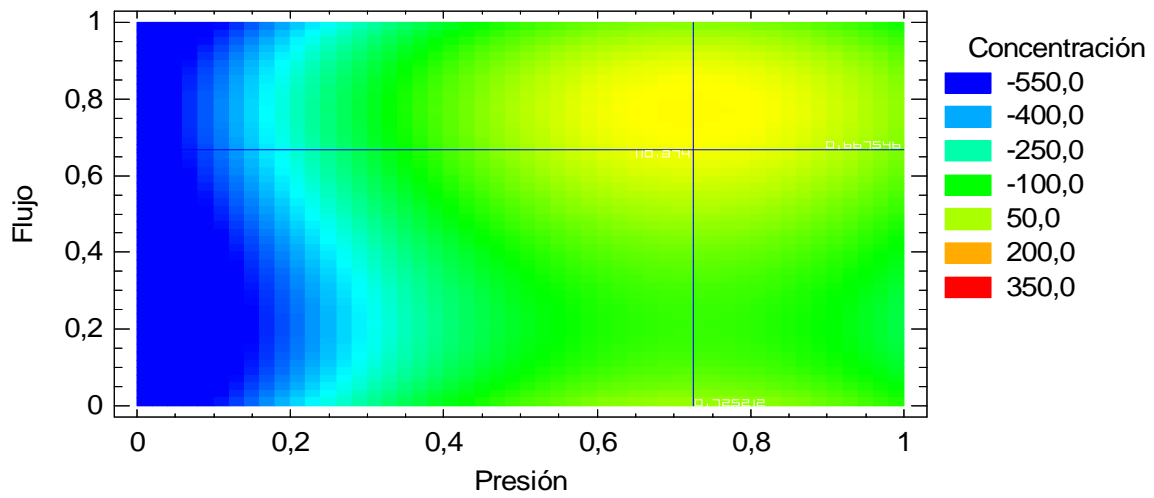


Figura A4. Gráfico de contorno para la concentración de flavonoides usando un porcentaje de etanol del 10,1%, tiempo de extracción de 2,28 horas

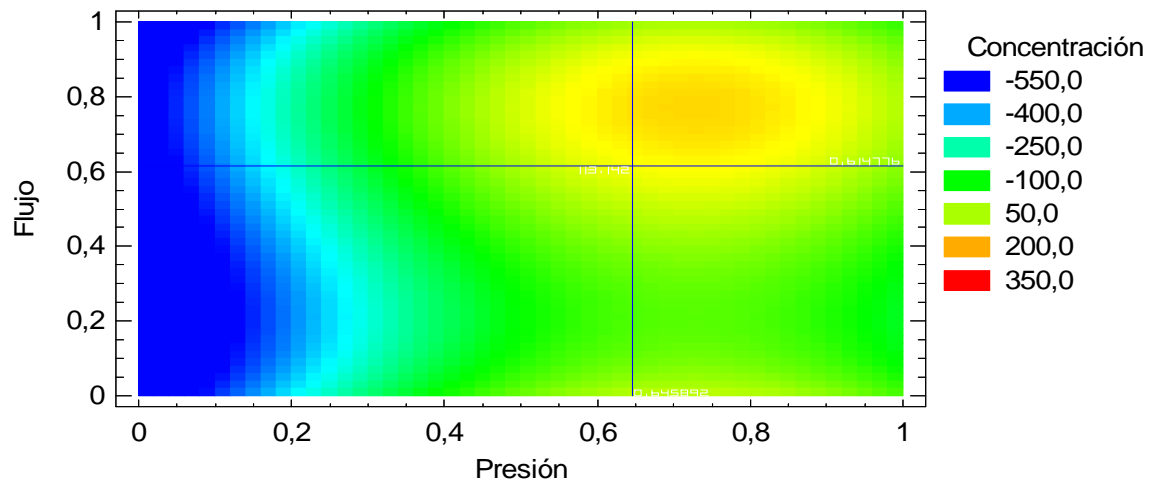


Figura A5. Gráfico de contorno para la concentración de flavonoides usando un porcentaje de etanol del 9,4%, tiempo de extracción de 2 horas.

