

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

**EXTRACCIÓN DE CAFEÍNA A PARTIR DE CAFÉ
VENEZOLANO UTILIZANDO EL PROCESO DE EXTRACCIÓN
POR: MICROONDAS (EM) Y ULTRASONIDO (EU)**

Presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela
Por la Br. Carballo R; Aura Daniela
Para optar al Título
de Ingeniero Químico

Caracas, Noviembre 2008

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

**EXTRACCIÓN DE CAFEÍNA A PARTIR DE CAFÉ
VENEZOLANO UTILIZANDO EL PROCESO DE EXTRACCIÓN
POR: MICROONDAS (EM) Y ULTRASONIDO (EU)**

TUTOR ACADÉMICO: Prof. Alejandra Meza

Presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela
Por la Br. Carballo R; Aura Daniela
Para optar al Título
de Ingeniero Químico

Caracas, Noviembre 2008

Caracas, Noviembre 2008

Los abajo firmantes, miembros del Jurado designado por el Consejo de Escuela de Ingeniería Química, para evaluar el Trabajo Especial de Grado presentado por la Bachiller Aura Daniela Carballo Romero., titulado:

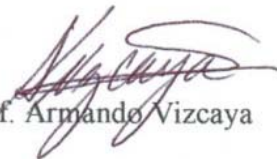
“Extracción de cafeína a partir de café venezolano utilizando el proceso de Extracción por: Microondas (EM) y Ultrasonido (EU)”

Consideran que el mismo cumple con los requisitos exigidos por el plan de estudios conducente al Título de Ingeniero Químico, y sin que ello signifique que se hacen solidarios con las ideas expuestas por el autor, lo declaran APROBADO.



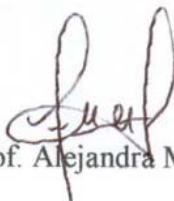
Prof. Leonardo Oropeza

Jurado



Prof. Armando Vizcaya

Jurado



Prof. Alejandra Meza

Tutor Académico

DEDICATORIA

A mis sobrinos:

María Valentina y María Daniela Ortega Carballo,
y Ricardo José Leyba Carballo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la Virgen por estar presentes en mi vida, brindándome protección sin desampararme en mis andanzas.

A la Universidad Central de Venezuela, por abrirme sus puertas y formar la persona que soy y a la ciudadana que represento en esta sociedad.

A mi familia: Papá, Mamá, Andre, Adri y Ana: No hay palabras suficientes para expresar el profundo agradecimiento que se merecen por haber confiado en mi y por brindarme el inmenso amor de familia perfecta e insuperable. Sin ustedes, simplemente no me encontraría.

A mi Abuelita y a mi tía Yzaida por amarme y complacerme en todo. A ustedes les debo mi carrera con las mejores experiencias. Las amo.

A la Prof. Alejandra Meza por su dedicación y ayuda a la realización de este trabajo especial de grado, en conjunto con el Prof. Francisco Yánez.

A la mejor amiga del colegio y del mundo: Idalmis, así como a mis casi hermanos: Grazia, Eze, Karen, Luis, Fradel, Marife, Victor, Toto e Iván. No existe en el mundo mejores amigos que ustedes.

A la persona que logró conquistar mi mente y mi corazón de una manera única y muy especial: Johann Federico Fernandes.

A mis compañeros y amigos que me acompañaron parte de mi carrera y en especial, en la realización de este trabajo, en especial: Kathy, Rafita, Made, Rosalía, Ini, Tupa, Sergio, Fefis, Andru, Migue, La prof. Adriana y el resto del combo.

Y finalmente pero no menos importante, a todas las que fueron mis madres en algún momento: Adda, Rosario, Miriam y Cecilia.

Carballo R, Aura D.

**EXTRACCIÓN DE CAFEÍNA A PARTIR DE CAFÉ VENEZOLANO
UTILIZANDO EL PROCESO DE EXTRACCIÓN POR: MICROONDAS (EM)
Y ULTRASONIDOS (EU)**

**Tutor Académico: Prof. Alejandra Meza. Asesor: Prof. Francisco Yáñez. Tesis.
Caracas, Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ingeniería. Escuela de
Ingeniería Química. 2008, 101p.**

Palabras Clave: Extracción Microondas (EM), Extracción Ultrasonidos (EU), Cafeína, Café.

Resumen: Para realizar la obtención de la cafeína a partir del café se han planteado diferentes métodos de descafeinización efectiva empleando diferentes métodos de extracción. Algunos de los procesos de extracción que se están empleando a nivel de laboratorio aplicado en el área de alimentos son: la extracción por ultrasonidos (EU) y la extracción por microondas (EM). Este Trabajo Especial de Grado tiene como objetivo general estudiar el proceso de extracción de la cafeína contenida en muestras de granos de café utilizando el proceso de Extracción por Microondas (EM) y el proceso de Extracción por Ultrasonido (EU). Para el cumplimiento de los objetivos específicos se efectuaron varias extracciones por cada uno de los métodos variando los parámetros sometidos a estudio, como lo son; el solvente, la potencia (sólo EM), la temperatura (sólo EU), el tiempo de extracción y el tamaño de grano.. El más alto rendimiento de extracto de café para extracción microondas se obtuvo empleando acetato de etilo como solvente (17,2%p/p), empleando café molido, durante 20s a 80% de potencia en la que se obtuvo una concentración de cafeína de 1535,96 mg/L. Igualmente para la EU se obtuvo el mayor rendimiento utilizando acetato de etilo empleando café molido durante 45 minutos en un medio con una temperatura de 60°C en la que se obtuvo una concentración de cafeína de 2691,10mg/L. De ambos procesos de extracción, la EU obtuvo mayor concentración de cafeína que EM, pero desde el punto de vista del proceso, la EM involucra menos tiempo en la extracción y obtiene una concentración de cafeína del mismo orden de magnitud que EU.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1 Introducción	1
1.2 Planteamiento del problema.....	3
1.3 Objetivo general.....	5
1.4 Objetivos específicos	5
CAPÍTULO II	6
MARCO TEÓRICO.....	6
2.1 Café	6
2.1.1 Bosquejo Histórico (Lander, 1984).....	7
2.1.2 Variedades botánicas del café más importantes (Jaramillo, 1996)	8
2.1.3 Composición del café.....	9
2.1.4 Propiedades del café.....	12
2.2 Cafeína (Olcina, 2005).....	13
2.2.1 Alcaloides (González, 2007).....	14
2.2.2 Aplicaciones de la cafeína (Olcina, 2005)	15
2.3 Extracción	17
2.3.1 Extracción con solventes.....	19
2.3.2 Extracción Soxhlet	19
2.3.3 Extracción Supercrítica (González, 2007)	20
2.3.4 Extracción de Fluidos Prezurizados (Cámel, 2001).....	21

2.3.5.1	Antecedentes y Aplicaciones de la EM.....	26
2.3.6	Extracción por Ultrasonido (Ali y Aboul- Enein, 2006).....	28
2.3.6.1	Antecedentes y Aplicaciones de la EU	29
2.4	Descafeinización	31
2.5	Técnicas de análisis químico.....	33
2.5.1	Cromatografía de Gases	33
2.5.2	Cromatografía Líquida de Alta Resolución	34
2.5.3	Espectroscopía Infrarroja	34
2.5.4	Espectrometría de Masa (Hoffman, 1996).....	35
CAPÍTULO III.....		36
METODOLOGÍA		36
3.1.	METODOLOGÍA EMPLEADA	36
3.1.1.	Sección I: Evaluación Preliminar.....	36
3.1.2.	Sección II: Extracción por Microonda (EM):	37
3.1.3.	Sección III: Extracción por Ultrasonido (EU):	39
3.1.4.	Análisis realizados al producto	41
3.1.4.1.	Rendimiento	41
3.1.4.2.	Espectroscopía Infrarroja	41
3.1.4.3.	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)	42
3.2.	DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO	43
3.2.1.	Preparación de la muestra	43
3.2.2.	Extracción por microondas	43
3.2.3.	Extracción por ultrasonidos.....	44

3.2.4.	Espectrómetro utilizado para el análisis cualitativo de las muestras	45
3.2.5.	Cromatógrafo utilizado para el análisis cuantitativo de las muestras	45
3.2.6.	Recolección de muestra.....	46
3.3.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	47
3.3.1.	Sección I: Evaluación Preliminar y preparación de la materia prima.....	47
3.3.2.	Sección II: Extracción por Microonda (EM)	48
3.3.3.	Sección III: Extracción por Ultrasonido (EU)	49
	CAPITULO IV.....	52
	PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	52
4.1.	CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA.....	52
4.1.1.	IR de los compuestos característicos del café	53
4.2.	EXTRACCIÓN POR MICROONDAS	55
4.2.1.	Determinación del tiempo inicial.....	55
4.2.2.	Influencia del uso de distintos solventes en el rendimiento y composición de la cafeína obtenido por el proceso de extracción de EM.	56
4.2.2.1.	Espectros de Infrarrojo de los productos obtenidos en EM	57
4.2.2.2.	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para la cuantificación de cafeína en el extracto obtenido en EM.....	61
4.2.3.	Influencia de la potencia en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EM.....	62
4.2.4.	Influencia del tiempo de residencia en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EM.	63
4.2.5.	Influencia del tamaño de grano en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EM.....	64

4.3.	EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDOS	64
4.3.1.	Influencia del solvente en el rendimiento y composición de cafeína contenida en el café obtenida por el proceso de extracción de EU	65
4.3.1.1.	Espectros de Infrarrojo de los productos obtenidos en EU	66
4.3.1.2.	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para la cuantificación de cafeína en el extracto obtenido en EU.....	68
4.3.2.	Influencia de la temperatura en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenido en el proceso EU.	69
4.3.3.	Influencia del tiempo de residencia en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EU.....	69
4.3.4.	Influencia del tamaño de grano en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EU.....	70
4.4.	Comparación Extracción Microondas y Extracción Ultrasonidos	71
4.5.	Comparación de la aplicación de diferentes técnicas de extracción reportadas en la bibliografía con EM y EU en la obtención de cafeína contenida en los granos de café.....	74
	CONCLUSIONES	77
	RECOMENDACIONES	79
	BIBLIOGRAFÍA	81
	ANEXOS	84
	Anexo 1. Comparación de resultados Espectroscopía Infrarroja por ATR y película líquida.....	84
	Anexo 2. Cálculo de la desviación estándar de la concentración	84
	Anexo 3. Determinación de las propiedades físicas del grano de café	87
	Anexo 4. Diferentes tamaños de grano utilizados.....	92

Anexo 5. Densidad y rendimientos de las pruebas para los procesos de extracción por microondas	92
Anexo 6. Densidad y rendimientos de las pruebas para los procesos de extracción por ultrasonidos	94
Anexo 7. Espectros Infrarrojos asociados a los compuestos principales del café y de los solventes utilizados en los procesos de extracción.....	96

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición química promedio del café natural analizado para las diferentes zonas de Venezuela (Silva, 1999).....	10
Tabla 2: Principales componentes del café arábica tostado normal (González, 2007)10	
Tabla 3: Acciones Farmacológicas y Beneficios por el consumo de café.....	12
Tabla 4: Contenido de cafeína en diversos productos (Olcina, 2005).....	16
Tabla 5: Índice de polaridad y constante dieléctrica de los solventes utilizados en EM y EU (www.cienytech.com/tablas/tabla-miscibilidades.pdf).....	26
Tabla 6: Número de pruebas experimentales realizadas en la Extracción por Microondas.....	39
Tabla 7: Número de pruebas experimentales a realizadas en la Extracción por Ultrasonido.....	41
Tabla 8: Características de los granos de café usados como materia prima para el proceso de extracción.....	53
Tabla 9: Compuestos del café posiblemente presentes en las muestras de extracto analizadas.....	54
Tabla 10: Temperaturas para un solvente y un tiempo determinado en E.M.	56
Tabla 11: Resultados de la determinación de: peso y densidad de los extractos, el rendimiento obtenido y la composición de cafeína en el producto de la extracción por microondas.....	57
Tabla 12: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por microondas para determinar el mejor solvente a 100% de potencia y un tiempo de referencia.....	61
Tabla 13: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a EM para determinar la potencia, usando acetato de etilo con su respectivo tiempo de extracción de referencia.....	62

Tabla 14: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por microondas para determinar el mejor tiempo, usando acetato de etilo y a 80% de potencia	63
Tabla 15: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por microondas para determinar el mejor tamaño de grano, usando acetato de etilo y a 80% de potencia	64
Tabla 16: Resultados de la determinación de: peso y densidad de los extractos y el rendimiento obtenido de la extracción por ultrasonidos	65
Tabla 17: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por ultrasonidos para determinar el mejor solvente a temperatura ambiente y a 35 min..	68
Tabla 18: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por ultrasonidos para determinar la mejor temperatura, usando acetato de etilo con su respectivo tiempo de extracción de referencia	69
Tabla 19: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por ultrasonidos para determinar el mejor tiempo, usando acetato de etilo y a 60°C.	70
Tabla 20: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por ultrasonidos para determinar el mejor tamaño de grano, usando acetato de etilo y a 60°C	71
Tabla 21: Comparación de rendimientos obtenidos en Extracción microondas y Extracción Ultrasonidos	71
Tabla 22: Comparación de las mejores condiciones llevadas a cabo tanto en EU como en EM	72
Tabla 23: Comparación de los resultados obtenidos en diferentes procesos de extracción de cafeína a partir de granos de café	76
Tabla 24: Resultados del cálculo de áreas para las concentraciones de la cafeína patrón en agua	85
Tabla 25: Desviaciones estándar de las curvas de calibración	86
Tabla 26: Humedad del grano en el proceso de secado	88
Tabla 27: Adsorción de agua del grano de café en diferentes tiempos	89

Tabla 28: Densidad de tres muestras obtenidas por la extracción por microondas, usando acetato de etilo, a 100% de potencia y un tiempo de extracción de 15 s.....	90
Tabla 29: Determinación del rendimiento de las muestras obtenidas luego del proceso de extracción por microondas usando acetato de etilo como solvente, a 100% de potencia en un tiempo de 15 s.....	91
Tabla 30: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EM variando los solventes.....	92
Tabla 31: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EM variando la potencia.....	93
Tabla 32: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EM variando el tiempo.....	93
Tabla 33: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EM variando el tamaño de grano.....	93
Tabla 34: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EU variando el solvente.....	94
Tabla 35: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EU variando la temperatura.....	94
Tabla 36: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EU variando el tiempo de extracción.....	95
Tabla 37: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EU variando el tamaño de grano.....	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Perspectivas del café en diferentes situaciones (www.ico.org).....	6
Figura 2: Estructura del fruto y del grano de un cafeto. (González, 2007).....	8
Figura 3: Variedades botánicas del café: Robusta y Arábica (González, 2007).....	9
Figura 4: Estructuras químicas de las metilxantinas (Olcina, 2005).....	15
Figura 5: Equipo de extracción Soxhlet (Cela y Lorenzo, s.f.).....	20
Figura 6a y 6b: Formación del dipolo “ μ ” en la estructura molecular del agua, y estructura molecular del teflón.....	23
Figura 7 ^a y 7b. Moléculas polarizadas al azar y Alineación por el campo electromagnético	23
Figura 8 :Representación del Sistema de extracción asistido por microondas.(Ali y Aboul-Enein, 2006).....	24
Figura 9:Representación gráfica de la expansión y compresión de burbujas en el líquido por la aplicación de ultrasonidos.	29
Figura 10: Equipo horno microondas utilizado para la extracción	44
Figura 11: Equipo Ultrasonido utilizado para la extracción	45
Figura 12: Baño térmico	45
Figura 13: Montaje del equipo para recolección de muestra	46
Figura 14: Conexión baño térmico y ultrasonidos	51
Figura 15: Espectro de Infrarrojo de la muestras de extracto por Extracción Microondas (película líquida).	59
Figura 16: Comparación de los espectros infrarrojo de la muestra de extracto de café utilizando acetato de etilo como solvente posterior a su eliminación, la cafeína y la grasa llamada spam 85 o trioleato de sorbitam.	60
Figura 17: Espectro de Infrarrojo de la muestras de extracto por Extracción Ultrasonido (película líquida).	67
Figura 18: Comparación de espectros infrarrojos obtenidos en EM y EU	73

Figura 19: Comparación del espectro del acetato de etilo puro con el espectro del extracto usando microondas, y espectro del extracto sometido al proceso de eliminación del solvente.....	84
Figura 20: Curva de calibración para el patrón de cafeína.....	86
Figura 21: Diferentes tamaños de grano utilizados en los procesos de extracción por microondas y ultrasonidos	92
Figura 22: Espectro Infrarrojo del Ácido Linoleico.....	96
Figura 23: Espectro Infrarrojo del Ácido Palmítico.....	96
Figura 24: Espectro Infrarrojo del Ácido Cafeico.....	97
Figura 25: Espectro infrarrojo de la Piridina.....	97
Figura 26: Espectro Infrarrojo de la Glicina	98
Figura 27: Espectro Infrarrojo de 3-metilpiridina.....	98
Figura 28: Espectro Infrarrojo de Acetato de Etilo.....	99
Figura 29: Espectro Infrarrojo de Ciclohexano.....	99
Figura 30: Espectro Infrarrojo de Metanol.....	100
Figura 31: Espectro Infrarrojo de Isopropanol.....	101
Figura 32: Espectro Infrarrojo del Agua	101

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En esta sección se plantean las bases que dan sustento a este Trabajo Especial de Grado, así como los objetivos que deben cumplirse durante la realización del mismo.

1.1 Introducción

Desde hace más de dos siglos hasta nuestros días, el café se ha mantenido como una de las bebidas más consumidas a nivel mundial. El café tiene una acción estimulante causada por la presencia de un alcaloide vegetal conocido como cafeína. Muchas personas lo consumen conociendo sus efectos para lograr mantenerse activas.

El consumo de café descafeinado adquirió gran popularidad en los años 80, sobre todo en los EEUU, actualmente existe la preocupación de que los disolventes usados para la extracción de cafeína puedan ser tóxicos para el organismo.

Por otro lado, la cafeína es un producto de interés comercial, utilizado tanto en la industria farmacéutica para medicamentos como en la alimenticia para bebidas refrescantes, por ende constantemente se plantean diferentes métodos para su obtención, buscando siempre la economía y la optimización del proceso.

La descafeinización consiste en extraer la cafeína de cualquier materia que la contenga, como: café, cacao, mate, y té, entre otras; llevándose a cabo en distintas etapas, las cuales difieren una de las otras principalmente por: su naturaleza, el tiempo de extracción, y el uso de distintos solventes, los que deben mostrar afinidad por la cafeína para así favorecer el proceso de extracción.

Algunos de los procesos de extracción más innovadores que actualmente se están empleando a nivel de laboratorio aplicado en el área de alimentos son la

Extracción por Ultrasonido (EU) y la Extracción por microondas (EM), estos pueden utilizarse como proceso de extracción, o como técnica de asistencia a procesos de extracción convencionales como Soxhlet y Supercrítica (ESC) así como para la caracterización de muestras.

El principio del proceso de la EU se fundamenta en la formación de burbujas en la fase líquida, las cuales agitan la disolución incrementando la presión y la temperatura en instantes de tiempo, fomentando la rotura del sólido mediante grietas microscópicas, facilitando la penetración del disolvente en el material vegetal (matriz) y logrando extraer el compuesto de interés.

De igual manera, la EM tiene la misma finalidad que la EU pero bajo otro soporte. Este tipo de extracción se basa en la excitación de las moléculas polares, por lo general el agua, contenidas en la muestra, las cuales generan un incremento de temperatura por la fricción generada con las otras moléculas que se encuentran sin movimiento a su alrededor. Este incremento de temperatura debilita las paredes de la matriz, permitiendo el paso del disolvente, el cual posee como característica fundamental, además de ser soluble en el compuesto de interés, una constante dieléctrica alta, la cual impide su calentamiento durante el proceso, manteniendo sus características físicas intactas.

En ambos procesos, el solvente arranca el compuesto de interés de la matriz, realizando el proceso de extracción en un tiempo menor, con menor cantidad de solvente, y menor cantidad de energía aplicada que en las técnicas convencionales.

Distintos estudios han realizado la extracción de diversos componentes de un alimento. En este Trabajo Especial de Grado se realizará el proceso de extracción de la cafeína de un grano de café con los dos métodos anteriormente mencionados para luego establecer comparaciones entre ellos y poder concluir cual técnica de extracción es la más favorable para este proceso. Además poder comparar estos resultados con los reportados en la bibliografía referentes al empleo de técnicas de extracción supercrítica.

Las comparaciones necesarias para establecer las conclusiones acerca del rendimiento en el proceso, se harán a partir de los resultados obtenidos por la diferencia de peso de la muestra antes y después de la extracción. De igual forma, con el uso de las técnicas analíticas: Espectroscopia Infrarroja y Espectrometría de Masa, se determinará la composición de la cafeína en el extracto.

1.2 Planteamiento del problema

El café es el producto más consumido en el mundo, después del petróleo. Es conocido como estimulante del sistema nervioso de seres humanos y animales, debido a que su sustancia activa es la cafeína.

Desde 1830 ocupa el vértice de la vida comercial de Venezuela y a fines del siglo XIX llega al primer puesto en la producción internacional, hasta la segunda década del siglo XX, donde el petróleo pasa a ser el protagonista de producción y exportación dentro de Venezuela, razón por la cual puede adjudicarse el descenso de la exportación del café, al producirse un cambio en la estructura económica del país.

La cafeína se emplea como componente en numerosos medicamentos, incluyendo analgésicos y aditivos dietéticos. Ahora bien, como todo alcaloide, goza de muy mala reputación, atribuyéndosele la causa de muchos males, sin llegarlo a comprobarlo científicamente.

Actualmente se han desarrollado diferentes tecnologías para retirar la cafeína del café, dejando propiedades intactas como aroma y sabor. Las técnicas de extracción tradicional incluye entre las más conocidas: Soxhlet y Mezclado. Estas técnicas presentan tiempos empleados para la extracción sumamente largos, así como alto consumo de solvente; además luego del proceso, el extracto tiene que pasar por un proceso de separación engorroso para eliminar las impurezas, antes de proceder al análisis químico, cualitativo y cuantitativo.

En la última década han emergido nuevas técnicas, las cuales con certeza superarán a las técnicas tradicionales en el futuro. Éstas son entre otras: Extracción

con Fluidos Supercríticos (EFS), Extracción por Ultrasonidos (EU) y Extracción por Microondas (EM).

Estas técnicas son realmente efectivas, debido a que la concentración de la cafeína que se obtiene de un grano es mucho mayor comparado con las técnicas tradicionales, sin embargo, para EFS se necesita llevar la materia prima a condiciones críticas, usando equipos costosos, y empleando un mayor tiempo en el proceso de extracción, lo cual también implica un alto consumo de energía.

En este Trabajo Especial de Grado se pretende evaluar el efecto que tienen las variables relevantes en el proceso para extraer la cafeína de semillas de café mediante la Extracción por Microondas (EM) y Extracción por Ultrasonido (EU). La primera evalúa el efecto de: la potencia aplicada, el solvente utilizado y el tiempo de extracción en el proceso. La EM tiene ventajas respecto a las tradicionales, puesto que ofrece una reducción considerable en el tiempo de extracción, reducción de energía aplicable en el proceso, mayor pureza del extracto, entre otras, reiterando que es una tecnología que disminuye los costos de producción, además de ser considerada como una tecnología amigable con el ambiente.

La EU, muestra beneficios parecidos a la EM, las variables relevantes que definen el proceso son: el solvente, el tiempo de extracción y la Temperatura en la obtención de cafeína. Con los resultados obtenidos se pretende establecer comparaciones a ambos procesos de extracción.

Finalmente, Se comparará el rendimiento obtenido usando EM y EU con: los resultados reportados en la bibliografía de la extracción de cafeína usando ESC.

1.3 Objetivo general

Estudiar el proceso de extracción de la cafeína contenida en muestras de granos de café utilizando el proceso de Extracción por Microondas (EM) y el proceso de Extracción por Ultrasonido (EU).

1.4 Objetivos específicos

- ✓ Determinar las condiciones iniciales de la materia prima (café) en cuanto a humedad y tamaño promedio en el proceso de EM.
- ✓ Determinar la influencia del uso de distintos solventes en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café en el proceso de EM.
- ✓ Determinar la influencia de la potencia en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenido en el proceso EM.
- ✓ Determinar la influencia del tiempo de residencia en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EM.
- ✓ Determinar la influencia del uso de distintos solventes en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café en el proceso de EU.
- ✓ Determinar la influencia del tiempo de residencia en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EU.
- ✓ Determinar la influencia de la temperatura en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EU.
- ✓ Comparar los resultados obtenidos en la extracción de cafeína empleando microondas y ultrasonido.
- ✓ Comparar los resultados obtenidos en la extracción de cafeína empleando microondas y ultrasonido con los resultados reportados en la bibliografía de Extracción SuperCrítica.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

A continuación se presenta la revisión a detalle de las fuentes de información disponibles relacionadas con los conceptos y proposiciones que permiten abordar el proceso de extracción, en particular de la cafeína que se encuentra dentro de un producto alimenticio como el café, y establecer las bases teóricas necesarias para la futura discusión de los resultados obtenidos.

