

Caracterización del aceite de semilla de uva extraído con dióxido de carbono supercrítico

Por A. Molero Gómez*, C. Pereyra López y E. Martínez de la Ossa

Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Cádiz.

Apartado 40. E-11510. Puerto Real (Cádiz). SPAIN.

RESUMEN

Caracterización del aceite de semilla de uva extraído con dióxido de carbono supercrítico.

En este trabajo se realiza un estudio de la calidad del aceite de semillas de uva obtenido por extracción con dióxido de carbono supercrítico. En las condiciones operativas óptimas del proceso (313 K y 25 MPa) el rendimiento de la extracción supercrítica es similar al de la extracción con disolventes líquidos, pero la calidad del aceite es muy superior.

En consecuencia, el proceso supercrítico resulta competitivo con el convencional al reducir las etapas de refinado del aceite y eliminar la destilación del disolvente, las más costosas desde el punto de vista energético.

PALABRAS-CLAVE: Aceite de semilla de uva — Acido graso — Dióxido de carbono supercrítico — Extracción supercrítica.

SUMMARY

Characterization of grape seed oil extracted by supercritical carbon dioxide.

In this work the quality of grape seed oil obtained by extraction with supercritical carbon dioxide was studied. At the optimum operating conditions (313 K and 25 MPa), the yield of supercritical extraction is similar to the conventional extraction by liquid solvent, but the quality of the grape seed oil extracted by supercritical carbon dioxide is higher.

Furthermore, supercritical extraction could be more economical than liquid extraction because the solvent removal by distillation is not necessary and several steps of the subsequent oil refining process can be eliminated.

KEY-WORDS: Fatty acid — Grape seed oil — Supercritical carbon dioxide — Supercritical extraction.

1. INTRODUCCION

La Extracción Supercrítica (ESC) es una operación de transferencia de materia basada en la utilización, como agente separador, de un fluido en condiciones de presión y temperatura superiores a las críticas. Estas condiciones hacen que los fluidos supercríticos (FSC) presenten propiedades físico-químicas peculiares, asemejándose en parte a los líquidos (densidad y poder disolvente) y en parte a los gases (propiedades de transporte y compresibilidad), lo que les confiere características excepcionales como disolventes (Martínez de la Ossa, 1990).

La ESC se ha aplicado hasta el momento a diversos procesos de separación, revelando ser una alternativa prometedora con respecto a las técnicas de extracción

convencionales (Martínez de la Ossa, 1991). En particular, la ESC se ha mostrado como una técnica muy potente dentro de la industria alimentaria, sobre todo en relación a la utilización de dióxido de carbono supercrítico, para el tratamiento de productos naturales tales como el lúpulo, tabaco, especias, café y aromas constituyentes de frutas (Stahl, 1988). De hecho, la extracción con dióxido de carbono supercrítico se ha aplicado con éxito a escala industrial en procesos como la descafeinización del café (Stahl, 1988; Bork, 1991), la preparación de extractos de lúpulo para la industria cervecera (Stahl, 1988; Bork, 1991) o la producción de extractos y esencias de especias (Quirós, 1990; R.A.P.S., 1993).

El éxito del empleo como disolvente del dióxido de carbono supercrítico se debe fundamentalmente a varias razones. Por un lado, la cada vez mayores restricciones que la Legislación establece acerca de la eliminación de los disolventes orgánicos empleados en la extracción de productos destinados a consumo humano, entre los que se incluyen los aceites de semillas; en este sentido, el CO₂ supercrítico ofrece la ventaja de ser fácil y totalmente eliminable del extracto, simplemente por despresurización, no dejando rastro alguno en el producto final. Por otra parte, y en contraste con los disolventes orgánicos, el dióxido de carbono no es tóxico, ni inflamable, ni corrosivo, es barato y fácilmente disponible en grandes cantidades y con un elevado grado de pureza. Por último, el CO₂ presenta una presión y temperatura críticas relativamente bajas (7,3 MPa y 304 K), lo que le hace ser un disolvente muy adecuado para la extracción de productos naturales, normalmente termolábiles.