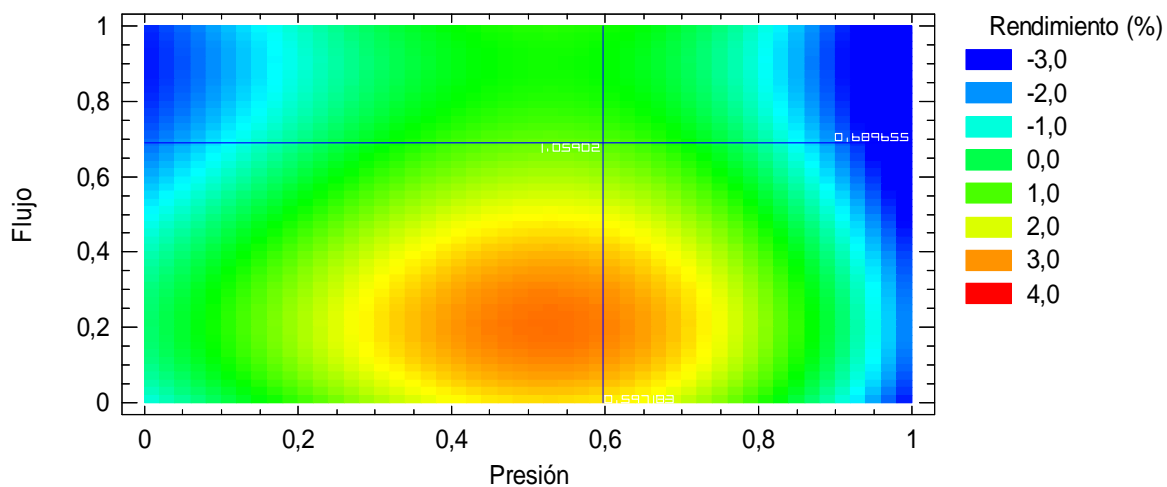


Figura A6. Gráfico de contorno para el rendimiento de extracción usando un porcentaje de etanol del 9,83%, tiempo de extracción de 2,1 horas.

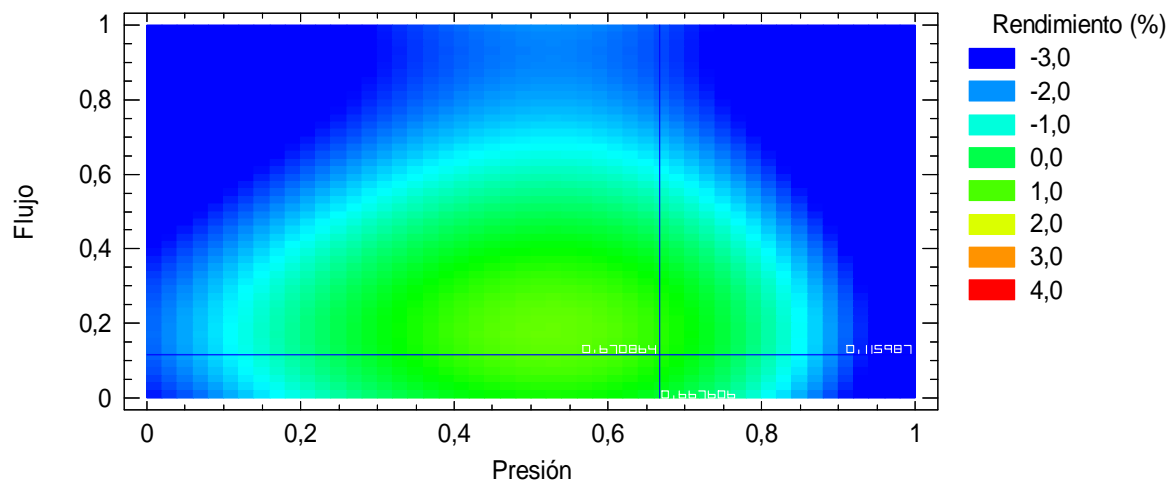


Figura A7. Gráfico de contorno para el rendimiento de extracción usando un porcentaje de etanol del 13%, tiempo de extracción de 1,97 horas.