2.1 Café

Café es el nombre común de las semillas provenientes de los arbustos del género *Coffea* de la familia de las Rubiáceas, así también se llama a la bebida que con ellas se prepara. De todas las especies que comprende el género *Coffea* sólo son importantes tres: *Arábica*, *Canephora* y *Libérica*. El fruto, llamado "cereza" por su parecido con esta fruta, se desarrolla en el curso de los seis o siete meses siguientes a la aparición de la flor; cambia desde el verde claro al rojo y, cuando está totalmente maduro y listo para la recolección, al carmesí. (Jaramillo, 1996). En la Figura 1 se pueden apreciar gamas diferentes en las que se puede encontrar el café: crecimiento, desconchamiento, secado y su recolección final.



Figura 1: Perspectivas del café en diferentes situaciones (www.ico.org)

Según La Norma Venezolana COVENIN el término café es empleado para designar el fruto y granos del café, del género *Coffea*, especies: Arábica y Canephora; de la primera se cultivan comercialmente en el país, las variedades Típica, Caturra, Catuay y Bourbon, y de la especie Canephora, la variedad Robusta. El término Café se hace extensivo al fruto maduro, café verde, cerezas secas, granos aún con la corteza de pergamino adherida, liofilizado, descafeinado, tostado, molido e infusión.(COVENIN, 93)

2.1.1 Bosquejo Histórico (Lander, 1984)

Historiadores y naturalistas han comprobado que la variedad de café que se cultiva en Venezuela es originaria de Etiopía (Abisinia) y no de origen Árabe. De aquí parte el más seguro origen de la palabra café, atribuida al nombre de Kaffa, que aún lleva una región del sudeste de Etiopía, parte oriental de África.

En 1725, se inicia la expansión vertiginosa por las antillas de Centro y Sur América. De la Guayana Holandesa el café pasa a Brasil, y de los cultivos en Martinica, el café pasa a México y Haití, extendiéndose por todo el continente americano con gran rapidez y éxito, puesto que los suelos representaban las condiciones propicias para su propagación vertiginosa. Debido a esto, el café representaría un renglón importante para la economía americana.

En cuanto al café en Venezuela, este cultivo afloró al panorama nacional a principios del Siglo XVIII, convirtiéndose ya para finales del mismo, en el eje de la vida comercial del país, situación que continuó por muchos años.

A partir de la segunda mitad del siglo XVIII, el café comienza a convertirse en un importante producto exportable, relegando a un segundo plano el cacao, principal renglón de exportación para entonces. En 1789 se le concede la exención de derechos de exportación con fines protectores.

Desde 1830 ocupa el vértice de la vida comercial venezolana y a fines del siglo XIX reclama y pasa al primer puesto en la producción internacional, hasta la

segunda década del siglo XX, donde el petróleo pasa a ser el protagonista de producción y exportación dentro de Venezuela. Razón por la cual puede adjudicarse el descenso de la exportación del café, debido al cambio de estructura económica que se inició en el país.

2.1.2 Variedades botánicas del café más importantes (Jaramillo, 1996)

El cafeto pertenece al tipo espermatofitas, subtipo angiospermas, clase dicotiledóneas, subclase gamopétalas, orden rubiales, familia rubiáceas, género *Coffea*, especies: Arábica, Libérica, y Canephora. Existen actualmente más de 5 cinco mil especies de la familia rubiáceas. En sus características generales prevalecen las hojas opuestas, provistas de pequeñas estípulas (estructura laminar que se forma a cada lado de la base de la planta) alternas a ellas. En la Figura 2 se puede apreciar la estructura del fruto y del grano de un cafeto.



Figura 2: Estructura del fruto y del grano de un cafeto. (González, 2007)

La planta de cafeto, es un arbusto que según la especie y la variedad, puede llegar hasta 10 metros de altura. Sus órganos principales son: raíces, tallos, ramas, hojas, flores y frutos. La primera cosecha se obtiene tres años después de su plantación y tiene una vida aprovechable de unos 50 años. En Venezuela se cultiva más el *Coffea arábica* que el *Coffea Canephora*.

La especie arábica es la más apreciada, forma un grupo completo con un gran número de variedades, dando todas ellas una bebida suave en taza. Dentro de este grupo se pueden mencionar las variedades: Típica, Bourbon, Caturra y la Mundo Nuevo. Esta especie se cultiva en regiones situadas entre 500 y 2000 metros de altitud. Representa el 70% de la producción mundial y su contenido de cafeína es del 1 al 2% p/p del grano.

En relación a la especie *Canephora*, son arbustos mayores en tamaño que los de grupo arábico, y tienen una característica importante, son resistentes al *Hemilea Vastarix* (Roya del Cafeto). La variedad Robusta es la más representativa dentro del género, siendo bastante alta su capacidad de producción. Se cultiva desde el nivel del mar hasta 500 metros de altitud. Representa el 25% de la producción mundial y su contenido en cafeína es del 2 al 4 % p/p del grano. En general, el género botánico *Coffea Robusta* tiene un sabor más fuerte y menos agradable que el Arábica. En la Figura 3 se aprecia la comparación entre dos variedades de café que pertenecen a especies diferentes.

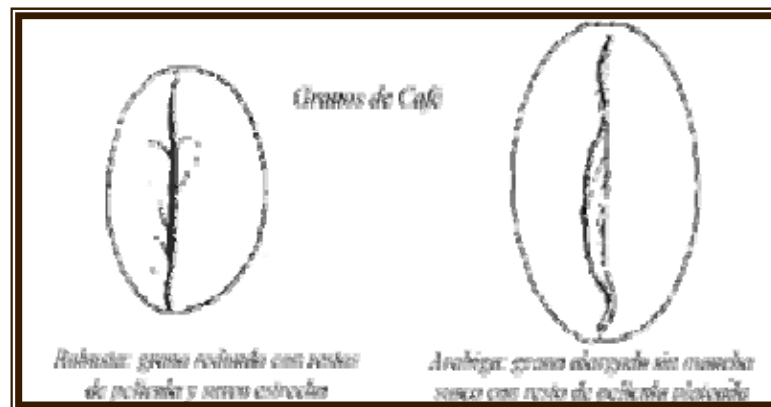


Figura 3: Variedades botánicas del café: Robusta y Arábica (González, 2007)

2.1.3 Composición del café

El café está formado por más de 900 componentes que dependen entre otros factores de su origen, y del modo de obtención. En la Tabla 1 se muestra la composición química del café tostado para dos zonas productivas de Venezuela.

Tabla 1: Composición química promedio del café natural analizado para las diferentes zonas de Venezuela (Silva, 1999)

Composición	Zona	
	Oriental	Occidental
%Humedad	10,5	11,15
%Cenizas	4,62	4,81
%Grasa cruda	12,8	12,5
%Fibra cruda	13,6	13,8
%Cafeína	1,46	1,45
%Azúcares totales	0,84	0,86

Los principales componentes del café tostado y el porcentaje en que se encuentran se muestran en la tabla N° 2, demostrando al igual que en la tabla 1, que la cafeína se encuentra en poca proporción con respecto a otros compuestos.

Tabla 2: Principales componentes del café arábica tostado normal (González, 2007)

Componente	(%)	Componente	(%)
Proteína	9	Ácido Acético	0,25
Polisacáridos insolubles en agua	24	Ácidos no volátiles	0,4
Polisacáridos solubles en agua	6	Ácidos clorogénicos	3,7
Sacarosa	0,2	Cafeína	1,2
Glucosa, Fructosa, Arabinosa	0,1	Trigonelina	0,4
Lípidos	13	Ácido Nicotínico	0,02
Ácido Fórmico	0,1	Sustancias aromáticas volátiles	0,1
		Minerales (Cenizas)	4

A continuación se hace una breve descripción de los compuestos más importantes presentados en la tabla anterior (González, 2007):

Cafeína: La cafeína 1, 3, 7- trimetilxantina, es un alcaloide familia de las metilxantinas. Se presenta como cristales o polvo cristalino blanco, inodoro, que puede causar efectos en el sistema nervioso central y cardiovascular, dando lugar a insomnio, excitación, taquicardia y polyuria.

Trigonelina: Ácido N-metilnicotínico, presente en el café crudo en un porcentaje de 0,4%, Es un polvo cristalino blanco o ligeramente amarillento, inodoro, que se degrada en el tostado.

Polifenoles: El ácido clorogénico es el polifenol mayoritario en el café. Este ácido comprende un grupo de varios ésteres con ácidos químicos, además hay pequeñas cantidades de ácido cafeico y ácido ferúlico libres, así como ésteres del ácido ferúlico y del ácido cumárico con el ácido químico.

Ácidos Carboxílicos: Entre los ácidos volátiles predominan los ácidos fórmicos y acéticos; entre los no volátiles, los ácido láctico, tartárico, pirúvico y cítrico.

Carbohidratos: En el café existen preferentemente compuestos insolubles, además de celulosa, hay otros polisacáridos formados por manosa, galactosa y arabinosa.

Lípidos: La fracción lipídica solo experimenta ligeros cambios durante el proceso de tostado. Entre los ácidos grasos predomina el ácido linoleico, seguido del palmítico.

Proteínas: Entre las principales proteínas se encuentran: Ácido glutamínico, Glicina, Isoleucina, Leucina, Tirosina, Valina, Fenilalanina y Prolina.

Minerales: Las cenizas del café contienen preferentemente potasio, calcio y magnesio. Entre los aniones predominan el fosfato y el sulfato. Junto a éstos existen muchos otros elementos en cantidades despreciables.

Sustancias Aromáticas: La fracción volátil del café tostado tiene una composición muy compleja que le da al café su sabor único y su aroma. La mayoría de estos compuestos se deterioran con el aire y la luz, lo que explica el consejo habitual de conservar el café molido en un recipiente hermético al vacío, al resguardo del calor y la luz. Conservar el café en forma de granos y molerlo en el último momento minimiza la superficie de contacto con el aire, y en consecuencia la probabilidad de degradación de los aromas.

Ácidos Clorogénicos: El café contiene una serie de ésteres característicos denominados ácidos clorogénicos que derivan de la unión éster entre el ácido cafeico y el ácido químic. Los ácidos clorogénicos son reconocidos como antioxidantes. La máxima cantidad de oxidante se observa en el café medianamente tostado. El café representa una fuente dietaria de antioxidantes de carácter único con un perfil muy específico y con alta capacidad de antioxidante total (Gotteland y de Pablo, 2007).

2.1.4 Propiedades del café

El café tiene propiedades beneficiosas si se usa en forma apropiada y no como una bebida regular. A continuación se muestran en la Tabla 3 algunas de las acciones farmacológicas que acarrear el consumo de café, así como alguno de los beneficios que conlleva el mismo.

Tabla 3: Acciones Farmacológicas y Beneficios por el consumo de café

Acción Farmacológica	Beneficios
Estimulante del sistema nervioso central.	Estimula el cerebro (la memoria, la atención y la concentración).
Efecto ergogénico (aumenta la capacidad de realizar esfuerzo físico).	Ayuda a prevenir el consumo de drogas y alcohol.
Estimulación cardíaca (efecto inotropo positivo).	Aumenta la energía física sin causar dependencia.
Vasoconstricción a nivel craneal (antimigrañoso).	Reduce en un 30% la incidencia de desarrollar diabetes.
Vasodilatación periférica.	Alivia dolores de cabeza.
Aumenta el estado de vigilia.	Previene el cáncer de colon.
Estimula la musculatura esquelética y el centro de la respiración.	Reduce la incidencia del mal de Parkinson en 80%.

La cafeína, componente activo del café es el responsable de la mayoría de estas acciones, debido a que su propiedad intrínseca es estimulante. Asimilar la cafeína contenida en la bebida es un efecto al que se ha tenido que acostumbrar el ser

humano debido a que le ha permitido aumentar su resistencia y concentración durante horas de jornadas laborales aumentando su productividad en el trabajo.

El café descafeinado es el grano soluble al cual le fue extraída la cafeína, lo que permite hacer una bebida que aprovecha el sabor del café sin obtener la respectiva estimulación en el sistema central nervioso.

2.2 Cafeína (Olcina, 2005)

La cafeína (1, 3, 7 trimetilxantina) es considerada una trimetilxantina puesto que posee en su estructura (Figura 4) tres mutilaciones a nivel de los átomos de nitrógeno heterocíclico, ubicados en la posiciones 1, 3 y 7. Fue descubierta en 1819 por Ruge y descrita en 1821 por Pelletier y Robiquet. Es el ingrediente más activo del café. Su concentración en el café Arábica es del 1 al 2%. Es una sustancia inodora y en estado puro es un polvo blanco muy amargo, con baja solubilidad en agua fría y de rápida absorción, especialmente por el tracto gastrointestinal.

Se encuentra en la naturaleza en las semillas de cafeto, de cacao (chocolate), de cola, en las hojas de té, yerba mate y guaraná. Suele añadirse a algunos refrescos, como los refrescos de cola.

Su fórmula química es $C_8H_{10}N_4O_2$ y su nombre sistemático es 1,3,7-trimetilxantina o 3,7-dihidro-1, 3,7-trimetil-1H-purina-2,6-diona. Una taza de café contiene de 100 a 200 mg de cafeína. El café descafeinado en Venezuela, según la Norma Venezolana COVENIN, debe contener una cantidad de cafeína no superior al 0,32% en peso de la misma. La cafeína se puede conseguir también en píldoras estimulantes de hasta 300 mg.

2.2.1 Alcaloides (González, 2007)

Los alcaloides son compuestos nitrogenados, en su gran mayoría de origen natural, sobre todo del reino vegetal, aunque se encuentren algunos semisintéticos y otros exclusivamente sintéticos.

Las acciones presentadas por los alcaloides son muy diversas, la más estudiada es la acción euforizante que presentan algunos tales como la cafeína o la cocaína. También existen alcaloides con efectos depresores del sistema nervioso central como la morfina.

La mayoría de los alcaloides son insolubles o muy pocos solubles en agua, pero se disuelven en alcohol, éter, cloroformo u otros solventes orgánicos.

La teofilina (té), teobromina (chocolate) y cafeína (café) son un grupo de alcaloides estimulantes del Sistema Nervioso Central (SNC) denominados metilxantinas. Estas sustancias tienen por núcleo común una xantina, proveniente de la unión de dos átomos de oxígeno a una purina, a la cual se enlazan en diversas posiciones de su anillo en diversos grupos (Olcina, 2005). Las metilxantinas tienen escasa solubilidad, la cual se intensifica por la formación de complejos (1:1) con diversos compuestos. Algunas de ellas son mostradas en la Figura 4, donde se pueden observar los grupos funcionales que las conforman. Entre ellas se encuentra la cafeína.

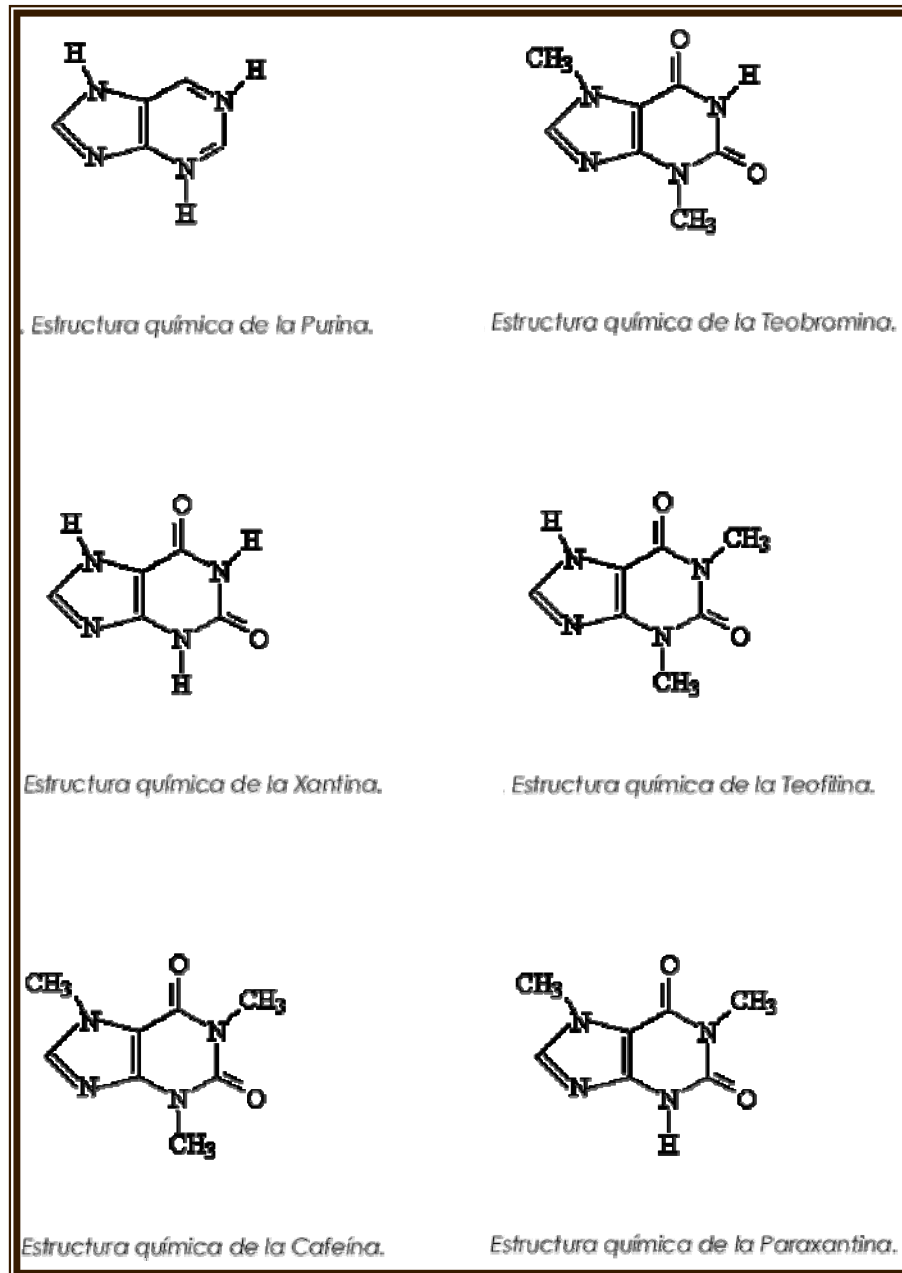


Figura 4: Estructuras químicas de las metilxantinas (Olcina, 2005)

2.2.2 Aplicaciones de la cafeína (Olcina, 2005)

Son muchos los productos donde se puede encontrar la cafeína, desde medicamentos, refrescos, alimentos que forman parte de cualquier dieta, hasta

suplementos dietéticos para la pérdida de peso. Cada uno de ellos lleva una cantidad de cafeína distinta por unidad de consumo, tal como lo indica la Tabla 4.

Tabla 4: Contenido de cafeína en diversos productos (Olcina, 2005)

Producto	Cafeína(mg)
Café de máquina	80
Café Soluble	71
Café descafeinado	4
Té	40
Cacao	5
Chocolate	35
Coca-Cola	46
Pepsi	38
Red- Bull	80

La cafeína es consumida por más de un 80% de la población americana en torno a los 200 mg. diarios, mientras que en Europa es consumida a una media diaria de 125 mg. por día. Su aceptación social, la fácil disponibilidad, el bajo precio y la reciente exclusión de las listas de sustancias prohibidas hacen de la cafeína una sustancia de interés. En 1970 diversos estudios científicos demostraron el gran poder ergogénico (aumento de potencia muscular) del café en pruebas de resistencias.

Varios estudios epidemiológicos realizados en la última década muestran en forma consistente la existencia de una correlación inversa entre el consumo del café y el riesgo de diabetes de tipo 2, daño hepático y de enfermedades neurodegenerativas como el parkinson. Los mecanismos que podrían explicar estas observaciones aún no se conocen con certeza pero es probable que estén asociados con el alto contenido de antioxidantes del café y en particular el ácido clorogénico. Los estudios que evaluaron el café como un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares han entregado resultados contradictorios sugiriendo un eventual efecto negativo con un consumo alto, mayor a 9 tazas de café. Los potenciales efectos del consumo de café sobre diversas patologías descritas en la literatura son contradictorios por lo cual son insuficientes para establecer conclusiones sólidas en cuanto al papel real del café en estas patologías.

Entre los efectos negativos del consumo del café que han sido científicamente demostrados están el aumento de los niveles de homocisteína, y la elevación de los niveles circulantes de colesterol y triglicéridos.

2.3 Extracción

La extracción en el área de alimentos se define como la operación unitaria por la cual un componente de un alimento se separa o elimina mediante el contacto con otro material o fase que tiene mayor afinidad por él, mientras que el resto de los componentes permanecen en el alimento. Esta separación implica, por lo tanto, la existencia de dos fases, siendo el disolvente aquella fase que se añade al material original. Las dos fases pueden ser un sólido y un líquido, dos líquidos inmiscibles o un líquido y un gas; ésta es, además, la base de la clasificación de los procesos de las operaciones de extracción (Ordóñez, 1999).

Esta técnica es empleada para separar un producto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo de sus fuentes naturales. También puede definirse como la separación de un componente de una mezcla por medio de un disolvente. En la práctica es muy utilizada para separar compuestos orgánicos de las soluciones o suspensiones acuosas en las que se encuentran.

La extracción requiere tres pasos sucesivos: la mezcla de la materia prima con el disolvente, la separación de las dos fases después del contacto y la eliminación del extracto del disolvente. La eficacia de la recuperación del disolvente, si su costo es elevado, determinará la viabilidad económica de la operación. En la extracción se han de considerar los siguientes fenómenos físicos (González, 2007):

La difusión del compuesto de interés: se da desde el interior de la materia prima hasta su superficie y de ahí, hacia el grueso de la fase del disolvente. Para ello es necesario que previamente el disolvente penetre en el interior de la materia prima para arrastrar dicho componente. Su ***velocidad de difusión*** determinará el tiempo necesario para que se alcance el equilibrio entre las dos fases. ***La solubilidad*** del

soluto que se desea extraer en el disolvente utilizado es su saturación, dado que la máxima concentración posible está en el extracto final, cuanto mayor sea ésta menor será el número de ciclos necesarios para lograr el grado de separación deseado. **El equilibrio de la concentración** del soluto en la materia prima y en el disolvente requiere que ambos estén en contacto durante un tiempo adecuado.

El principal factor que controla la extracción es la velocidad a la que un componente (soluto) se transfiere de la fase tratada (materia prima sólida o líquida) a la fase disolvente. Esta velocidad depende del coeficiente de transferencia de masa, el cual varía con las condiciones de la materia prima, del soluto en cuestión y del disolvente.

Otros factores que afectan la velocidad de la extracción son:

- **El área de exposición** o grado de contacto de la materia prima con el disolvente y la profundidad de penetración de éste último. La reducción del tamaño de la partícula facilita la extracción, al aumentar el área de exposición y disminuir la distancia que el soluto ha de migrar desde la materia prima hasta ponerse en contacto con el disolvente. El tamaño de la partícula ha de controlarse para que el flujo en el extractor no se reduzca en exceso.
- **El gradiente de concentración** del soluto entre la materia prima y el disolvente, que es la fuerza conductora de la extracción.
- **La temperatura** a la que se realiza la operación. En general, al aumentar la temperatura se facilita la operación.
- **La velocidad y las características del flujo del disolvente.** Para mejorar la extracción conviene aumentar la velocidad de flujo del disolvente y que éste sea turbulento.

Los disolventes de interés para la industria alimenticia deben carecer de toxicidad, tener una elevada selectividad por los solutos y una baja miscibilidad con la materia prima. Deben además ser inertes y estables, no inflamables ni explosivos, económicos y no perjudicar el medio ambiente.

Algunos métodos de extracción tanto tradicionales como innovadores se presentan a continuación:

2.3.1 Extracción con solventes

El procedimiento de extracción usando un disolvente orgánico inmisible con el agua consiste en agitar las muestras con éste y dejar separar ambas capas. Los distintos solutos presentes se distribuyen entre las fases acuosas y orgánicas, de acuerdo con sus solubilidades relativas. De este modo, las sales inorgánicas prácticamente insolubles en los disolventes orgánicos más comunes, permanecerán en la fase acuosa, mientras que los compuestos orgánicos que no forman puentes de hidrógeno insolubles en agua se encontrarán en la orgánica.

