

## **TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**

# **EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DEL ÁRBOL DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA A. JUSS), EMPLEANDO MICROONDAS Y ULTRASONIDO COMO MÉTODOS DE EXTRACCIÓN**

Presentado ante la Ilustre  
Universidad Central de Venezuela  
Por los Brs. García G. Gisel N.,  
Pontes D. Maicol J.  
Para optar al Título de  
Ingeniero Químico

Caracas, 2009

# **TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**

## **EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DEL ÁRBOL DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA A. JUSS), EMPLEANDO MICROONDAS Y ULTRASONIDO COMO MÉTODOS DE EXTRACCIÓN**

TUTORES ACADÉMICOS: Prof. Alejandra Meza

Prof. Francisco Yáñez

Presentado ante la Ilustre  
Universidad Central de Venezuela  
Por los Brs. García G. Gisel N.,  
Pontes D. Maicol J.  
Para optar al Título de  
Ingeniero Químico

Caracas, 2009

Caracas, junio de 2009.

Los abajo firmantes, miembros del Jurado designado por el Consejo de Escuela de Ingeniería Química, para evaluar el Trabajo Especial de Grado presentado por los Bachilleres Gisel N. García G. y Maicol J. Pontes D., titulado:

**“EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DEL  
ÁRBOL DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA A. JUSS),  
EMPLEANDO MICROONDAS Y ULTRASONIDO COMO  
MÉTODOS DE EXTRACCIÓN”**

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. Luis García

Jurado

Prof. Armando Vizcaya

Jurado

Prof. Alejandra Meza

Tutor Académico



Prof. Francisco Yáñez

Tutor Académico



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

SOLICITUD DE MENCIÓN HONORÍFICA

Quienes suscriben, Miembros del Jurado designado por el Consejo de Escuela de la Escuela Ingeniería Química de la Universidad Central de Venezuela, para examinar el Trabajo de Grado, presentado por los Bachilleres Gisel Nataly García González., portadora de la Cédula de Identidad 17.954.807 y Maicol José Pontes de Abreu portador de la Cédula de Identidad 17.968.363, bajo el título **“Extracción de Aceite Esencial de Hojas del Árbol de Neem (Azadirachta Indica A. Juss), Empleando Microondas y Ultrasonido como Método de Extracción”**, a los fines de cumplir el requisito legal para optar al título de Ingeniero Químico, acuerdan por unanimidad otorgar **Mención Honorífica**.

Para dar este veredicto, el Jurado consideró que la obra examinada representa un aporte importante de nuevos conocimientos en el área de extracción de compuestos con actividad biológica, de alto valor agregado, empleando técnicas novedosas. Adicionalmente, por la elevada calidad de la presentación, y el análisis de los resultados en el cual se evidenció un tratamiento profundo en lo que refiere a los resultados obtenidos.

En fe de lo cual se levanta la presente Acta, a los cinco días del mes de Junio de dos mil nueve.

Prof. Luis García  
Jurado

Prof. Armando Yizcaya  
Jurado



Prof. Alejandra Meza  
Tutor Académico

Prof. Francisco Yáñez  
Tutor Académico

## DEDICATORIA

**Gisel N. García G.**

A Dios... *“Razón de todo, fuerza y guía”*  
A mi Padre... *“Mi angelito de la guarda que nunca me abandona”*  
A mi Madre... *“Mi apoyo y respaldo incondicional en todo momento”*  
A mi Hermano, Abuelos y Tío... *“Compañía, amor y ayuda en mi camino”*  
A mi Novio... *“Amor sincero que llena de sonrisas mis días”*  
A mi Compañero de tesis... *“Una amistad única y especial”*  
A mi Madrina y Amigos... *“Huellas en mi corazón que el tiempo no podrá borrar”*

A todos ellos, gracias de corazón.

**Maicol J. Pontes D.**

Agradezco a mi familia y en especial a mis padres, sin los cuales no hubiera llegado a este punto, ustedes me dieron el aliento en los momentos en que más lo requería y nunca dudaron que lo lograría.

A dios quien para mi, es esa fuerza que te permite seguir adelante en los momentos mas difíciles, es en quien confío cuando las cosas se complican y a quien agradezco cuando son solucionadas.

A Gisel mi compañera inseparable y quien considero mi mejor amiga, le doy gracias a la vida por permitirme haberte conocido.

A mis amigos Valedith, María, David, Heisel, Oliver, Eduardo, Mónica y Carmen, personas excepcionales y a quienes considero grandes amigos.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Central de Venezuela por la formación de alto nivel que recibimos durante toda nuestra carrera, no sólo en materia académica sino además como personas dentro de la sociedad.

A la Profesora Alejandra Meza por atender a nuestras consultas. Por brindarnos su valioso tiempo y corregir minuciosamente este trabajo. Debemos agradecerle sus comentarios, direcciones y sugerencias durante el desarrollo de esta investigación.

Al Profesor Francisco Yáñez por el seguimiento de nuestro trabajo y sus indicaciones. Agradecemos además, que nos haya preparado para realizar una adecuada exposición ante los jurados.

A la Profesora Lola de Lima por su preciada colaboración y asistencia profesional. Le agradecemos que haya puesto a nuestra disposición sus conocimientos y nos haya guiado en el análisis de los resultados experimentales que nos permitieron cumplir los objetivos de esta tesis.

A los Profesores María Rodríguez y Armando Vizcaya, nuestros jurados, por sus valiosas sugerencias que contribuyeron al mejoramiento y ordenamiento del presente trabajo de grado.

Al Profesor Luis García por su disposición y amable colaboración para ejercer como jurado y revisar este trabajo.

A la Profesora Adriana García por haber colaborado amablemente con nosotros en el préstamo de equipos de laboratorio y por suministrarnos el reactivo necesario para llevar a cabo las pruebas experimentales.

A Iraida Rojas por estar siempre dispuesta a facilitarnos las llaves del laboratorio desde muy temprano en la mañana, permitiéndonos avanzar en las experiencias y aprovechar al máximo cada día de trabajo.

**García G., Gisel N.  
Pontes D., Maicol J.**

**“EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DEL  
ÁRBOL DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA A. JUSS),  
EMPLEANDO MICROONDAS Y ULTRASONIDO COMO  
MÉTODOS DE EXTRACCIÓN”**

**Tutores Académicos: Prof. Alejandra Meza y Prof. Francisco Yáñez. Tesis.  
Caracas, U.C.V. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química.  
Año 2009, 111 pág.**

**Palabras claves:** Neem, extracción asistida por microondas (EAM), extracción asistida por ultrasonido (EAU), espectroscopia infrarroja.

**Resumen.** El Neem posee un alto valor comercial y es por esta razón que el estudio de la extracción de los componentes que le dan las propiedades adecuadas para ser utilizado en la industria farmacéutica, cosmética y agrícola, entre otras, se convierte en una tarea de interés industrial. Actualmente, con el desarrollo de nuevas técnicas de separación que involucran nuevos solventes, específicamente la extracción asistida por microondas (EAM) y la asistida por ultrasonido (EAU), es posible incrementar el rendimiento y la eficiencia de los procesos de extracción, mejorando además, la calidad del aceite obtenido y propiciando una reducción de los costos de producción.

La presente investigación se realizó en la Universidad Central de Venezuela en el Modulo III de la Escuela de Ingeniería Química. Para la EAM se evaluó la influencia que ejerce sobre el rendimiento y la selectividad del proceso de extracción el uso de diferentes solventes (agua, etanol, propanol, hexano y ciclohexano), potencias del equipo (30, 50, 70 y 100%) y tiempos de residencia (4, 6 y 7 seg), mientras que para la EAU se evaluó la influencia que tiene el uso de diferentes solventes (agua, etanol, propanol, hexano y ciclohexano), temperaturas (25, 40, 50 y 60 °C) y tiempos de

residencia (15, 25 y 35 min). Para cada experiencia las muestras se caracterizaron mediante espectroscopia infrarroja para determinar la composición del extracto obtenido.

