

INVESTIGACIÓN

Extracción con CO₂ supercrítico de oleorresina y otras fracciones de pimentón dulce y picante

Por J. Pablo Fernández-Trujillo

Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT).
Departamento de Ingeniería de Alimentos y Equipamiento Agrícola.
Paseo Alfonso XIII, 48. ETSIA e Instituto de. Biotecnología Vegetal.
30203 Cartagena, Murcia, España.
E-mail: j68es@terra.es ó juanp.fdez@upct.es

RESUMEN

Extracción con CO₂ supercrítico de oleorresina y otras fracciones de pimentón dulce y picante.

Se revisan las condiciones para la extracción de pimienta o pimentón mediante CO₂ supercrítico (ESCO₂), la cual depende del pretratamiento de las muestras (trituration, pelletizado, etc.), las condiciones estáticas o dinámicas, presión, temperatura, tiempo de extracción, cantidad y densidad del CO₂, etapas de extracción, o presencia de cosolventes. Las condiciones aconsejables según la literatura son prepelletizar y extraer a 40 °C en dos etapas: 13,8-15 MPa para aromas y β-caroteno, seguido de 40 MPa para otros carotenoides (capsorrubeno, capsanteno, zeaxanteno, y β-criptoxanteno). En general la ESCO₂ extrae mejor capsaicinoides y tocoferoles que xantofilas rojas. Para extraer capsaicinoides se han utilizado 32-40 MPa y 40-55 °C, y para extraer pigmentos clorofílicos en ciertos estados de madurez y variedades 36 MPa y 45 °C. Para tocoferoles 20 MPa y 55 °C ó las condiciones anteriores también se han aconsejado. Según la materia prima y condiciones de extracción óptimas, los rendimientos son muy variables: 5,2-17,4% (totales), 2-3% carotenoides totales, 0,7-8,6% de capsaicinoides en ORPs picantes, y 370-400 µg · g⁻¹ de tocoferoles, (especialmente el isómero α-tocoferol). El porcentaje de recuperación de estos compuestos previa fraccionamiento y optimización de materia prima y proceso de extracción es del 90-100%. Como cosolventes para extraer capsaicinoides se ha utilizado etanol, agua y con menores resultados ácido acético u otros, y para β-caroteno 2,2-dimetoxipropano ó ESCO₂ y adsorción mediante sílica gel. Los principales peligros y puntos de control crítico del proceso son los derivados de la alta presión del CO₂. Lo son también la homogeneidad de distribución del soluto según pretratamientos previos, la variabilidad de los resultados en composición de los pigmentos respecto a la extracción convencional, o la reproducibilidad de los resultados de planta piloto a nivel industrial. Mediante esta tecnología pueden producirse extractos aromatizantes, colorantes o desodorizados, extracto de capsaicinoides para uso alimentario u otros, así como oleorresinas ricas en zeaxantenos.

PALABRAS-CLAVE: Capsaicinoides – Carotenoides – Cosolventes – Extracción supercrítica – Pimentón – Tocoferoles.

SUMMARY

Supercritical CO₂ extraction of sweet and hot paprika oleoresin and other fractions

Paprika extraction by supercritical CO₂ (ESCO₂) depends on sample pretreatment (milling, pelletization), the static or dynamic conditions of the pressure, temperature, extraction time, solvent flow and density, the steps of the extractions, or the use of cosolvents. The best conditions according to the literature are prepelletizing samples and extracting at 40 °C in two steps: 13,8-15 MPa for aroma volatiles and β-carotene, followed by 40 MPa for other carotenoids (capsorubin, capsanthine, zeaxanthine, and β-cryptoxanthine). In general, supercritical CO₂ extract better the capsaicinoids and tocopherols than the red xanthophylls. To extract capsaicinoids, 32-40 MPa y 40-55 °C have been used, and for chlorophyll pigments in some cultivars and stages of maturity 36 MPa and 45 °C. For tocopherols, 20 MPa and 55 °C or the above conditions have been advised. Depending on the raw paprika composition and the optimum conditions used for the extraction, the yields are variable: 5,2-17,4% (total), 2-3% carotenoids, 0,7-8,6% capsaicinoids in pungent oleoresin, and 370-400 µg tocopherols · g⁻¹ oleoresin (mainly the α-tocopherol isomer). The recovery of the compounds of interest by fractionation and optimization of the raw material and extraction process is 90-100%. Ethanol, water and acetic acid are used as cosolvents to extract capsaicinoids, and for β-carotene the 2,2-dimethoxypropane or ESCO₂ plus adsorption in silica gel. The ESCO₂ allows extracting an oleoresin free from paprika contaminants. The main hazards and critical control point are derived from the high pressure of the CO₂, the homogeneity of the solute distribution depending on the previous pretreatments, and the variability of the results in pigment composition compared with that obtained by means of conventional extraction, as well as the difficult to reproduce laboratory results to an industrial scale. The innovations in paprika ESCO₂ extract are the aromatized extracts, colorants or deodorized extracts, capsaicinoids extract for food or other uses, as well as oleoresins enriched in zeaxanthines that it is possible to obtain.

KEY-WORDS: Capsaicinoids – Carotenoids – Cosolvent – Paprika – Supercritical fluid – Tocopherols.

Abreviaturas: ORP = Oleorresina de pimentón; ESCO₂ = Extracción con CO₂ supercrítico; P = Presión; T = Temperatura.

1. DEFINICIÓN DE EXTRACTO SUPERCRÍTICO

La oleorresina de pimentón (ORP) es el extracto líquido graso de frutos del género *Capsicum* maduros y secos, con viscosidad media, colores rojizos y con aroma típico de pimentón según calidades, orígenes, genotipo de procedencia y método de extracción, y que contiene una mezcla compleja de más de 100 compuestos (Fernández-Trujillo, 2007a).

La extracción mediante fluidos supercríticos con CO₂ como disolvente (ESCO₂) es una tecnología utilizable para obtener extractos similares a la ORP clásica o sus fracciones (del Valle y Aguilera, 1999; del Valle *et al.*, 2003a, b; Mukhopadhyay, 2000; Rozzi y Singh, 2005) e incluso componentes de naturaleza lipídica o capsaicinoides individuales (Skerget *et al.*, 1998). El extracto se obtendría mediante el contacto de un fluido en condiciones supercríticas y del pimentón peletizado, o del pimientito seco triturado. Existen plantas para ORP o extractos de pimentón por ESCO₂ en India, E.E.U.U. y también en Europa (Alemania, España), aunque con producción muy limitada prácticamente bajo pedido.