2.3.2 Extracción Soxhlet

El proceso de extracción Soxhlet ha sido utilizado por más de 100 años como una técnica de extracción para varias sustancias provenientes de diferentes matrices. La metodología fue desarrollada por el científico alemán Franz Von Soxhlet en 1879. Este tipo de extracción es una excelente alternativa para la extracción de compuestos organometálicos (contiene enlaces carbono-metal) provenientes de muestras sólidas con alta volatilidad, no se recomienda para la extracción de contaminantes que pueden descomponerse a altas temperaturas. Es un proceso de extracción de compuestos, generalmente de naturaleza lipídica contenidos en un sólido a través de un solvente afín. Cuando se evapora el solvente sube hasta el área donde es condensado; aquí, al caer y regresar a la cámara de solvente, va separando los compuestos, hasta que se llega a una concentración deseada (Figura 5).

Aunque su campo de aplicación es fundamentalmente el agroalimentario es también de utilidad en el área medioambiental, así es el método de análisis recomendado para la determinación del aceite y la grasa total recuperable en aguas de vertidos industriales permitiendo la determinación de hidrocarburos relativamente no

volátiles, aceites vegetales, grasas animales, ceras, jabones y compuestos relacionados. Como ejemplo se encuentra la determinación de la grasa de aguacate con éter de petróleo como solvente, así como la determinación de la grasa de la leche en polvo.

El resultado representa el contenido de sustancias extraíbles, que mayoritariamente son grasas, aunque también hay otras sustancias como las vitaminas liposolubles y pigmentos en el caso de su determinación en alimentos.

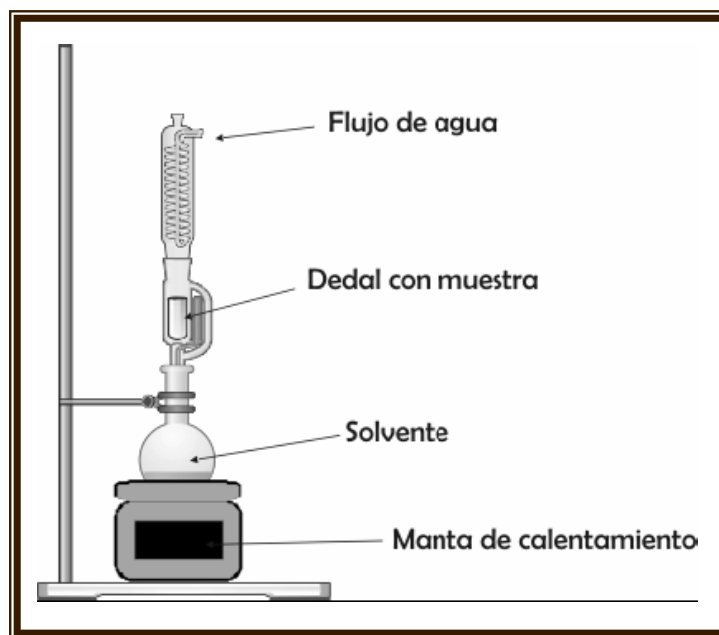


Figura 5: Equipo de extracción Soxhlet (Cela y Lorenzo, s.f.)

2.3.3 Extracción Supercrítica (González, 2007)

Es la operación unitaria de transferencia de masa que se efectúa por encima del punto crítico del solvente; permite controlar y manipular la difusividad, viscosidad y densidad del fluido mediante pequeños cambios en la presión y temperatura, lo que conlleva a una variación en la selectividad y el poder disolvente del mismo.

En la extracción supercrítica, el disolvente se encuentra en estado supercrítico, es decir, tanto la presión como la temperatura se encuentra por encima de sus valores críticos. Los fluidos supercríticos poseen una única propiedad por lo que los permite comportarse como líquido o como gas. Un sistema típico de extracción supercrítica consiste en una bomba de alta presión que mantiene al fluido y a la matriz de extracción en una temperatura y presión correcta.

2.3.4 Extracción de Fluidos Prezurizados (Cámel, 2001)

Hace cinco años apareció esta técnica. El disolvente se mantiene en estado líquido con el fin de lograr altas temperaturas, Se aplica presión dentro de la célula sometida a extracción para alcanzar temperaturas alrededor de 100 a 200 °C con solventes orgánicos tradicionales. De hecho a tales temperaturas y presiones elevadas, se puede considerar que el solvente se encuentra es estado subcrítico, con ventajosas propiedades de transferencia de masa.

Las altas temperaturas favorecen la solubilización de compuesto en el solvente debido al cambio en sus coeficientes de distribución, finalmente la presión favorece la penetración del solvente dentro de la matriz que sigue favoreciendo el proceso de extracción. En este proceso de extracción la presión es de poca importancia, ya que su principal objetivo es mantener el solvente en estado líquido, esto reduce el número de parámetros que se necesitan optimizar para lograr extracciones eficientes.

2.3.5 Extracción por Microondas

La extracción por microondas (EM) es un tipo de extracción en la que se utilizan radiaciones de microondas a una frecuencia que de acuerdo a la naturaleza del compuesto de interés, pueda ser absorbida dentro de una matriz o material biológico. Es una tecnología de separación de desarrollo relativamente reciente, válida para alimentos tanto sólidos como líquidos.

La microonda es una onda electromagnética, la cual está compuesta como su nombre lo indica por dos vectores que representan el campo magnético y el campo eléctrico. Se definen en un rango de frecuencias determinado; generalmente entre 300 MHz y 300 GHz, y una longitud de onda en un rango de 1 m a 1 mm. El campo eléctrico en materiales aislantes interactúa con las moléculas polares del material sometido a radiación. Este mecanismo se conoce bajo el nombre de calentamiento por pérdidas dieléctricas (Rochas, 2004).

El principio de calentamiento por pérdidas dieléctricas se enfoca experimentalmente en la degradación de temperatura de una onda electromagnética dentro de un material, la cual depende primordialmente de la naturaleza del material sometido al campo eléctrico. Tomando como ejemplo el agua (Figura 6a), esta molécula puede estar representada por una entidad eléctricamente neutra, pero su distribución asimétrica hace presente un dipolo “ μ ” (ob.cit).

El parámetro de medida que se usa generalmente para este mecanismo es la constante dieléctrica. En términos generales se puede decir que mientras más alto es el valor absoluto de la constante dieléctrica, más alto será el valor de la absorción de la energía microondas. En realidad la situación es mucho más complicada que eso ya que la habilidad de una sustancia química para absorber varía con la frecuencia aplicada y con la temperatura de la sustancia cuando esta sujeta a dichas microondas (ob.cit).

En el caso en que las distancias intermoleculares sean largas no se evidencia un aumento de temperatura. En el caso del teflón (Figura 6b), la cadena de moléculas están perfectamente acomodadas simétricamente, esto hace que no exista un dipolo “ μ ”. Así, son insensibles a la presencia del campo eléctrico y es usado como aislante. El cambio de polaridad ocurre por un agente externo que lo provoca. En este caso el agente externo es el magnetrón, componente fundamental de un horno microondas, que incluye un ánodo, un cátodo y una antena y en su conjunto producen una señal senoidal de muy alta frecuencia, como por ejemplo 2450MHz, la utilizada en la cocción de alimentos. Esta energía de alta frecuencia producida es enviada al

compartimiento del horno a través de la antena y una guía de ondas con lo que se genera el fenómeno de frotación de moléculas que a su vez produce el calentamiento de los cuerpos (ob.cit).

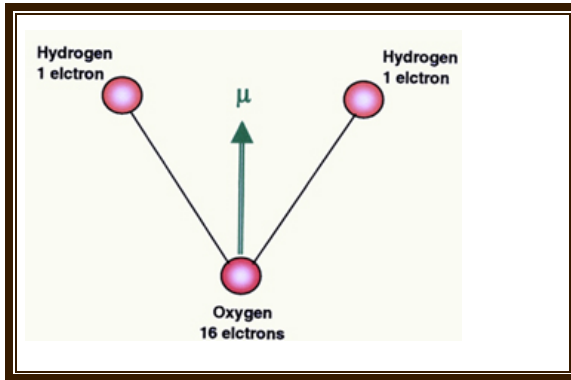


Figura 6a: Formación del dipolo “ μ ” en la estructura molecular del agua.

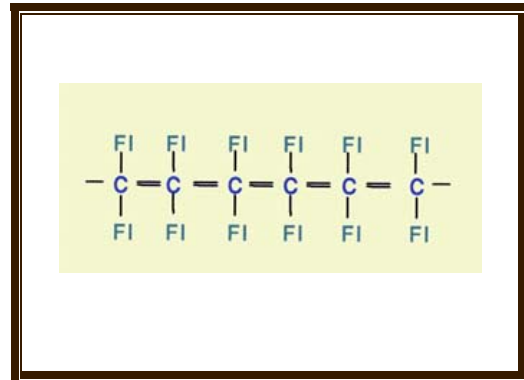


Figura 6b: Estructura molecular del teflón.

En condiciones normales las moléculas del agua siempre están polarizadas al azar, pero si son expuestas a la acción de un campo electromagnético se alinearán según el sentido de sus polos (Figura 7a y 7b). Si la dirección del campo electrostático se invierte, la alineación de las moléculas también se invertirá, si esto ocurre rápidamente, el sucesivo reordenamiento que se induce en las moléculas, provocará una fricción entre ellas que se traduce en calor. En un horno microondas por lo general se manejan frecuencias de 2450 MHz, lo cual significa que el campo electrostático generado se invierte y retorna a su posición original 2450 millones de veces por segundo, y se ha elegido este número de oscilaciones porque es una frecuencia de resonancia de la molécula del agua, permitiendo un rápido calentamiento (Parra, (s, f)).

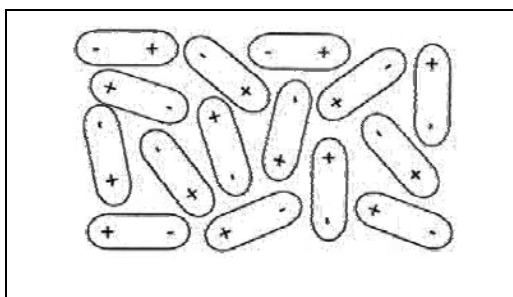


Figura 7a Moléculas polarizadas al azar

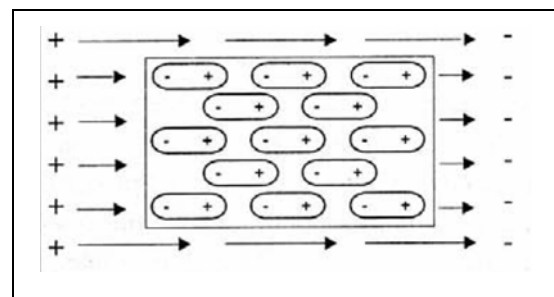


Figura 7b: Alineación por el campo electromagnético

El hecho de que diferentes especies químicas absorben energía microonda a diferentes medidas implica que la energía térmica co-producida e impartida a los alrededores puede variar con la especie química. Por lo tanto, para sistemas que posean características estructurales inherentes no homogéneas o que contienen especies químicas con diferentes propiedades dieléctricas dispersas dentro de un ambiente homogéneo, es posible que se efectúe un calentamiento selectivo de algunas áreas o componentes del sistema (Rochas, 2004).

El horno microonda (Figura 8) es una cavidad multifuncional diseñado para resonar las microondas emitidas por el magnetrón. Las microondas son emitidas desde la antena del magnetrón y transferidas hacia la cavidad del horno a través de otras guías de ondas diseñada para transferir energía sin pérdidas de ningún tipo. Cuando las emisiones llegan a la cavidad, son absorbidas directamente por el alimento o rebotan en las paredes hasta que finalmente chocan con el cuerpo absorbiéndose de manera definitiva. Cabe destacar que, si el horno es operado con el compartimiento vacío o con un utensilio de metal en su interior, la mayoría de las radiaciones se reflejarán en las paredes de la cavidad, regresando hacia el magnetrón donde se disipan en forma de calor, provocando el sobrecalentamiento al dispositivo, o bien un recorte en su período de vida (Parra, (s, f)).

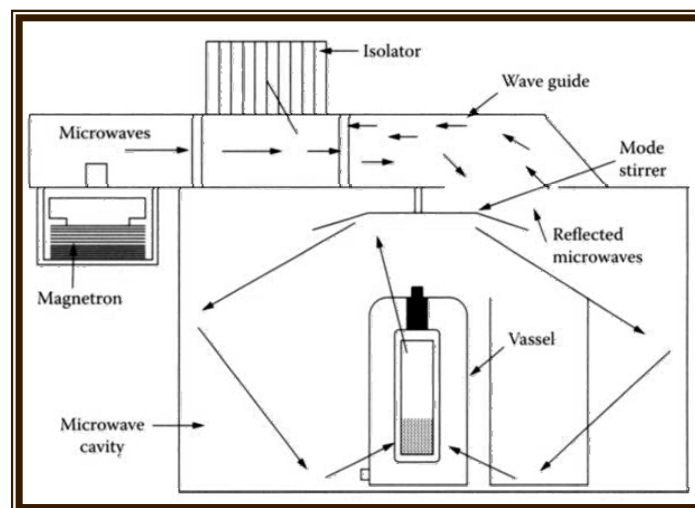


Figura 8 :Representación del Sistema de extracción asistido por microondas.(Ali y Aboul-Enein, 2006)

La microonda se utiliza para generar un aumento repentino de la temperatura dentro de la matriz o material biológico luego de que la glándula del material se pone en contacto con el solvente. El compuesto de interés dentro de la matriz debe ser un componente disperso, que pueda absorber la radiación de microondas. Luego la temperatura se mantiene constante hasta que la presión interna excede la capacidad de extensión de las paredes, por lo que ocurre una explosión a nivel celular. El solvente puede fluir libremente dentro de la matriz, logrando atrapar al compuesto de interés y disolverlo. El material sólido se puede filtrar, teniendo como resultado una solución formada con el solvente utilizado y el compuesto de interés. Finalmente para obtener el compuesto de interés se aplica la técnica de separación que mejor convenga. El solvente utilizado no debe poseer una constante dieléctrica significativa para que la energía aplicada actúe directamente sobre la matriz o compuesto de interés, y no sea absorbida por el solvente, y así lograr extraer el compuesto de interés en la mayor cantidad posible (Paré, 1991).

Las aplicaciones de este proceso se extienden desde escala de laboratorio hasta procesos industriales con propósitos comerciales. Ambas aplicaciones son bien probadas más allá del objetivo de su contribución.

Mientras se tenga mayor diferencia entre las propiedades dieléctricas de la matriz y el disolvente en la extracción por microondas en fase líquida, mejor será la eficiencia del proceso y más grandes son los ahorros en términos de energía y en las cantidades de solvente usado. En aplicaciones con recipientes abiertos o a bajas presiones, el solvente puede ser usado adicionalmente como un refrigerante natural además de solubilizar el material sujeto a estudio ya que su temperatura no se eleva tan rápidamente como lo hace la de la matriz. Por ejemplo; los resultados de la elevación de la temperatura observada en un solvente como hexano es un proceso relativamente lento comparado con la excitación de la energía microonda de la matriz (Paré, 2001). En la Tabla 5 se muestran el índice de polaridad y la constante dieléctrica para algunos de los solventes empleados en procesos de extracción.

Tabla 5: Índice de polaridad y constante dieléctrica de los solventes utilizados en EM y EU
(www.cienytech.com/tablas/tabla-miscibilidades.pdf)

Solvente	Punto de Ebullición (°C)	Constante Dieléctrica (ϵ)	Índice de polaridad (P)
Agua	100	78,5	9,0
Metanol	65	32,7	5,1
i-Propanol	118	17,9	4,3
Ciclohexano	81	6,0	0,04
Acetato de Etilo	77	2,02	4,4

2.3.5.1 Antecedentes y Aplicaciones de la EM

Las primeras aplicaciones del proceso de extracción por microondas que se dieron a conocer públicamente tratan de la extracción de aceites esenciales a partir de productos vegetales. Aunque la tecnología patentada se aplica a la extracción de sustancias químicas naturales variadas como el agua, suelos, animales, también abarca variedades de productos hechos por el hombre. Los campos de aplicación de esta técnica son diversos, entre ellos están; ambiente, agricultura, alimentos, biomédico, farmacéutico, productos consumibles y procesos de monitoreo y control.

Estudios referentes a este tipo de extracción reportan resultados en la obtención de:

- Grasas de cacao en polvo y previamente tratados con diferentes solventes que son relativamente transparentes a las microondas (éter de petróleo, hexano, acetona, y el isopropanol): Con un tiempo de extracción aproximadamente de 7 min 30 sg, variando la potencia entre 10 y 100% y usando como solvente una mezcla de hexano y propanol, se obtuvo 10,70% de cafeína, sin embargo, usando éter de petróleo se obtuvo 44,7% de cafeína, por lo que se demuestra la influencia del solvente en el

proceso. Este trabajo concluye que la EM puede ser usada como un proceso de extracción de la grasa relativamente rápido y que ofrece ventajas de: bajo consumo de costosos solventes orgánicos, extracción de corto tiempo, un menor consumo de energía y una excelente reproducibilidad (ElKhor, 2006).

- Grasas de Carne, huevo y lácteos sólidos: después de homogeneizar la muestra, se usan como disolventes éter de petróleo y hexano, la muestra se irradia a 300 W de potencia, durante un lapso de 60 a 90 segundos. Para la muestra de carne se obtuvo 16,3% de grasa frente a 15,6% de grasa obtenido por Soxhlet de 6 horas como tiempo de extracción. Para la extracción de grasa de productos lácteos se usó etiléter como solvente, con 20% de potencia durante 1 min, obteniéndose; 35% de grasa usando microondas versus 33% de grasa usando soxhlet. El resultado fue la obtención de una concentración de grasas parecido al obtenido en la técnicas convencionales, pero en un tiempo menor y usando menor cantidad de disolvente (Paré, et al., 1997).
- *Azadirachta indica* (AZRL): En el proceso fue usado solventes con constantes dieléctricas diferentes como: metanol ($\epsilon' = 32,6$), diclorometano ($\epsilon' = 9,1$), y éter de petróleo ($\epsilon' \sim 4$), a una potencia de 150 W. Se irradia la muestra por 10 min y los resultados mostraron que el metanol y el diclorometano son buenos solventes para la extracción, tanto por ser selectivos en el proceso como por su alto valor de la constante dieléctrica, concluyendo que el solvente usado no sólo influencia la eficiencia del proceso sino que también afecta la selectividad en el EM. Además se puede corroborar que el empleo de la técnica de EM puede mejorar la extracción de AZRL en diferentes sitios de la matriz (Dai, 2001).

Así como también la extracción del aceite de la mentha piperita (Paré, 1991), pigmentos a partir de polvo de paprika (Kiss, 2000), y residuos de pesticidas a partir de semillas de girasol (Rosales, 2003), entre muchos otros. Esto demuestra que el proceso de Extracción por Microondas (EM) es un método ampliamente utilizado en el área de alimentos, y pretende ser aplicado en otros campos como el farmacéutico, y el ambiental.

2.3.6 Extracción por Ultrasonido (Ali y Aboul- Enein, 2006)

La extracción por ultrasonido ayuda a la homogeneización de muestras sólidas, pudiendo ser usado para una extracción fácil y rápida de iones metálicos de una muestra. El ultrasonido de forma directa usa una herramienta acústica especialmente diseñada como una corneta o sonda. Estas cornetas y sondas están disponibles con áreas y longitudes transversales definidas dependiendo del volumen de solución y la intensidad requerida a procesar. El ensamble completo incluyendo cornetas, sondas y demás piezas es llamado sonotrodo (*sonotrode en inglés*) y está hecho de un material inerte, a saber, una aleación de titanio que es colocado directamente con el contenedor de la muestra sumergida en el solvente.

Las frecuencias de ultrasonido usados en este proceso de extracción son vibraciones sonoras superiores a las que puede percibir el oído humano. La energía ultrasónica es generada por un transductor eléctrico a una tasa de 20.000 a 40.000 Hz y produce en los líquidos el fenómeno de cavitación, que se traduce en la formación y choque de infinitas y muy pequeñas cavidades o burbujas al vacío en el líquido. Las vibraciones causan ondas alternadas de alta y baja presión, que agitan la disolución comprimiendo y expandiendo el líquido, produciendo burbujas microscópicas que se dilatan y se contraen (ver Figura 9). Estas burbujas pueden alcanzar un tamaño crítico produciendo durante un breve intervalo de tiempo altas temperaturas (mas o menos 5000K) y presiones ($>1000\text{atm}$), produciendo agitación, fomentando la rotura del sólido mediante la formación de grietas microscópicas, extrayendo el compuesto de interés de la matriz sumergida en el líquido.

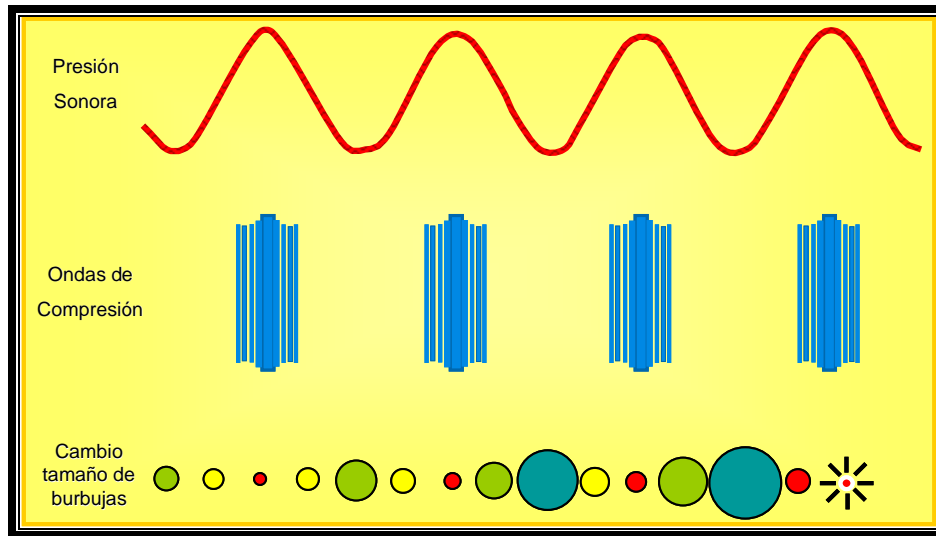


Figura 9: Representación gráfica de la expansión y compresión de burbujas en el líquido por la aplicación de ultrasonidos.

La efectividad de este proceso depende de la frecuencia y de la amplitud del ultrasonido, así como de la temperatura, la tensión superficial, la presión de vapor, viscosidad y densidad del líquido. El proceso de extracción por ultrasonido (*sonication en inglés*) genera calor dentro del líquido, aumentando el proceso de extracción.

2.3.6.1 Antecedentes y Aplicaciones de la EU

La extracción por ultrasonido ha sido usada para la extracción de arsénico, cadmio, cobre, manganeso y hierro de muestras biológicas. El método SW – 846-3550 de la EPA (*Environmental Protection Agency*), recomienda este proceso por su efectividad en la extracción de contaminantes no volátiles y semivolátiles de suelos, lodos. Algunos ejemplos de la EU en el área de alimentos se mencionan a continuación:

- Extracción por ultrasonido de capsaicinoides (*capsaicinoids, nordihydrocapsaicin, capsaicin, dihydrocapsaicin, homocapsaicin* y *homodihydrocapsaicin*) presentes en los pimientos picantes: Los capsanoides son los

responsables por el picante de los pimientos. Los solventes empleados son, acetonitrilo, metanol, etanol y agua, determinándose que el metanol es el más favorable por su afinidad con el soluto, recuperando casi el 80% del total de capsaicinoides de la muestra, a diferencia del agua que, aun cuando es un solvente polar, tienen poca capacidad de extracción de este soluto. El rango de temperatura usado fue entre 10°C y 60°C, determinándose que la mejor temperatura está entre 40 y 50°C, y el rango de tiempo fue de 2 a 25 minutos, determinando que 20 min es el tiempo óptimo (Barbeco, 2007).

- Extracción de antioxidantes a partir de *Rosmarinus officinalis*: Fue empleado ultrasonido para aumentar la eficiencia en la extracción de antioxidantes a partir de la hierba *Rosmarinus Officinalis* usando como solventes: butano, etilacetato y etanol. Los resultados que la extracción dependieron de la temperatura. El solvente más efectivo resultó ser el butano, el etil acetato y el etanol. La eficiencia de los solventes se puede atribuir a su polaridad. La temperatura óptima fue 50°C, en un tiempo de extracción de 15 minutos. Se concluye que el ultrasonido intensifica la transferencia de masa desde la matriz hasta el solvente (Albu, et al, 2004).

La compañía alemana Hielscher Ultrasonics, ubicada en Berlín, se dedica al estudio de la aplicación de ultrasonidos en la industria y a escala de laboratorio. Algunos ejemplos se citan a continuación (<http://www.hielscher.com>):

- EAU de compuestos fenólicos por la perturbación de los tejidos vegetales,
- EAU de Betacyanin (pigmentos de color rojo, por ejemplo, de remolacha).
- EAU de Betaxanthin (pigmentos de color amarillo), de lípidos,
- EAU de proteínas de las semillas vegetales, como la soja (por ejemplo, harina) y,
- EAU mejorada de aceite de semillas oleaginosa.