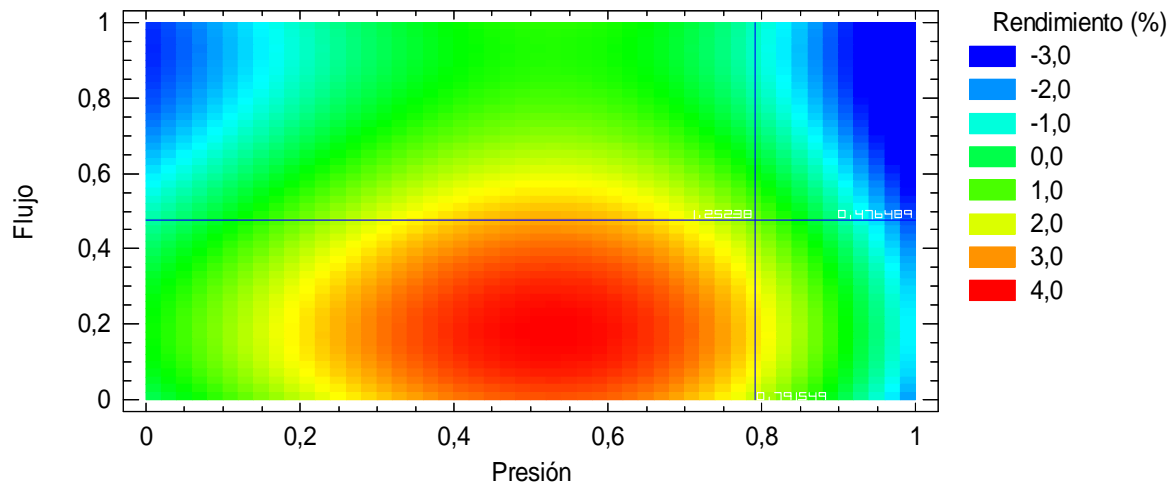


Figura A8. Gráfico de contorno para el rendimiento de extracción usando un porcentaje de etanol del 13%, tiempo de extracción de 2,54 horas.