La gran ventaja de la ESCO₂ es la práctica ausencia de residuos y la fácil recuperación del disol-

vente, así como los menores peligros y riesgos, y en ciertos casos ahorros de energía sustanciales respecto a extracción o destilación convencionales (del Valle y Aguilera, 1999). El posterior tratamiento para la eliminación de residuo de CO₂ consiste básicamente en una descompresión, e intercambio de calor. Con ello el CO₂ reduce su densidad y se vaporiza, separándose del soluto extraído. El CO₂ se recupera para su reciclado y, con aportación de CO₂ gas de reposición, se recicla mediante compresión hasta las presiones requeridas para la ESCO₂ (del Valle y Aguilera, 1999; Mukhopadhyay, 2000). Las temperaturas de la ESCO₂ pueden ser relativamente bajas o incluso inactivar las bacterias Gram positivas y negativas, no necesitando esterilización posterior. De esta manera el extracto puede quedar libre de contaminación microbiana (Díaz-Reinoso *et al.*, 2006).

La ESCO₂ tiene también inconvenientes. Por ejemplo, Daood *et al.* (2002), Illés *et al.* (1999) y Gnayfeed *et al.* (2001) han descrito las dificultades de extracción de los diésteres de las xantofilas en determinadas condiciones, así como el riesgo de isomerización de *trans* a *cis* de los carotenoides. Los tiempos de extracción de la ESCO₂ para la capacidad instalada son otro inconveniente desde el punto de vista económico (Rosa y Meireles, 2005). Aunque determinados tiempos

Tabla 1
Condiciones de extracción supercrítica con CO₂ utilizadas para diferentes especies de pimiento dulce y *Capsicum annuum* picante. ND indica no determinado y η_T el rendimiento total. El ratio se expresa en kg CO₂/kg materia prima.

Materia prima y características	Tiempo, Presión y Temperatura	Ratio y flujo CO ₂	Rendimientos (%) y otros	Referencia
Pimentón de 14% humedad	30 MPa/40 °C	ND	ND Descompresión a 4 MPa	Govindarajan (1986)
Pimentón de 10.8% humedad	10,3-34,5 MPa/ 50 °C 30 MPa/50 °C, 2h	ND 20:1 (kg · kg muestra ⁻¹)	ND $\eta_T = 13,5$	Krukonis (1994) Ehlers <i>et al.</i> (2006)
<i>C. annuum</i> SZ-178 Picante (400–600 µm; 10–11% humedad)	40 MPa/55 °C	1-1,5 mL · min ⁻¹	$\eta_T = 7,95$	Gnayfeed <i>et al.</i> (2001)
Pimentón en semicontinuo	15 MPa/40 °C	51.4:1 kg/kg	$\eta_{\text{pigmentosT}} = 1,9$ $\eta_{\text{aromasT}} = 12,1$	Skerget <i>et al.</i> (1998)
Pimentón 165 µm	15-40 MPa/40°C en semicontinuo	30:1 kg · kg muestra ⁻¹	$\eta_T = 13.0$	Skerget y Knez (2001)
	2 etapas 9 MPa/40 °C + 40 MPa/40 °C	35:1 kg/kg 36.1 L · h ⁻¹ 29,5 L · h ⁻¹ ρ CO ₂ ND	$\eta_T = 1 - 11$	Skerget y Knez (1997 y 2001);
<i>C. annuum</i> (capsaicinoides totales)	$\rho = 800 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} / 55 \text{ °C}$ 15 min (estático) + 15 min (dinámico)	1 mL · min ⁻¹	η_T ND; $\eta_{\text{capsaicinT}} = 0.0011$	Peusch <i>et al.</i> (1997)
<i>C. annuum</i> ND µm (capsaicinoides)	35 MPa y 50 °C, 3 h	ND	η_T ND; (var.) $\eta_{\text{capsaicinT}} \sim 0.07$	Vesper y Nitz (1997a)
Pimentón húngaro 200 µm, 20% semillas	35 °C y 40 MPa	1-1,5 mLmin ⁻¹	$\eta_T = 7.4$; $\eta_{\text{capsaicinT}}$ ND	Illés <i>et al.</i> (1999)

sean mejores que la extracción por disolventes, sigue siendo un reto el mejorarlos y, sobre todo, que los rendimientos de ambos métodos sean comparables. Por ejemplo para capsainoides son ligeramente inferiores con ESCO₂ o existen problemas de extracción (Gnayfeed *et al.*, 2001; Peusch *et al.*, 1997a).

En trabajos anteriores revisamos el procesado de pimiento para pimentón y la extracción convencional de ORP con disolventes orgánicos (Fernández-Trujillo, 2007a, 2007b; Fernández-Trujillo y Escarabajal, 2006). El objetivo de este trabajo es revisar las condiciones de proceso y las innovaciones más recientes en la extracción de ORP o sus fracciones mediante CO₂ supercrítico, así como el análisis de algunos de sus peligros y puntos de control crítico.

2. EXTRACCIÓN MEDIANTE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS DE PIMENTÓN

2.1. Pretratamiento de las muestras

Los pretratamientos del pimiento mejoran los rendimientos totales con ESCO₂ (Tabla 2). Por ejemplo, las muestras molidas a partir de laminados y luego peletizadas y acondicionadas a baja humedad tienen un rendimiento mayor que aquellas no molidas previamente (Del Valle *et al.*, 2003

b). Ello se debe a que la extracción de fracciones de interés aumenta con una mejor distribución y conectividad de los poros. La humedad del producto (entre el 7,2 y el 8%) tiene un menor efecto que el tipo de peletización (Uquiche *et al.*, 2005). Además, la reducción del tamaño de las partículas aumenta la transferencia de materia, pero disminuye la compactación del pelet, y ambos factores tienen efectos opuestos sobre el rendimiento volumétrico de la extracción (masa de soluto recuperado por unidad de tiempo y volumen del recipiente) (Uquiche *et al.*, 2005).

2.2. Elección de condiciones de presión y temperatura, densidad y consumo del CO₂

El CO₂ supercrítico habitualmente tiene una pureza del 99,995%. En las Tablas 1 y 2 señalamos las condiciones de temperatura y presión (T y P) en ESCO₂ con mejores resultados, según la fracción de interés, que oscilan entre 40 y 55 °C y 10,3 a 40 MPa. En general se obtienen mejores resultados mediante extracción en condiciones dinámicas frente a las estáticas. Se observa una leve falta de claridad en las recomendaciones sobre las mejores condiciones del proceso, tanto de la materia prima como en las experimentales, como por ejemplo en flujo de CO₂ o condiciones de descompresión.

Tabla 2
Condiciones de extracción supercrítica con CO₂
utilizadas para pimiento picante. ND indica no determinado y η_T el rendimiento total.