Para todos los solventes a excepción del agua se apreció una alta selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem tanto en la EAM como en la EAU. Las muestras obtenidas para las diferentes potencias y tiempos de residencia en la EAM, y las obtenidas para las distintas temperaturas y tiempos de residencia en la EAU también mostraron una selectividad alta hacia los compuestos del aceite.

Para la EAM se obtuvo que el mejor rendimiento (66,1%) corresponde a la muestra obtenida empleando etanol como solvente, a una potencia del microondas de 100% durante un tiempo de extracción de 7 seg. En el caso de la EAU el mejor rendimiento (64,4%) se consiguió empleando etanol, a una temperatura de 60 °C con un tiempo de operación de 25 min.

La EAM mostró un mayor rendimiento que la EAU y que el reportado en la bibliografía para la extracción supercrítica, la hidrodestilación y la destilación por arrastre de vapor (soxhlet).

## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>XIII</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>XVI</b>
<b>CAPÍTULO I.- FUNDAMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>1</b>
I.1    Introducción .....	1
I.2    Planteamiento del problema .....	2
I.3    Objetivos .....	4
I.3.1  Objetivo general.....	4
I.3.2  Objetivos específicos.....	4
<b>CAPÍTULO II.- MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>6</b>
II.1    El árbol de Neem.....	6
II.1.1  Taxonomía .....	6
II.1.2  Etimología del nombre .....	6
II.1.3  Descripción de las características físicas .....	7
II.1.4  Ubicación.....	9
II.1.5  Bioquímica del Neem.....	10
II.1.6  Aplicaciones del árbol de Neem .....	15

II.2	Aceites Esenciales .....	18
II.2.1	<i>Definición</i> .....	18
II.2.2	<i>Clasificación</i> .....	19
II.2.3	<i>Composición química</i> .....	20
II.2.4	<i>Propiedades físicas y organolépticas</i> .....	23
II.3	Extracción líquido-sólido .....	24
II.3.1	<i>Factores que influyen en la extracción de aceites esenciales</i> .....	25
II.4	Métodos de extracción con solventes .....	27
II.4.1	<i>Extracción soxhlet</i> .....	27
II.4.2	<i>Hidrodestilación</i> .....	28
II.4.3	<i>Extracción supercrítica</i> .....	29
II.4.4	<i>Extracción asistida por microondas (EAM)</i> .....	29
II.4.5	<i>Extracción asistida por ultrasonido (EAU)</i> .....	35
II.5	Métodos de análisis químico .....	38
II.5.1	<i>Espectroscopia infrarroja (IR)</i> .....	39
<b>CAPÍTULO III.- MARCO METODOLÓGICO .....</b>		<b>40</b>
III.1	Metodología general .....	40
III.1.1	<i>Evaluación preliminar</i> .....	40

III.1.2	<i>Extracción asistida por microondas (EAM)</i> .....	41
III.1.3	<i>Extracción asistida por ultrasonido (EAU)</i> .....	42
III.2	Plan de experiencias .....	44
III.3	Descripción de los principales equipos. ....	45
III.3.1	<i>Horno microondas</i> .....	45
III.3.2	<i>Ultrasonido</i> .....	45
III.4	Materiales .....	47
III.5	Procedimiento experimental.....	47
III.5.1	<i>Evaluación preliminar y preparación de las muestras</i> .....	47
III.5.2	<i>Extracción con el microondas</i> .....	48
III.5.3	<i>Extracción con ultrasonido</i> .....	48
III.5.4	<i>Preparación del extracto para el análisis de rendimiento y selectividad</i> .....	49
<b>CAPÍTULO IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....		<b>50</b>
IV.1	Consideraciones Generales .....	50
IV.2	Análisis del espectro infrarrojo del aceite esencial de Neem comercial .....	53
IV.3	Análisis del espectro infrarrojo de los solventes puros .....	55
IV.4	Evaluación de la influencia de las variables de proceso en la EAM.....	56

IV.4.1	<i>Evaluación de la influencia del tipo de solvente</i> .....	56
IV.4.2	<i>Evaluación de la influencia de la potencia del equipo</i> .....	63
IV.4.3	<i>Evaluación de la influencia del tiempo de residencia</i> .....	66
IV.5	Evaluación de la influencia de las variables de proceso en la EAU. ....	70
IV.5.1	<i>Evaluación de la influencia del tipo de solvente</i> .....	70
IV.5.2	<i>Evaluación de la influencia del tiempo de residencia</i> .....	77
IV.5.3	<i>Evaluación de la influencia de la temperatura</i> .....	81
IV.6	Comparación de los métodos de extracción asistida por microondas, extracción asistida por ultrasonido, destilación por arrastre de vapor, hidrodestilación y extracción supercrítica. ....	84
<b>CAPÍTULO V.- CONCLUSIONES</b> .....		<b>89</b>
<b>CAPÍTULO VI.- RECOMENDACIONES</b> .....		<b>91</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....		<b>93</b>
<b>ANEXOS</b> .....		<b>98</b>
ANEXO A.	Datos experimentales.....	98
ANEXO B.	Cálculos tipo para la obtención de resultados.....	101
ANEXO C.	Datos para el análisis de espectros infrarrojos.....	105
ANEXO D.	Grupos funcionales de los componentes del aceite de Neem. ....	106

ANEXO E. Espectros infrarrojos de los solventes puros. **Error! Marcador no definido.**109

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Árbol de Neem.....	7
Figura 2. Detalle de las hojas y frutos del árbol de Neem .....	8
Figura 3. Detalle de las semillas del árbol de Neem .....	9
Figura 4. Estructura de la molécula de azadiractina .....	12
Figura 5. Estructura de la molécula de meliantriol .....	13
Figura 6. Estructura de la molécula de salanina.....	13
Figura 7. Estructura molecular: a) nimbina, b) nimbidina.....	14
Figura 8. Estructura molecular: a) limoneno, b) mirceno .....	20
Figura 9. Estructura molecular: a) geraniol, b) citral, c) mentona .....	21
Figura 10. Molécula de isopreno y esquema de la “regla del isopreno”.....	21
Figura 11. Estructura molecular: a) fenilpropano, b) eugenol, c) anetol .....	23
Figura 12. Esquema de un extractor soxhlet. ....	28
Figura 13. Esquema de un horno microondas .....	30
Figura 14. Esquema de un equipo de ultrasonido. ....	36
Figura 15. Horno microondas empleado en las experiencias de EAM. ....	45
Figura 16. Equipo de ultrasonido empleado en las experiencias de EAU. ....	46

Figura 17. Baño termostático empleado en las experiencias de EAU. ....	46
Figura 18. Espectro infrarrojo del aceite esencial de Neem comercial.....	53
Figura 19. Comparación de las bandas de absorción del espectro infrarrojo de la muestra patrón de aceite de Neem con las de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAM. ....	60
Figura 20. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia de la potencia del equipo en el proceso de EAM. ....	63
Figura 21. Comparación de las bandas de absorción de los espectros infrarrojos de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia de la potencia del equipo en la EAM. ....	64
Figura 22. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en el proceso de EAM. ....	67
Figura 23. Comparación de las bandas de absorción de los espectros infrarrojos de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en la EAM. ....	68
Figura 24. Comparación de las bandas de absorción del espectro infrarrojo de la muestra patrón de aceite de Neem con las de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAU.....	74
Figura 25. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en el proceso de EAU.....	78
Figura 26. Comparación de las bandas de absorción de los espectros infrarrojos de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en la EAU.....	79