En este trabajo se ha llevado a cabo el estudio de la calidad del aceite de semillas de uva obtenido por extracción con dióxido de carbono supercrítico. Con anterioridad, en un trabajo previo (Molero, 1994), se establecieron las condiciones operativas óptimas del proceso desde el punto de vista del rendimiento de la ESC: presión, 25 MPa; temperatura, 313 K; flujo de CO₂ supercrítico, 1,5 L/min.; tiempo de extracción, 2 horas.

El trabajo se ha planteado en base a la comparación de las calidades de los aceites obtenidos por ESC y por extracción convencional con disolventes líquidos, con la idea de comprobar si el proceso supercrítico pudiera ser competitivo con el segundo. En principio, la necesidad de

altas presiones le es desfavorable, pero la posibilidad de eliminar la etapa de destilación del disolvente (muy costosa desde el punto de vista energético) y de simplificar el proceso de refinado del aceite, la pueden hacer mucho más atractiva.

2. MATERIAL Y METODOS

Como materia prima para los procesos de extracción se han utilizado semillas de uva de la variedad *airen*. Estas semillas han sido previamente «agotadas», término que hace referencia a que han sufrido un proceso de lavado con agua caliente con el fin de recuperar los azúcares residuales adheridos a su superficie para su posterior fermentación y destilación. Como consecuencia de este proceso, parte del contenido en aceite de las semillas se pierde (Ramel, 1965a; Ramel, 1965b; Lanteaume, 1966; Ramel, 1967; Gattuso, 1983), por lo que los rendimientos de las extracciones son siempre inferiores a los obtenidos a partir de las semillas «frescas».

Las semillas fueron sometidas a trituración, cribado y desecado hasta alcanzar las condiciones óptimas desde el punto de vista del rendimiento del proceso (Molero, 1994). La molienda se llevó a cabo con un molinillo «FUTURMAT», modelo «FP», provisto de 18 grados de molienda y con una capacidad de carga de 2 Kg, hasta alcanzar un tamaño uniforme de 0,75 mm. La deshidratación se realizó en una estufa de secado «HERAEUS» a una temperatura de 70°C durante un tiempo nunca inferior a las 6,30 horas.

La extracción convencional con disolventes líquidos se llevó a cabo utilizando hexano en un aparato tipo «SOXHLET», durante períodos superiores a las 20 horas, con el fin de garantizar el máximo rendimiento extractivo y poder establecer la base comparativa para el proceso de ESC.

El equipo utilizado para realizar los procesos de ESC con dióxido de carbono, «AUTOCLAVE ENGINEERS»

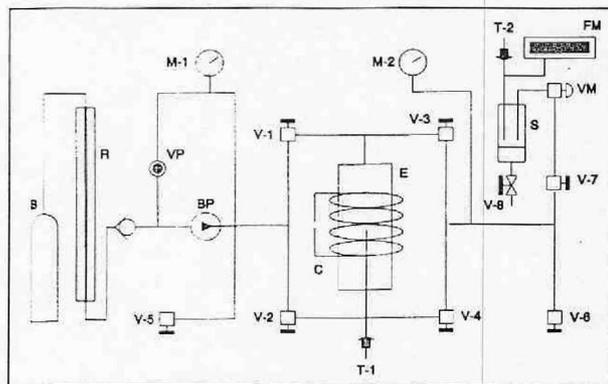


Figura 1

Diagrama de flujo del sistema de extracción supercrítica. B: botella de CO₂ líquido; R: refrigerante; BP: bomba de presión; VP: válvula de regulación de presión; E: extractor; S: separador; C: encamisado; VM: válvula micrométrica; T-1,2: termopares; V-1,8: válvulas «on-off»; M-1,2: manómetros; FM: caudalímetro másico.

modelo «SCE SCREENING SYSTEM», se encuentra representado de forma esquemática en la Figura 1, con indicación de los principales elementos que lo constituyen.