Materia prima y características	Tiempo, Presión y Temperatura	Flujo de CO ₂	Rendimientos y recuperación (%)	Referencia
Picante y finamente molido	6.5 h a 12 MPa/40 °C+ 32 MPa/ 40 °C	ND	$\eta_{\text{capsaicinT}} = 15.5$ y $\eta_{\text{carotT}} = 3$	Coenen y Hagen (1983)
Pimiento picante en polvo picante (400–600 μm , 10–11% de humedad)	40 MPa/55 °C	1-1,5 mL · min ⁻¹	$\eta_T = 11,5$ Recup. 89% capsaicin, 84% α ó β -tocof., 48% g-tocof.	Daood <i>et al.</i> (2002)
Jalapeño peletizado 280-3190 μm	4-4,5 h a 32 ó 36 MPa/40-45 °C	3-4 L min ⁻¹ (NPT), 5-10 min	$\eta_T = 14$ $\eta_{\text{capsaicinT}} = 0,04$ ó $\eta_{\text{capsaicinT}} = 0,012$	Del Valle <i>et al.</i> (2003 a, 2003 b); Uquiche <i>et al.</i> (2005)
<i>C. annuum</i> cv. Scotch Bonnet liofilizado	400 atm/50 °C 30 min + 600 atm/ 50 °C 90 min		$\eta_T = 16,4$ $\eta_{\text{capsaicinT}} = 3,8$	Yao <i>et al.</i> (1994)
Chili (var. Byedige) 360 μm	40 MPa/40 °C	0,49 kg CO ₂ · h ⁻¹	$\eta_T = 12,6$ 96% capsaic. 80% color	Perva-Uzunalic <i>et al.</i> (2004)
<i>C. frutescens</i>	$\rho_{\text{CO}_2} = 800 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ / 55°C 15 min (estático + dinámico)	1 mL · min ⁻¹	$\eta_T = \text{ND}$ $\eta_{\text{capsaicinT}} = 0,076$	Peusch <i>et al.</i> (1997)
<i>C. frutescens</i> 230 μm	20–22 MPa/ 40 °C, 10 min	0.06–0.07 cm s ⁻¹	$\eta_T = 5.2$ $\eta_{\text{capsaicinT}} = 0.25$ $\eta_{\text{tocofT}} = 0.9$	Duarte <i>et al.</i> (2004)

La P y la T afectan a la solubilidad de la ORP en CO₂, aunque ello también depende de la materia prima. En general, la temperatura de 40 °C presenta una mayor selectividad en la extracción con CO₂ (Jarén-Galán *et al.*, 1999). Aunque la mayoría de los autores recomiendan 40 °C en vez de 55 °C (Tablas 1 y 2), Daood *et al.* (2002) obtuvieron un máximo de rendimiento de extracción (~11,5%) a 40 MPa y 55 °C.

Una mínima densidad del CO₂ es necesaria para extraer ORP picante (entre 600-1000 kg · m⁻³) (Daood *et al.*, 2002). Una mayor densidad también aumenta la economía de la ESCO₂ con independencia de la temperatura utilizada, porque al igual que con un aumento de P, aumenta la solubilidad del aceite en CO₂ (Daood *et al.*, 2002).

Para extracción total de carotenoides, Govindarajan (1986) ya citaban diferentes combinaciones T-P en ESCO₂ tanto con pimentón dulce como picante, existiendo discrepancias entre autores según la materia prima de partida y otras condiciones de proceso como la densidad y flujo de CO₂, condiciones dinámicas o estáticas, masa de materia prima de partida, ratio disolvente/materia prima, etc. (Tablas 1 y 2). Krukoniš *et al.* (1994) recomendaron 50°C y 10,3-34,5 MPa. Gnayfeed *et al.* (2001) concluyeron que la extracción de carotenoides y ácidos grasos depende en buena medida de la P utilizada. A P=40 MPa se logran extraer sólo el 56% de los pigmentos iniciales de la muestra, debido probablemente a degradación de los mismos al aumentar la P y la T. Por otra parte Daood *et al.* (2002) han descrito máximo rendimiento de extracción utilizando 40 MPa. Ehlers *et al.* (2006) considera como estándar de ESCO₂ para pimentón 50 °C y 30 MPa.

La P y T influye notablemente sobre los rendimientos de extracción. Jarén-Galán *et al.* (1999) triplicaron la extracción de carotenoides presentes en la ORP aumentando la presión de 13,9 a 41,34 MPa, mientras que Daood *et al.* (2005) incluso quintuplicaron esta proporción entre 10 y 40 MPa.

Daood *et al.* (2002) demostraron para ORP picante que para una misma temperatura y comparando presiones de 20, 30 y 40 MPa, a las P más altas se reducía la razón disolvente CO₂/materia prima (p/p) necesario para obtener un determinado rendimiento. Además, y especialmente a partir de una P de 30 MPa, la solubilidad de la ORP en CO₂ aumenta con el aumento de la T de extracción (Daood *et al.*, 2002), debido a las mejoras en las propiedades de transferencia de materia y la desorción de soluto de la matriz (Del Valle *et al.*, 2003 b).

Duarte *et al.* (2004) recomiendan para 10 min de extracción de ORP de *C. frutescens* L. 20-22 MPa a 40 °C y CO₂ de densidad de 844 kg · m⁻³ (rendimiento total del 90%), con un consumo de 90 g CO₂ · g⁻¹ pimiento molido (Tabla 2). Estos autores modelizaron el rendimiento en extracción de ORP y capsaicinoides mediante superficies de respuesta según P y velocidad superficial, concluyendo que el

óptimo de P es de 18,6 MPa cuando el tiempo de extracción aumentaba hasta 50 min.

Del Valle *et al.* (2003 b) han resumido los consumos medios de CO₂ por unidad de peso de pimentón para unas condiciones recomendadas de ESCO₂ como sigue: 130 kg · kg⁻¹ para aromas a 12 MPa y 40 °C, 50 kg · kg⁻¹ para la extracción por fraccionamiento de los pigmentos restantes a 32 MPa y 40 °C, 7 kg · kg⁻¹ para la extracción total a 40 MPa y 35 °C, y 5 kg · kg⁻¹ para la extracción total a 40 MPa y 55 °C.

2.3. ESCO₂ por pasos para fraccionar componentes

El fraccionamiento en ESCO₂ requiere diferentes etapas de extracción con un aumento de P hasta niveles constantes según el componente de interés. Skerget y Knez (1997) obtuvieron mejores calidades de ORP con ESCO₂ a 40 °C en dos pasos, extrayendo primero los componentes aromáticos a 9 MPa (extracto amarillo-naranja y pungente). Luego extraían los carotenoides rojos a 40 MPa, obteniendo un extracto de 80.000 a 190.000 unidades de color. En este trabajo y otro (Skerget *et al.*, 1998) concluyen que a 9 MPa la separación de β-caroteno y capsaicinoides es mayor que a presiones superiores, y que utilizando mayores presiones disminuye la selectividad del CO₂, aumentando el rendimiento de la extracción.