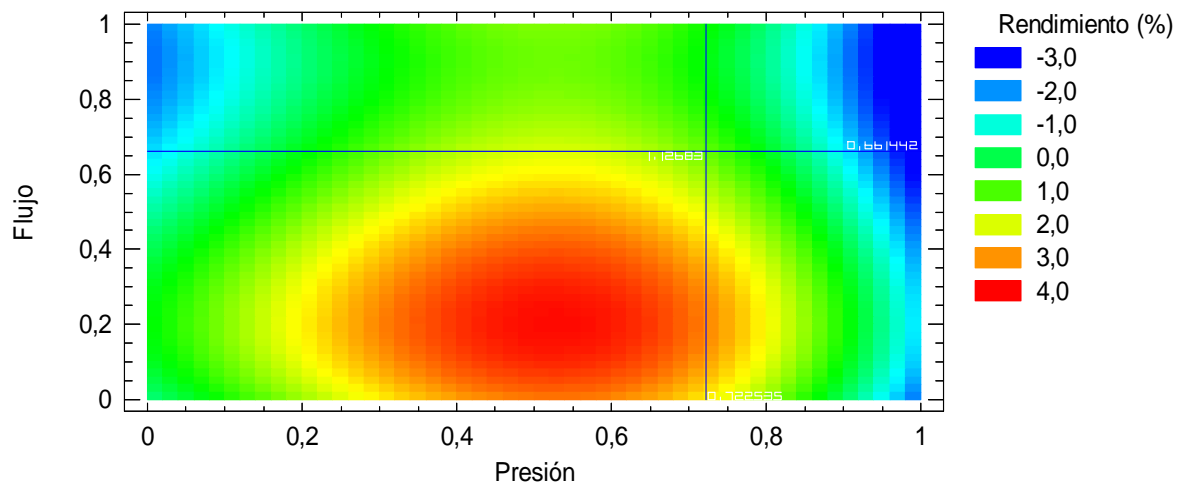


Figura A9. Gráfico de contorno para el rendimiento de extracción usando un porcentaje de etanol del 10,1%, tiempo de extracción de 2,28 horas.

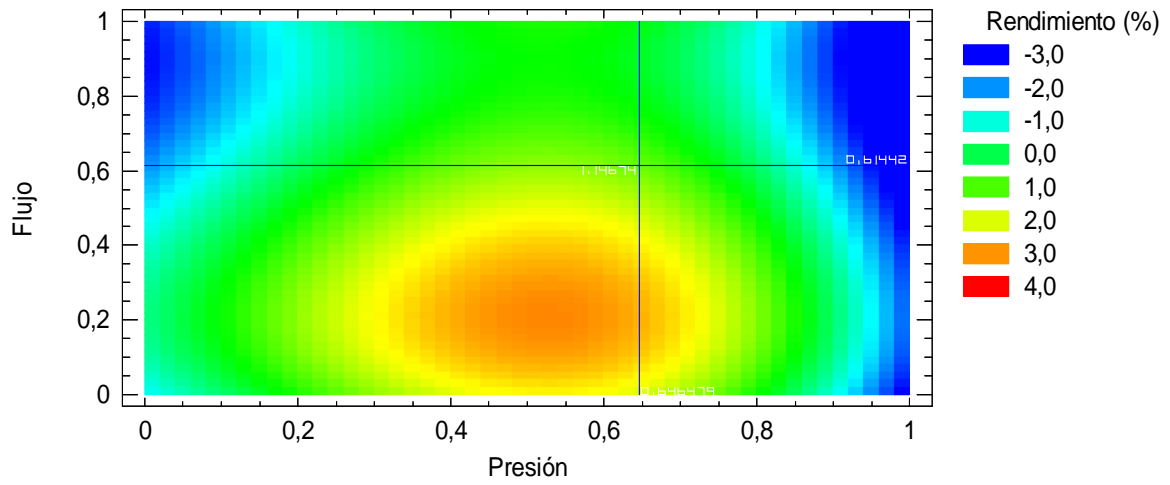


Figura A10. Gráfico de contorno para el rendimiento de extracción usando un porcentaje de etanol del 10,1%, tiempo de extracción de 2,28 horas.

Tabla A1. Resultados de las pruebas de reproducibilidad.

P	F	%	t	Concentración [mg/g de extracto]			Promedio	Desviación Estándar	CV	
				n= 1	n= 2	n= 3				
323	50,5	8	1,5	Luteolina	6,77	4,30	5,91	5,66	1,26	22,20
				Naringenina	3,53	22,21	16,21	13,98	9,54	68,22
				Pinocembrina	22,63	0,00	0,00	7,54	13,07	173,21
				Quercetina	9,49	12,56	17,96	13,34	4,29	32,15
				Total	42,42	39,07	40,07	40,52	1,72	4,24
398	36,5	13,5	2,25	Luteolina	5,42	7,45	4,71	5,86	1,42	24,29
				Naringenina	65,38	61,00	56,52	60,97	4,43	7,27
				Pinocembrina	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
				Quercetina	21,82	27,38	26,56	25,25	3,00	11,88
				Total	92,62	95,83	87,78	92,08	4,05	4,40