Figura 27. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia de la temperatura en el proceso de EAU.....	81
Figura 28. Comparación de las bandas de absorción de los espectros infrarrojos de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia de la temperatura en la EAU. ....	82
Figura 29. Comparación de las bandas de absorción de los espectros infrarrojos de los distintos métodos de extracción.....	85
Figura 30. Espectro infrarrojo del agua.....	109
Figura 31. Espectro infrarrojo del etanol. ....	109
Figura 32. Espectro infrarrojo del propanol.....	110
Figura 33. Espectro infrarrojo del hexano.....	110
Figura 34. Espectro infrarrojo del ciclohexano.....	111

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Jerarquía taxonómica del Neem.....	6
Tabla 2. Compuestos activos de mayor importancia presentes en el Neem .....	14
Tabla 3. Clasificación de los terpenos .....	22
Tabla 4. Solventes usados para la extracción de aceites esenciales.....	26
Tabla 5. Constante dieléctrica ( $\epsilon'$ ) de los disolventes usados en EAM. ....	32
Tabla 6. Número de experiencias realizadas en la EAM .....	444
Tabla 7. Número de experiencias realizadas en la EAU.....	44
Tabla 8. Lista de pruebas realizadas en la EAM y sus parámetros de extracción.....	51
Tabla 9. Lista de pruebas realizadas en la EAU y sus parámetros de extracción. ....	52
Tabla 10. Bandas de absorción características de los espectros infrarrojos de los solventes puros.....	55
Tabla 11. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en el proceso de EAM.....	56
Tabla 12. Propiedades organolépticas de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAM. ....	57
Tabla 13. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAM.....	62

Tabla 14. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia de la potencia del equipo en la EAM. ....	65
Tabla 15. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en la EAM. ....	69
Tabla 16. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en el proceso de EAU. ....	70
Tabla 17. Propiedades organolépticas de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAU.....	71
Continuación Tabla 17. Propiedades organolépticas de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAU. ....	72
Tabla 18. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAU.....	76
Tabla 19. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en la EAU.....	80
Tabla 20. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia de la temperatura en la EAU. ....	83
Tabla 21. Parámetros de operación y rendimiento para cada uno de los procesos de extracción. ....	87
Tabla 22. Datos experimentales para el cálculo de rendimiento total, rendimiento específico y densidad de las muestras de EAM. ....	98
Tabla 23. Datos experimentales para el cálculo de rendimiento total, rendimiento específico y densidad de las muestras de EAU.....	99

Tabla 24. Datos experimentales para el cálculo de la densidad de los solventes puros y de la muestra patrón. ....	100
Tabla 25. Bandas de absorción características de los espectros infrarrojos.....	105
Tabla 26. Grupos funcionales de los componentes del aceite de Neem. ....	106

## **CAPÍTULO I**

### **FUNDAMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN**

A continuación se plantea el objeto de investigación y su importancia y se presentan los objetivos formulados para llevar a cabo este estudio.

#### **I.1 Introducción**

En la escuela de Ingeniería Química de la Universidad Central de Venezuela se están llevando a cabo diferentes investigaciones que involucran la aplicación de nuevas técnicas de extracción a diversas matrices vegetales. Entre los trabajos realizados se pueden mencionar, la extracción de cafeína a partir de los granos de café, de manteca de cacao a partir de las semillas de cacao y del aceite esencial de vetiver a partir de la planta *Vetiveria Zizanoides*.

Los resultados obtenidos en las investigaciones realizadas con estas técnicas innovadoras de extracción asistida por microondas, extracción asistida por ultrasonido y extracción supercrítica, han demostrado que son más eficientes que los métodos convencionales.

El Neem posee un alto valor comercial y es por esta razón que el estudio de la extracción de los componentes que le dan las propiedades adecuadas para ser utilizado en la industria farmacéutica, cosmética y agrícola, entre otras, se convierte en una tarea de interés industrial. En el presente trabajo se plantea llevar a cabo la extracción de dichos componentes a partir de las hojas del árbol, empleando microondas y ultrasonido como técnicas de extracción, esto con el objetivo de evaluar las posibles mejoras en cuanto a la calidad y cantidad del producto obtenido, así como de la energía empleada durante el proceso (estrechamente relacionada al tiempo de operación), en comparación con la técnica de extracción supercrítica y con otros

procedimientos ya conocidos en el campo de la extracción, como la hidrodestilación y la destilación por arrastre de vapor (soxhlet).

Este Trabajo Especial de Grado consta de dos partes. En primer lugar se realizó la extracción del aceite esencial de Neem con el uso de microondas evaluando la influencia en este proceso de las siguientes variables: tipo de solvente, potencia del equipo y tiempo de residencia de la muestra. En la segunda parte se efectuó la extracción empleando un equipo de ultrasonido y estudiando el efecto de parámetros como: el tipo de solvente, el tiempo de residencia de la muestra y la temperatura. La comparación entre las diversas técnicas de extracción se realizó tomando en cuenta aspectos como el rendimiento y la selectividad logrados.

## **I.2 Planteamiento del problema**

Azadirachta Indica, conocido comúnmente como Margosa y Paraíso de la India en español y como Neem en inglés e hindi, es un árbol de tamaño mediano a grande, caracterizado por su tallo corto y recto, una corteza arrugada de color marrón oscuro a gris y una copa densa y redondeada con hojas pinnadas. Esta especie es originaria de la India y tiene la capacidad de adaptarse a condiciones adversas, tales como altas temperaturas y suelos áridos, no fértiles o ácidos, lo cual le ha permitido ser introducido con éxito en muchas regiones de África, Australia y América Latina.

El Neem en la India es llamado también “La farmacia del pueblo” debido a su reconocido uso milenario como planta medicinal. Sin embargo, aunque el conocimiento y uso de la Margosa se remonta a más de 4000 años atrás, los estudios e investigaciones científicas sobre este árbol tienen su comienzo hace relativamente muy poco tiempo. En 1959, el entomólogo y agrónomo alemán Heinrich Schmutterer observó y reportó que el Neem era el único árbol al cual las plagas de langostas de la zona de Sudán no atacaban. Por esta razón, varios grupos de investigadores se interesaron y comenzaron a estudiarlo con mayor profundidad a partir de la década del 90.

Toda esa cadena de investigaciones y profundos estudios sobre el Neem y sus productos derivados, entre los cuales destaca su aceite esencial, permitieron la identificación de una inmensa cantidad de compuestos químicos con propiedades altamente beneficiosas para su aprovechamiento en diversos campos de aplicación, tales como: la medicina y el control de plagas.

La extracción del aceite esencial de Neem se ha venido realizando desde hace tiempo utilizando métodos convencionales que tienen el inconveniente de requerir largos períodos de trabajo para lograr el rendimiento deseado.

Actualmente, con el desarrollo de nuevas técnicas de separación que involucran nuevos solventes y fluidos, es posible incrementar el rendimiento y la eficiencia de los procesos de extracción, mejorando además, la calidad del aceite obtenido y propiciando una reducción de los costos de producción.

El presente trabajo especial de grado plantea la utilización de los métodos de extracción asistida por microondas y extracción asistida por ultrasonido para la obtención de aceite esencial de las hojas del árbol de Neem y la comparación del desempeño logrado por estas nuevas tecnologías con respecto al de la extracción supercrítica, la hidrodestilación y la destilación por arrastre de vapor (soxhlet), iniciando el camino en la investigación para la búsqueda de técnicas que en un futuro permitan el establecimiento en el país de un proceso de extracción a escala industrial.

### **I.3    Objetivos**

#### **I.3.1   Objetivo general**

Estudiar el proceso de extracción de aceite esencial de hojas del árbol de Neem (*Azadirachta Indica*), empleando microondas y ultrasonido como métodos de extracción.