Skerget *et al.* (1998) fijaron 15 MPa como P óptima a 40 °C para extraer los aromas volátiles mediante ESCO₂, con una ORP de 180.000 unidades de color (Tabla 1). En base a estos resultados y otros, Jarén Galán *et al.* (1999) triplicaron la extracción de carotenoides presentes en la ORP a 40 °C, con una ESCO₂ a presión de 13,87 y en una segunda etapa a 41,34 MPa. A bajas presiones se aísla exclusivamente β-caroteno, mientras que las presiones mayores contienen mayores proporciones de capsorrubeno y capsanteno, zeaxanteno y ?-criptoxanteno, y poco β-caroteno (Jarén-Galán *et al.*, 1999; Skerget *et al.*, 1998).

En una experiencia posterior Skerget y Knez (2001) modelizaron este proceso de extracción a partir de datos de Skerget *et al.* (1998), suponiendo una desorción de ciertos componentes en el supuesto de llegar al equilibrio, tanto a partir de pimentón como de pimienta a 40 °C y 150 ó 40 MPa, respectivamente (Tabla 1).

2.4. Extracción fraccionada de carotenoides y capsaicinoides

Las presiones óptimas de ESCO₂ para tocoferoles o capsaicinoides a 55 °C (30 y 20 MPa, respectivamente) son diferentes a las óptimas para los carotenoides (Daood *et al.*, 2002), por lo que una eficiente extracción requiere de al menos dos etapas. Con ESCO₂ se obtienen mejores rendimientos que con propano subcrítico para capsaicinoides y similares para tocoferoles (Daood *et al.*, 2002).

Perva-Uzunalic *et al.* (2004) obtuvieron con 40 MPa y 40 °C en la ESCO₂ (957 Kg · m⁻³ de densidad) la extracción del 96% de capsaicinoides y el 80% del color del chile (15.000 unidades de color). Para ello invirtieron un tiempo para etapa simple de 6 h, con una descompresión a 0,1 MPa y 25 °C. Los valores de los coeficientes de transferencia de materia ($2 \cdot 10^7$ a $11 \cdot 10^7$ m s⁻¹ en el rango de presión de 10 a 40 MPa y de temperatura de 40 a 80 °C), son linealmente dependientes de la densidad del CO₂ en el rango de la ESCO₂ (Perva-Uzunalic *et al.*, 2004).

2.5. Utilización de cosolventes

Los cosolventes aumentan el rendimiento y acortan el tiempo de operación, pero pueden dejar residuos o dificultar la recuperación de la ORP (Subirats *et al.*, 1994). Como cosolventes para aumentar el rendimiento en pigmentos se han utilizado 1% de etanol o acetona (Jarén-Galán *et al.*, 1999), aunque otros autores hayan utilizado 5-10% en otros sistemas (Krukonis, 1988).

Para extraer capsaicinoides, la utilización de cosolventes tiene un límite y es más importante para el pimentón dulce que para el picante. Por ejemplo, si se añade como cosolvente un volumen de agua a la muestra superior al requerido la eficiencia de la ESCO₂ de capsaicinoides empeora (Peusch *et al.*, 1997).

Los carotenoides o aceites esenciales podrían actual también como modificadores internos de la ESCO₂ de los capsaicinoides, pues Peusch *et al.* (1997) han descrito alrededor de un 20% de rendimiento menos al extraer capsaicinas exógenas previamente añadidas a la arena de mar que cuando se extrajeron de pimentón de *C. frutescens*.

En siguientes apartados se muestran algunos ejemplos de utilización de cosolventes.

2.6. Rendimiento del proceso de ESCO₂

El rendimiento total del proceso es variable (5,2 a 17,4% de ORP), y no solamente con la P y la T según vimos anteriormente, sino también varía según la especie y cultivares de *Capsicum*, regiones e incluso estaciones (Tablas 1 y 2; Govindarajan, 1986). La disparidad en cuanto a rendimientos obtenidos se debe en parte al material vegetal a veces fresco o a veces deshidratado utilizado, y a las diferencias en equipos utilizada (casi todos a escala piloto y en varios casos donados por empresas). Tampoco es habitual encontrar datos sobre la precisión de las medidas de P, T o de la velocidad superficial del CO₂ como los facilitados por Duarte *et al.* (2004). Si existe información de datos para diseño de instalaciones de ESCO₂ (Meireles, 2003; Skerget y Knez, 2001), así como para otras especias, sobre cálculo y optimización de costos basándose en rendimiento total y de cada una de sus fracciones (Rosa y Meireles, 2005).

En el caso de pimiento picante, Illés *et al.* (1999) obtuvieron un rendimiento con ESCO₂ del 11,5% y recuperaron un 75% de carotenoides (frente al 13,7% utilizando las condiciones recomendadas en la Tabla 1b). También extrajeron tocoferoles (100% de extracción equivalente a 331 µg · g⁻¹ de ORP de α-tocoferol, 10 de β-tocoferol y 30 de γ-tocoferol a 55 °C y 40 MPa). En el caso de pimiento húngaro se recuperaron el 94-96% de capsaicinoides, 95-98% de β-caroteno y 93-95% de α-tocoferol (Gnayfeed *et al.*, 2001; Tabla 1). Curiosamente, a 35 °C y 20 MPa se extraía el doble de β-tocoferol (20 µg · g⁻¹ ORP) respecto a las condiciones anteriores.

Catchpole *et al.* (2003) utilizaron ESCO₂ a 40 MPa y 40 °C para extractos de pimiento picante pretriturado. Se obtuvo un rendimiento del 13,1%, un 2,9% más bajo que con acetona. También describieron el ratio disolvente/materia prima del ESCO₂ y las curvas de rendimiento de extracción según la cantidad de disolvente utilizado.

La aplicación de ultrasonidos también podría mejorar la eficiencia de la EFSCO₂, aunque la patente de Riera *et al.* (2004) hasta lo que conocemos, no se ha aplicado todavía para mejorar la extracción de componentes u ORP de pimentón.

2.7. Extracción convencional con disolventes versus ESCO₂

Vesper y Nitz (1997a) compararon la ESCO₂ a 35 MPa y 50°C durante 3 h con la extracción con hexano, a razón de 2 kg pimentón por 5 L hexano. En esta última extracción se obtuvo un rendimiento de 88% ácidos grasos, 74% carotenoides esterificados (de los 234 mg · g⁻¹ materia seca de carotenoides totales), y 0,6% agua. En valores absolutos comparando el extracto de hexano frente al de ESCO₂ encontraron un 6% menos de carotenoides esterificados (con mayor proporción de zeaxanteno que en hexano) un 28% más de ácidos grasos y un 13,4% más de agua y un porcentaje no determinado de ceras.