2.4 Descafeinización

La Descafeinización es el acto de extraer la cafeína del café, mate, cacao, té y otros materiales que contengan cafeína. En el caso del café, la descafeinización se realiza en los granos verdes, que no han sido tostados aún, pero los métodos varían. Esto por lo general comienza con la extracción en los granos, los que son aclarados en un solvente que contiene la composición química del café, sin contener la cafeína en una forma soluble.

Hasta ahora en el proceso de descafeinización en la industria han sido empleados cuatro tipos de solventes. Estos son: agua, acetato de etilo, Dióxido de Carbono líquido o en condiciones supercríticas y cloruro de metileno. Lo que realmente diferencia a los cuatro métodos es la elección del solvente que se utiliza para la extracción. (www.ico.org). Estos tipos de solventes no son fáciles de conseguir, y a su vez son costosos. Además, el proceso de separación del extracto y disolvente debe ser controlado lo más posible. A nivel de laboratorio se emplean solventes que se puedan adquirir fácilmente y compatibles con el organismo del ser humano.

- **Descafeinización usando agua como disolvente:** Cuando el grano de café verde está inmerso, el contenido de cafeína es disuelto y removido. Pero junto con éste gran parte del aroma se puede perder. Para superar este inconveniente, el líquido es saturado con los componentes del café solubles en agua. La cafeína es posteriormente retirada de la solución con carbón activado y otros adsorbentes, y posteriormente pueden ser reciclado el extracto y todos los componentes diferentes a la cafeína.

- **Descafeinización con Acetato de Etilo:** El acetato de etilo se encuentra en diferentes productos naturales y contribuye al aroma de muchos frutos. Este compuesto también se encuentra en diferentes concentraciones en productos alimenticios que incluyen granos de café verde y tostado. En el proceso de descafeinización se usa la combinación de agua con acetato de etilo. En la extracción

este disolvente se distribuye por todo el grano empapado de agua para llevar a cabo la extracción de la cafeína. Luego la mezcla de agua, acetato de etilo y cafeína se separa por el proceso de extracción. Este paso se repite varias veces hasta que el contenido residual de la cafeína no exceda el 0,1 % p/p.

- ***Descafeinización con Cloruro de Metilo:*** El CM extrae selectivamente la cafeína y tiene bajo punto de ebullición. En el proceso de extracción el cloruro de metilo rodea al grano de café empapado de agua para lograr la extracción. Luego la mezcla de cloruro de metilo y cafeína se separa por el proceso de extracción. El paso de extracción se repite varias veces hasta que el contenido residual de la cafeína en el grano esté por debajo del 1% p/p. Este proceso garantiza que los posibles residuos de disolvente queden por debajo de los límites fijados.

- ***Descafeinización con Dióxido de Carbono en condiciones supercríticas, o líquido:*** El Dióxido de Carbono está disponible en alta pureza, se encuentra en el aire que respirado y a veces en el agua que se bebe. Bajo ciertas condiciones permite una extracción selectiva de la cafeína manteniendo inalterada la composición de la mayoría de los compuestos del grano del café. El uso de Dióxido de Carbono en condiciones supercríticas necesita de altas presiones (hasta 250 atm) y temperaturas. Este método permite que la producción a gran escala sea viable económicamente. Además el Dióxido de carbono líquido puede utilizarse para la extracción de la cafeína con presión y temperaturas mas bajas, por lo que se necesita de más tiempo para lograr la extracción.

La Norma Venezolana COVENIN plantea en su norma # 432-79, la extracción de la cafeína en medio amoniacal, y posteriormente separado por cromatografía, lo que demuestra que en Venezuela actualmente la extracción de cafeína se hace por solvente.

2.5 Técnicas de análisis químico

El análisis químico es un conjunto de técnicas y procedimientos empleados para identificar y cuantificar la composición química de una sustancia. En un análisis cualitativo se pretende identificar las sustancias de una muestra. En el análisis cuantitativo se determina la cantidad o concentración en que se encuentra una sustancia específica en una muestra.

Varios analizadores de composición que se emplean para verificar y controlar un proceso requieren la conversión química de uno o mas componentes de la muestra, antes de efectuar la medición cuantitativa. Estas reacciones incluyen la formación de sólidos suspendidos para mediciones turbidimétricas, la formación de materiales coloreados para la detección colorimétrica, la oxidación o la reducción selectiva para mediciones electroquímicas y la formación de electrolitos para mediciones basadas en la conductancia eléctrica. Algunos materiales no volátiles se pueden separar y medir por cromatografía de gas, después de convertirlos en derivados volátiles. Algunas de las técnicas aplicables a este proyecto se presentan a continuación.

2.5.1 Cromatografía de Gases

Los analizadores cromatográficos se emplean para separar y medir compuestos volátiles y compuestos que se pueden convertir cuantitativamente en derivados volátiles. Estos materiales se separan colocando una porción de la muestra en una columna cromatográfica y transportando los compuestos por la misma por una corriente de gas. Como resultado de las afinidades diferentes de los componentes de la muestra por el relleno de la columna, los compuestos emergen sucesivamente como mezclas binarias con el gas portador. En la salida de la columna se tiene un detector que mide una propiedad física (ej; transmitancia o absorbancia) que se pueda correlacionar con la concentración de los compuestos contenidos en el gas portador. Tanto la concentración de altura máxima o de pico se puede relacionar con la concentración del compuesto en la muestra original (Perry, 1992).

2.5.2 Cromatografía Líquida de Alta Resolución

La cromatografía es un método físico de separación basado en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y otra móvil. En la cromatografía líquida, la fase móvil es un líquido que fluye a través de una columna que contiene a la fase fija, es efectiva separando compuestos no volátiles y compuestos térmicamente lábiles. Se lleva a cabo en una columna de vidrio, la cual está rellena con la fase fija. Luego de sembrar la muestra en la parte superior, se hace fluir la fase móvil a través de la columna por efecto de la gravedad (Skoog, 1976).

Con el objeto de aumentar la eficiencia en las separaciones, el tamaño de las partículas de fase fija se fue disminuyendo hasta el tamaño de los micrones, lo cual generó la necesidad de utilizar altas presiones para lograr que fluya la fase móvil. De esta manera, nació la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), que requiere de instrumental especial que permita trabajar con las altas presiones requeridas.

2.5.3 Espectroscopía Infrarroja

Muchos compuestos gaseosos y líquidos absorben hasta cierto grado de radiación en el infrarrojo. El grado de absorción a longitudes de onda específicas depende de la estructura molecular y la concentración. Los instrumentos de procesos son por lo común del tipo no dispersivo, es decir, el detector se expone a una banda ancha de longitudes de onda de radiación (Perry, 1992)

La espectroscopia infrarroja está basada en la interacción infrarroja con la materia y permite la identificación de los enlaces químicos presentes. Cuando la radiación infrarroja penetra un material, puede ser absorbida por éste y estimular la vibración de los enlaces químicos presentes. Existe una correlación entre la frecuencia a la que una molécula absorbe radiación infrarroja y su estructura. Esta correlación permite identificar la estructura de moléculas desconocidas a partir de su

espectro de infrarrojo, por lo que la espectroscopia infrarroja es una herramienta útil de análisis químico (González, 2007)

2.5.4 Espectrometría de Masa (Hoffman, 1996)

El espectrómetro de masas es un instrumento que permite analizar con una gran precisión la composición de diferentes elementos químicos e isótopos atómicos, separando los núcleos atómicos en función de su relación masa-carga (m/z). Puede utilizarse para identificar los diferentes elementos químicos que forman un compuesto o determinar el contenido isotópico de diferentes elementos en un mismo compuesto. Con frecuencia se encuentra como detector de un cromatógrafo de gases, en una técnica híbrida conocida por sus iniciales en inglés, GC-MS.

El espectrómetro de masas mide razones carga/masa de iones, calentando un haz de material del compuesto a analizar hasta vaporizarlo e ionizar los diferentes átomos. El haz de iones produce un patrón específico en el detector que permite analizar el compuesto químico.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

En esta sección se presenta la metodología llevada a cabo para cubrir los objetivos planteados en este Trabajo Especial de Grado. Esta sección comprende tres divisiones principales: metodología empleada, descripción del equipo y procedimiento experimental. La primera comprende la metodología empleada para llevar a cabo la evaluación preliminar de la materia prima, la extracción por microondas y la extracción por ultrasonidos. De igual manera, la descripción del equipo se divide en las secciones mencionadas anteriormente, adicionando la descripción de los equipos utilizados para: la recolección de las muestras y los equipos utilizados para realizar los análisis de rendimiento, espectroscopía infrarroja y HPLC. Por último se encontrará el procedimiento experimental utilizado en la evaluación preliminar de la materia prima y los dos procesos de extracción.

3.1. METODOLOGÍA EMPLEADA

La metodología empleada dividida en tres secciones, las cuales comprenden la evaluación preliminar de la muestra, la extracción por microondas y la extracción por ultrasonidos.

3.1.1. Sección I: Evaluación Preliminar

A continuación se presentan los pasos realizados para la preparación de la materia prima antes de llevarse a cabo los procesos de extracción:

- Se realizó una revisión bibliográfica para recaudar la información básica del proceso, materia prima, solventes y productos.

- Se caracterizó la materia prima a partir de la determinación del peso, el porcentaje de: humedad y las propiedades organolépticas que pudieron percibirse.
- Se trituró la muestra de café para aumentar el área de contacto con el solvente y favorecer el proceso de extracción. El grano molido, se obtuvo pasando el café triturado por una malla con aberturas de 1mm aproximadamente, separando el polvo del café y el café triturado.
- Se fijó la cantidad de materia prima a emplear a partir de valores reportados en la bibliografía (Cámel, 2001). Siendo estos: 15 gramos de café y 30 gramos de solvente, partiendo de una relación solvente materia y prima igual a 2:1 en peso.

3.1.2. Sección II: Extracción por Microonda (EM):

- A partir de la bibliografía (Camel, 2001; www.ico.org; Paré, 1997) se seleccionaron los siguientes solventes para llevar a cabo los procesos de extracción, a saber: ciclohexano, metanol, i-propanol, acetato de etilo y agua.
- Se determinó el tiempo en el que las muestras de solvente con café llegaron a la temperatura más alta, evitando la ebullición de la muestra luego de la exposición de microondas utilizando el horno microondas a 100% de potencia.

Para determinar este tiempo, se sometieron a irradiación microondas una muestra para cada solvente durante 5,10, 15 y 20 segundos con el 100% de potencia. A partir de las temperaturas alcanzadas, se determinaron los tiempos de extracción para cada solvente. En la selección de los tiempos de extracción se tomó en cuenta lo siguiente: la muestra no debía alcanzar el punto de ebullición ni debían ocurrir cambios en el nivel de la muestra dentro del vaso de precipitado o derrames dentro del horno, esto para evitar su descomposición y asegurar el buen estado de la misma.

- Se llevaron a cabo las pruebas de extracción microondas para cada uno de los solventes, fijando: la potencia en 100%, el grano triturado y el tiempo de extracción obtenido en el punto anterior. Al producto obtenido se le determinó el rendimiento, se caracterizó mediante IR para determinar la presencia de los

compuestos posiblemente extraídos y se determinó la concentración de cafeína en los productos obtenidos, para luego seleccionar el solvente que presentara un espectro con evidente presencia de cafeína y con alta concentración de la misma en el extracto.

- Con el solvente seleccionado, y manteniendo tiempo de extracción y el tamaño de grano, se realizó un barrido de potencia, a saber: 10%, 40%, 60% y 80%. Se le determinó el rendimiento y la concentración de cafeína en el producto obtenido y se seleccionó el nivel de potencia correspondiente a un alto rendimiento y a la máxima composición de cafeína obtenida.
- Se realizaron las pruebas de extracción por microondas variando el tiempo de extracción, manteniendo fijo el solvente, la potencia y el tamaño de grano. Al producto se le determinó el rendimiento y la concentración de cafeína en el extracto.
- Con el tiempo asociado a la mayor concentración de cafeína en el extracto, se hizo un barrido de tamaños de grano; entero, triturado y molido, fijando el resto de las condiciones anteriormente determinadas. Al producto se le determinó el rendimiento y la concentración de cafeína en el extracto para determinar el tamaño de grano asociado a la mayor cantidad de cafeína extraída.
- El conjunto de las condiciones obtenidas luego del paso anterior corresponden a las mejores condiciones de trabajo dentro de los rangos establecidos.

A continuación se presenta la Tabla 6 donde se detalla el número de pruebas: que se realizaron con extracción vía microondas, de las tres pruebas realizadas para el mismo proceso, se seleccionó la que obtuviera el valor más cercano al rendimiento promedio para la determinación de la composición de cafeína en ella mediante las técnicas analíticas IR y HPLC.

Tabla 6: Número de pruebas experimentales realizadas en la Extracción por Microondas

Determinar:	IR	HPLC	Numero de pruebas	Repeticiones	Total
Mejor solvente	X	X	5	3	15
Mejor Potencia		X	4	3	12
Mejor Tiempo		X	3	1	3
Tamaño de grano		X	3	1	3
Total		X	11		33

3.1.3. Sección III: Extracción por Ultrasonido (EU):

- Igualmente que en la sección de extracción por microondas, los solventes utilizados fueron: ciclohexano, metanol, i-propanol, acetato de etilo y agua, debido a que son los solventes más utilizados en los procesos de extracción.
- Fue necesario establecer inicialmente la temperatura y el tiempo de extracción para determinar el solvente asociado a la mayor composición y rendimiento del extracto final. La temperatura del agua dentro del baño del ultrasonidos fue inicialmente 25 °C (ambiente), esto con el fin de simplificar el proceso para las primeras pruebas. Con respecto al tiempo, se escogió 35 minutos como tiempo inicial dado que es comúnmente utilizado en la bibliografía (Barbeco, 2007).
- Se llevaron a cabo las pruebas de extracción por ultrasonidos variando los solventes y manteniendo las dos condiciones anteriores. Al producto obtenido se le determinó el rendimiento, se caracterizó mediante IR para determinar la presencia de los compuestos posiblemente extraídos, y se determinó la concentración de cafeína en los productos obtenidos, seleccionando el solvente que presentara un espectro con evidente presencia de cafeína y con alta concentración de la misma en el extracto.
- Con el solvente correspondiente al máximo rendimiento en el proceso, más selectivo y el que presentó alta concentración de cafeína en el extracto, se realizaron las extracciones a 40°C y 60°C, por encontrarse dentro del rango de temperaturas de extracción de cafeína que evita su descomposición, la cual ocurre

a 80°C (González, 2007), manteniendo el resto de las condiciones (solvente, tiempo y tamaño de grano). Se seleccionó la temperatura correspondiente al mayor rendimiento y a la máxima concentración de cafeína en el extracto del mismo modo que los pasos anteriores.

- Se definieron los rangos de tiempo de extracción a partir del empleado en la primera sección, siguiendo las recomendaciones indicadas en la bibliografía (Barbeco, 2007). Para llevar a cabo esta sección se utilizó nuevamente el baño térmico. Se procedió a realizar cada una de las extracciones con las condiciones seleccionadas anteriormente, por 25, 35 y 45 minutos. Al producto obtenido se le determinó rendimiento y concentración de cafeína en el extracto y se seleccionó el tiempo asociado a la mayor cantidad de cafeína extraída.
- Para determinar el tamaño de grano que favorece a la extracción se utilizó nuevamente el baño térmico y se procedió a realizar cada una de las extracciones con el solvente, el tiempo y la temperatura asociada al extracto que presentó mayor concentración de cafeína en el extracto, pero variando el tamaño de grano en: entero, triturado y molido. Se seleccionó el tamaño de grano correspondiente al mayor rendimiento y la máxima concentración de cafeína obtenida en el extracto.
- El conjunto de las condiciones obtenidas luego del paso anterior corresponden a las mejores condiciones de trabajo dentro de los rangos establecidos.

Se presenta a continuación la Tabla 7 donde se detalla el número de pruebas: realizadas con extracción por ultrasonido y analizadas posteriormente en el laboratorio para la determinación de la presencia y concentración de cafeína en el extracto mediante IR y HPLC.

Tabla 7: Número de pruebas experimentales a realizadas en la Extracción por Ultrasonido

Determinar:	IR	HPLC	Numero de pruebas	Repeticiones	Total
Mejor solvente	X	X	5	3	15
Mejor Temperatura		X	2	3	6
Mejor Tiempo		X	3	1	3
Tamaño de grano		X	3	1	3
Total			17		27

3.1.4. Análisis realizados al producto

La muestra recolectada fue analizada por tres métodos de análisis; el Rendimiento, Espectroscopía Infrarroja y Cromatografía Líquida de alta resolución. El rendimiento y la composición en cada uno de los pasos se determinaron de la manera siguiente:

3.1.4.1. Rendimiento

El rendimiento se determinó por diferencia de densidades entre la muestra obtenida y el solvente puro utilizando un picnómetro de capacidad 10 ml. El resultado expresa el porcentaje en peso (%p/p) de lo extraído del café por el solvente.

3.1.4.2. Espectroscopía Infrarroja

Inicialmente se realizaron espectros infrarrojos por el método ATR (Refractancia Total Atenuada) a las muestras de los extractos de café utilizando los cinco solventes escogidos para los dos procesos de extracción (microondas y ultrasonidos), estos mostraron un solapamiento de los picos del solvente sobre los picos del resto de los compuestos allí presentes, haciendo difícil la identificación de los extractos del café. En algunos casos se mostraron picos diferentes a los asociados al solvente, pero no fueron suficientes para concluir de qué se trataba. Esto se muestra en la Figura 19 (Anexo 1), donde se hace una comparación de tres espectros; el

correspondiente al solvente puro, el espectro del extracto realizado por ATR (en los cuales se puede apreciar su similitud) y el tercer espectro; resultado del análisis del extracto por el método de película líquida, al que se le eliminó el solvente sometiéndolo a una evaporación al vacío a temperatura ambiental, mostrando un espectro diferente al inicial.

Por lo expuesto anteriormente se procedió a realizar nuevamente espectroscopía infrarroja a todas las muestras, pero esta vez eliminando el solvente bajo un proceso de desecación al vacío y a temperatura ambiente (película líquida).

3.1.4.3. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

Este análisis consistió en someter las muestras de extractos de café a pruebas de HPLC corridas por un cromatógrafo. Se realizó una curva de calibración empleando un patrón de cafeína a diferentes concentraciones, y para cada grupo de muestras se encontró un patrón diferente, los patrones variaron a medida que se entregaron los grupos de muestras al analista.

El análisis referente a la variación de solventes, el barrido de potencia de microondas y las diferentes temperaturas en ultrasonidos, corresponden al mismo patrón de cafeína, el barrido de tiempo de microondas tiene asociado otro patrón y por ende otra curva de calibración, al igual que el barrido de tiempo usando ultrasonidos, finalmente para determinar el tamaño de grano se utilizó otra curva de calibración. La concentración de cada una de las muestras se determinó relacionando el área pico obtenido con la ecuación de la curva de calibración, y el error asociado a esta medición se calculó mediante la desviación estándar (ecuación 2, ver Anexo 2). Se determinó la concentración de cafeína en todas las muestras analizadas en base al tiempo de retención con respecto al patrón de cafeína preparado.

3.2. DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO

El material utilizado para la realización de las pruebas experimentales y la obtención del extracto rico en cafeína a partir de los granos de café, varía según el objetivo a desarrollar. A continuación se presenta una breve descripción del material utilizado y el montaje del mismo para cada objetivo planteado:

3.2.1. Preparación de la muestra

Para llevar a cabo los objetivos relacionados con la extracción tanto por microondas como ultrasonidos se secaron los granos de café previamente y luego se les aumentó la humedad en un porcentaje alrededor del 10%, siendo éste el porcentaje reportado en la bibliografía (González, 2007) asociado a la mayor obtención de la cafeína del café por el proceso de extracción. Luego para llevar a cabo el mismo, se preparó la muestra de café y solvente en una relación 1:2, partiendo de 15 gramos de café triturado. Ambos se adicionan en un vaso de precipitado de 200 ml y se somete a la extracción microondas o ultrasonido, dependiendo del caso. La trituración del café se realizó mediante el uso de un mortero de cerámica. A continuación las especificaciones del material:

- Una (1) Balanza marca OHAUS Adventurer, cap máx. 200g. Margen de error de lectura: 0,0001g.
- Una (1) bandeja
- Un (1) mortero
- Estufa

3.2.2. Extracción por microondas

Luego de tener el vaso de precipitado con la muestra de café y solvente, se introdujo dentro del horno microonda, cuyas especificaciones se encuentran a continuación. Para determinar los tiempos de extracción, se implementó un

termómetro para conocer la temperatura a la que llegaba la muestra al finalizar los diferentes tiempos empleados.

- Un (1) horno microondas marca SHARP Carousel Housesold Microwave Owen, Model No. R 520LW, 120 V AC, 1,70 KW, 60 Hz Single Phase. Output 1200 W, 2450 MHz (Figura 10).
- Un (1) termómetro de mercurio de rango (0-100) °C



Figura 10: Equipo horno microondas utilizado para la extracción

3.2.3. Extracción por ultrasonidos

Luego de preparar la muestra en el vaso de precipitado, se usó un ultrasonidos para realizar el proceso de extracción a temperatura ambiente, las especificaciones del ultrasonidos se detallan a continuación. Para llevar a cabo la variación de la temperatura del medio, se usó un baño térmico. A continuación la lista del material empleado:

- Un (1) ultrasonidos marca BRANSON a SmithKline Company. Ultrasonic Cleaner, 50/60Hz, 117 volt, 80 watts (Figura 11).
- Un baño térmico rango (-10 °C-100°C) (Figura 12).
- Manguera plástica con diámetro 2cm
- Un (1) termómetro de mercurio de rango (0-100) °C



Figura 11: Equipo Ultrasonido utilizado para la extracción



Figura 12: Baño térmico

3.2.4. Espectrómetro utilizado para el análisis cualitativo de las muestras

El equipo utilizado para realizar los espectros infrarrojos es un espectrómetro Nicolet 380 FT-IR, y cristales de Seleniuro de Zinc. Este espectrómetro analiza las muestras por el método de Refractancia Total Atenuada (ATR) y por el método de película líquida (este método no es aplicable si el solvente es agua).

3.2.5. Cromatógrafo utilizado para el análisis cuantitativo de las muestras

El equipo que realizó las cromatografías para determinar la concentración de caféina es un Equipo HP modelo 1100, detector UV.visible, empleando una solución eluyente de 70% metanol- 30% agua, en una columna C-18, siendo el tiempo de retención de 5,96 minutos, los resultados se muestran para una longitud de onda de 280 nanómetros, y en algunos casos para 254 nanómetros. En todos los casos se inyectaron los mismos volúmenes de solución a saber, 5mcL a un flujo de 0,5 mL/mm.

3.2.6. Recolección de muestra

Luego de cada experimento, el contenido del vaso de precipitado con el producto se filtró en un embudo de vidrio con su respectivo papel de filtro, sujetado por un soporte universal, y envasado en frascos color ámbar con tapa. De ese producto se tomaban 10 ml con una pipeta y se usó para determinar la densidad del extracto con un picnómetro de 10ml. A continuación se presenta en detalle el material utilizado en esta sección

- Un (1) Soporte Universal
- filtros de papel 11mm
- frascos de envasar de 30 ml con tapa
- Un (1) embudo de vidrio
- Un (1) Pipeta de 10 ml



Figura 13: Montaje del equipo para recolección de muestra

3.3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

En esta sección se presenta el procedimiento experimental asociado a cada una de las etapas de los procesos de extracción.

3.3.1. Sección I: Evaluación Preliminar y preparación de la materia prima

Esta sección se divide en: Determinación de humedad de la materia prima, humectación de los granos de café y la preparación de la muestra necesaria para llevar a cabo los procesos de extracción. A continuación se presentan los pasos seguidos para evaluar y preparar las muestras.

DETERMINACIÓN DE HUMEDAD DE LA MATERIA PRIMA

- Se pesaron aproximadamente 16 gramos de café en un portamuestra.
- Se introdujo el portamuestra en la estufa durante 24 horas a 100°C, al igual que el resto del café en una bandeja aparte.
- Se retiraron los granos de café de la estufa al terminar el tiempo de secado y se le determinó la humedad inicial a los granos contenidos en el portamuestra mediante la ecuación(2) (ver Anexo 3).

HUMECTACIÓN DE LOS GRANOS DEL CAFÉ

- Se tomó una muestra de café seco y se pesó (aproximadamente de 10 a 15 gramos).
- Se pusieron en contacto con suficiente agua por 10 minutos.
- Al finalizar el tiempo, se secaron los granos de café con toallas absorbentes para retirar el agua en exceso.