Apéndice B. Datos complementarios al análisis del COM

Tabla B1. Resumen del COM para todas las unidades SFE trabajadas

Capacidad (m³)	0,002	0,02	0,05	0,2	0,5	1
Producción anual (kg/año)	25,2	252	630	2520	6300	12600
Costo unidad SFE (miles \$USD)_{Turton}	86,00	342,37	593,28	1363,01	2361,91	3579,98
CUT (%)	0,9	3,1	4,3	8,0	10,5	12,2
COL (%)	68,2	47,4	41,2	19,5	10,4	7,9
FCI (%)	27,2	37,7	37,9	41,4	38,3	33,3
RMC (%)	3,2	11,0	15,9	30,2	40,1	45,9
COM_{Turton} (miles \$USD/año)	63,18	144,15	234,11	374,56	637,58	1124,94
COM_{Turton} (\$USD/kg)	2506,65	572,03	371,60	148,64	101,20	89,28
Costo unidad SFE (miles \$USD)_{Shariaty}	86,00	259,72	403,19	784,33	1217,61	1698,26
CUT (%)	0,7	2,7	3,9	8,6	11,6	13,5
COL (%)	55,1	41,0	37,4	20,9	11,5	8,8
FCI (%)	30,7	34,6	32,7	25,6	22,0	17,9
RMC (%)	2,6	9,5	14,4	32,3	44,3	51,1
GE (%)	11,0	12,3	11,6	12,6	10,8	8,7
COM_{Shariaty} (miles \$USD/año)	39,24	105,47	173,44	310,22	565,48	979,24
COM_{Shariaty} (\$USD/kg)	1557,00	418,54	275,30	123,10	89,76	77,72

Tabla B2. Factores que afectan el costo de fabricación (COM) en la metodología expuesta por Turton [47].

Cost Item from Table 8.1	Typical Range of Multiplying Factors	Value Used in Text
1. Direct Manufacturing Costs		
a. Raw materials	C_{RM}^{\dagger}	
b. Waste treatment	C_{WT}^{\dagger}	
c. Utilities	C_{UT}^{\dagger}	
d. Operating labor	C_{OL}	C_{OL}
e. Direct supervisory and clerical labor	$(0.1 - 0.25)C_{OL}$	$0.18C_{OL}$
f. Maintenance and repairs	$(0.02 - 0.1)FCI$	$0.06FCI$
g. Operating supplies	$(0.1 - 0.2)(\text{Line 1.F})$	$0.009FCI$
h. Laboratory charges	$(0.1 - 0.2)C_{OL}$	$0.15C_{OL}$
i. Patents and royalties	$(0 - 0.06)COM$	$0.03COM$
Total Direct Manufacturing Costs	$C_{RM} + C_{WT} + C_{UT} + 1.33C_{OL} + 0.03COM + 0.069FCI$	
2. Fixed Manufacturing Costs		
a. Depreciation	$0.1FCI^{\ddagger}$	$0.1FCI^{\ddagger}$
b. Local taxes and insurance	$(0.014 - 0.05)FCI$	$0.032FCI$
c. Plant overhead costs	$(0.50 - 0.7)(\text{Line 1.D.} + \text{Line 1.E.} + \text{Line 1.F})$	$0.708C_{OL} + 0.036FCI$
Total Fixed Manufacturing Costs	$0.708C_{OL} + 0.068FCI + \text{depreciation}$	
3. General Manufacturing Expenses		
a. Administration costs	$0.15(\text{Line 1.D.} + \text{Line 1.E.} + \text{Line 1.F.})$	$0.177C_{OL} + 0.009FCI$
b. Distribution and selling costs	$(0.02 - 0.2)COM$	$0.11COM$
c. Research and development	$0.05COM$	$0.05COM$
Total General Manufacturing Costs	$0.177C_{OL} + 0.009FCI + 0.16COM$	
Total Costs	$C_{RM} + C_{WT} + C_{UT} + 2.215C_{OL} + 0.190COM + 0.146FCI + \text{depreciation}$	

Fuente: *Analysis, Synthesis, and Design of Chemical Processes*. Turton, Bailie, Whiting, and Shaeiwitz. P 203.