La mayor variabilidad de la composición de los pigmentos en ESCO₂ respecto al hexano puede estar relacionada, además del mayor contenido en agua, con la influencia de ácidos grasos que esterifican pigmentos o de acil glicerol (Vesper y Nitz, 1997a). Estos autores obtuvieron también peor rendimiento de tocoferoles con hexano frente ESCO₂ (7 versus 9 mg · g⁻¹ materia seca de tocoferoles, respectivamente). Además, la estabilidad de los ácidos grasos al conservar la ORP a 40 °C es menor que la obtenida extrayendo con hexano, aunque la proporción de ácidos grasos poliinsaturados y tocoferoles en la ESCO₂ es mayor (Vesper y Nitz 1997b).

Daood *et al.* (2002), Gnayfeed *et al.* (2001) e Illés *et al.* (1999) utilizaron propano subcrítico (99,95% pureza), y las mejores condiciones (5 MPa y 25 °C), y obtuvieron diez veces más de poder solvente que la ESCO₂. Con pimentón húngaro los ratios para extracción completa disolvente/materia prima y rendimiento son 1:1 y 8,8% p/p para propano y 1:6 y

7,2% p/p para ESCO₂ (Illés *et al.*, 1999). Con ESCO₂ se obtuvieron mejores rendimientos que con propano subcrítico para capsaicinoides y similares para tocoferoles (Daood *et al.*, 2002).

Los ratios de disolvente/materia prima para extracción completa de ORP picante han de ser 1:1,2 para propano subcrítico, frente a 1:1,25 para ESCO₂ de 99,5% pureza (Daood *et al.*, 2002). En el caso de pimiento dulce, estos ratios con propano son 1:1,5, y el rendimiento de extracción con propano a 25 °C y 5 MPa (8,1%) fue similar al de ESCO₂ (Gnayfeed *et al.*, 2001).

2.8. Extracción de β-caroteno

La composición de las ORP en β-caroteno oscila entre 1 y un 3% (Jarén-Galán *et al.*, 1999). La ESCO₂ combinada con acetales ha sido utilizada para extraer β-caroteno de pimentón, con un flujo de 1,5 mL · min⁻¹ durante 10 min en la cámara de extracción a 40 °C y 33,8 MPa, más los acetales. Estos actúan como modificadores reaccionando con el agua del sistema para originar alcohol y acetona (Weathers *et al.*, 1999). Utilizando como cosolvente 2,2-dimetoxipropano al 1,92% v/p se aumentó la eficiencia de extracción de β-caroteno de pimentón seco en 1,5 (2,5 de aumento en el caso de humidificar con agua al 0,38% v/p). Añadiendo ácido acético glacial al 20% de la equivalencia estequiométrica aumentó el rendimiento de extracción total, pero decreció la de β-caroteno (Weathers *et al.*, 1999).

Otro procedimiento para extraer β-caroteno ha sido el combinar la ESCO₂ (30 °C y 60 MPa, 10 kg CO₂ · h⁻¹ y ratio CO₂/pimentón de 80:1, con 2 min de tiempo residencia en el extractor), con adsorción mediante silica-gel (Ambrogi *et al.*, 2003). Mediante este procedimiento se fraccionan los carotenoides rojos esterificados (por adsorción, especialmente los diesterificados) de los amarillos (especialmente monoésteres y libres, que se recuperan al reducir la presión del fluido supercrítico posteriormente). Con menores ratios CO₂/pimentón de 30:1 y adsorción selectiva es posible obtener una fracción de la cual el ~56% de pigmentos son β-caroteno y está exenta de capsanteno, aunque si tiene ~8% de β-criptoxanteno. Sin embargo, se requiere aumentar la eficiencia del proceso probando otros absorbentes compatibles con los disolventes orgánicos (celulosa, ciclodextrinas).

2.9. Extracción de pigmentos clorofílicos

La ESCO₂ también puede ser utilizada para extraer pigmentos clorofílicos (Del Valle *et al.*, 2003 a, b; Uquiche *et al.*, 2005). También puede disminuirse la solubilidad de estos pigmentos a 45 °C y 36 MPa con un aumento de humedad de los pelets. Además, esta solubilidad depende más de la P (con un aumento de absorbancia del 82% desde 22 a 50 MPa) que de la T (con un aumento máximo del 29% de 35 a 45-65 °C).

2.10. Extracción de capsaicinoides

Los capsaicinoides están destinados fundamentalmente a la industria farmacéutica y se separan de los pigmentos mediante partición entre disolventes hidrocarbonados y etanol o metanol (Peusch *et al.*, 1997). Para el diseño de ESCO₂ de pimiento picante un dato importante es que la solubilidad de la capsaicina en CO₂ disminuye en presencia de β-caroteno, pero que la solubilidad del β-caroteno en CO₂ no cambia en presencia de capsaicina (Skerget y Knez, 1997). Las condiciones más habituales utilizadas para extraer capsaicinoides con ESCO₂ (Tablas 1 y 2) han sido 40-45 °C y 40-45 MPa, aunque la temperatura de 55 °C a 40 MPa también ha dado relativamente buenos resultados (Tabla 2), especialmente en pimentón de bajo contenido en picante.

Como ejemplo de resultados recientes con estas condiciones, Catchpole *et al.* (2003) obtuvieron un 1,9% de capsaicinoides mediante ESCO₂ (40 °C y 40 MPa) un resultado similar al mejor resultado con acetona o dimetil éter. Para *Capsicum annuum* L. pungente (Tabla 1), la eficiencia en la extracción de capsaicinoides fue alta a 40 MPa y 55 °C (93% de la presente en la muestra), al igual que para tocoferoles (93 y 47% de α y γ-tocoferol, respectivamente), pero sólo se extrajo un 11% de los carotenoides totales (Gnayfeed *et al.*, 2001). Del Valle *et al.* (2003 b), utilizando las condiciones de la Tabla 2, obtuvieron una ORP con bajo contenido en capsaicinoides. Uquiche *et al.* (2005) a 40 °C y 32 MPa con 40-60 kg CO₂/kg sustrato a velocidad de CO₂ de 1,1 m · s⁻¹, obtuvieron también el mismo rendimiento de capsaicinoides (0,012%, Tabla 2).