- Se pesaron nuevamente, y se les determinó el porcentaje de adsorción de agua mediante la ecuación (3) (ver Anexo 3).
- El resultado obtenido se comparó con el recomendado por González (2007). Estos resultaron ser diferentes por lo que se procedió a llevar a cabo el mismo procedimiento pero aumentando el tiempo de humectación a 30 minutos, tiempo en el que se logró la humedad deseada.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- Se trituró el café humectado con un mortero procurando partir los granos enteros con el fin de aumentar el área de contacto con el solvente y favorecer el proceso de extracción.
- El grano triturado se pasó por un tamíz de 1 mm de abertura para separar el grano triturado de las partículas más pequeñas, las cuales corresponden al tamaño de grano molido utilizado en este trabajo especial de grado (ver figura 21, Anexo 4)
- Se fijó la cantidad de materia prima a emplear (15 gr de café) con una relación materia prima:solvente igual a 1:2.
- Ambas cantidades se introdujeron dentro de un vaso de precipitado de 200 ml, listo para llevar a cabo el proceso de extracción respectivo.

3.3.2. Sección II: Extracción por Microonda (EM)

- El vaso de precipitado en la sección anterior se colocó en el plato giratorio dentro del microondas.
- Se fijó el tiempo de extracción colocando con las teclas enumeradas el tiempo en segundos que se desee llevar a cabo.
- Para fijar la potencia se presionó la tecla POWER tantas veces fue necesario hasta que la pantalla indicó el porcentaje deseado. Para trabajar a 100% de potencia se omitió este paso.

- Para determinar la temperatura más próxima a la que llegó la muestra al culminar el proceso de extracción, se introdujo un termómetro de mercurio inmediatamente después de sonar el primer pitido del microondas (el que indicó la finalización del proceso), evitando inhalar los vapores que salen del horno. Se tomó nota de la temperatura indicada por el termómetro.
- Si no se deseaba determinar la temperatura a la que llegó la muestra, se dejó reposar el vaso dentro del horno durante 5 minutos aproximadamente.
- Luego de transcurrido los 5 minutos, el vaso fue retirado del microondas y se trasvasó al embudo con papel de filtro para separar la fase sólida de la líquida.
- Al finalizar la filtración se envasó la fase líquida en recipientes color ambar con tapa, asegurando bien la tapa para evitar modificaciones en la muestra. Cada una de las experiencias se realizaron por triplicado.
- Usando como criterio la diferencia de densidades entre el extracto y el solvente puro, se le determinó el rendimiento a cada extracto obtenido mediante la ecuación (5) (ver Anexo 3). De las tres repeticiones para cada solvente, se escogieron la que presentaron para cada solvente un rendimiento próximo al rendimiento promedio (ver Anexo 5).
- Para determinar la presencia y la composición de la cafeína en el producto se realizaron análisis de espectroscopía Infrarroja y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para caracterizar de forma cualitativa y cuantitativa el extracto de los cinco solventes correspondientes.

3.3.3. Sección III: Extracción por Ultrasonido (EU)

- Se fijaron las condiciones iniciales de extracción. A saber: 35 minutos y temperatura ambiente.
- Se llenó el baño de ultrasonidos con 100 ml de agua a temperatura ambiente.

- Se introdujo el vaso de precipitado preparado en la sección I dentro del baño, asegurando que la base del vaso estuviera apoyada del ultrasonidos y no flotara por efecto de la cantidad de agua contenida en el baño.
- El baño de ultrasonidos se conectó al tomacorriente y se presionó el botón para encenderlo.
- Se mantuvo en funcionamiento durante el tiempo fijado.
- Al finalizar el tiempo de extracción, el contenido del vaso de precipitado se dejó reposar 5 minutos.
- Luego de transcurrido los 5 minutos, se trasvasó el contenido del vaso de precipitado al embudo con papel de filtro para separar la fase sólida de la líquida.
- Al finalizar la filtración se envasó la fase líquida en recipientes color ámbar con tapa, asegurando bien la tapa para evitar modificaciones en la muestra. Cada una de las experiencias se realizaron por triplicado.
- Usando como criterio la diferencia de densidades entre el extracto y el solvente puro, se le determinó el rendimiento a cada extracto obtenido mediante la ecuación (5) (ver Anexo 3). De las tres repeticiones para cada solvente, se escogieron la que presentaron para cada solvente un rendimiento próximo al rendimiento promedio (ver Anexo 5).
- Para determinar la presencia y la composición de la cafeína en el producto se realizaron análisis de espectroscopía Infrarroja y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para caracterizar de forma cualitativa y cuantitativa el extracto de los cinco solventes correspondientes.

Para variar la temperatura en el proceso se procedió a comunicar el baño térmico con el baño de ultrasonido mediante dos mangueras plásticas. Una de las mangueras tuvo en uno de sus extremos una conexión directa con el baño térmico, la cual proporcionaba el agua atemperada a la temperatura deseada al baño de ultrasonidos, el cual la recibe por el otro extremo de la manguera. La otra manguera

tuvo un extremo sumergido en el baño de ultrasonidos y el otro sumergido en el agua del baño térmico, extrayendo continuamente mediante efecto sifón el agua de la bañera de ultrasonido devolviéndola al baño térmico. Con esta conexión se aseguró la temperatura y el nivel del agua dentro de la bañera de ultrasonido. Para un mejor entendimiento de lo explicado se muestra la Figura 14, en donde se encuentran comunicados mediante dos mangueras plásticas el baño térmico y el baño de ultrasonido durante una de las extracciones.



Figura 14: Conexión baño térmico y ultrasonidos

CAPITULO IV

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

En esta sección se presentan los resultados obtenidos junto a sus respectivos análisis de la caracterización del café como materia prima y de los procesos de extracción de la cafeína a partir de las semillas de café por microondas y ultrasonidos realizados. Para comenzar se presentarán las principales características obtenidas de las semillas de café.

4.1. CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA

Para llevar a cabo el proceso de extracción fue necesario realizar la caracterización de la materia prima para identificar las variables que podían variarse en el proceso.

Las experiencias reportadas referentes a procesos de extracción de la cafeína a partir de semillas de café (González, 2007), determinaron la influencia la humedad del grano y el grado de molienda como variables físicas sobre el rendimiento del proceso. En dichas experiencias se comprobó que el rendimiento era cero con el grano seco y, variando el tamaño de grano: entero o triturado, es decir no se obtuvo nada de extracto. Es por ello que se incluyó la adición de agua dentro del grano para promover su hinchamiento y facilitar el proceso de extracción aumentando la solubilidad del soluto en el solvente, así como también triturar el grano de café para aumentar el área de contacto entre el soluto (cafeína) y el solvente.

Fue necesario el conocimiento de las características físicas y químicas de la materia prima para el establecimiento del proceso a seguir en la extracción por microondas y ultrasonidos de cafeína a partir de las semillas de café.

En la Tabla 8 se presentan las principales características físicas y químicas tanto cualitativas como cuantitativas de la materia prima. Las semillas de café utilizadas en el proceso son distribuidas comercialmente, y tienen entre sus características ser semillas tostadas del género *coffea* y de variedad arábica. El contenido de cafeína fue suministrado por la empresa y se detalla a continuación:

Tabla 8: Características de los granos de café usados como materia prima para el proceso de extracción

CARACTERÍSTICA DE LA MATERIA PRIMA	ESPECIFICACIÓN
Condición de la materia prima	Semillas de Café
Genero y Variedad de la materia prima	Coffea-Arábica
Procesamiento final de la materia prima	Tostado- Triturado
Color	Marrón Oscuro
Olor	Fuerte- Agradable
Contenido de Cafeína (%p/p)	1,5
Tamaño de grano (mm)	3
Humedad del grano tostado (%p/p)	4,36

El porcentaje de humedad inicial fue determinado sometiendo al grano de café por 24 horas a un proceso de secado en una estufa a 100°C, siguiendo las recomendaciones de González (2007), cuyo valor se reporta en la tabla anterior. Es importante señalar que esta humedad calculada corresponde a la que tiene el grano obtenido comercialmente.

Para el proceso de humectación del grano se realizó un ensayo de adsorción de agua para conocer el tiempo en el que el grano de café absorbe la cantidad de agua necesaria para obtener el porcentaje de humedad reportado en la bibliografía. Se observó que el café en granos puede aumentar su humedad en un 10,2% dejándolo en contacto con agua en exceso por 30 minutos.

4.1.1. Espectros Infrarrojos de los compuestos del café

De acuerdo con la información proporcionada en el marco teórico, se realizó una tabla (Tabla 9) en la que están contenidos los compuestos que posiblemente están

presentes en el extracto con sus algunas de sus longitudes de onda características, obtenidas de sus espectros, estos pueden detallarse en el Anexo 7. Estas longitudes de onda características definen la huella de dichos compuestos. Cabe destacar que la similitud entre los valores de longitud de onda característicos de un compuesto en específico con los que puede presentar un espectro de una muestra analizada no es comprobación certera de que exista la presencia de dicho compuesto en el extracto.

Tabla 9: Compuestos del café posiblemente presentes en las muestras de extracto analizadas

Compuesto	Fórmula Química	Grupos Funcionales	Algunas longitudes de ondas características
Cafeína	$C_8H_{10}N_4O_2$	C-H a, N-CH ₃ C=O, C=C CH ₃ , C-N C-H d	2954, 2925, 2864, 1699, 1659, 1599, 1240
Ácido Linoleico	$C_{18}H_{28}O_2$	O-H, C-H C=O, C=C C-C	3010, 2954, 2928, 1098, 1378
Ácido Palmítico	$C_{16}H_{32}O$	O-H, C-H C=O, C-C	2954, 2919, 2850, 1377, 1099, 720
Ácido Cafeico	$C_9H_8O_4$	O-H, C-H, C=O, C=C, C-O, C-C	1284, 1378, 1451
Piridina	C_5H_5N	C=C, C-N C-H, C-C	3424, 3001
Glicina	$C_2H_5NO_2$	C-H a, -NO ₂ CH ₃ , C-N C-H d, C-C	3424, 3008
3-metilpiridina	C_6H_7N	C=C, CH ₃ C-N, C-H C-C	2856, 1452, 1103

4.2. EXTRACCIÓN POR MICROONDAS

Para comenzar el proceso de extracción por microondas fue necesario variar uno de los parámetros sujetos a estudio manteniendo fijo el resto, los parámetros a variar son: solvente, potencia del horno microondas, tiempo de extracción o tamaño de grano. Para las primeras experiencias se establecieron los tiempos de extracción y la potencia del microondas, ésta se fijó inicialmente en 100 %, debido a que se quería obtener resultados asociados al punto crítico del proceso, aquel que estuviera asociado a la mayor irradiación microondas posible sin alterar el contenido de la muestra a causa del aumento repentino de la temperatura. Con respecto al tiempo de extracción fue necesario hacer un barrido de tiempos a 100% de potencia, para luego definir la temperatura inicial de extracción para cada solvente.

4.2.1. Determinación del tiempo inicial

A continuación se presenta la tabla de los datos obtenidos (Tabla 10) de las pruebas realizadas para la selección del tiempo de extracción por microondas de café de las semillas del café. En la columna “observaciones” se muestra el tiempo para cada solvente en el que la muestra no presentó cambios notables dentro del vaso de precipitado, este tiempo se fijó como el tiempo de extracción de referencia. Luego de su obtención, se realizó el proceso de extracción variando los solventes.

Los tiempos obtenidos para las extracciones por microondas fueron los siguientes: usando acetato de etilo:15s, ciclohexano: 20s, I-propanol: 10s, Metanol: 15s y agua: 20s.

Tabla 10: Temperaturas para un solvente y un tiempo determinado en E.M.

Solvente	Tiempo (s)				OBSERVACIONES
	5	10	15	20	
Agua	35 °C	55 °C	69 °C	80 °C	Burbujeó a los 20 s
Metanol	40 °C	53 °C	59 °C	60 °C	Burbujeó a los 15 s
I.propanol	37 °C	61 °C	69 °C	72 °C	Burbujeó a los 10 s
Ciclohexano	29 °C	48 °C	57 °C	62 °C	Burbujeó a los 20 s
Acetato de Etilo	37 °C	51 °C	57 °C	61 °C	Burbujeó a los 15 s

4.2.2. Influencia del uso de distintos solventes en el rendimiento y composición de la cafeína obtenido por el proceso de extracción de Extracción Microondas.

En la búsqueda de una extracción efectiva de cafeína se llevó a cabo el proceso de extracción con los solventes reportados en la sección anterior. Para determinar la influencia del solvente en el proceso de extracción se utilizaron cinco solventes diferentes entre ellos dos alcoholes (metanol y i-propanol), ciclohexano, acetato de etilo y agua. La diferencia notable e influyente entre ellos durante el proceso de extracción es su polaridad, la cual define la selectividad, mientras mayor polaridad presente el solvente, más selectivo será la cafeína hacia éste, debido a que la cafeína es una molécula moderadamente polar, por lo que se siente atraída a moléculas polares como ella.

En la Tabla 11 se presentan los resultados del rendimiento en esta primera parte del proceso de extracción. Se puede observar que dichos valores varían entre 1,79% y 3,14%, a excepción del rendimiento asociado al acetato de etilo, el cual obtuvo el mayor rendimiento comparado con el resto (17,55%), luego se observa que utilizando metanol como solvente, el rendimiento del proceso es de 3,14%, seguido del i-propanol con 2,13%, el agua con 1,79% y finalmente el rendimiento asociado al extracto obtenido utilizando ciclohexano el cual es de 0,20%. La razón para tales

resultados es la afinidad que muestran la mayoría de los compuestos del café con solventes de moderada y alta polaridad.

Tabla 11: Resultados del rendimiento en la extracción por microondas

Solvente	R (%) p/p
Agua	1,79
Metanol	3,14
i-Propanol	2,13
Acetato de Etilo	17,55
Ciclohexano	0,20

Vale la pena recordar lo importante que es la constante dieléctrica en un proceso de extracción por microondas. En lo referente, la constante dieléctrica indica la capacidad que puede tener una molécula en calentarse, Paré (2007) recomienda el uso solventes con baja constante dieléctrica en procesos de extracción microondas para evitar su calentamiento repentino, prevenir su evaporación y optimizar el proceso de extracción, sin embargo, para los proceso de extracción se toman en cuenta otras variables como la polaridad de la molécula, y su afinidad con el compuesto de interés.

De la misma forma como se obtuvieron los resultados de densidad y rendimiento de microondas, se obtuvieron los relacionados a la extracción por ultrasonido.

4.2.2.1. Espectros de Infrarrojo de los productos obtenidos en Extracción Microondas.

Para la caracterización cualitativa de los productos de ambos procesos de extracción fue necesario realizar espectroscopía infrarroja a todos los extractos obtenidos. Este análisis permitió determinar la presencia de cafeína en el producto mediante la detección de longitudes de onda que caracterizan tanto a la cafeína como

a otros compuestos. A partir de este resultado y del obtenido a partir del rendimiento se determinó el solvente a usar en el resto de las pruebas.

A continuación se presentan los espectros infrarrojos realizados por el método de película líquida (eliminación de solvente) para todos los extractos obtenidos (Figura 15), excepto el del agua, el cual no se pudo obtener por la incompatibilidad del método con el agua (usada como solvente). Los picos asociados a las longitudes de ondas 1701 y 1654 cm^{-1} que se presentan en los espectros, son indicativos de la presencia de cafeína, así como la amplitud del espectro entre 1770 y 1601 cm^{-1} indican la presencia de ácido cafeico en el producto. Los ésteres de ácidos grasos se ven representados por los picos de longitud de onda: 3008 , 2924 , 2853 cm^{-1} (asociados a los enlaces C-H), a su vez con los que representan los enlaces C-O-H (1465 - 1096 cm^{-1}), y con los picos de longitud de onda 749 y 720 cm^{-1} que indican la presencia de cadenas largas de grupos $(\text{CH}_2)_n$.

En estos espectros se observa que el acetato de etilo, metanol, i-propanol extraen cafeína, dado que los dos picos que la caracterizan están presentes en los productos obtenidos por dicho compuesto, todo lo contrario al espectro asociado al ciclohexano el cual no muestra dichos picos. También se puede identificar la presencia de ácido cafeico, ácido palmítico y ácido linoleico en los extractos de acetato de etilo y metanol. Sin embargo el metanol tiene asociado longitudes de ondas ubicadas entre 1448 y 1074 cm^{-1} que no pueden ser identificadas, por lo que es difícil elucidar el resto de los compuestos presentes en él. Con respecto al I-propanol se pueden observar que extrajo cafeína y ácidos grasos, lo contrario al ciclohexano que no muestra presencia de cafeína, pero si longitudes de onda relacionada a algunos ácidos grasos.

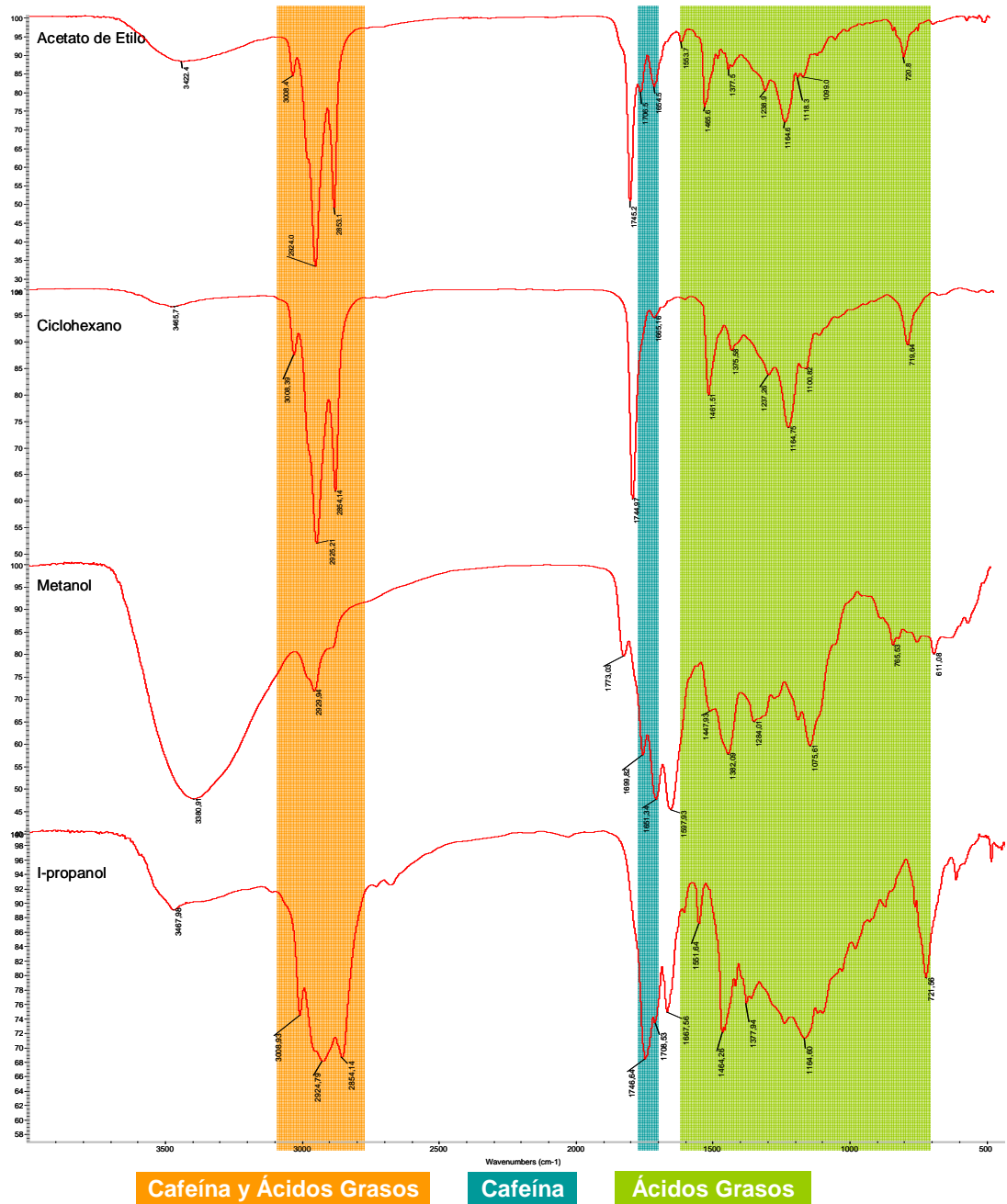


Figura 15: Espectro de Infrarrojo de la muestras de extracto por Extracción Microondas (película líquida).

En la Figura 16 se muestran tres espectros diferentes donde se representa la cafeína y el extracto obtenido en acetato de etilo por microondas, mostrando 2 picos coincidentes que son característicos de la cafeína. El tercer espectro es el resultado de

una comparación por software relacionado con la búsqueda de un compuesto que posea un espectro similar al obtenido, el resultado fue la obtención de una grasa denominada Sorbitan Trioleato (Span 85), la cual está relacionada con todos los ácidos grasos principales que componen al café, tales como ácido palmítico y ácido linoleico, ácido cafeico, entre otros. Con la figura siguiente se puede observar que el acetato de etilo extrae tanto cafeína como grasas. También es importante resaltar que el espectro de esta grasa es muy parecida al espectro obtenido por la elucidación del extracto asociado al ciclohexano.

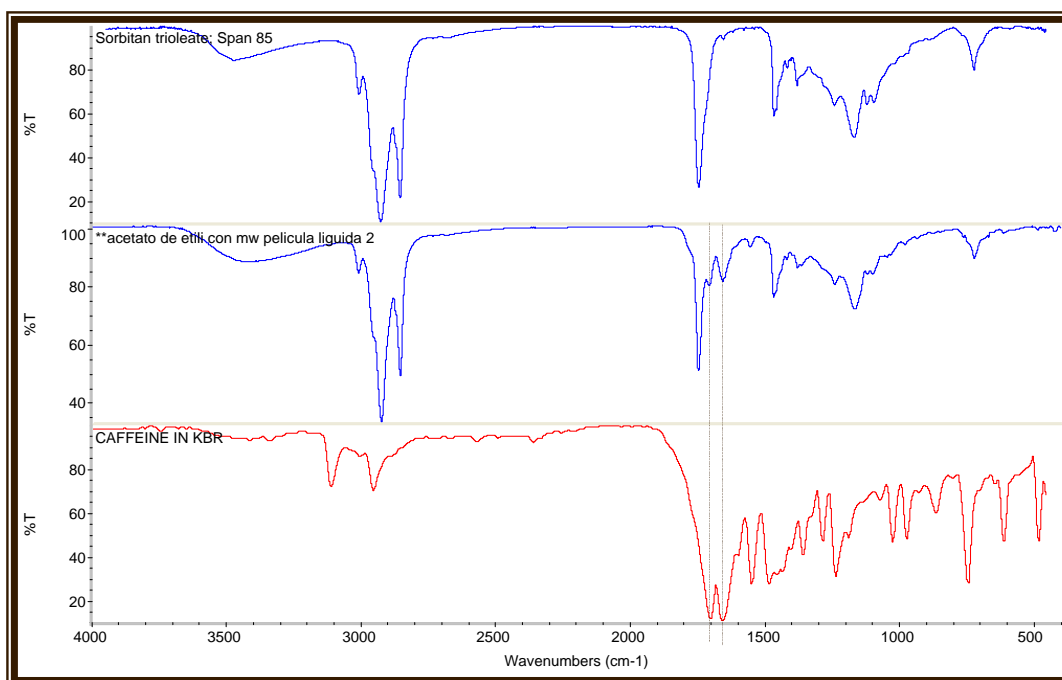


Figura 16: Comparación de los espectros infrarrojo de la muestra de extracto de café utilizando acetato de etilo como solvente posterior a su eliminación, la cafeína y la grasa llamada spam 85 o trioleato de sorbitam.

4.2.2.2. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para la cuantificación de cafeína en el extracto obtenido en EM.

Para verificar y cuantificar la presencia de cafeína en los extractos de café obtenidos a las diferentes condiciones, se realizó el análisis de cromatografía líquida de alta resolución.

La muestra de extracto de café obtenida utilizando ciclohexano muestra en la Tabla 12 la menor concentración (136,02 mg/L), mientras que la muestra obtenida utilizando metanol como solvente presenta la mayor concentración (1445,08 mg/L) seguida por la concentración obtenida con el I-propanol (592,91mg/L), mientras que la concentración de cafeína utilizando acetato de etilo fue de 428,69 mg/L.

Tabla 12: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por microondas para determinar el mejor solvente a 100% de potencia y un tiempo de referencia

Solvente	Tiempo (s)	Concentración de Cafeína (mg/L) (±29,935)
Agua	20	No se pudo obtener
Metanol	15	1445,08
I-propanol	10	592,91
Ciclohexano	20	136,02
Acetato de Etilo	15	428,69

. Los resultados de HPLC demuestran que el acetato de etilo obtiene poca cantidad de cafeína con respecto a los otros solventes utilizados (alcoholes), pero los espectros infrarrojos referentes a los alcoholes no muestran con claridad los picos que podrían definir a la cafeína como compuesto principal de extracción, por lo que se puede inferir que los alcoholes extraen otros compuestos (que no se pueden definir) además de la cafeína, lo que hace menos selectiva la extracción.