El equipo consta de un extractor tubular (E) con una capacidad de 75 mL, de acero inoxidable, capaz de operar hasta 40 MPa y 613 K, provisto de una camisa (C) que permite alcanzar y mantener la temperatura de trabajo; un separador (S) de 100 mL de capacidad, de acero inoxidable, que opera a la presión atmosférica; y una bomba de alta presión (BP), de desplazamiento positivo, con una capacidad de flujo de 46-460 mL/h y dotada de un cabezal para su termostatación. La presurización en el extractor se realiza a través de la válvula reguladora de presión (PV), mientras que el caudal de disolvente se controla a través de la válvula micrométrica (VM), provista de un sistema de calefacción para evitar la congelación del disolvente al despresurizar. El flujo de disolvente se determina con la ayuda de un caudalímetro másico (FM) «MICROMOTION» modelo «RFT9729 Remote Flow Transmitter» situado a la salida del separador y que, además, permite conocer la cantidad total de disolvente empleado.

Inicialmente, el extractor se carga con las semillas de uva (40 gramos, aproximadamente), colocando lana de vidrio en sus extremos para evitar el posible arrastre de las semillas hacia las conducciones del sistema. A continuación, el CO₂ líquido procedente de la bombona (a 5 MPa) se hace pasar a través de un serpentín sumergido en líquido refrigerante mantenido a una temperatura del 1°C, con objeto de evitar su gasificación, y se introduce en el extractor a la presión de trabajo con ayuda de la bomba de alta presión. Alcanzadas las condiciones de operación (P y T) en el extractor, se procede a iniciar el proceso de extracción ajustando el flujo del disolvente con ayuda de la válvula micrométrica y el medidor de caudal másico. El aceite extraído se recoge en el separador, en tanto que el CO₂ (ya en estado gaseoso) circula a través de una serie de filtros hasta el caudalímetro másico.

La cantidad de aceite extraído (así como el obtenido por extracción con hexano) se determinó gravimétricamente. El rendimiento de extracción se ha expresado, en todos los casos, como la relación porcentual entre la cantidad de aceite extraído y la carga inicial de semillas en el extractor.

La caracterización físico-química del aceite extraído se ha llevado a cabo siguiendo las normas que la A.O.A.C. (1980) establece han de analizarse para todos aquellos aceites destinados a consumo humano (UNE-55-022-78). Los parámetros analizados fueron: índice de refracción (refractómetro «ATAGO», modelo «88141»), densidad (densímetro, «PAAR» modelo «DMA 48»), viscosidad (viscosímetro de caída de bola tipo Höepler «HAAKE», modelo «B/BH») y absorbancia a 290 nm (espectrofotómetro UV-VIS «SHIMADAZU», modelo «MULTIPURPOSE RECORDING SPECTROPHOTOMETER MPS-2000»). Los distintos índices que se determinaron fueron: de acidez, de yodo (método de Hanus), de saponificación y de peróxidos. También se determinó el porcentaje de insaponificables.

La composición del aceite en ácidos grasos se ha realizado, previa metilación de los mismos (Barceló, 1985), por cromatografía gaseosa usando un cromatógrafo «HEW-

LETT-PACKARD», modelo «5890», provisto de una columna capilar «Carbowax 20M» y un detector FID.

Las determinaciones correspondientes al contenido de humedad se llevaron a cabo empleando un sistema de titración «Karl-Fisher», CRISON, modelo «microKF 2025».

Todos los productos y reactivos químicos empleados han sido «reactivos para análisis». La pureza del dióxido de carbono utilizado fue del 99,9% («Carburos Metálicos»).

3. DISCUSION DE RESULTADOS

3.1. Rendimiento de extracción.

En la Tabla I se han presentado los valores experimentales de los rendimientos de los procesos extractivos realizados sobre las semillas de uva, tanto con dióxido de carbono supercrítico como con hexano, en las condiciones óptimas tanto desde el punto de vista de acondicionamiento de la materia prima como operativos de ambos procesos, indicados anteriormente (Molero, 1994). En la Tabla I también se han expresado datos bibliográficos de rendimientos extractivos correspondientes a los dos procesos, realizados por otros autores sobre diferentes tipos de semillas.