#### **I.3.2   Objetivos específicos**

- Determinar la influencia del tipo de solvente en el rendimiento y la selectividad del proceso de obtención de aceite esencial de Neem mediante la técnica de extracción asistida por microondas (EAM).
- Determinar la influencia de la potencia del equipo microondas en el rendimiento y la selectividad del proceso de obtención de aceite esencial de Neem mediante la técnica de extracción asistida por microondas (EAM).
- Determinar la influencia del tiempo de residencia de las muestras en el rendimiento y la selectividad del proceso de obtención de aceite esencial de Neem mediante la técnica de extracción asistida por microondas (EAM).
- Determinar la influencia del tipo de solvente en el rendimiento y la selectividad del proceso de obtención de aceite esencial de Neem mediante la técnica de extracción asistida por ultrasonido (EAU).
- Determinar la influencia del tiempo de residencia de las muestras en el rendimiento y la selectividad del proceso de obtención de aceite esencial mediante la técnica de extracción asistida por ultrasonido (EAU).

- Determinar la influencia de la temperatura en el rendimiento y la selectividad del proceso de obtención de aceite esencial de Neem mediante la técnica de extracción asistida por ultrasonido (EAU).
- Comparar los resultados obtenidos en la extracción de aceite esencial de Neem empleando microondas con los conseguidos en la extracción con ultrasonido.
- Comparar los resultados obtenidos en la extracción de aceite esencial de Neem empleando microondas y ultrasonido con los reportados en la bibliografía para los métodos de destilación por arrastre de vapor (soxhlet), hidrodestilación y extracción supercrítica.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

A continuación se presenta una revisión teórica de los aspectos más relevantes relacionados con el árbol de Neem y los diversos métodos de extracción de aceites esenciales.

#### II.1 El árbol de Neem

##### II.1.1 Taxonomía

En la tabla presentada a continuación se muestra la clasificación taxonómica del árbol de Neem.

Tabla 1. Jerarquía taxonómica del Neem (ITIS, 2008)

<b>Reino</b>	Plantae
<b>Subreino</b>	Tracheobionta
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Sub-Clase</b>	Rosidae
<b>Orden</b>	Sapindales
<b>Familia</b>	Meliaceae
<b>Género</b>	Azadirachta Adr. Juss.
<b>Especie</b>	Azadirachta Indica Adr. Juss.

##### II.1.2 Etimología del nombre

El actual y popular nombre "Neem", también escrito anteriormente como "Nim", se deriva de la palabra sánscrita "Nimba", proveniente del término "Nimbati Swastyamdadati", que significa "Dador de Buena Salud". Los demás sinónimos en

sánscrito para el árbol se refieren a su hábitat y su uso en la antigua India (Puri, 1999).

El nombre latinizado del Neem- *Azadirachta Indica*- proviene de las palabras persas “Azad”-libre, “Dirakht”-árbol y “i- Hindi”-de origen Indio, lo cual literalmente significa “Árbol Libre de la India”.

En el subcontinente Indio se conoce al *Azadirachta Indica* mayoritariamente como “Neem”, pero en algunas zonas, especialmente en el sur y al este de la India, existen nombres regionales para este árbol. En los países de habla hispana y portuguesa se le denomina también como Margosa. (NRC, 1992)

### II.1.3 Descripción de las características físicas

*Azadirachta Indica* A. Juss., conocido comúnmente como Margosa y Paraíso de la India en español y como Neem en inglés e hindi, es un árbol de tamaño mediano a grande, caracterizado por su tronco corto, recto y moderadamente grueso, una corteza arrugada de color variable, y una copa densa y redondeada con hojas pinnadas (Figura 1). La Margosa es siempre verde, excepto en condiciones extremadamente severas, como las heladas y las sequías, donde se deshoja casi completamente (Parrotta y Chaturvedi, 1994).



Figura 1. Árbol de Neem (INTA, 2008)

Es un árbol de rápido crecimiento que puede alcanzar alturas entre 15 y 20 metros en su edad adulta con unos diámetros de tallo que rondan entre los 30 y 80 cm. (Puri, 1999).

El tallo de las hojas mide de 20 a 40 cm de longitud y presenta de 20 a 31 hojas de color verde oscuro con 3 a 8 cm de longitud cada una. La forma de las hojas maduras es menos asimétrica y sus márgenes están dentados (Figura 2).



*Figura 2. Detalle de las hojas y frutos del árbol de Neem (Carr, 2006)*

Las flores de este árbol son pequeñas, de color blanco o crema con un dulce aroma y se presentan en panículas estrechas y ramificadas de 5 a 15 cm de largo. Las flores individuales están compuestas de 5 lóbulos redondeados de un color verde pálido; 5 pétalos blancos, alargados y redondeados de 0,5 cm de largo; 10 estambres unidos en un tubo y un pistilo con un ovario redondeado y estilo delgado.

El árbol de Neem produce frutas en forma de aceitunas que tienen de 1 a 2 cm de largo, son lisas y de un color cambiante de amarillo verdoso a amarillo al madurar (Figura 2).

Las frutas de la Margosa maduran en la época de junio a agosto en la India y entre septiembre y diciembre en la zona Sudán-Sahélica de África. Por lo usual

contienen una sola semilla elíptica, ocasionalmente dos, rodeadas de una pulpa dulce con un fuerte olor que recuerda al del ajo (Figura 3).



*Figura 3. Detalle de las semillas del árbol de Neem (INTA, 2008)*

Los árboles maduros generan alrededor de 30 a 50 kg de fruta anualmente y pueden vivir 200 años o más (Parrotta y Chaturvedi, 1994).

#### **II.1.4 Ubicación** (Parrotta y Chaturvedi, 1994)

A pesar de que su distribución natural no se conoce con precisión, se cree que el árbol de Neem es nativo del sur de Asia, en donde crece en los bosques naturales de las regiones más secas del sur de la India y Myanmar (llamado anteriormente Burma).

Por muchos siglos, tal vez miles de años, el Neem se ha cultivado en la India, Paquistán, Sri Lanka, Bangladesh, Myanmar, Tailandia, el sur de Malasia y en las islas más secas de Indonesia, hacia el este de Java. Durante el siglo XIX, fue introducido a Fiji, Mauricio y otras islas del Pacífico del Sur, en donde se ha naturalizado.

La margosa fue llevada al oeste de África al principio del presente siglo y, más recientemente, a otras regiones tropicales y subtropicales en el Medio Oriente, la América Central y del Sur, la región del Caribe y el sur de la Florida. En la región del

Caribe se ha naturalizado posterior a su introducción como un árbol de sombra y ornamento en Haití, las Islas Vírgenes Británicas, Antigua, Trinidad y Surinam. Se han establecido plantaciones a pequeña escala en la República Dominicana, Cuba, el sur de la Florida, Arizona y en la península de Baja California y algunas plantaciones más extensas durante los últimos 10 años en el norte de Australia, en donde el Neem está siendo evaluado como una especie para la reforestación de los sitios denudados por minas de bauxita.

En Venezuela el Neem ha logrado adaptarse favorablemente debido al clima tropical y en la actualidad puede ser observado con facilidad en casi todo el país. Una de las plantaciones más conocidas y de mayor importancia se encuentra en el Estado Falcón, donde se ha utilizado al Neem como elemento para controlar la erosión y el proceso de desertificación en la región (Förster y Moser, 2000).

#### **II.1.5 Bioquímica del Neem** (Neem Foundation, s.f)

Hablando en términos occidentales, el “descubrimiento” del Neem corresponde al entomólogo y agrónomo alemán Heinrich Schmutterer. En 1959, destinado en un proyecto de cooperación en Sudán, el joven Schmutterer observó que el único árbol que no era depredado sin compasión por las frecuentes plagas de langostas era una especie recientemente introducida, *Azadirachta Indica*.

Schmutterer decidió investigar este fascinante fenómeno, aunque seguramente no imaginó que su hallazgo resultaría en la obtención de numerosos productos derivados del Neem, generando más actividad de investigación y desarrollo que cualquier otro producto botánico en el siglo XX.