Los resultados obtenidos en el rendimiento de la extracción en microondas y los espectros infrarrojos muestran que el acetato de etilo extrae eficazmente compuestos de los granos de café, entre ellos la cafeína, y por ser un solvente

ampliamente utilizado en los procesos de extracción asociados a la industria alimenticia, se escogió como solvente para continuar con las extracciones de este trabajo especial de grado.

4.2.3. Influencia de la potencia del horno microondas en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EM.

En la Tabla 13 se presentan los resultados del análisis por HPLC y los rendimientos asociados a las muestras de los extractos con solventes obtenidos por extracción microonda para determinar la influencia de la potencia del mismo en el proceso de extracción. Según los valores de la tabla se puede observar que al aplicar 80% de potencia se obtiene una concentración de 633,94 mg/L, siendo la mayor de todo el rango, la menor concentración (235,78 mg/L) se le asocia a la menor potencia aplicada, siendo esta de 10%. Cabe destacar que al usar 100 % de potencia la obtención de cafeína es menor que la de obtenida por 80%, esto podría asociarse un daño al extracto causado el repentino aumento de temperatura usando la máxima potencia en ese tiempo, resultando menor la obtención de cafeína. Con respecto al rendimiento del proceso, se observa que todos los valores no tienen diferencias significativas, obteniendo en todos los productos el mismo rendimiento.

Tabla 13: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a EM para determinar la potencia, usando acetato de etilo con su respectivo tiempo de extracción de referencia.

Potencia (%)	R(%) p/p	Concentración de Cafeína (mg/L) (±29,935)
10	17,4197	235,78
40	17,2769	460,24
60	17,4704	281,22
80	17,7026	633,94
100	17,5518	428,69

4.2.4. Influencia del tiempo de residencia en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EM.

Luego de determinar que 80% es la potencia óptima para el proceso, se fijaron los límites del rango de tiempos de extracción a emplear en esta sección, para esto se utilizó como límite inferior el tiempo obtenido utilizando 100% de potencia (15 s). Para la obtención del límite superior del rango se realizaron ensayos de variación de temperatura fijando 80% de potencia y se observaron los cambios ocurridos en la muestra mientras se sometía a las microondas. A partir de estas observaciones se determinó que el máximo tiempo en el que la muestra no mostró ningún cambio significativo fue 25 segundos. A partir de estos límites, se fijaron 15, 20 y 25 s. como tiempos de extracción.

Al realizar la experiencia se obtuvieron los resultados que se observan en la Tabla 14, la cual reporta valores muy parecidos de concentraciones, y tomando en cuenta el error asociado a las mediciones, se observa que no hay diferencia significativa en ellos, esto puede adjudicarse a que la saturación de cafeína en el solvente se produce a los 15 segundos o antes, estando en el equilibrio de concentraciones en la extracción.

Tabla 14: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por microondas para determinar el mejor tiempo, usando acetato de etilo y a 80% de potencia

Tiempo (s)	R(%) p/p	Concentración de Cafeína (mg/L) (±41,388)
15	17,3917	633,94
20	17,7026	608,74
25	17,2342	552,23

4.2.5. Influencia del tamaño de grano en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EM

Para determinar la influencia del tamaño de grano del café en la extracción de cafeína por el proceso de extracción por microondas se emplearon tres tamaños de la materia prima para luego hacer la comparación de resultados en la cantidad de cafeína obtenida, a saber; entero, triturado y molido. Los resultados presentados en la Tabla 15 muestran que mientras más grande es el área superficial de la materia prima, es posible extraer más cafeína. Igualmente se observa que se mantiene en promedio el rendimiento para los tres tamaños de grano.

Tabla 15: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por microondas para determinar el mejor tamaño de grano, usando acetato de etilo y a 80% de potencia

Tamaño de Grano	R(%) p/p	Concentración de Cafeína (mg/L) ($\pm 19,7988$)
Entero	17,3635	286,2923
Triturado	17,5678	903,9356
Molido	16,8363	1535,960

4.3. EXTRACCIÓN POR ULTRASONIDOS

Para la realización de la extracción de cafeína por ultrasonidos fue necesario variar un parámetro manteniendo fijo el resto, al igual que en la extracción microondas. Los parámetros sujetos a estudio en este proceso de extracción son: solvente, temperatura, tiempo de extracción y tamaño de grano. En esta sección se encuentran los resultados con sus respectivos análisis de la influencia de los cuatro parámetros sujetos a estudio sobre la extracción por ultrasonidos.

4.3.1. Influencia del solvente en el rendimiento y composición de cafeína contenida en el café obtenida por el proceso de extracción de EU

Para iniciar el proceso de extracción, se fijó el tiempo en 35 minutos, la temperatura del medio como temperatura ambiental y grano triturado, variando el solvente a utilizar, siendo los mismos utilizados en EM. A continuación se presenta la Tabla 16 mostrando los rendimientos de cada extracto obtenido, así como los valores de parámetros intermedios necesarios para la obtención del mismo.

Tabla 16: Resultados de la determinación de: peso y densidad de los extractos y el rendimiento obtenido de la extracción por ultrasonidos

Solvente	R (%) p/p
Agua	2,17
Metanol	4,26
i-Propanol	2,17
Acetato de Etilo	17,56
Ciclohexano	0,31

Como se puede apreciar, los rendimientos obtenidos en esta sección son parecidos al obtenido para microondas. A partir de los resultados anteriores se observa que los rendimientos se encuentran entre 0,31 y 4,26%, exceptuando el asociado al acetato de etilo, el cual tiene asociado un rendimiento de 17,55%, lo que indica que el acetato de etilo extrae mayor contenido de compuestos del café que el resto de los solventes. El rendimiento más alto, luego del acetato de etilo, es el que se obtuvo usando metanol (4,26%), seguido del asociado al agua e isopropanol como solvente (2,17%) y por último el ciclohexano con el valor más bajo siendo éste 0,31%.

4.3.1.1. Espectros de Infrarrojo de los productos obtenidos en EU

Al igual que en extracción por microondas, para ultrasonidos se realizaron análisis de espectroscopía de infrarrojo eliminando el solvente previamente. A continuación se muestran los espectros para los cuatro solventes (figura 17), se excluye el agua debido a que no se le puede hacer el tratamiento especial para poder ser analizado.

A partir de los espectros, se puede observar que los solventes con mayor afinidad a la cafeína son el metanol y el acetato de etilo, sin embargo con los resultados de rendimiento, se puede notar que el acetato de etilo extrae mayor cantidad de compuestos del café que el metanol por presentar mayor rendimiento. Por lo anteriormente expuesto y por lo expuesto en la sección de extracción microondas, se escoge el acetato de etilo como solvente para los procesos de extracción por ultrasonidos.

Estos resultados corroboran lo expresado en la bibliografía (Albu, et al, 2004) referente a la polaridad de las moléculas; los solventes no polares, como ciclohexano, son selectivos hacia grasas. Sin embargo, el acetato de etilo es un solvente poco polar, y muestra la presencia de cafeína en su extracto, a pesar de que ésta es una molécula moderadamente polar, esto es debido a que la cafeína puede sentirse aún también a compuestos poco polares. También se encuentran los solventes polares los cuales extraen tanto agua como cafeína principalmente.

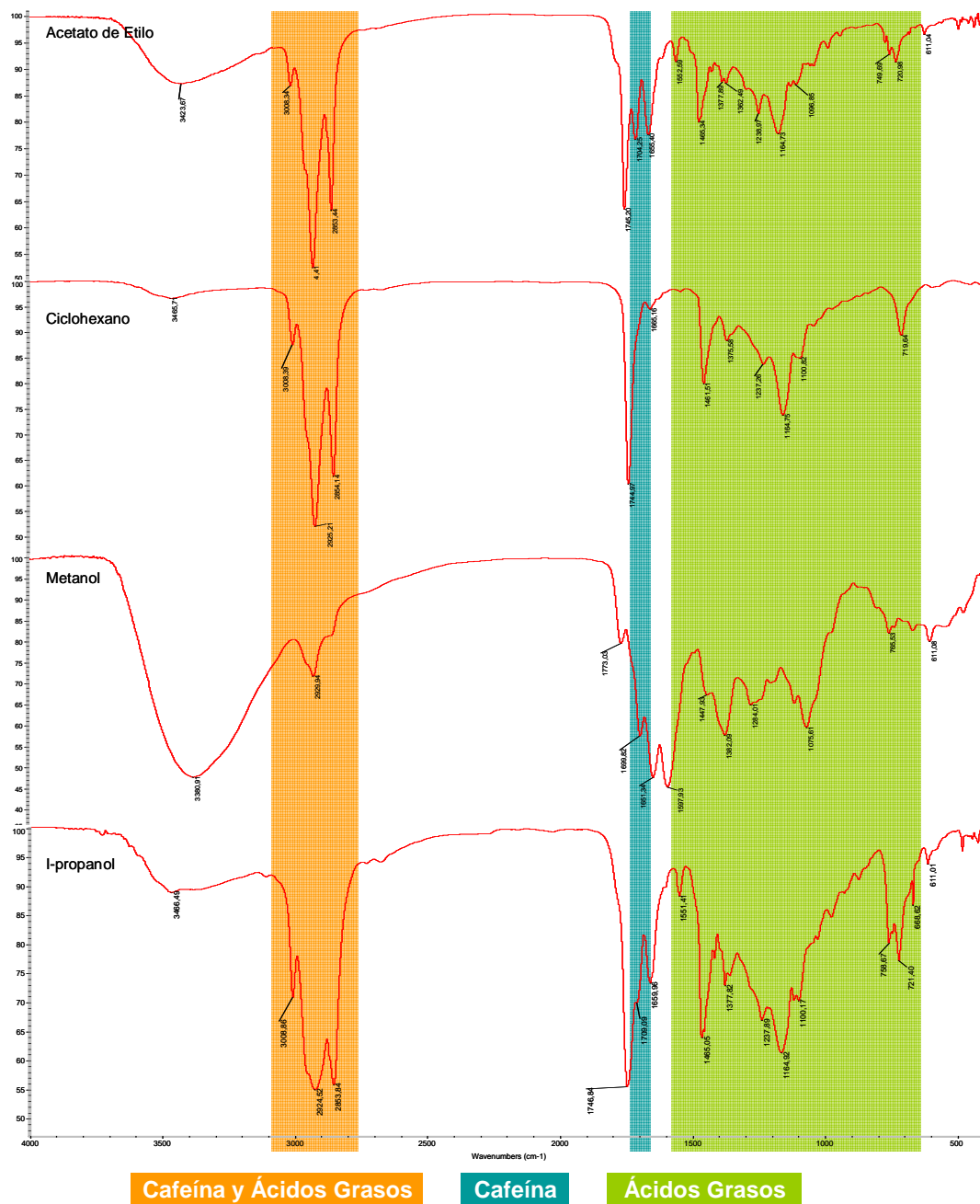


Figura 17: Espectro de Infrarrojo de la muestras de extracto por Extracción Ultrasonido (película líquida).

4.3.1.2. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para la cuantificación de cafeína en el extracto obtenido en EU.

Con respecto a la extracción por ultrasonidos, se realizó el mismo procedimiento que para los productos de las extracciones en microondas, utilizando el mismo equipo y las curvas de calibración del patrón de muestra.

A continuación se presenta la tabla 17, la cual expresa las concentraciones de cafeína dentro de cada uno de los extractos, resaltando el extracto usando metanol como solvente por su alta concentración (1908,81 mg/L), seguido del acetato de etilo con una concentración de 1325,08 mg/L, las menores concentraciones vienen dadas por el i-propanol con 805,99 mg/L y el ciclohexano con 147,09 mg/L. Igualmente que en microondas, el contenido de cafeína en el extracto usando agua no se pudo obtener por la incompatibilidad de la muestra con el equipo.

Tabla 17: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por ultrasonidos para determinar el mejor solvente a temperatura ambiente y a 35 min.

Solvente	Concentración de Cafeína (mg/L) (±29,935)
Agua	No se pudo obtener
Metanol	1908,81
I.propanol	805,99
Ciclohexano	147,09
Acetato de Etilo	1325,08

Con los resultados reportados de rendimiento, espectroscopía y concentración se observa que existe mayor presencia de cafeína en los extractos de metanol y acetato de etilo, a partir de esto y debido a que la bibliografía presenta al acetato de etilo como solvente para la descafeinización del café a nivel industrial se escoge el acetato de etilo como solvente a utilizar en las pruebas siguientes.

4.3.2. Influencia de la temperatura en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenido en el proceso EU.

En la Tabla 18 se presentan las concentraciones de cafeína de los extractos obtenidos por la variación de la temperatura en el proceso de extracción, es de notar que a medida que aumenta la temperatura, aumenta la capacidad de extracción por parte del solvente. Se puede observar que realizando la extracción a 60°C se obtiene más cafeína (1917,98mg/L) que a temperatura ambiente (1325,08mg/L) y que a 40°C (1560,00mg/L), por lo que se selecciona 60°C como la mejor temperatura para el proceso de extracción.

Tabla 18: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por ultrasonidos para determinar la mejor temperatura, usando acetato de etilo con su respectivo tiempo de extracción de referencia

Temperatura (°C)	R (%) p/p	Concentración de Cafeína (mg/L) (±29,935)
Ambiente (25°C)	17,5572	1325,08
40	17,8548	1560,00
60	17,9162	1917,98

4.3.3. Influencia del tiempo de residencia en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EU.

Para determinar la influencia del tiempo en la extracción de cafeína por ultrasonidos, se fijaron previamente los tiempos de extracción. A partir de los 35 minutos empleados en las experiencias anteriores, se determinó un tiempo por debajo y otro por arriba del mismo, con una diferencia de 10 minutos, para completar el barrido de tiempos de extracción. La Tabla 19 reporta que esta diferencia de tiempos

es significativa en los resultados obtenidos, observándose que mientras más tiempo se emplee en la extracción por ultrasonidos, mayor cantidad de cafeína se obtiene en el extracto. Se puede observar que para 45 minutos se obtuvo 1920,37mg/L siendo el valor más alto, y para 25 minutos el valor mas bajo siendo este 1497,77mg/L. De aquí se determina que 45 minutos es el mejor tiempo para realizar el proceso de extracción, dentro del rango establecido.

Tabla 19: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por ultrasonidos para determinar el mejor tiempo, usando acetato de etilo y a 60°C.

Tiempo (min.)	R(%) p/p	Concentración de Cafeína (mg/L) (±57,0417)
25	17,5104	1497,77
35	17,5865	1651,10
45	17,9162	1920,37

4.3.4. Influencia del tamaño de grano en el rendimiento y composición de la cafeína contenida en el café obtenida en el proceso EU.

Al igual que en la extracción por microondas, se utilizaron tres diferentes tamaños de grano, a saber: entero, triturado y molido, y con las condiciones seleccionadas anteriormente (acetato de etilo como solvente, 60°C y 45 minutos) se procedió a realizar las extracciones cuyos resultados se muestran a continuación en la Tabla 20.

Estos resultados demuestran que utilizando un tamaño de grano cada vez más pequeño, se puede extraer mayor cantidad de cafeína. De los tres tamaños utilizados se observa que el molido facilitó la mayor extracción de cantidad de cafeína (2691,1031 mg/L), y la menor cantidad de la misma se extrajo con el grano entero (1011,7294 mg/L), por su parte al utilizar café triturado en el proceso de extracción se obtuvo una concentración de 1641, 0381 mg /L.

Tabla 20: Concentración de cafeína en las muestras sometidas a extracción por ultrasonidos para determinar el mejor tamaño de grano, usando acetato de etilo y a 60°C

Tamaño de Grano	R(%) p/p	C_{Cafeína} (mg/L) (±19,7988)
Entero	17,4757	1011,7294
Triturado	17,7493	1641,0381
Molido	17,7960	2691,1031

4.4. Comparación Extracción Microondas y Extracción Ultrasonidos

A partir de los resultados obtenidos en los procesos de extracción empleados en este Trabajo Especial de Grado, se presenta una comparación entre los resultados obtenidos tomando en cuenta el rendimiento, la calidad del extracto y las mejores condiciones de operación de cada uno.

Tabla 21: Comparación de Rendimientos obtenidos en Extracción microondas y Extracción Ultrasonidos

Solvente	R_{microondas} (%) p/p	R_{ultrasonidos} (%) p/p	C_{Cafeína} EM (mg/L) (±29,935)	C_{Cafeína} EU (mg/L) (±29,935)
Agua	1,79	2,17	No se pudo obtener	No se pudo obtener
Metanol	3,14	4,26	1445,08	1908,81
i-Propanol	2,13	2,17	592,91	805,99
Ciclohexano	0,20	0,31	136,02	147,09
Acetato de Etilo	17,55	17,56	428,69	1325,08

Con respecto al rendimiento, se puede observar en la Tabla 21 que los resultados obtenidos utilizando isopropanol, ciclohexano y acetato de etilo son parecidos independientemente del método aplicado, sin embargo, al utilizar agua, se

obtiene 25% mas de productos derivados del café utilizando EU, y al utilizar metanol se obtiene prácticamente 40% más aplicando también EU, que en EM.

Analizando la calidad de los productos obtenidos, los espectros infrarrojos para cada solvente muestran selectividades semejantes para los métodos de extracción empleados, ya que para el mismo solvente los espectros de ambas técnicas de extracción son muy parecidos, sin embargo, no necesariamente se extraen las mismas cantidades de extracto, esto se puede demostrar por la variación en los rendimientos obtenidos (ver Figura 18).

Las condiciones de los procesos de extracción llevados a cabo varían para cada método aplicado. En la tabla 22 se muestran las condiciones óptimas para llevar a cabo cada método de extracción:

Tabla 22: Comparación de las mejores condiciones llevadas a cabo tanto en EU como en EM

METODO	CONDICIONES	R(%) p/p	C_{Cafeína} (mg/L) (±19,7988)
Extracción Microondas	<ul style="list-style-type: none">• Acetato de Etilo• 80% potencia• 20 segundos• Grano molido	16,8363	1535,960
Extracción Ultrasonidos	<ul style="list-style-type: none">• Acetato de Etilo• 60 °C• 45 minutos• Grano molido	17,7960	2691,1031

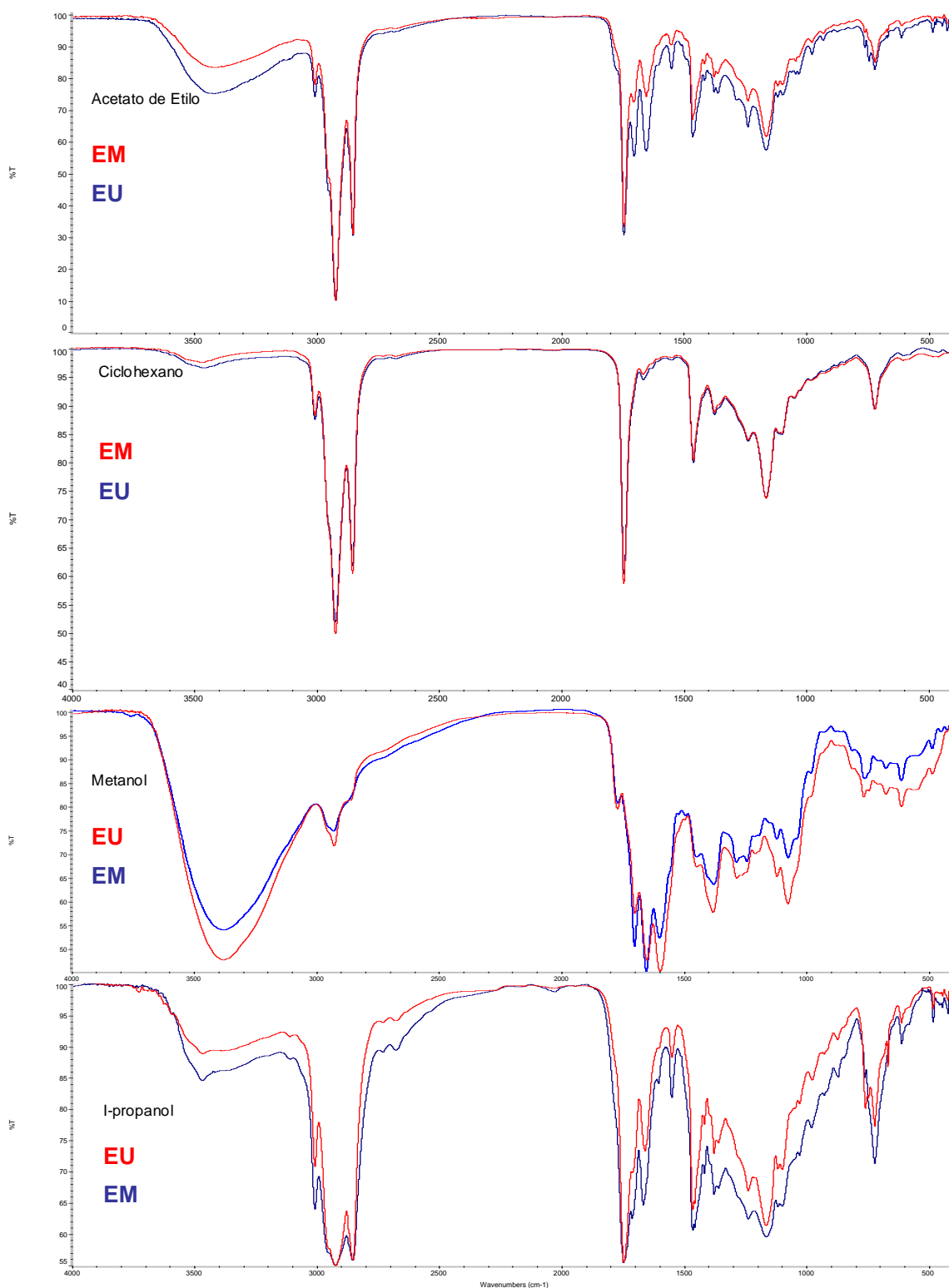


Figura 18: Comparación de espectros infrarrojos obtenidos en EM y EU

En la tabla 22 se puede observar que las mejores condiciones en ambos procesos de extracción de cafeína a partir de los granos de café se obtuvieron empleando acetato de etilo y el grano molido. Sin embargo el tiempo de extracción empleado en ambos métodos es diferente, la EM emplea tiempos muy cortos llevándose a cabo durante 15 segundos obteniendo como resultado 1535,9600 mg/L de cafeína en el extracto, y la EU utiliza tiempo más extensos llevándose a cabo durante 45 minutos obteniendo 2691,1031 mg/L de cafeína en el extracto.

Por otra parte, es importante señalar que ambos procesos de extracción no tienen en común todas las variables sometidas a estudio. En la extracción microondas se estudió la influencia de la potencia resultando la óptima para el proceso de extracción: 80%, y con respecto a la extracción ultrasonidos, se estudió la influencia de la temperatura, resultando 60°C la óptima dentro del rango establecido.

Lo mencionado anteriormente sugiere que para los rangos establecidos de cada parámetro estudiado, la extracción ultrasonidos favorece a la obtención de cafeína del café más que la extracción microondas.

4.5. Comparación de la aplicación de diferentes técnicas de extracción reportadas en la bibliografía con EM y EU en la obtención de cafeína contenida en los granos de café

En la Tabla 23 se muestran los resultados obtenidos en la extracción de cafeína a partir de granos de café por los métodos llevados a cabo en este trabajo especial de grado y en los reportados en la bibliografía. Todos los resultados plasmados en dicha tabla excepto los obtenidos en este tomo, fueron extraídos de dos trabajos de grado pertenecientes a la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad Central de Venezuela. Los parámetros comunes de todos los trabajos se exponen en dicha tabla con sus respectivos resultados, entre ellos: el solvente utilizado: entre los cuales se encuentran el acetato de etilo para EC, EM y EU, y el dióxido de carbono para la ESC, también se encuentra como parámetro de comparación, el tiempo y el

tamaño de grano utilizado, en este último se corrobora que el triturado fue óptimo para las ESC y EC, y el molido para EM y EU. Cabe destacar que para las ESC y la EC llevadas a cabo en los trabajos de grado consultados no utilizaron el grano molido para determinar su influencia en el proceso de extracción.

Otro parámetro reportado en la tabla es la temperatura óptima de operación, siendo la más alta la utilizada en la EC (105°C), continuando con las dos extracciones supercríticas reportadas (80 y 70°C), para luego seguir con la temperatura óptima para la extracción ultrasonidos, reportando un valor de 60°C, para el proceso de EM no se estudió el efecto de este parámetro. También se encuentra el tiempo como parámetro de estudio; la EC se llevó a cabo por 24 horas, y las ESC realizadas por González (2007) y Domínguez y Santana (2008), reportando 90 y 120 minutos respectivamente, a diferencia de la EU que se llevó a cabo en 45 minutos y la EM en 20 segundos. Del mismo modo se observa que la extracción convencional presenta el más alto rendimiento de todos los procesos estudiados, siendo éste de 26,2%, seguido de las extracciones no convencionales como EM y EU en las que se obtuvo un rendimiento de $\pm 17,55\%$ p/p, seguido por los valores más bajos reportados para las ESC: 12,17%p/p y 1,4%p/p realizadas por Domínguez y Santana (2008) y González (2007) respectivamente, quienes emplearon dióxido de carbono como solvente para este proceso.