Tabla I
Comparación de rendimientos (% en peso)
de extracción supercrítica y líquida para distintas
semillas vegetales

Materia Prima	ESC con CO ₂	Extracción con Hexano	Referencia
Semilla de uva	6,9	7,5	(Molero, 1994)
Germen de trigo	9,6	10,1	(Taniguchi, 1985)
Semilla de soja	19,9	20,0	(Friedrich, 1982)
Cáscara de arroz	22,0	23,0	(Zhao, 1987)
Semilla de soja	16,4	19,9	(Stahl, 1980)
Semilla de girasol	36,0	38,4	(Stahl, 1980)
Semilla de colza	39,3	40,1	(Stahl, 1980)

Como puede comprobarse, el rendimiento de la ESC del aceite de semilla de uva (6,9%) es inferior al de la extracción con hexano (7,5%). Sin embargo, en todos los casos de extracciones presentados en la Tabla I ocurre lo mismo, independientemente de la materia prima, lo que puede interpretarse en el sentido de que el CO₂ es mucho más selectivo que el hexano, pues extrayendo totalmente el aceite, no extrae otros compuestos indeseables como en el caso del hexano.

Así, los diversos autores citados en la Tabla I han establecido que los disolventes orgánicos empleados en la extracción convencional no son selectivos de triglicéridos, en tanto que sí lo son de ácidos grasos libres, fosfolípidos, pigmentos, insaponificables y diversos complejos lipídicos además del aceite (glicolípidos, en el caso del hexano); en cambio, el CO₂ supercrítico sí es un disolvente selectivo

vo en relación a los triglicéridos, que, además, no extrae estos complejos lipídicos.

Todo ello queda demostrado al comparar los datos experimentales presentados en la Tabla II, correspondientes a la caracterización físico-química de los aceites de semilla de uva obtenidos a través de los dos procesos de extracción, como se comenta a continuación.

Tabla II
Comparación de los aceites extraídos con CO₂
supercrítico y con hexano

Parámetros físico-químicos	Disolvente	
	CO ₂	Hexano
Índice de refracción	1,475	1,474
Densidad	0,924	0,928
Viscosidad (cp)	69	66
Absorb. 290 nm (lgE)	2,730	3,177
Índice de acidez	3,4	33,8
Índice de yodo	98	124
Índice de saponif.	259	289
Insaponif. (%)	0,3	2,89
Índice peróxidos	383	101

3.2. Índices físico-químicos.

Como puede apreciarse en la Tabla II, no se han encontrado diferencias significativas entre los dos tipos de aceite en lo que se refiere a sus valores de índice de refracción, densidad, viscosidad, absorbancia, índice de yodo y de saponificación, por lo que a estos efectos son prácticamente idénticos. Las principales diferencias se encuentran en los valores obtenidos para el índice de acidez, contenido de insaponificables y el índice de peróxidos.

La diferencia de acidez que presentan ambos aceites se debe a una menor presencia de ácidos grasos libres en el aceite extraído con el CO₂ supercrítico y a una mayor presencia en el extraído con hexano, que, dada la naturaleza de las semillas utilizadas y las características de ambos procesos, se debe a las siguientes razones:

- En primer lugar, el dióxido de carbono supercrítico es selectivo con respecto a los triglicéridos, no extrayendo de forma significativa los ácidos grasos libres presentes en las semillas de uva. Por el contrario, el hexano extrae gran cantidad de ácidos grasos libres junto con los triglicéridos.
- En segundo lugar, las semillas utilizadas como materia prima han sido sometidas a un tratamiento de «agotamiento» que conlleva elevadas temperaturas, lo que contribuye a aumentar la presencia de ácidos grasos libres en las semillas en detrimento del contenido en triglicéridos, con el consiguiente aumento del índice de acidez, fenómeno que también ha sido observado por otros autores (Ramel, 1965a; Ramel, 1965b; Lanteaume, 1966; Ramel, 1967; Gatusso, 1983). Por este motivo, al ser alto el

contenido en ácidos grasos libres en las semillas «agotadas», lo es también en el aceite extraído con hexano. Del mismo modo, al ser menor el contenido en triglicéridos en la semilla «agotada» el rendimiento de las extracciones es menor en relación a las semillas frescas.

- Por último, las temperaturas operativas de ambos procesos de extracción son muy diferentes: 40°C en la ESC y 69°C en la líquida (temperatura de ebullición del hexano), realizada con el sistema «Soxhlet». Así, la temperatura moderada de la ESC no contribuye a la producción de ácidos grasos libres a partir de los triglicéridos, mientras que en la extracción líquida sí se produce dicha formación.