Los rendimientos de la extracción de capsaicinoides mediante ESCO₂ oscilan según materia prima entre 0,07 – 8,6% de capsaicinoides respecto a la materia prima total de partida (Tabla 1), y son mejorables utilizando cosolventes. Por ejemplo, Yasumoto *et al.* (1994) lograron recuperar el 94% de la capsaicina añadiendo 1,2% de ácido acético como cosolvente o “entrainer” a 20 °C y 9,8 MPa. Este resultado fue ligeramente mejor que utilizando 1.2% etanol, y un 28-29% mejor que sin cosolventes, aunque se obtendría un 92% de recuperación si se doblase la cantidad de CO₂ en la extracción. Unos resultados similares de porcentaje de recuperación han sido encontrados por Vesper y Nitz (1997a), pero con valores absolutos próximos a 0,07%.

La eficiencia en la ESCO₂ de capsaicinoides depende de la concentración de los mismos en la materia prima de partida. En el rango de contenido en capsaicinoides de 10 a 1400 µg · g⁻¹ muestra se ha recomendado ESCO₂ a 80 °C, densidad del CO₂ de 750 kg · m⁻³ y agua como modificador o cosolvente (Peusch *et al.*, 1997). Esta se añade directamente a la muestra (20 µL agua añadida a 250 y 70 g de pimentón dulce de *C. annuum* y polvo de *C. frutescens*, respectivamente), aumentando el rendimiento del 91% sin agua hasta el 100% con agua como cosolvente. Con la adición de otros cosolven-

tes en vez de agua (metanol o acético) se obtienen peores resultados.

Para extraer cantidades entre bajas e intermedias (0,091-0,126%) de capsaicinoides de *C. frutescens* mediante ESCO₂, Duarte *et al.* (2004) y Gouveia *et al.* (2006) recomendaron 10 min a 40 °C y bajas velocidades, presiones y rendimientos de extracción (2,76 cm · min⁻¹, 16,2 MPa y menos de 1.9% rendimiento).

La ESCO₂ se ha comparado también con la extracción convencional, con resultados no siempre consistentes. En la ESCO₂ del pimiento cv. Scotch Bonnet (Tabla 2), la variedad más rica en capsaicinoides, se obtienen 3,2 y 0,58% de capsaicina y dihidrocapsaicina, un rendimiento 6,5 veces mayor que con una mezcla cloroformo/hexano (Yao *et al.*, 1994). Este resultado no pudo ser confirmado por Peusch *et al.* (1997), que ensayaron diferentes disolventes (30 mL, otras condiciones no definidas) en reflujo durante 5 h para 1 ó 70 g de pimentón o polvo de pimiento picante, respectivamente. Se obtuvo un rendimiento con ESCO₂ de 11 µg · g⁻¹, similar (±10%) al obtenido mediante otros disolventes y un 38% mayor que con hexano.

Gnayfeed *et al.* (2001) concluyeron que, dadas las dificultades para extraer xantofilas rojas (particularmente diésteres de capsanteno) con CO₂, podría combinarse la ESCO₂ y propano subcrítico. De esta manera sería posible obtener ORP de diferente intensidad de color, pungencia y contenido en antioxidantes.

Para la ESCO₂ de capsaicinoides puede combinarse la extracción dinámica con la estática, Peusch *et al.* (1997) mezclaron un peso similar de arena de mar y de pimentón de *C. annuum* ó de polvo de *C. frutescens*, utilizando un tiempo de extracción en condiciones estáticas seguido de otro en condiciones dinámicas. Tras la optimización del proceso de extracción, se comprobó que el tiempo del proceso en condiciones dinámicas influyó más que el de las estáticas en el rendimiento de extracción de los capsaicinoides, aunque al final se fijó como óptimo 15 minutos para cada uno de estas condiciones (Tabla 2). La temperatura y la densidad del CO₂ también han sido optimizados por Peusch *et al.* (1997) (Tabla 2).

3. PELIGROS Y PUNTOS DE CONTROL CRÍTICOS DE LA ESCO₂

En un trabajo anterior revisamos algunos peligros y puntos de control críticos básicos en la extracción de la ORP (Fernández-Trujillo, 2007a), también aplicables aquí. Sin embargo, el CO₂ es fácil de eliminar de la matriz sólida y de recuperar para su reutilización, no siendo tóxico ni peligroso, ni presentando peligro de incendio, aunque la alta presión de trabajo tiene un evidente riesgo y ha de cumplirse la legislación de recipientes a alta presión (RD 1244/1979 y anejos de instrucciones técnicas complementarias ITC-MIE-AP7, ITC-MIE-AP9 e ITC-MIE-AP10; Directiva 97/23/CE; RD 769/1999).

Uquiche *et al.* (2004 y 2005) demostraron microestructuralmente que la homogeneidad de distribución del soluto tras un pretratamiento del pimientón consistente en una molienda fina, un peletizado a alta presión, y una reducción del tamaño de partícula originaban mayor homogeneidad y por tanto mejores resultados con la ESCO₂.

Un riesgo evidente en algunos procesos de extracción puede ser la oxidación de algunos componentes (especialmente ácidos grasos insaturados, terpenos o carotenoides).

Otro punto crítico en la ESCO₂ puede ser la reproducibilidad de resultados de planta piloto o en su pase a escala industrial. Del Valle *et al.* (2003 b), mostraron que la reproducibilidad fue menor con pelets acondicionados a humedad alta o molidos muy finamente, o utilizando una presión muy alta (43 MPa).

Por último, la inversión en tecnología ESCO₂ es mayor que la requiere la extracción convencional. Por tanto se ha de realizar un análisis de coste y beneficio si se quiere implementar. Esta tecnología puede resultar competitiva frente a la extracción convencional para elaborar productos de alto valor añadido que requieran estar libres de residuos de disolventes y cuya extracción tenga unos costes de operación altos (incluyendo los ambientales) frente a la ESCO₂, como por ejemplo nutraceuticos, farmaceuticos, dietéticos, etc. (Perrut, 2004).

4. APLICACIONES DE LAS FRACCIONES OBTENIDAS DE LA ESCO₂ Y DE ESTA TECNOLOGÍA

4.1. Extractos hidrosolubles

Tetsuo e Isao (1987) describieron una metodología utilizada para emulsionar ORP tras su ESCO₂ y a un tamaño de partícula reducido. Consiste en inyectar una mezcla del extracto y el agente emulgente sin reducir la presión tras la ESCO₂ a través de una boquilla pulverizadora de tamaño de poro pequeño. Al pasar la mezcla a través de esta boquilla la presión del fluido supercrítico en estado líquido, se reduce con relación a la presión del tanque de extracción o de separación, y por tanto el gas se evapora, y puede volver a reciclar.