Los primeros trabajos sobre la química de este árbol se hicieron en la India en los años 20, cuando Chatterjee logró el aislamiento de un componente en el aceite de Neem al que le denominó “ácido margósico”. No obstante, posteriores estudios

llevados a cabo alrededor de 1930 mostraron que dicho ácido margósico no era más que una mezcla de ácidos grasos conocidos.

En 1942, Siddiqui et. al. aislaron tres moléculas: nimbina, nimbidina y nimbineno, y tras los trabajos de Schmitterer se han descubierto la mayor parte de los principios activos de la planta: azadiractina, meliantriol, salanina, entre otros. Estas moléculas están relacionadas entre sí estructuralmente y se clasifican químicamente en el grupo de los tetranorcicloterpenos (una categoría de triterpenos), también conocidos como limonoides. No son exclusivos del Neem, también se presentan en otras especies vegetales de las familias Meliaceae y Rutaceae, aunque en mucha menor proporción.

Existen más de 300 compuestos químicos en la Margosa, de los cuales aproximadamente 160 son terpenos y de éstos últimos alrededor del 80% son limonoides.

De las hojas se logra aislar varias moléculas entre las que se pueden mencionar, un flavonoide llamado quercetina, un esteroide vegetal denominado nimbosterol, la nimbina y otros limonoides, como la nimocinolida e isonimocinolida. También se han aislado un grupo de alcanos de entre 14 y 31 carbonos, aminoácidos y ácidos grasos.

Las flores del Neem producen una cera compuesta por una mezcla compleja de ácidos grasos (araquídico, esteárico, palmítico, oleico y linoléico) y de ellas se extrae un aceite que contiene sesquiterpenos, nimbosterol y numerosos flavonoides entre los que destacan la miricetina y el kaempferol.

La corteza del árbol es también fuente de numerosos principios activos: flavonoides (nimbosterol), limonoides (nimbina, nimbidina y nimbineno), diterpenos (nimbinona, nimboquina, nimbidiol y nimbiona), entre otros.

Las semillas del Neem son el elemento más interesante en cuanto a la bioquímica del árbol debido a su riqueza en lípidos y a la presencia de moléculas con una intensa actividad biológica en mayores cantidades que en el resto de las partes de la planta. La fruta del árbol (drupa) contiene una o dos semillas y de ellas se obtiene un aceite compuesto de ácido oleico (50-60%), palmítico (13-15%), esteárico (14-19%), linoléico (8-16%) y araquídico (1-3%), composiciones que varían según el método de extracción.

De los diversos componentes activos presentes en el árbol de Neem mencionados anteriormente es importante destacar la actividad y características de los siguientes:

→ *Azadiractina* (Figura 4)

Reconocida por la comunidad científica como la principal responsable de la actividad biológica del aceite de Neem. Se encuentra en su semilla en cantidades que oscilan entre 50 y 2500 ppm (0,005-0,22% en peso). La azadiractina comprende nueve isómeros diferentes, nombrados de la A a la K, siendo los principales la azadiractina A (83%) y azadiractina B (16%). Trabajos de investigación recientes apuntan a que este compuesto es responsable de la mayoría de las interferencias que provoca el aceite de Neem sobre el sistema endocrino y la fisiología digestiva de numerosos artrópodos, debido a su parecido estructural con las ecdisonas, hormonas que intervienen en muchos de sus procesos vitales y reproductivos.

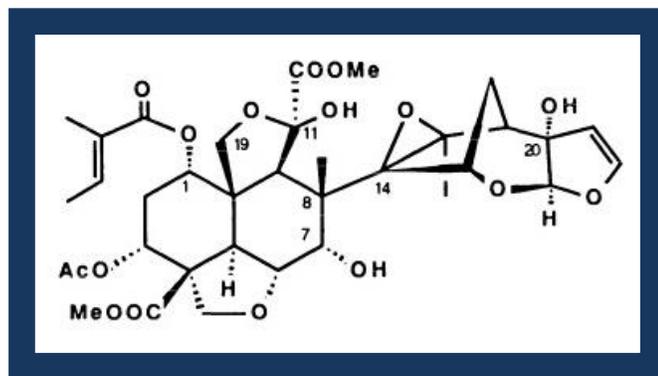


Figura 4. Estructura de la molécula de azadiractina (NRC, 1992)

→ *Meliantriol* (Figura 5)

Es una molécula compleja que fue aislada por primera vez en 1967. A concentraciones muy bajas tiene un potente efecto fagostático sobre los insectos, al interferir sobre los mecanismos de la deglución y posiblemente inhibir el peristaltismo intestinal. Afecta al crecimiento del insecto y muestra actividad contra nemátodos.

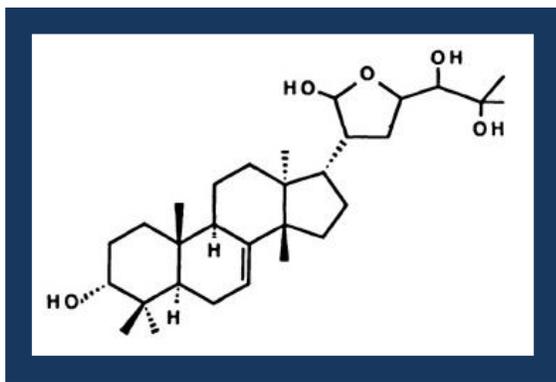


Figura 5. Estructura de la molécula de meliantriol (NRC, 1992)

→ *Salanina* (Figura 6)

Es el tercer principio activo en importancia, con gran efectividad como inhibidor de deglución. No parece tener efecto alguno sobre el crecimiento del insecto. In vitro se ha mostrado extraordinariamente efectiva contra numerosas plagas de distintos cultivos. Tiene efecto repelente.

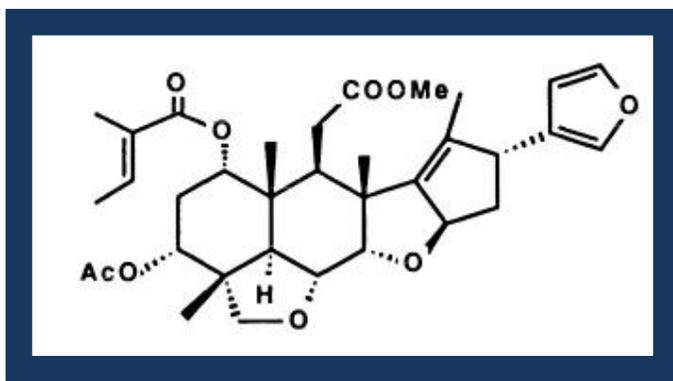


Figura 6. Estructura de la molécula de salanina (NRC, 1992)

→ *Nimbina* (Figura 7a) y *nimbidina* (Figura 7b)

Son los principios amargos más importantes que se obtienen cuando se somete a la semilla del Neem a extracción con alcohol. En el campo de la medicina se les atribuyen propiedades anti-inflamatorias, antipiréticas, antihistamínicas y antifúngicas.