Una vez descontado el correspondiente contenido de ácidos grasos libres en los aceites procedentes de los dos procesos, los valores de los índices de yodo y saponificación indican que la cantidad de triglicéridos presentes en los aceites extraídos en ambos procesos es similar, revelando que en ambos casos las semillas han quedado completamente agotadas y que, en este sentido no hay diferencia entre el proceso supercrítico y el convencional.

En cambio, los valores relativos de la fracción insaponificable, sí muestran una clara diferencia entre los aceites extraídos por los dos disolventes. En este sentido, la mayor selectividad del dióxido de carbono supercrítico se traduce en una mínima extracción de los compuestos que integran la fracción insaponificable (hidrocarburos, esteroles, alcoholes alifáticos, etc.).

Si se tiene presente que entre los objetivos del posterior proceso de refinado del aceite, en el caso de la extracción líquida, se contempla la reducción a valores aceptables los contenidos de insaponificables y ácidos grasos libres, se puede deducir que, en el caso de la extracción supercrítica, esta etapa podría eliminarse dado el bajo contenido del aceite en estos componentes indeseables. Máxime teniendo en cuenta que, aunque en este trabajo se ha realizado la separación del aceite y el dióxido de carbono supercrítico en un sólo paso y a presión atmosférica, cabe la posibilidad de realizar una separación fraccionada por despresurización progresiva, con lo que se pueden regular perfectamente los contenidos de todos los componentes en el aceite en función de su solubilidad, y por lo tanto la calidad del mismo.

Los valores experimentales encontrados para el índice de peróxidos son muy elevados en ambos procesos. Este índice está relacionado con el grado de oxidación de los lípidos de la materia grasa y, de forma paralela, con el deterioro que puedan haber sufrido ciertos componentes del aceite (principalmente los tocoferoles, polifenoles, etc.). Sin embargo, su utilización como índice de oxidación es muy relativo, ya que, si bien señala el nivel en que la oxidación puede ser perceptible organolépticamente, los peróxidos son productos intermedios de una secuencia de reacciones conducentes a la formación de compuestos con carbonilos e hidroxilos. Por ello, y dado que los peróxidos están sujetos a reacciones secundarias de degradación, el índice está limitado a las primeras etapas de oxidación de la grasa, dada su poca representatividad sobre el estado global de oxidación del aceite (Baudi, 1981; Montiel, 1986).

Una posible explicación a los altos valores encontrados para el índice de peróxidos en ambos casos está relacionada con la presencia de reacciones secundarias de degradación ocurridas durante el proceso de fermentación-agotamiento al que fueron sometidas las semillas y no a una oxidación propia de los lípidos del aceite. Ello ha sido puesto de manifiesto también por otros autores (Galán, 1986) al caracterizar el aceite de semilla de uva, variedad palomino, extraída con hexano empleando equipos «Soxhlet».

Estos valores llegan incluso a ser superiores a los 200 miliequivalentes de oxígeno activo por contenido de materia grasa, valores próximos a los encontrados experimentalmente en nuestro caso.

3.3. Composición en ácidos grasos.

En la Tabla III se recogen las composiciones en ácidos grasos de los aceites extraídos mediante los dos procesos estudiados. Como puede observarse, el contenido en ácidos grasos del aceite de semilla de uva extraído con el CO₂ supercrítico es muy similar al extraído con hexano. Destacar, como ya se ha mencionado anteriormente, su elevado contenido en ácidos grasos insaturados frente a la baja proporción de ácidos grasos saturados, lo cual lo hace muy adecuado para su uso en alimentación.

Tabla III
Composición en ácidos grasos del aceite extraído con hexano y con CO₂

Disolvente	Composición en ácidos grasos (% en peso)					
	Palmítico	Palmitoleico	Estearico	Oleico	Linoleico	Linoléico
Hexano	8,12	0,15	5,60	19,59	66,16	0,37
CO ₂ -supercrítico	8,03	0,15	5,07	19,06	67,39	0,30
Aceite comercial (*)	5 - 10	≤ 1,2	3 - 5	12 - 26	58 - 77	≤ 1

(*) Real Decreto 308/1983, de 25 de enero sobre Reglamentación-Técnico-Sanitaria de Aceites Vegetales Comestibles (B.O.E. del 21 de febrero de 1983).