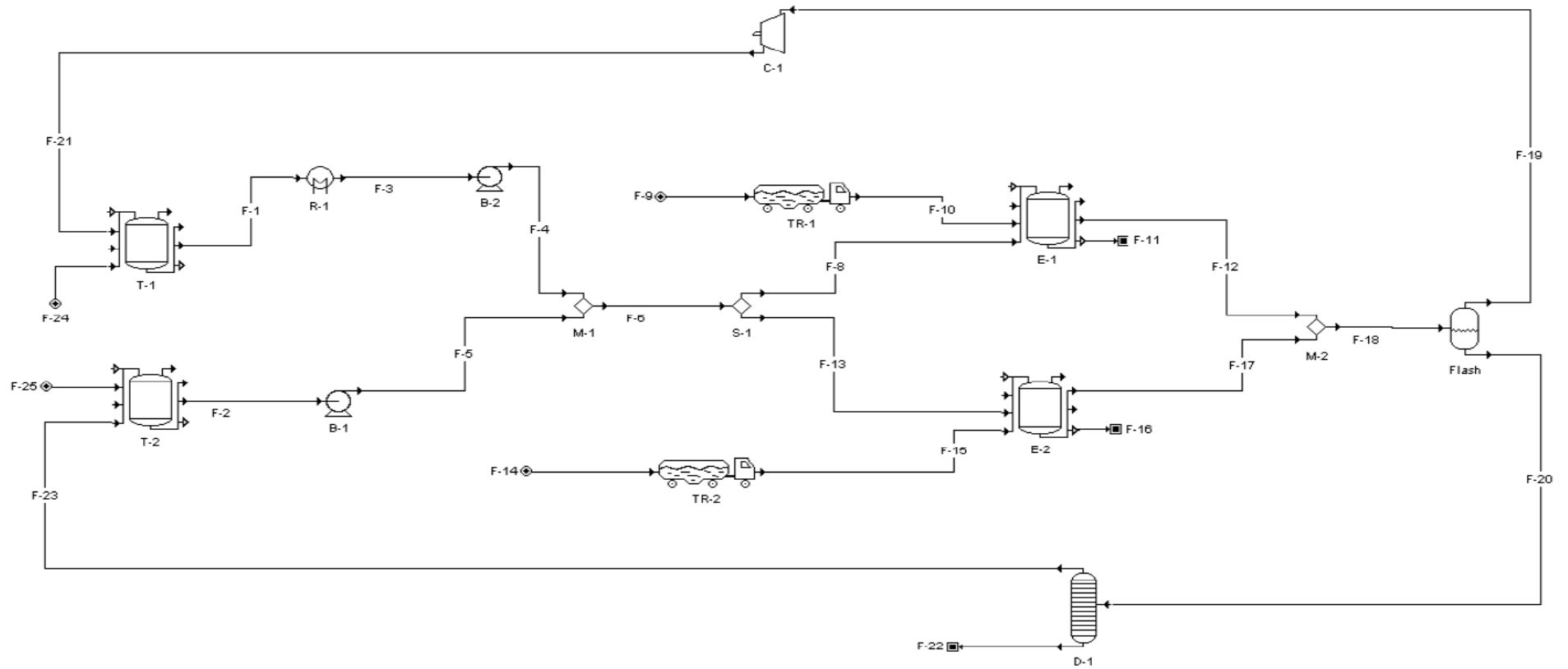


Figura B1. Diagrama de flujo del proceso de extracción supercrítica usado como base para el análisis de costo de fabricación. **T-1, T-2:** Tanques de almacenamiento de CO₂ y Etanol; **B-1, B-2:** Bombas de desplazamiento positivo; **R-1:** Intercambiador de calor; **E-1, E-2:** Cámaras de extracción; **Flash**; **C-1:** Compresor de CO₂; **D-1:** Evaporador.