Se puede apreciar que los procesos de extracción presentan diferencias entre ellos con respecto a las condiciones óptimas obtenidas en la parte experimental, la EM se llevó a cabo a 80% de potencia, la EU se llevó a cabo a 60°C, la ESC asociada al trabajo de González (2007) se llevó a cabo a 1800 psig, y la asociada a Domínguez y Santana (2008) a 2500 psig, mientras que la EC se llevó a cabo a presión atmosférica

Es importante señalar que todos los procesos mostraron que se extrae principalmente cafeína y ácidos grasos

Tabla 23: Comparación de los resultados obtenidos en diferentes procesos de extracción de cafeína a partir de granos de café

Método de Extracción	Autor, Año	Solvente	Tiempo	Tamaño de Grano	Temperatura (°C)	Otras Condiciones	R (%p/p)	Posibles Compuestos Presentes
Extracción Microondas (EM)	Carballo, 2008	Acetato de Etilo	20 sg	Molido	No se estudió	80% de potencia	17,55	Cafeína y Ácidos grasos
Extracción Ultrasonidos (EU)	Carballo, 2008	Acetato de Etilo	45 min	Molido	60	60 °C	17,56	
Extracción Supercrítica (ESC)	González, 2007	Dióxido de Carbono	90 min	Triturado	80	1800 psig	1,4	
Extracción Convencional (EC)	Domínguez y Santana, 2008	Acetato de Etilo	24 horas	Triturado	105	Presión atmosférica	26,22	
Extracción Supercrítica (ESC)	Domínguez Y Santana, 2008	Dióxido de Carbono	120 min	Triturado	70	2500 psig	12,17	

CONCLUSIONES

En esta sección se presentan las conclusiones del Trabajo Especial de Grado en base a los análisis y discusión de resultados.

- Para lograr obtener un extracto de las semillas del café por los procesos de EM y EU se requiere la trituration del grano y humedecerlo con agua hasta lograr un 11% de humedad.
- El rendimiento en EM fue 17,55%p/p
- Los espectros infrarrojos demuestran que el metanol, isopropanol y acetato de etilo son selectivos hacia la cafeína y los ácidos grasos de las semillas del café, mientras que el ciclohexano es selectivo sólo a los ácidos grasos.
- Se logró la extracción de cafeína con todos los solventes aplicados, sin embargo, el metanol pudo extraer mayor cantidad de cafeína de la muestra de café (1445,08mg/L), mientras que la menor cantidad de cafeína fue extraída por el ciclohexano (136,02mg/L).
- No hubo diferencia significativa en la concentración de cafeína obtenida variando los tiempos de extracción por microondas dentro de los rangos establecidos (aprox. 542, 72 mg/L).
- Las mejores condiciones obtenidas para el proceso EM fueron las siguientes: Acetato de etilo como solvente, el horno microondas a 80% de potencia durante 20 segundos con un tamaño de grano molido.
- El rendimiento en EU fue 17,56%p/p, el cual se mantuvo aproximadamente en el mismo valor independientemente del parámetro evaluado.
- En la EU, a mayor temperatura (dentro del rango establecido) en el medio de extracción mayor concentración de cafeína se obtiene en el extracto.
- Se obtuvo mayor concentración de cafeína al aumentar el tiempo de extracción por EU.

- Las mejores condiciones obtenidas para el proceso EU fueron las siguientes: Acetato de etilo como solvente a 60°C, durante 45 minutos con un tamaño de grano molido.
- La EM y la EU son semejantes en selectividad con respecto a los compuestos extraídos, pero presentan diferencias en el porcentaje de rendimiento y concentración de cafeína.
- La EU permite obtener mayor rendimiento y concentración de cafeína en el extracto, pero requiere mayor tiempo de extracción que EM.
- La EM requiere de menor tiempo para llevar a cabo los procesos de extracción con respecto a la ESC, EU y la EC.
- Las ESC y EC consumen mayor cantidad de energía para alcanzar las condiciones óptimas de extracción que la EM y la EU.
- Las técnicas EM y EU obtienen mayor rendimiento en el extracto que las técnicas ESC y EC.
- Las extracciones: supercrítica, convencional, microondas y ultrasonidos, posiblemente extraen los mismos compuestos de las semillas del café.

RECOMENDACIONES

A continuación se presentan las recomendaciones sugeridas con el objeto de producir mejores en lo referente al tema de este Trabajo Especial de Grado en futuras investigaciones.

- Asegurar la disposición de cantidad de materia prima a utilizar durante la realización de los procesos de extracción.
- Realizar un estudio sobre la influencia de la relación entre el solvente y la materia prima, para determinar cual es la óptima relación en el proceso de extracción sujeto a estudio.
- Realizar los procesos de extracción tanto por microondas como por ultrasonidos, utilizando el metanol como solvente para determinar la eficacia del mismo en la extracción de cafeína al variar el resto de los parámetros sujetos a estudio.
- Utilizar un medidor de temperatura instantánea mediante un termómetro infrarrojo para la obtención precisa de la temperatura a la que llega la muestra en un tiempo determinado de exposición microondas, mientras el recipiente de la muestra se encuentre dentro del equipo.
- Utilizar un baño de ultrasonidos con entrada y salida de agua, y capacidad para calentar el medio, en este caso el agua contenida dentro del mismo, así como una mayor capacidad de vaso de precipitados, para optimizar el tiempo empleado en el proceso de extracción.
- Hacer uso de una campana de extracción durante los procesos de extracción tanto por microondas como por ultrasonidos, dentro de la misma introducir ambos equipos y realizar dentro de ella todas las experiencias.

- Hacer un estudio de la influencia del grado de tostado del grano del café sobre el rendimiento del proceso, dado que de este nivel de tostado va a depender la humedad del grano.
- Hacer un estudio de la influencia del grado de humedad del grano de café sobre el rendimiento del proceso para observar cual es la máxima humedad que permite la mayor obtención de de cafeína con la menor cantidad de componentes hidrosolubles del café.

BIBLIOGRAFÍA

- Albu S. Joyce E. Paniwnyck L. et al (2004). Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonic Sonochemistry*, 11, pp. 261-265
- Ali y Aboul- Enein. (2006). *Instrumental Methods in Metal Ion Speciation*. [Libro en línea]. Disponible: <http://books.google.co.ve/books?id=XLR-yQVuHw8C>. [Consulta: 2008, enero 27].
- Barbeco G.F, Liazid A, et al (2007) Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, pp 1-15.
- Camel, V. (2001). Recent Extraction techniques for solid matrices-supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potencial and pitfalls. *The Analyst*, 126, pp.1182-1193.
- Cienytech. Disponible en <http://www.cienytech.com/tablas/tabla-miscibilidades.pdf> [Consulta: 2008, octubre, 29].
- Dai, J. y otros (2001). Influence of Operating Parameters on the Use of the Microwave-Assisted Process (MAP) for the Extraction of Azadirachtin-Related Limonoids from Neem (*Azadirachta indica*) under Atmospheric Pressure Conditions. *J. Agriculture Food Chem.* 2001, 49, pp.4584-4588.
- González, S. (2007). Extracción de cafeína de las semillas de café utilizando como solvente dióxido de carbono en condiciones supercríticas. Trabajo especial de grado. Inédito. Universidad Central de Venezuela.
- González, C. y Santana, R. (2008). Extracción de cafeína de semillas de café utilizando como solvente dióxido de carbono en condiciones supercríticas. Trabajo Especial de grado. Inédito. Universidad Central de Venezuela.

- Gotteland, M. y Saturnino de Pablo, V. (2007). Algunas verdades sobre el café. Revista Chilena de Nutrición. Disponible: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/>. [Consulta:2008, enero 27]
- Hielscher Ultrasound Technology. Ultrasonic Devices for Laboratory, Bench-Top and Production. Disponible: <http://www.hielscher.com>. [Consulta: 2008, enero 27].
- Hoffmann E. Charette J. Stroobant V. (1996). Mass Spectrometry - Principles and Applications. 2nd Ed. 352 pp
- International Coffee Organization. Decaffeination. En COSIC Science Information Centre [www.cosic.org]. Disponible: www.ico.org [Consulta: 2007, noviembre 27]
- Jaramillo, H J. (1996). El café en Venezuela. Ediciones de la Biblioteca Central de la Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 248 pp.
- Kiss, G. y otros (2000). Optimization of the microwave-assisted extraction of pigments from paprika (*Capsicum annum* L.) powder. Journal of Chromatography A. Vol 889, pp 41-49.
- Lander, C. (1984). Producción y Comercialización del café en Venezuela. Trabajo especial de grado. Inédito. Universidad Central de Venezuela.
- Norma Venezolana COVENIN 604-93 (1993). Café. Definiciones.
- Olcina, G. (2005). Efectos de la ingestión de cafeína sobre los diversos parámetros fisiológicos y la actividad física. Trabajo especial de grado. Inédito. Universidad de Extremadura.
- Ordóñez, J. (1999). Tecnología de los Alimentos. Editorial Síntesis. Volumen I. 348 pp.
- Paré, J. y Belanger, J (1997). Microwave-Assisted Process (MAPTM): Principles and Applications. En Paré, J. y Belanger, J. (Eds.) Instrumental methods in food analysis. Amsterdam: Elsevier Science, pp.395-420

- Paré, J., Digouin, M., y Lappointe, J. (1991). Microwave-Assisted Natural Product Extraction. Patente N° 5.002.784.
- Pare, J. R. J., Matni, G., Yaylayan, V., Belanger, J. M. R., Li, K., Rule, C., et al. (1997). Novel approaches in the use of the Microwave-Assisted Process (MAPTM): Extraction of fat from meat, dairy, and egg products under atmospheric pressure conditions. *Journal of Association of Analytical Chemistry International*, 80, pp 928–933.
- Parra, L (s,f). Teoría y Servicio electrónico. Reparación de hornos microondas, pp. 1-45
- Perry, R (1992). Manual del Ingeniero Químico. Tomo IV, 3ra ed. Mc Graw Hill. 420 pp.
- Rochas, J.F (2004). Microwave and Radio frequency equipment. International Symposium on Microwave Science and its application to related fields. (Julio 28-30). Takamatsu, Japón.
- Rosales, R.C. y otros (2003). Rapid analytical method for the determination of pesticide residues in sunflower seeds based on focused microwave-assisted Soxhlet extraction prior to gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Vol 993, pp 121-129.
- Silva, N. (1994). Caracterización física y química del café. Trabajo especial de grado. Inédito. Universidad Central de Venezuela.
- Skoog y Leary. (1976). Análisis instrumental. 4ta ed. Mc Graw Hill. 935 p.
- Spectral Database for Organic Compounds (SDBS). Disponible en http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi?lang=eng [Consulta: 2008, octubre, 28]

ANEXOS

Anexo 1. Comparación de resultados Espectroscopía Infrarroja por ATR y película líquida

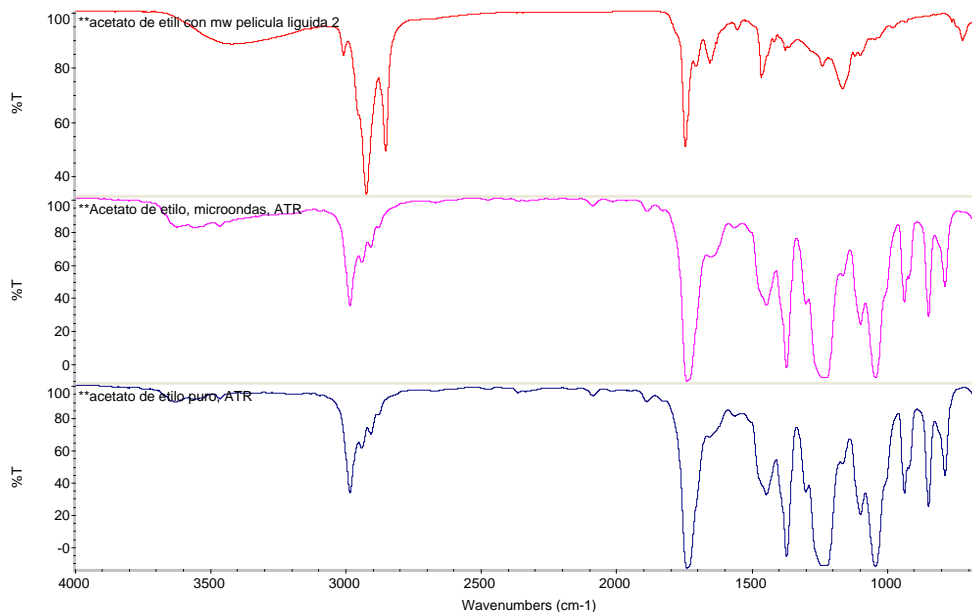


Figura 19: Comparación del espectro del acetato de etilo puro con el espectro del extracto usando microondas, y espectro del extracto sometido al proceso de eliminación del solvente.

Anexo 2. Cálculo de la desviación estándar de la concentración

Para determinar el error asociado a los resultados obtenidos por los análisis de HPLC, fue necesario calcular la desviación estándar para presentar las concentraciones y hacer comparaciones entre ellas.

$$S_{x_o} = \frac{S_{y/x}}{m} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{\sum_{y=1}^{y=i} (Y_i - \bar{Y})^2}{\sum_{x=1}^{x=i} (X_i - \bar{X})^2}}$$

Ecuación 1

Donde:

S_{x_0} : Desviación Estándar de la medida

$S_{y/x}$: Error Típico

m: pendiente de la recta de calibración

n: N° de patrones

Y_i : área correspondiente a la concentración del patrón i

\bar{Y} : área promedio de los patrones

X_i : Concentración del patrón i

\bar{X} : Concentración promedio de los patrones

Para la curva patrón 1, correspondiente al análisis por HPLC para la obtención de la concentración de cafeína en los solventes utilizados, la correspondiente al barrido de potencia aplicada en microondas y la del barrido de temperaturas aplicadas en EU, se les determinó la desviación estándar de la siguiente manera:

La curva patrón se obtiene por los resultados del análisis:

Tabla 24: Resultados del cálculo de áreas para las concentraciones de la cafeína patrón en agua

Concentración (mg/L)	Área
203	3567
1015	17088
2032	3296°

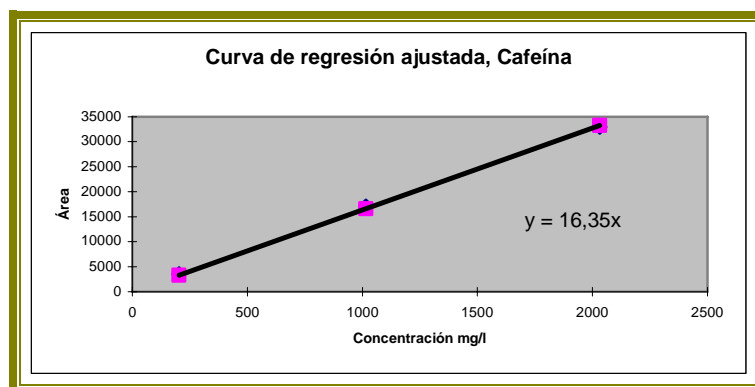


Figura 20: Curva de calibración para el patrón de cafeína

A partir del error típico que se obtiene por la herramienta análisis de datos, regresión mínimos cuadrados de Microsoft Excel, cuyo valor es $S_{y/x}$: 431,84, $n=3$ y $m=16,35$ se obtiene la desviación estándar, lo que corresponde a la incertidumbre del resultado

$$S_{x_o} = \frac{431,84}{16,35} \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{3} + \frac{(200 - 1083,3)^2 + (1000 - 1083,3)^2 + (2000 - 1083,3)^2}{(2325 - 17872)^2 + (12674 - 17872)^2 + (26038 - 17872)^2}}$$

$$S_{x_o} = 29,935$$

Las desviaciones estándar para el resto de las curvas se representan en la siguiente tabla:

Tabla 25: Desviaciones estándar de las curvas de calibración

Curva de Calibración:	Error Típico ($S_{y/x}$)	Pendiente (m)	Desviación Estándar (S_{x_o})
Barrido de mejor tiempo en EM	586,31	21,64	41,388
Barrido de mejor tiempo en EU	586,31	21,641	57,042
Barrido mejor tamaño de grano en EM y EU	456,408	22,46	19,799

Anexo 3. Determinación de las propiedades físicas del grano de café

En esta sección se presentan las tablas de los datos experimentales y las ecuaciones utilizadas para determinar las propiedades físicas del grano de café, tales como: tamaño de grano, humedad del grano tostado y la cantidad de agua absorbida por el grano de café.

Tamaño de grano:

El criterio de selección del tamaño de grano utilizado para realizar el proceso de extracción está basado en la bibliografía (González, 2007), ésta indica que la obtención de una mayor cantidad de cafeína se da con el grano previamente triturado que usando el grano de café entero. Para preparar la materia prima se procedió a triturar el grano para aumentar el área de contacto.

Humedad del grano tostado:

Para obtener el porcentaje inicial, el tiempo de secado de los granos de café y su humedad, se tomaron tres muestras de café y se colocaron en un porta muestra, se pesaron los porta muestras individualmente y con las muestras de café, posteriormente se colocaron dentro de la estufa por 24 horas a 100°C, evitando que estuvieran montados unos sobre otros. Al finalizar, se sacaron los tres porta muestras de la estufa, se pesaron y se determinó la masa de cada uno de ellos. Con los valores obtenidos al inicio y al final del secado se determinó la humedad por la ecuación (1)

Para llevar a cabo cada etapa experimental se secaron la cantidad de granos de café que se utilizarían en cada una de ellas.

A continuación se presenta la Tabla 26 donde se pueden observar los datos experimentales obtenidos en un proceso de secado en una estufa a una temperatura de 100°C.

Tabla 26: Humedad del grano en el proceso de secado

i	Masa inicial del grano (g)	Masa final del grano (g)	Porcentaje de Humedad (%)
1	16,0268	15,3280	4,36
2	16,5576	15,8365	4,36
3	16,0937	15,3923	4,36
Promedio			4,36

Seguidamente se presenta la ecuación para calcular el porcentaje de humedad

$$h = \left(\frac{m_i - m_f}{m_i} \right) \cdot 100$$

Ecuación 2

Donde:

h: Porcentaje de humedad del grano tostado (%)

m_i : Masa inicial del grano (antes del secado), (g)

m_f : Masa final del grano (después del secado), (g)

Tomando los valores de la segunda experiencia se tiene:

$$h = \left(\frac{16,5576 - 15,8365}{16,5576} \right) \cdot 100$$

$$h = 4,36\%$$

Determinación de la cantidad de agua adsorbida del grano de café

Luego del secado de los granos, se procedió a aumentar su humedad, elevando la cantidad de agua adsorbida dentro del grano de café a 10-11%, valor reportado en la bibliografía como el óptimo para extraer cafeína (González, 2007). Para lograrlo se tomaron 3 muestras de 10 gramos cada uno del café en granos secados previamente, y se introdujeron en un envase con agua a diferentes tiempos, hasta obtener el tiempo en la que la muestra adsorbiera la cantidad de agua necesaria. La Tabla 27 indica los resultados de las experiencias anteriormente descritas.

Tabla 27: Adsorción de agua del grano de café en diferentes tiempos

i	m inicial (g)	m final (g)	Cantidad de agua adsorbida (%)
1	10,0672	10,1124	4,06
	t = 10 min		
2	10,0150	10,0948	7,29
	t = 15 min		
3	9,8913	9,9933	10,27
	t = 30 min		

Seguidamente se presenta la ecuación para calcular el porcentaje de adsorción de agua del grano de café:

$$Ad = \left(\frac{m_{ff} - m_{ii}}{m_{ff}} \right) \cdot 100$$

Ecuación 3

Donde:

Ad: Cantidad de agua adsorbida por la materia prima en determinado tiempo, (%)

M_{ff} : masa final de la materia prima (después de la adsorción de agua), (g)

M_{ii} : masa inicial de la materia prima (antes de la adsorción de agua), (g)

Tomando los valores de la tercera experiencia, se tiene:

$$Ad = \left(\frac{9,9933 - 9,9813}{9,9933} \right) \cdot 100$$

$$Ad = 10,27\%$$

Debido a la proximidad de este valor con el sugerido por González (2007) en su trabajo especial de grado, el tiempo utilizado para humedecer los granos fue de 30 minutos.

Cálculo de la densidad de las muestras

Con el fin de determinar la densidad tanto del solvente puro como de los extractos, se utilizó un picnómetro de 10 ml. A continuación se presenta en la Tabla 28 las densidades de tres muestras de extractos obtenidos experimentalmente en el laboratorio, a las mismas condiciones.

Tabla 28: Densidad de tres muestras obtenidas por la extracción por microondas, usando acetato de etilo, a 100% de potencia y un tiempo de extracción de 15 s.

i	masa del picnómetro vacío (g)	masa del picnómetro lleno (g)	volumen del picnómetro (ml)	densidad (g/ml)
1	28,1999	37,0181	9,827	0,8973
2	28,1992	37,0076	9,827	0,8963
3	28,2005	36,9963	9,827	0,8951
Promedio				0,8963

La densidad de los solventes puros y de los extractos se determinó por la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{m_{p_l} - m_{p_v}}{v_p}$$

Ecuación 4

Donde:

m_{p_l} : masa del picnómetro lleno, (g)

m_{p_v} : masa del picnómetro vacío, (g)

v_p : volumen del picnómetro, (ml)

Tomando los valores de la segunda experiencia se tiene:

$$\rho = \frac{37,0076 - 28,1992}{9,827}$$

$$\rho = 0,8963 \frac{g}{ml}$$

Cálculo del rendimiento obtenido en el proceso

En esta sección se presentan en detalle la obtención del rendimiento del proceso de extracción por microondas y por ultrasonidos, la cual está basada en las densidades obtenidas tanto de las muestras como del solvente puro. (Tabla 29).

Tabla 29: Determinación del rendimiento de las muestras obtenidas luego del proceso de extracción por microondas usando acetato de etilo como solvente, a 100% de potencia en un tiempo de 15 s.

i	densidad de la muestra (g/ml)	densidad del solvente puro (g/ml)	Rendimiento (%)
1	0,8952	0,7624	17,42
2	0,8971	0,7624	17,66
3	0,8941	0,7624	17,28
promedio			17,45

El rendimiento de la extracción se calculó empleando la siguiente ecuación:

$$R = \left(\frac{\rho_{\text{extracto}} - \rho_{\text{ste}}}{\rho_{\text{ste}}} \right) \cdot 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde:

R: Rendimiento obtenido del proceso de extracción, (%)

ρ_{extracto} : Densidad del extracto, (ml/g)

ρ_{ste} : Densidad del solvente puro, (g/ml)

Utilizando los valores de la primera experiencia se tiene:

$$R = \left(\frac{0,8952 - 0,7624}{0,7624} \right) \cdot 100$$

$$R = 17,42\%$$

El criterio de selección de la muestra a analizar químicamente se basó en la escogencia de aquella que presentara el rendimiento más cercano al valor promedio.