Tabla IV
Variación de la composición en ácidos grasos del aceite extraído con CO₂ supercrítico conforme varía el tiempo de extracción

Tiempo (min.)	Composición en ácidos grasos (% en peso)					
	Palmitico	Palmitoleico	Esteárico	Oleico	Linoleico	Linolénico
30	10,52	0,22	5,32	27,60	56,34	—
60	9,94	0,19	6,15	26,53	56,84	0,36
120	7,86	0,12	7,54	24,00	60,22	0,34
180	8,03	0,15	5,07	19,06	67,39	0,30

En la Tabla IV se incluyen las composiciones del aceite de semilla de uva en los distintos ácidos grasos en función de la duración del proceso de extracción supercrítica. Con ello se ha pretendido dar una idea del poder disolvente del CO₂ supercrítico a lo largo del tiempo de extracción, así como de la solubilidad de los distintos ácidos grasos del aceite en el disolvente. Este hecho puede ser de gran importancia de cara a una posible extracción fraccionada de los diversos ácidos grasos, de forma que se pudiera separar los saturados de los insaturados.

De estos datos pueden extraerse dos observaciones interesantes: la primera, que el ácido linolénico (presente en muy pequeña cantidad) no se extrae hasta que no transcurre, aproximadamente, una hora de extracción; y segunda, que si bien los porcentajes de extracción se mantienen prácticamente invariables, conforme aumenta el tiempo de extracción el contenido de la totalidad de ácidos grasos disminuye progresivamente en beneficio del ácido linoleico, que aumenta hasta alcanzar valores superiores al 60%.

4. CONCLUSIONES

La calidad del aceite de semilla de uva obtenido por extracción supercrítica con dióxido de carbono es muy superior a la del que se obtiene por extracción con disolventes líquidos, sin refinar. Su calidad se aproxima a la del aceite procedente del proceso convencional, una vez refinado, y podría ser idéntica si la despresurización para eliminar el disolvente se realizase progresivamente.

Es más, dado que el proceso con dióxido de carbono tiene lugar a temperatura ambiente, otros componentes de las semillas no sufren reacciones secundarias de degradación (por ejemplo, la desnaturalización de las proteínas), lo cual permitiría un ulterior aprovechamiento de las semillas, ya desgrasadas, como fuente proteica. Este aspecto es inviable cuando se emplean técnicas convencionales de extracción con disolventes orgánicos.

La completa separación del disolvente supercrítico y el aceite durante la despresurización hace innecesaria cualquier otra operación posterior de eliminación del disolvente. De esta forma, en relación al proceso convencional con disolventes líquidos, el proceso supercrítico elimina una etapa muy costosa energéticamente, la destilación del disolvente, y simplifica el posterior refinado del aceite.

En definitiva, a pesar de la necesidad de trabajar a altas presiones, la extracción supercrítica aplicada a la obtención de aceite de semilla de uva puede resultar económicamente competitiva con la extracción líquida, máxime si se complementa estacionalmente con la extracción de otros tipos de semillas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean hacer público agradecimiento a la C.I.C.Y.T. por la financiación de este trabajo a través del proyecto de I+D «Aprovechamiento integral de los subproductos de vinificación por extracción supercrítica de compuestos de interés» (ref. AL194-0473).