4.2. Aditivos para la ORP y utilización de la misma como aditivo

Al utilizar capsaicina de ESCO₂ como aditivo, los consumidores prefirieron un aceite de oliva con la mitad de capsaicinoides que la concentración comercial -0,0006% frente a 0,0011% p/p - (Duarte *et al.*, 2004). Al añadir al aceite estas fracciones optimizadas en capsaicinoides (que suponen añadir 0,5% p/p de extracto) para producir aceite de oliva extra-virgen aromatizado, el color no se ve afectado y su estabilidad oxidativa a 20-22 °C y bajo luz difusa se halla dentro de los márgenes legales (Gou-

veia *et al.*, 2006). Curiosamente, los extractos producidos a presiones más altas (hasta 23 MPa) presentaron una ligera actividad prooxidante.

4.3. Eliminación de microorganismos y compuestos contaminantes de la ORP

La ESCO₂ se ha propuesto como tecnología para prácticamente eliminar la contaminación microbiana (Díaz-Reinoso *et al.*, 2006). La ESCO₂ puede reducir el contenido en aflatoxinas de la ORP respecto al contenido del pimentón inicial. Ehlers *et al.* (2006) han comprobado que tras la ESCO₂ de pimentón a 30 MPa y 50 °C, un 60% de aflatoxina B₁ y un 70% de aflatoxinas B₂ (ambas del pimentón original) quedaban en el residuo tras la extracción, y menos del 0,5 y 1%, respectivamente, en la fase acuosa.

4.4. Extractos aromatizantes y colorantes

Además de los ejemplos anteriores de los extractos ligeros de ESCO₂ como aromatizante (Gouveia *et al.*, 2006), las fracciones pesadas de concentrado rojo de capsanteno de la ORP son colorantes con valores de 7200 ASTA frente a los 1000-2000 ASTA comerciales.

4.5. Patentes del proceso de ESCO₂ y extractos desodorizados

Coenen *et al.* (1983) recomendaron una T>70 °C y P=35 MPa, separando el extracto mediante disminución de la densidad de la fase gaseosa. Osamu e Itaru (1990) y Tadanori *et al.* (1988) obtuvieron ORP desodorizada utilizando 35-40 °C y 19,6-24,5 MPa, y ratio en peso CO₂/ORP de 50:80. Este extracto se puede rectificar en un extractor de múltiples etapas hasta obtener una concentración cuatro veces superior de color (40.000 unidades de color o más).

4.6. Procesos y usos potenciales

Weller y Breithaupt (2003) señalan la falta de ORP ricas en zeaxantenos en el mercado, que pueden conseguirse mediante ESCO₂ por su selectividad. Ambos compuestos se ha sugerido que pueden disminuir el riesgo de degeneración macular asociado al envejecimiento.

Perrut (2004) señala la posibilidad de utilizar en general la ESCO₂ para extraer ingredientes alimentarios imposibles de obtener mediante extracción convencional del pimentón. También apunta la potencialidad de uso del ESCO₂ para obtener principios activos de interés para nutracéutica, farmacia, cosmética, e incluso aromas y fragancias. Los menores costos de operación de la planta compensan su alto valor añadido y la inversión inicial necesaria.

AGRADECIMIENTOS

A Colciencias (Colombia) por el proyecto sobre ají amazónico 242/2001 en el que el autor participó como colaborador. A Venancio Hidalgo (Ingrenat S.A.) por sus comentarios y sugerencias.

BIBLIOGRAFÍA

- Ambrogio A., Cardarelli D.A. and Eggers R. 2003. Separation of natural colorants using a combined high pressure extraction-adsorption process. *Latin Amer. Appl. Res.*, **33**, 323-326.
- Catchpole OJ, Grez JB, Perry NB, Burgess EJ, Redmond WA and Porter NG. 2003. Extraction of chilli, black pepper, and ginger with near-critical CO₂, propane, and di-methyl ether: analysis of the extracts by quantitative nuclear magnetic resonance. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 4853-4860.
- Coenen H. and Hagen R. 1983. Natürlicher farbstoff sus paprika durch gasextraktion. *Gordian* (Hamburg), **83**,164-170.
- Coenen H, Hagen R. and Knuth M. 1983. Method for obtaining aromatics and dyestuffs from bell peppers. E.E.U.U. Pat. 4400398 (23.08.1983).
- Daood HG, Ille's V, Gnayfeed MH, Mészáros B, Horváth G. and Biacs PA. 2002. Extraction of pungent spice paprika by supercritical carbon dioxide and subcritical propane. *J. Superc. Fluids*, **23**,143-152.
- Del Valle JM. y Aguilera JM. 1999. Revisión: Extracción con CO₂ a alta presión. Fundamentos y aplicaciones en la industria de alimentos. *Food Sci. Tech. Intl.*, **5**, 1-24.
- Del Valle JM., de la Fuente JC. and Cardarelli DA. 2005. Contributions to supercritical extraction of vegetable substrates in Latin America. *J. Food Engin.*, **67**, 35-57.
- Del Valle JM, Jiménez M. and de la Fuente JC. 2003 a. Extraction kinetics of pre-pelletized Jalapeño peppers with supercritical CO₂. *J Superc. Fluids*, **25**, 33-44.
- Del Valle JM., Jiménez M, Napolitano P, Zetzl C. and Brunner G. 2003 b. Supercritical carbon dioxide extraction of pelletized peppers. *J. Sci. Food Agric.*, **83**, 550-556.
- Díaz-Reinoso B., Moure A, Domínguez H. and Parajo JC. 2006. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 2441-2469.
- Directiva 97/23/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de mayo de 1997 relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre equipos a presión. *Diario Oficial CE*, **L 181**, (09.07.1997), 0001-0055.
- Duart, C. Moldão-Martins M, Gouveia AF, Beirão da Costa S, Leitão AE. and Bernardo-Gil, M.G. 2004. Supercritical fluid extraction of red pepper (*Capsicum frutescens* L.). *J. Superc. Fluids*, **30**, 155-161
- Ehlers D, Czech E, Quirin KW. and Weber R. 2006. Distribution of aflatoxins between extract and extraction residue of paprika using supercritical carbon dioxide. *Phytochem. Anal.*, **17**, 114-120.
- Fernández-Trujillo JP. 2007a. Extracción convencional de oleorresina de pimentón dulce y picante I. Generalidades, composición, proceso e innovaciones y aplicaciones. *Grasas y Aceites*, **58**, 252-263.
- Fernández-Trujillo JP. 2007b. Extracción convencional de oleorresina de pimentón dulce y picante II. Puntos críticos y requerimientos comerciales. *Grasas y Aceites*, **58**, 327-333.