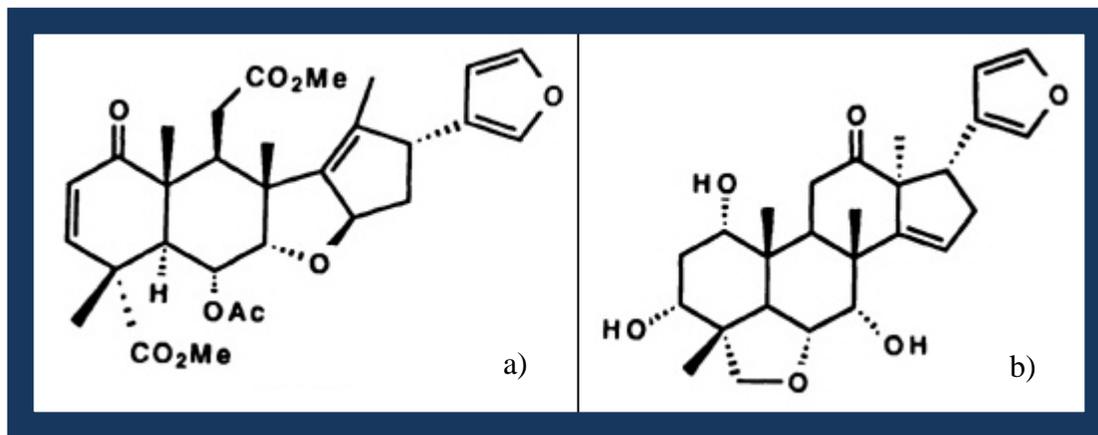


Figura 7. Estructura molecular (NRC, 1992) a) *nimbina* b) *nimbidina*

En la Tabla 2 se presenta un resumen de la actividad de los principales componentes activos presentes en el árbol de Neem.

Tabla 2. Compuestos activos de mayor importancia presentes en el Neem (Pijoan, 2004)

Compuesto Activo	Actividad
Azadiractina	Repelente, antialimentaria y antihormonal de insectos.
Nimboesterol	Anti-inflamatoria, anticancerígena, antioxidante, espermicida, antimutagénica
Meliantriol	Repelente de insectos
Nimbidina	Antibacteriana, anti-inflamatoria, analgésica, antiarrítmica y antifúngica.
Kaempferol	Anti-inflamatoria, antioxidante, antiséptica, antimutagénica y antihistamínica
Nimbina	Anti-inflamatoria, antipirética, antihistamínica y antifúngica

Continuación Tabla 2. Compuestos activos de mayor importancia presentes en el Neem (Pijoan, 2004)

Compuesto Activo	Actividad
Quercetina	Antiprotozoica (incluso antimalaria), antifúngica
Salanina	Repelente de insectos
Nimbinina	Anti-inflamatoria
Miricetina	Anti-inflamatoria, antioxidante, antiséptica, antimutagénica y antihistamínica
Ácidos grasos	Anti-inflamatoria, antioxidante.

## II.1.6 Aplicaciones del árbol de Neem

### II.1.6.1 Aplicaciones cosméticas (NRC, 1992)

El aceite de Neem de la India es empleado en la fabricación de jabones a pequeña y gran escala debido a su bajo costo. También es utilizado en la elaboración de otros artículos cosméticos, tales como: cremas faciales, esmaltes de uñas y champú.

### II.1.6.2 Aplicaciones agrícolas

#### → Fertilizante (NRC, 1992)

El Neem ha demostrado un potencial considerable como fertilizante. El residuo que queda después de que el aceite ha sido extraído (llamado “Torta de Neem”), contiene más nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio que el estiércol y las aguas residuales. Es ampliamente utilizado en la India para fertilizar los cultivos, especialmente la caña de azúcar y las hortalizas.

#### → Control de plagas (Neem Foundation, s.f)

Las semillas y hojas del Neem contienen muchos compuestos que son útiles para el control de plagas. Estos compuestos pertenecen a una clase general de

productos naturales denominada “limonoides” y lo convierten en un inocuo y eficaz insecticida, plaguicida, nematocida y fungicida.

Queda mucho por investigar en cuanto a los mecanismos exactos de la actividad de las moléculas presentes en el aceite de Neem, pero sus efectos principales sí son muy conocidos y se presentan a continuación:

- Interrupción o inhibición del desarrollo de los huevos, larvas o pupas.
- Interferencia con la metamorfosis.
- Interrupción del apareamiento y la comunicación sexual.
- Esterilización de las formas adultas.
- Inhibición de la oviposición.
- Inhibición de la alimentación.
- Bloqueo de la deglución (probablemente por parálisis mandibular).
- Efecto repelente.
- Inhibición de la formación de quitina (alteración de las mudas).

### *II.1.6.3 Aplicaciones medicinales*

Sus propiedades antisépticas son ampliamente reconocidas. Se ha informado sobre su eficacia contra cierta diversidad de enfermedades de la piel, llagas, quemaduras infectadas y algunos hongos como el pie de atleta.

Tradicionalmente en la India esta planta ha sido empleada para el tratamiento de varias enfermedades víricas. Experimentos con la viruela y la varicela muestran que el Neem no representa una cura para estas enfermedades, sin embargo, es un elemento eficiente con fines de su prevención pues sus extractos pueden absorber el virus impidiéndole que se incorpore a las células sanas. Otras pruebas recientes,

aunque no confirmadas han demostrado que el Neem es eficaz contra el virus del herpes y la ADN polimerasa viral del virus de la hepatitis.

Diversas pruebas de laboratorio realizadas en Alemania y Brasil muestran que el Neem puede ser una respuesta a la enfermedad de Chagas, que es transmitida por un insecto denominado chinche picuda o chinche besucona.

El Neem es también utilizado para el tratamiento de fiebres debido a sus propiedades antipiréticas. Además, posee poder analgésico y efectos anti-inflamatorios, pudiendo ser transformado industrialmente en un medicamento barato y fácilmente disponible para la mayoría de enfermedades comunes.

Aunque la lista es extensa, entre las enfermedades que pueden ser tratadas con esta planta se destacan: artritis, cáncer, úlceras, malaria, estrés, reumatismo y enfermedades cardiovasculares.

#### *II.1.6.4 Otras aplicaciones (NRC, 1992)*

##### *→ Lubricante*

El aceite de Neem resiste mejor la degradación que la mayoría de los aceites vegetales y tiene utilidad como lubricante de maquinarias. En las zonas rurales de India es frecuente su uso para engrasar las ruedas de las carretas.

##### *→ Combustible*

El carbón vegetal obtenido a partir de la madera del árbol de Neem es de excelente calidad, con un alto valor calorífico. Por su parte, el aceite puede ser empleado como fuente luminosa. En la India, es comúnmente quemado en lámparas para el alumbrado.

##### *→ Reforestación*

Es útil como medio de protección contra el viento y un buen recurso para proveer de sombra a otros cultivos y especies.

La plantación de árboles de Neem en gran escala podría mejorar el deterioro de los ecosistemas de las zonas consideradas más inadecuadas a través de la reducción de las inundaciones, la sedimentación y la erosión del suelo.

## **II.2 Aceites Esenciales**

### **II.2.1 Definición**

Los aceites esenciales son mezclas de numerosas sustancias orgánicas pertenecientes a diferentes clases de compuestos, tales como: hidrocarburos, ésteres, alcoholes, aldehídos, algunos ácidos, fenoles, entre otros. Estos elementos son el resultado de cadenas de biosíntesis vegetal y se les denomina metabolitos secundarios de las plantas. (Stashenko, 2008)

Generalmente son destilables por arrastre con vapor de agua y tienen gran importancia en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes).

Los aceites esenciales se encuentran ampliamente distribuidos en unas 60 familias de plantas aromáticas, tales como: Mirtaceae, Laureaceae, Rutaceae, Labiatae, Compositae, Umbelliferae, Pinaceae, Poaceae, Verbenaceae, Zingiberaceae y Piperaceae, entre otras. Se les puede encontrar en diferentes partes de la planta: en las hojas (ajenjo, albahaca, buchú, cidrón, eucalipto, hierbabuena, limoncillo, mejorana, menta, pachulí, quenopodio, romero, salvia, toronjil), en las raíces (angélica, asaro, azafrán, cálamo, cúrcuma, galanga, jengibre, sándalo, sasafrás, valeriana, vetiver), en el pericarpio del fruto (limón, mandarina, naranja), en las semillas (anís, cardamomo, eneldo, hinojo, comino), en el tallo (canela, caparrapí), en las flores (arnica, lavanda, manzanilla, piretro, tomillo, clavo de olor, rosa) y en los frutos (alcaravea, cilantro, laurel, nuez moscada, perejil, pimienta). (Martínez, 2003)

## II.2.2 Clasificación (Martínez, 2003)

Los aceites esenciales se clasifican en base a diferentes criterios: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes mayoritarios.