REFERENCIAS

- A. O. A. C. (Association of Official and Analytical Chemists' Society). (1980).— "Standard Methods of Analysis". 13th Edition. Washington D. C.
- Barceló, I.; Barceló, F. (1985).— "Análisis de la Composición Lipídica del Aceite de Oliva Virgen de Mallorca".— *Grasas y Aceites*, **36**, 269-273.
- Baudi, S. (1981).— "Química de los Alimentos".— *Alhambra Mexicana, México*.
- Bork, M.; Körner, J. P. (1991).— "Extraction by use of Supercritical Solvents".— *Z.F.L* **42**, 732-738.
- Friedrich, J. P.; List, G. R. (1982).— "Characterization of Soybean Oil Extracted by Supercritical Carbon Dioxide and Hexane".— *J. Agric. Food Chem.* **30**, 192-193.
- Galán, M.; Martínez Massanet, G.; Montiel, J. A.; Pandó, E.; Rodríguez, Luis, F. (1986).— "Estudio de Subproductos Agrícolas. I. Aceites de Pepitas de Uva Palomino. Extracción, Constantes y Ácidos Grasos".— *Grasas y Aceites*, **37**, 179-182.
- Gattuso, A.M.; Fazio, G.; Cilluffo, V. (1983).— "Il Vinacciolo. Nota II. Caratteristiche e Composizione dell'Olio".— *Riv. Soc. Ital. Scien. Alim.* **12**, 47-54.
- Lanteaume, M.T.; Ramel, P.; Le Clerc, A. M.; Rannaud, J. (1966).— "Influence de la Friture et du Chauffage sur les Effets Physiologiques d'une Huile très Riche en Acide Linoléique".— *Rev. Fr. Corps Gras* **13**, 603-614.
- Martínez de la Ossa, E.; Galán, M. A. (1990).— "Extracción con Fluidos Supercríticos. (I). Fundamentos".— *Ingeniería Química*, **256**, 169-175.
- Martínez de la Ossa, E.; Galán, M. A. (1991).— "Extracción con Fluidos Supercríticos. (III). Aplicaciones".— *Ingeniería Química*, **262**, 251-260.
- Molero, A. (1994).— *Tesis de Licenciatura*.— Universidad de Cádiz.
- Montiel, J. A. (1986).— *Tesis Doctoral*.— Universidad de Cádiz.
- Quirín, K. W.; Gerard, D. (1990).— "High Pressure Extraction of Spices".— *Z.F.L* **41**, 731-734.
- R.A.P.S. (1993).— *Information sheet*.— Kulmbach, Germany.
- Ramel, P.; Lanteaume, M. T.; Le Clerc, A. M.; Rannaud, J.; Morel E. (1965a).— "La Valeur Nutritionnelle de l'Huile de Pépins de Raisin; Influence de la Friture; Effets Physiologiques".— *Rev. Fr. Corps Gras* **12**, 517-523.

Ramel P.; Le Clerc, A. M.; Dumain, J.; Fauquembergue, D. (1965b).- "Étude du Comportement de quelques Huiles Alimentaires, au cours d'Opérations de Friture et de Surchauffe Contrôlées".- *Rev. Fr. Corps Gras* **12**, 153-165.

Ramel, P.; Lanteaume, M.T.; Le Clerc, A. M.; Rannaud, J. (1967).- "Influence du Chauffage sur les Effets Physiologiques a Long Terme de divers Corps Gras Alimentaires".- *Rev. Fr. Corps Gras* **14**, 505-514.

Real Decreto 308/1983, de 25 de enero sobre Reglamentación-Técnico-Sanitaria de Aceites Vegetales Comestibles (B.O.E. del 21 de febrero de 1983).

Stahl, E., Schütz, E.; Mangold, K. (1980). "Extraction of Seed Oils with Liquid and Supercritical Carbon Dioxide".- *J. Agric. Food Chem.* **28**, 1153-1157.

Stahl, E.; Quirin, K. W.; Gerard, D. (1988).- "Dense Gases for Extraction and Refining".- *Springer Verlag, Chap 2*. New York. *Ibid.* Dev. Food Sci. **24**, (Flavors Off-Flavors '89), 855-863 (1990).

Taniguchi, M.; Kamihira, M.; Tsuji, T.; Kobayashi, T. (1986).- "Application of Supercritical CO₂ Extraction to Food Processing".- *World Congress of Chemical Engineering*, 1040-1043, Tokyo (Japón).

Zhao, W.; Shisshikura, A.; Fujimoto, K.; Arai, K.; Saito, S. (1987).- "Fractional Extraction of Rice Bran Oil with Supercritical Carbon Dioxide".- *Agric. Biol. Chem.* **51**, 1773-1777.

Recibido: Octubre 1994

Aceptado: Febrero 1995