- Fernández-Trujillo JP. y Escarabajal D. 2006. El proceso tradicional de elaboración del pimentón de Murcia y sus posibles innovaciones. *Grasas y Aceites*, **57**, 433-442.
- Gnayfeed MH, Daood HG, Ille's V. and Biacs PA. 2001. Supercritical CO₂ and subcritical propane extraction of paprika and quantification of carotenoids, tocopherols, and capsaicinoids. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 2761-2766.
- Gouveia CD, Beirao da Costa ML, Bernardo MG. and Moldao M. 2006. Oxidative stability of olive oil flavoured by *Capsicum frutescens* supercritical fluid extracts. *Europ. J. Lipid. Sci. Technol.*, **108**, 421-428.
- Govindarajan VS. 1986. Capsicum production. Technology. Chemistry and Quality II: Processed products. Standard. World production and trade. *CRC Rev. Food Sci. Nutr.* **23**, 207-288.
- Illés V, Daood HD, Biacs PA, Gnayfeed MH. and Meszaros B. 1999. Supercritical CO₂ and subcritical propane extraction of spice red pepper oil with special regard to carotenoid and tocopherol content. *J Chromat. Sci.*, **37**, 345-352.
- Jarén-Galán M, Nienaber U. and Schwartz SJ. 1999. Paprika (*Capsicum annuum*) oleoresin extraction with supercritical carbon dioxide. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 3558-3564.
- Krukonis VJ. 1988. Processing with supercritical fluids. Overview and applications en B.A. Charpentier y Sevenants, M.R. (Eds.) *Supercritical Fluid Extraction and chromatography. Techniques and Applications*. ACS Symp. Ser. **366**, 26-43. Ed. Am. Chem. Soc., Washington DC., E.E.U.U.
- Krukonis V, Brunner G. and Perrut M. 1994. Industrial operations with supercritical fluids: current processes and perspectives on the future en *III Intern. Symp. Superc. fluids* (17-19.10.1994), Vandoeuvre-les-Nancy (Meurthe-et-Moselle). Estrasburgo, Francia.
- Meireles MAA. 2003. Supercritical extraction from solid: process design data (2001-2003). *Curr. Op. Solid State Mater. Sci.* **7**, 321-330.
- Mukhopadhyay M. 2000. Natural extracts using supercritical carbon dioxide. CRC Press, Nueva York, E.E.U.U.
- Osamu I. e Itaru T. 1990. Production of stable deodorized paprika pigment. Hasegawa Co. Ltd. JP02038464. Feb.
- Perva-Uzunalic A, Skerget M, Weinreich B. and Knez Z. 2004. Extraction of chilli pepper (var. Byedige) with supercritical CO₂: Effect of pressure and temperature on capsaicinoid and colour extraction efficiency. *Food Chem.*, **87**, 51-58.
- Perrut M. 2004. Supercritical fluid extraction/fractionation: Industrial development and economical issues. *State of the art book on supercritical fluids*, **12**, 171-178. Ed. AINIA, Valencia, España.
- Peusch M, Muller-Seitz E, Petz M, Muller A and Anklam E. 1997. Extraction of capsaicinoids from chillies (*Capsicum frutescens* L) and paprika (*Capsicum annuum* L) using supercritical fluids and organic solvents. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A*, **204**, 351-355.
- RD 1244/1979, de 4 de Abril de 1979, por el que se aprueba el Reglamento de aparatos a presión. *BOE*, **128**, (29.05.79), 11839-11844. <http://www.mtas.es/insht/legislation/RD/rap.htm>
- RD 769/1999, de 7 de mayo de 1999, dicta las disposiciones de aplicación de la Directiva del Parlamento Europeo y del Consejo, 97/23/CE, relativa a los equipos de presión y modifica el RD 1244/1979, de 4 de Abril de 1979, que aprobó el Reglamento de aparatos a presión. *BOE*, **129**, (31.05.99).
- Riera E, Gallego JA, Montoya F, Blanco A, Mulet A, Benedetto JJ, Peña R, Golas Y. and Berna A. 2005. Separation or extraction method using supercritical fluids assisted by high-intensity ultrasound. CSIC, Universidad Politécnica de Valencia e INIA (España). Pat. EP1547679. (29.06.2005).
- Rosa PTV. and Meireles MAA. 2005. Rapid estimation of the manufacturing cost of extracts obtained by supercritical fluid extraction. *J. Food. Engin.*, **67**, 235-240.
- Rozzi NL. and Singh RK. 2005. Supercritical fluids and the food industry. *Comprehensive Rev. Food Sci. Technol.*, **1**, 33-44.
- Skerget M. and Knez Z. 1997. Solubility of binary solid mixture α -carotene-capsaicin in dense CO₂. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 2066-2069.
- Skerget M. and Knez Z. 2001. Modeling high pressure extraction process. *Comp. Chem. Engin.*, **25**, 879-886.
- Skerget M, Knez Z, Novak Z. and Barman D. 1998. Separation of paprika components using dense CO₂. *Acta Alimentaria*, **27**, 149-160.
- Tadanori A, Isao Y, Tetsuya M. and Ito H. 1988. Method of concentrating natural pigment. Pat. JP63112659. (17.05.1988).
- Tetsuo Y. and Isao Y. 1987. Emulsification of supercritical gas extracted and purified substance. Pat. JP62244436. (24.10.1987).
- Uquiche E, Del Valle JM. and Ihl M. 2005. Microstructure-extractability relationships in the extraction of prepeletized Jalapeño peppers with supercritical carbon dioxide. *J. Food Sci.*, **70**, E379-E386.
- Uquiche E, Del Valle JM. and Ortiz M. 2004. Supercritical carbon dioxide extraction of red pepper (*Capsicum annuum* L.) oleoresin. *J. Food Engin.*, **65**, 55-66.
- Vesper H and Nitz S. 1997a. Composition of extracts from paprika (*Capsicum annuum* L.) obtained by conventional and supercritical fluid extraction. *Adv. Food Sci.*, **19**, 172-177.
- Vesper H. and Nitz S. 1997b. Changes of SFE and hexane extracts from paprika (*Capsicum annuum* L.) during storage. *Adv. Food Sci*, **19**, 178-183.
- Weathers RM, Beckholt DA, Lavella, AL. and Danielson ND. 1999. Comparison of acetals as in situ modifiers for the supercritical fluid extraction of β -carotene from paprika with carbon dioxide. *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.*, **22**, 241-252.
- Weller P. and Breithaupt DE. 2003. Identification and quantification of zeaxanthin esters in plants using liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 7044-7049.
- Yao J, Nair MG. and Chandra A. 1994. Supercritical carbon dioxide extraction of Scotch Bonnet (*Capsicum annuum*) and quantification of capsaicin and dihydrocapsaicin. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1303-1305.
- Yasumoto M, Inakuma T, Okaaki T. and Kobayashi T. 1994. Extraction of capsaicin from red pepper with liquid carbon dioxide. *J. Jap. Soc. Food Sci. Technol.* **41**, 565-567.

Recibido: 25/10/06
Aceptado: 03/04/07