→ De acuerdo con su consistencia

- *Esencias fluídas*: son líquidos volátiles a temperatura ambiente.
- *Bálsamos*: son de consistencia más espesa, poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización (bálsamo de copaiba, bálsamo del Perú, Benjuí, bálsamo de Tolú, Estoraque).
- *Oleorresinas*: tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, chicle, balata, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavel).

→ De acuerdo a su origen

- *Naturales*: se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores. Debido a su rendimiento bajo son muy costosos.
- *Artificiales*: se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes (esencia de anís enriquecida con anetol).
- *Sintéticos*: son los producidos por la combinación de sus componentes en procesos de síntesis química. Estos son más económicos y por lo tanto mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencias de vainilla, limón, fresa).

→ De acuerdo a la naturaleza química de sus componentes mayoritarios

- *Monoterpenoides*: los ricos en monoterpenos (hierbabuena, albahaca, salvia).
- *Sesquiterpenoides*: los ricos en sesquiterpenos (copaiba, pino, junípero).
- *Fenilpropanoides*: los ricos en fenilpropanos (clavo, canela, anís).

### II.2.3 Composición química

Los aceites esenciales son mezclas muy complejas de varios componentes. En muchos de ellos se han identificado entre 100 y 150 compuestos y en algunos más de 300 (Primo, 1996).

Entre los compuestos presentes en los aceites esenciales figuran como elementos mayoritarios los derivados de ácidos grasos (triglicéridos) y los terpenos y en pequeñas proporciones se pueden encontrar otros componentes como derivados del fenilpropano, ácidos orgánicos y cumarinas.

→ Terpenos

Se conocen más de 22.000 terpenos con una gran diversidad de estructuras que pueden ser de cadena abierta o presentar anillos.

Algunos terpenos son hidrocarburos y otros son compuestos oxigenados. En la Figura 8 se pueden observar las estructuras moleculares de algunos hidrocarburos terpénicos.

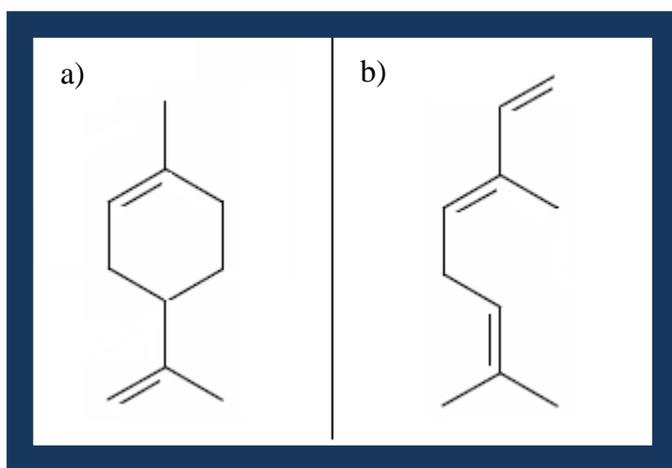


Figura 8. Estructura molecular de algunos hidrocarburos terpénicos: a) limoneno, b) mirceno

Los terpenos oxigenados más comunes son los alcoholes, las cetonas y los aldehídos. En la Figura 9 se observan ejemplos de dichos compuestos oxigenados.

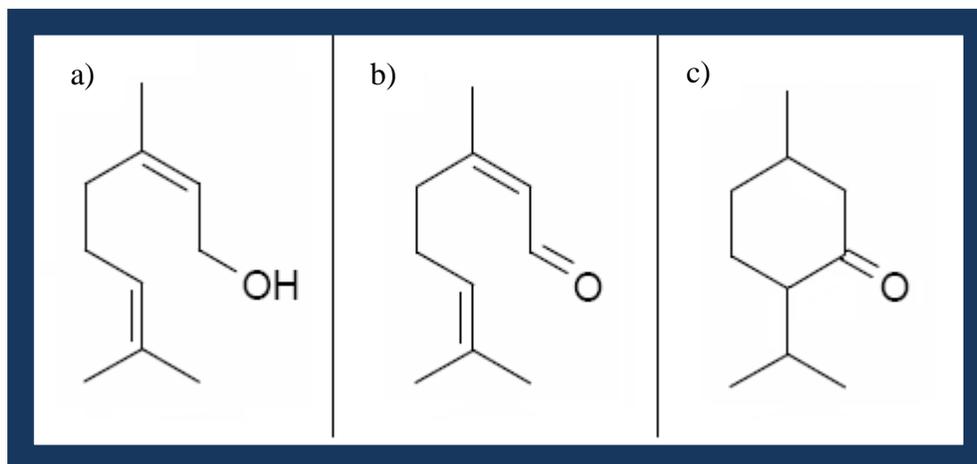


Figura 9. Estructura molecular de algunos terpenos oxigenados : a) geraniol, b) citral, c) mentona

Todos los terpenos están relacionados, no importa cuáles sean sus diferencias estructurales aparentes. De acuerdo con la denominada «regla del isopreno», propuesta por Leopold Ruzicka, se puede considerar que los terpenos provienen de la unión de la cabeza con la cola de las unidades de isopreno de cinco carbonos (2-metil-1,3-butadieno). Al carbono 1 se le llama cabeza de la unidad de isopreno y al carbono 4, cola. (Figura 10) (McMurry, 2005)

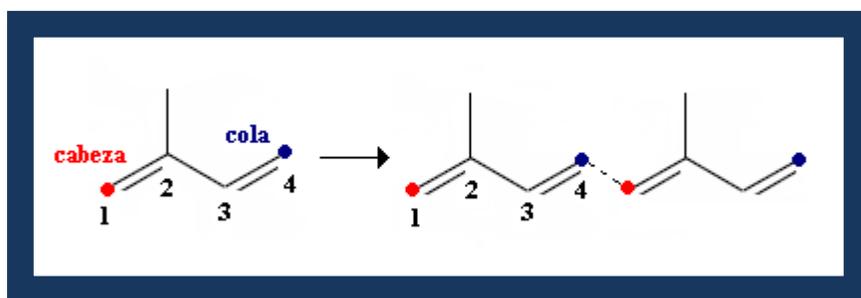


Figura 10. Molécula de isopreno y esquema de la “regla del isopreno”.

Los terpenos se clasifican de acuerdo con el número de unidades de isopreno que contienen. Así, los monoterpenos son sustancias de 10 carbonos hechas a partir de 2 unidades de isopreno; los sesquiterpenos son moléculas de 15 carbonos a partir de 3 unidades de isopreno, etc. Esta clasificación es presentada en la siguiente tabla:

Tabla 3. Clasificación de los terpenos (Gil y Sáez, 2005)

Átomos de carbono	Unidades de isopreno	Clasificación
10	2	Monoterpenos
15	3	Sesquiterpenos
20	4	Diterpenos
25	5	Sesterterpenos
30	6	Triterpenos
40	8	Tetraterpenos

→ Derivados del fenilpropano

Son compuestos naturales ampliamente distribuidos en los vegetales y derivados biosintéticamente del ácido shikímico.

Estas sustancias están caracterizadas por presentar en su estructura química un anillo aromático unido a una cadena de 3 carbonos. La cadena lateral puede presentar insaturaciones y varios estados de oxidación (grupos metilo, hidroximetileno, aldehído y carboxilo). Por su parte, el anillo aromático generalmente está sustituido en los carbonos 3, 4 y 5, siendo los sustituyentes principales los grupos hidroxilo y metoxilo o metiléndioxi. (Martínez, 2003)

En la Figura 11 se pueden observar algunos ejemplos de compuestos derivados del fenilpropano.