Anexo 4. Diferentes tamaños de grano utilizados



Figura 21: Diferentes tamaños de grano utilizados en los procesos de extracción por microondas y ultrasonidos

Anexo 5. Densidad y rendimientos de las pruebas para los procesos de extracción por microondas

Tabla 30: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EM variando los solventes

solvente	Prueba 1			Prueba 2			Prueba 3		
	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R1 (%)	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R2 (%)	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R3 (%)
Agua	38,1290	1,0103	1,87	38,0103	0,9982	0,65	38,1218	1,0096	1,79
Metanol	36,5138	0,8460	3,97	36,4010	0,8345	2,56	36,4478	0,8392	3,14
i-Propanol	36,0726	0,8011	2,81	36,0204	0,7958	2,13	35,9220	0,7857	0,85
Ciclohexano	35,8375	0,7771	0,86	35,7727	0,7706	0,01	35,7873	0,7720	0,20
Acetato de Etilo	37,0181	0,8973	17,69	37,0076	0,8962	17,55	36,9963	0,8951	17,40

Tabla 31: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EM variando la potencia

Potencia (%)	Prueba 1			Prueba 2			Prueba 3		
	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R1 (%)	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R2 (%)	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R3 (%)
10	36,9977	0,8952	17,42	37,0159	0,8971	17,66	36,9870	0,8941	17,28
40	36,9984	0,8953	17,43	36,9787	0,8933	17,17	36,9870	0,8941	17,28
60	37,0015	0,8956	17,47	36,9800	0,8934	17,18	37,0280	0,8983	17,82
80	36,9805	0,8935	17,19	37,0189	0,8974	17,70	37,0260	0,8981	17,80
100	37,0181	0,8973	17,69	37,0076	0,8962	17,55	36,9963	0,8951	17,40

Tabla 32: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EM variando el tiempo

Tiempo (s)	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R2 (%)
20	36,9803	0,8938	17,23
15	37,0189	0,8974	17,70
10	36,9898	0,8950	17,39

Tabla 33: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EM variando el tamaño de grano

Tamaño de Grano	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R1 (%)
entero	36,9885	0,8948	17,36
triturado	37,0042	0,8963	17,57
molido	36,9490	0,8908	16,84

Anexo 6. Densidad y rendimientos de las pruebas para los procesos de extracción por ultrasonidos

Tabla 34: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EU variando el solvente

solvente	Prueba 1			Prueba 2			Prueba 3		
	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R1 (%)	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R2 (%)	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R3 (%)
Agua	38,1589	1,0134	2,17	38,0515	1,0024	1,07	38,1709	1,0146	2,30
Metanol	36,5138	0,8460	3,97	36,5373	0,8484	4,26	36,6570	0,8605	5,76
i-Propanol	36,0235	0,7961	2,17	36,0112	0,7948	2,01	36,0240	0,7961	2,18
Ciclohexano	35,7956	0,7729	0,31	35,8069	0,7740	0,46	35,7946	0,7728	0,29
Acetato de Etilo	37,0102	0,8965	17,59	36,9916	0,8946	17,34	37,0080	0,8963	17,56

Tabla 35: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EU variando la temperatura

Temperatura (°C)	Prueba 1			Prueba 2			Prueba 3		
	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R1 (%)	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R2 (%)	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R3 (%)
40	37,0232	0,8978	17,76	37,0324	0,8987	17,88	37,0303	0,8985	17,85
60	37,0351	0,8990	17,92	36,9903	0,8945	17,32	37,0349	0,8990	17,92
Ambiente	37,0102	0,8965	17,59	36,9916	0,8946	17,34	37,0080	0,8963	17,56

Tabla 36: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EU variando el tiempo de extracción

Tiempo (s)	Masa (g)	ρ (g/ml) @ 26°C	R1 (%)
25	36,9701	0,8927	17,51
35	37,0349	0,8990	17,59
45	36,9981	0,8959	17,92

Tabla 37: Densidad y rendimiento de las pruebas realizadas en EU variando el tamaño de grano

Tamaño de Grano	Masa (g) ($\pm 0,00001$)	ρ (g/ml) @ 26°C	R1 (%)
entero	36,9970	0,8956	17,48
triturado	37,0180	0,8977	17,75
molido	37,0213	0,8981	17,80

Anexo 7. Espectros Infrarrojos asociados a los compuestos principales del café y de los solventes utilizados en los procesos de extracción.

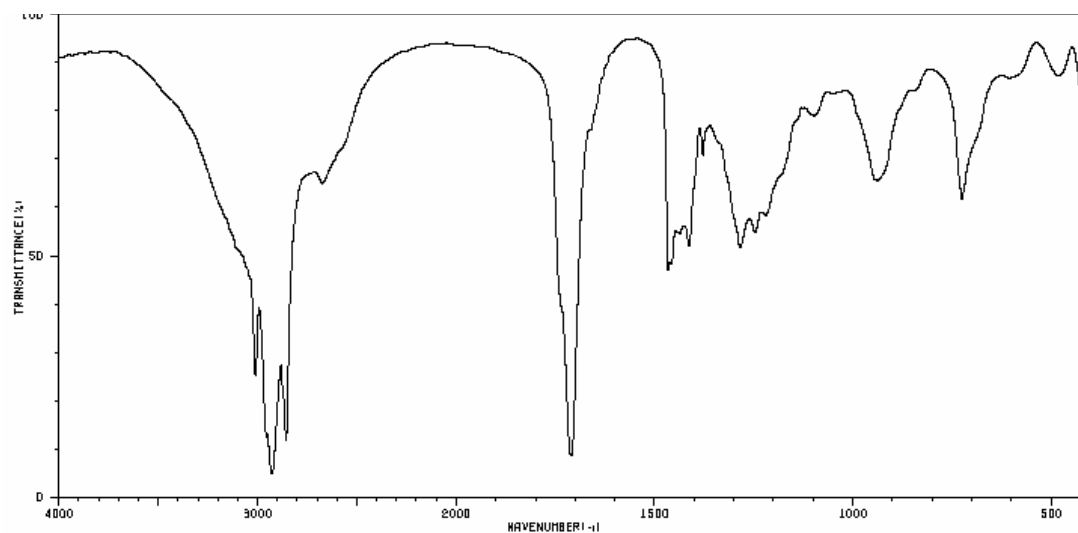


Figura 22: Espectro Infrarrojo del Ácido Linoleico

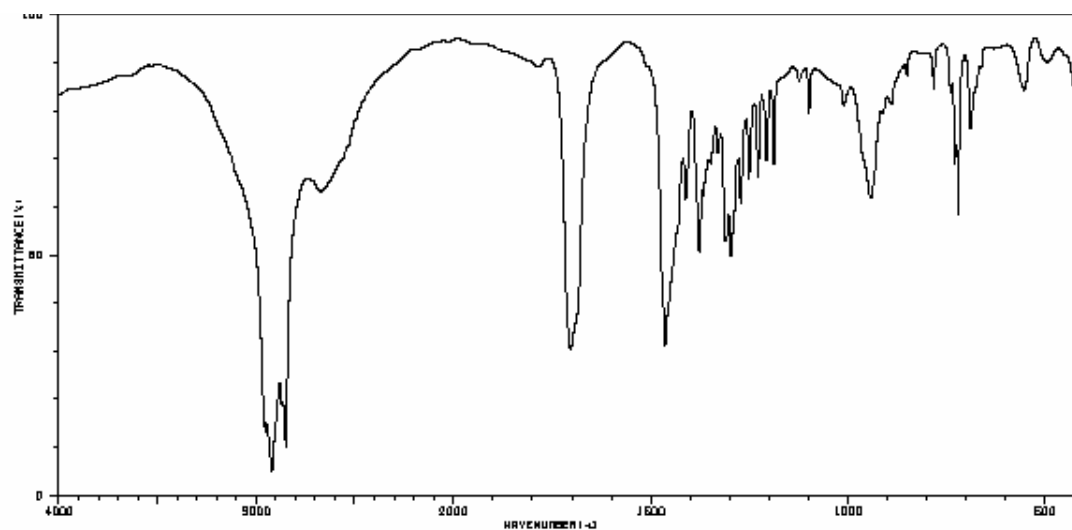


Figura 23: Espectro Infrarrojo del Ácido Palmítico

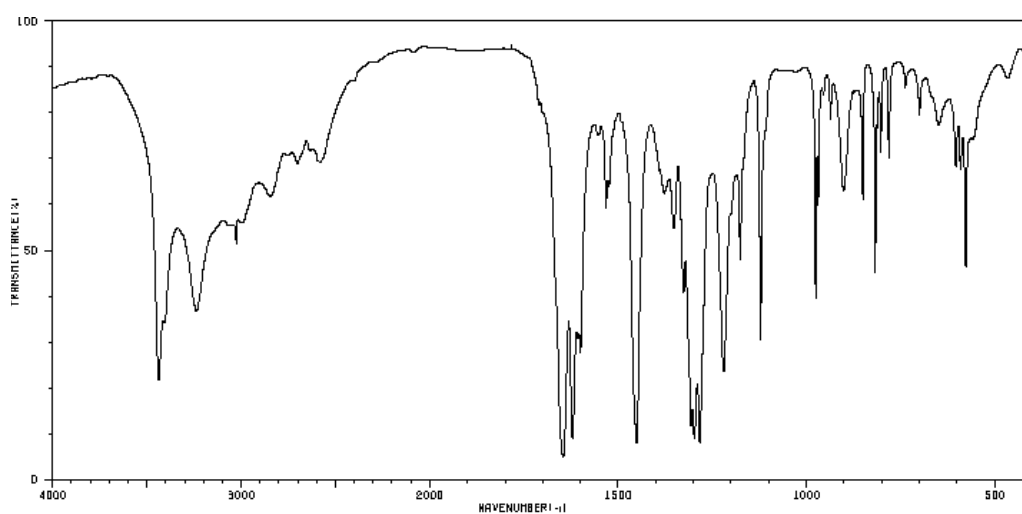


Figura 24: Espectro Infrarrojo del Ácido Cafeico

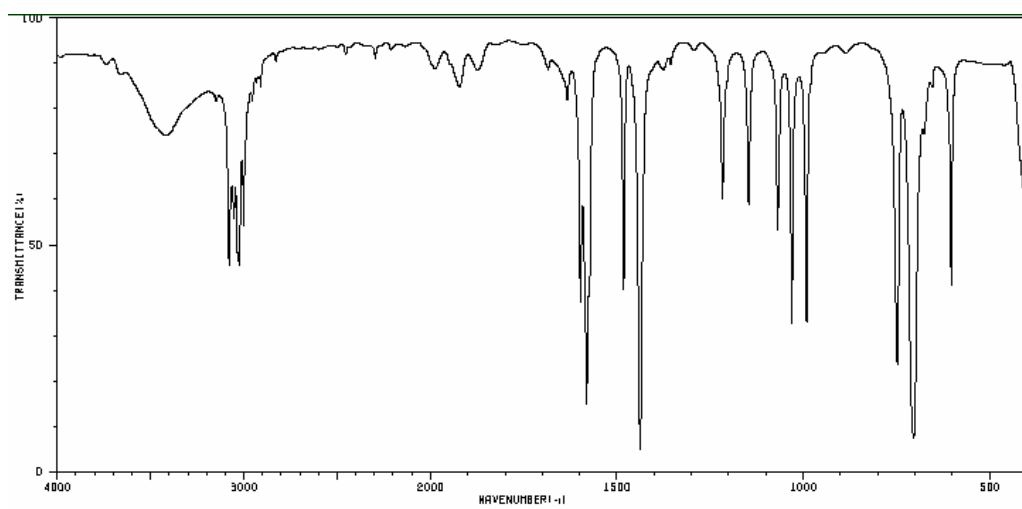


Figura 25: Espectro infrarrojo de la Piridina

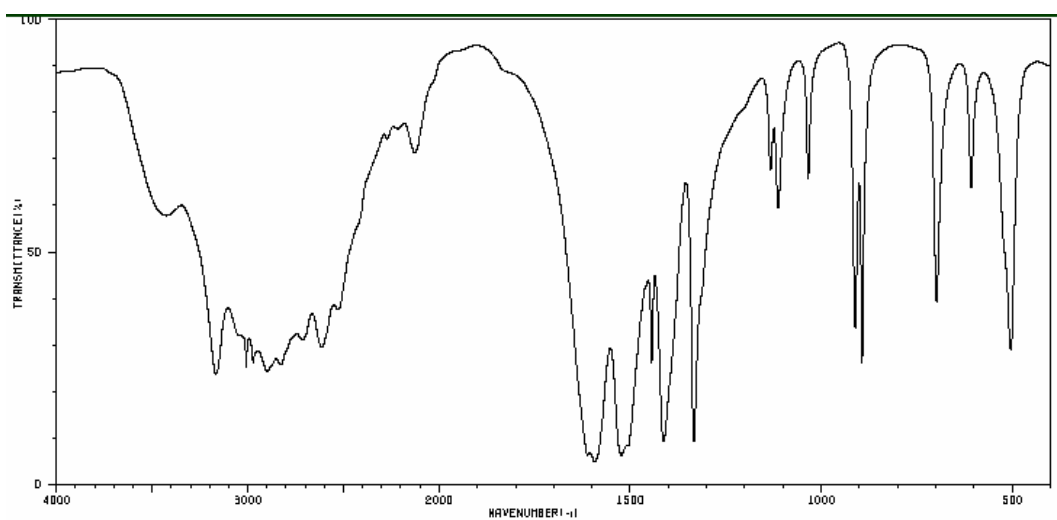


Figura 26: Espectro Infrarrojo de la Glicina

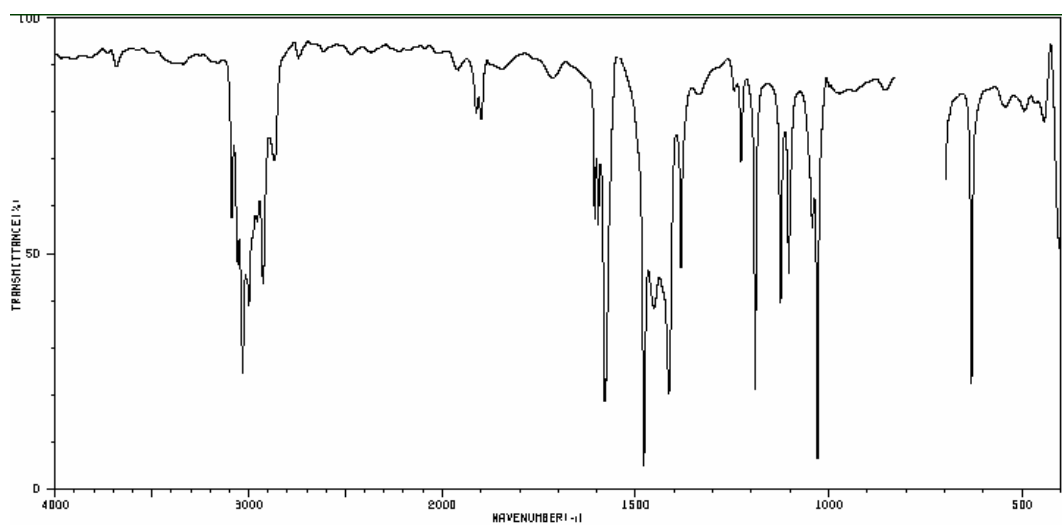


Figura 27: Espectro Infrarrojo de 3-metilpiridina

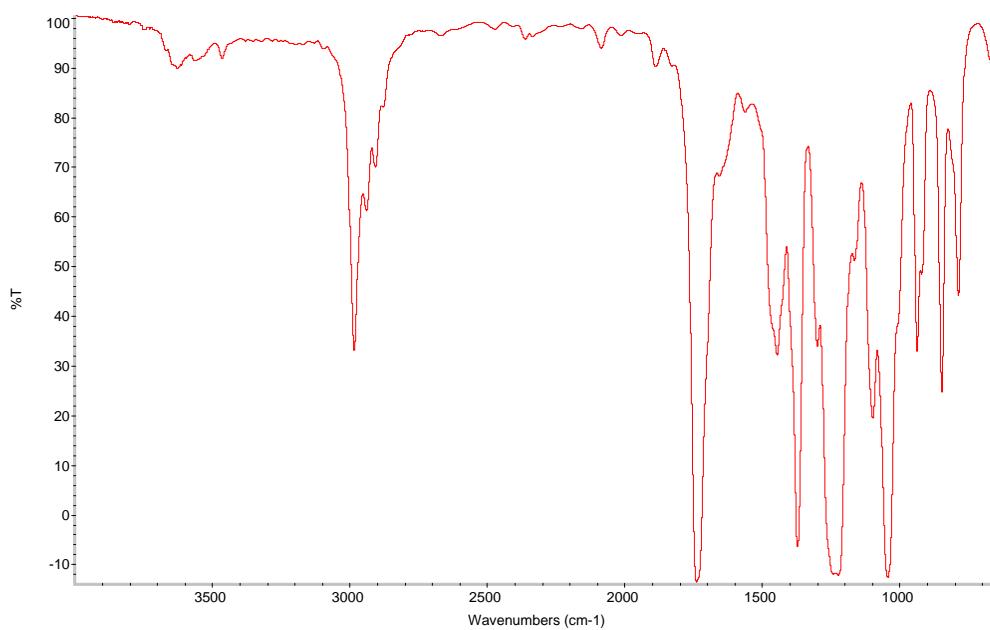


Figura 28: Espectro Infrarrojo de Acetato de Etilo

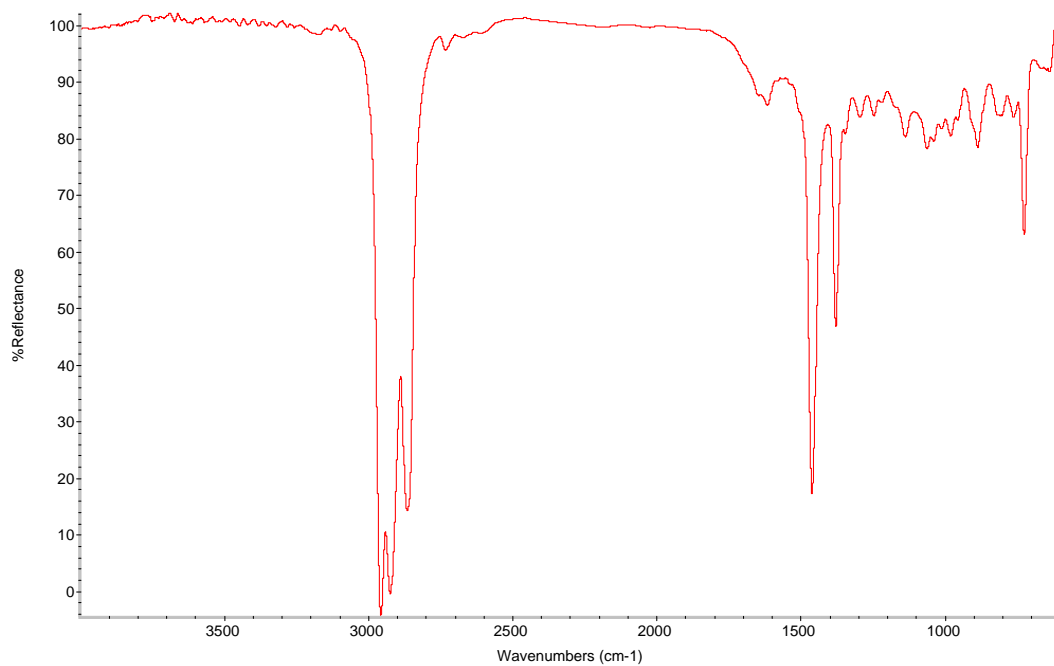


Figura 29: Espectro Infrarrojo de Ciclohexano

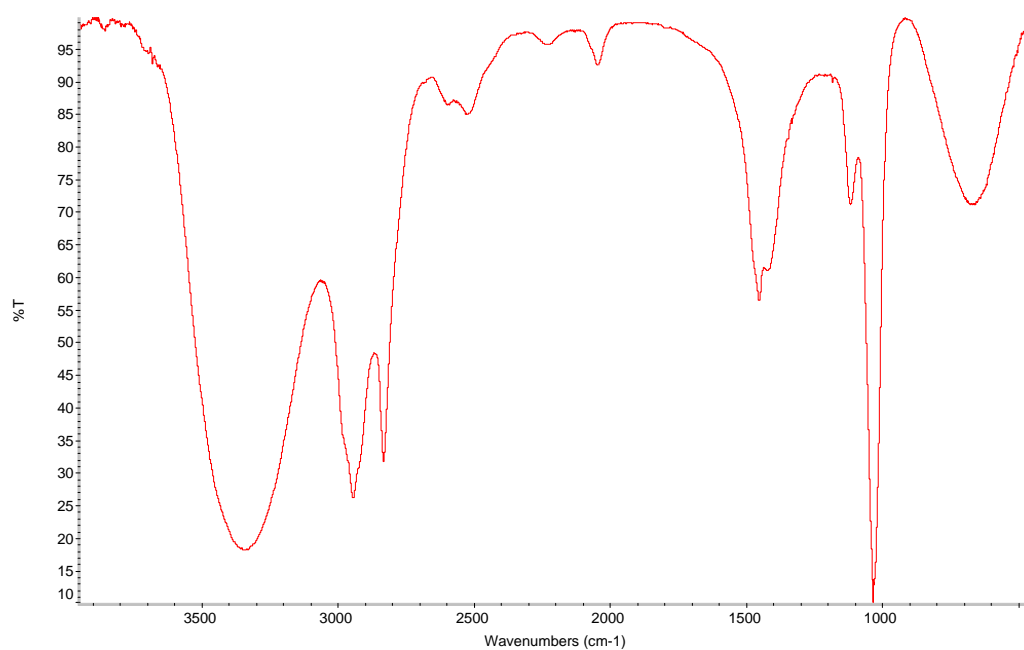


Figura 30: Espectro Infrarrojo de Metanol

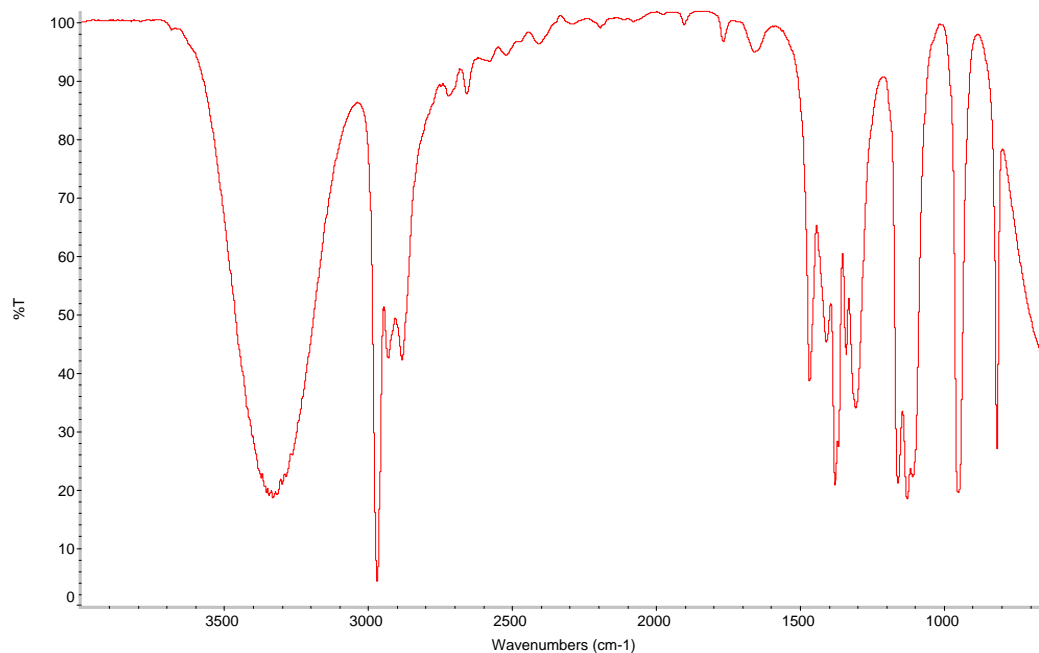


Figura 31: Espectro Infrarrojo de Isopropanol

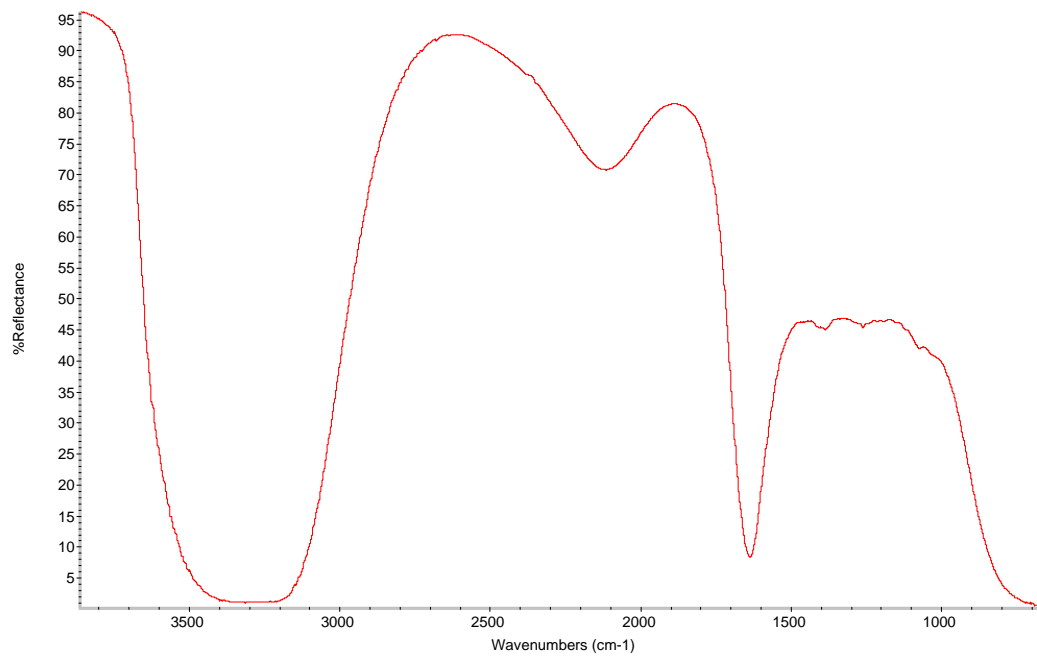


Figura 32: Espectro Infrarrojo del Agua