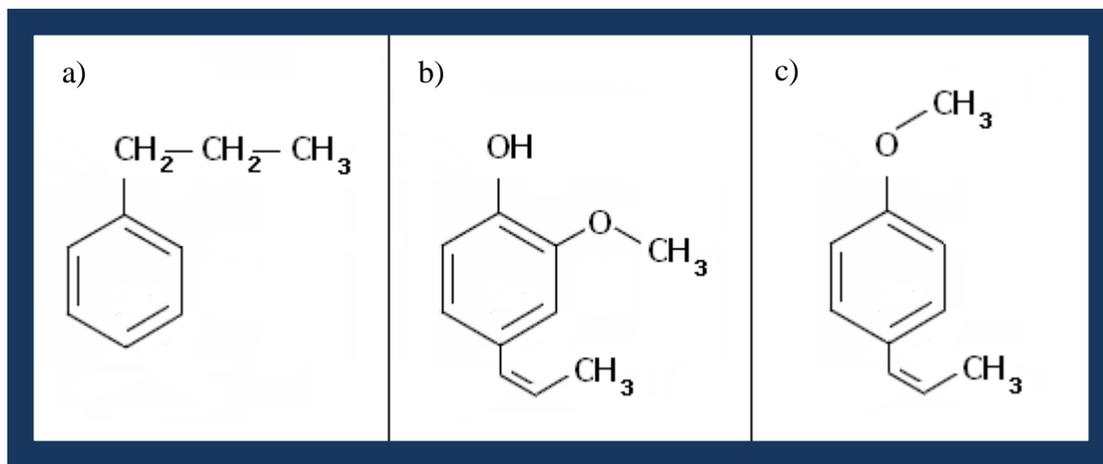


Figura 11. Estructura molecular: a) fenilpropano, b) eugenol (derivado del fenilpropano), c) anetol (derivado del fenilpropano)

→ Compuestos diversos

En los aceites esenciales además de todos los compuestos mencionados anteriormente, se pueden encontrar pequeñas cantidades de otras sustancias tales como: ácidos orgánicos (acético, valérico, isovalérico), cumarinas (bergapteno) y cetonas de bajo peso molecular.

#### II.2.4 Propiedades físicas y organolépticas (Gil y Sáez, 2005)

A continuación se presentan las propiedades físicas y organolépticas de los aceites esenciales:

- Normalmente son líquidos a temperatura ambiente.
- Poseen aroma.
- Poco solubles en agua.

- Fácilmente solubles en compuestos orgánicos.
- Generalmente incoloros o de color amarillo pálido recién obtenidos.
- Fácilmente alterables o sensibles a la oxidación. Por exposición al aire se tornan espesos y se colorean intensamente.
- La gran mayoría presenta una densidad inferior a la del agua.
- Poseen un índice de refracción elevado.

### **II.3 Extracción líquido-sólido**

La extracción líquido - sólido, es una operación de la ingeniería química que se usa en numerosos procesos industriales. Técnicamente, es una operación de transferencia de masa donde un disolvente o mezcla de éstos extraen selectivamente uno o varios solutos que se hallan dentro de una matriz sólida.

Al igual que en la destilación, existen una serie de parámetros físico - químicos, tales como: la viscosidad del disolvente, los coeficientes de solubilidad de los solutos, los coeficientes de difusión y las temperaturas de ebullición, que son de importancia fundamental para el diseño del equipo y el éxito del proceso de extracción.

El proceso de extracción consta de tres etapas principales: el mezclado de la materia prima con el disolvente, la separación de las dos fases y la recuperación del disolvente. La rentabilidad económica del proceso se basa principalmente en el grado de pureza del extracto y en la eficiencia de la recuperación del disolvente, sobre todo si el costo de éste es elevado.

Para que se pueda llevar a cabo la extracción se deben considerar una serie de fenómenos físicos que ocurren durante el proceso:

- La difusión del compuesto que se desea separar, desde el interior de la materia prima hasta la superficie y de allí hacia la fase en que se encuentra el disolvente. Para esto se necesita que el disolvente haya penetrado en la materia prima previamente, con la finalidad de arrastrar el compuesto deseado.
- La solubilidad del compuesto que se desea extraer en el disolvente utilizado. Esto se debe a que la máxima concentración que se puede obtener en el extracto es aquella que corresponde a la concentración de saturación del soluto, es decir, a mayor concentración de saturación del soluto se necesitará un menor número de ciclos para lograr la separación deseada.
- El tiempo de contacto necesario para lograr el equilibrio de la concentración del soluto en la materia prima y en el disolvente. (González, 2007)

La extracción con solventes utiliza solventes específicos que deben ser seleccionados bajo ciertos criterios con el fin de cumplir las especificaciones de operación del proceso. Algunos de los criterios que se utilizan para seleccionar el disolvente son: seguridad, costo, solubilidad, facilidad de remoción y recuperación del solvente, toxicidad y reactividad química. (Carballo, 2008)

### **II.3.1 Factores que influyen en la extracción de los aceites esenciales** (Vivekananda et. al., 2007)

#### *II.3.1.1 Elección del disolvente*

La elección del disolvente más adecuado es esencial para obtener un óptimo proceso de extracción. Entre las propiedades físicas del disolvente se deben considerar principalmente: su capacidad de penetración, su interacción con la matriz de la muestra y la solubilidad del analito en él.

Interesa que el disolvente posea una gran selectividad y que de esta forma extraiga la mayor cantidad posible de analito y la menor cantidad de matriz de la muestra.

A continuación se presentan, en la Tabla 4, algunos solventes típicos para extraer aceites esenciales y que serán los utilizados en el presente Trabajo de Grado.

Tabla 4. Solventes usados para la extracción de aceites esenciales (Vivekananda et. al., 2007)

Solvente	Fórmula	Punto de ebullición a 1 atm de presión (°C)
Agua	H <sub>2</sub> O	100,0
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	78,5
Propanol	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	97,2
Hexano	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	69,0
Ciclohexano	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub>	81,0

### II.3.1.2 Volumen de disolvente

Debe ser suficiente para cubrir en su totalidad a la muestra, sobre todo en aquellos casos en los que ésta pueda hincharse. Lógicamente el volumen de disolvente a emplear vendrá relacionado con la cantidad y volumen de material a extraer.

### II.3.1.3 Temperatura

Es uno de los parámetros más estudiados en cualquier técnica de extracción, debido a que a mayor temperatura de trabajo se obtiene una mayor eficiencia en la separación. Al aumentar la temperatura el disolvente tiene mayor capacidad para disolver el analito, además disminuye su tensión superficial y su viscosidad, lo que permite una mayor mojabilidad de la muestra.

#### II.3.1.4 *Tiempo de extracción*

Un buen estudio sobre la optimización de este parámetro es de vital importancia ya que varía en función de la materia prima y el método de extracción. Los tiempos empleados en la extracción asistida por microondas y asistida por ultrasonido son significativamente más cortos que los utilizados en las técnicas convencionales.

#### II.3.1.5 *Influencia de otros parámetros en el proceso de extracción*

La extracción de un analito puede verse modificada por:

- *La cantidad de agua o humedad que posea la muestra:* ya que el agua absorbe fuertemente la energía de microondas y puede producir un sobrecalentamiento durante la extracción.
- *La potencia del magnetrón:* es un parámetro que puede influir en la extracción asistida por microondas, ya que si es insuficiente no se alcanzará la temperatura de extracción y si es muy superior, se produce el llamado efecto “bumping”, que consiste en un calentamiento brusco y no homogéneo en el tiempo, con radiaciones muy energéticas, seguidas de largos tiempos con radiación prácticamente nula.
- *Efecto del pH:* la eficiencia en la extracción de determinadas familias de compuestos depende del pH, ya que los compuestos ácidos absorben fuertemente la energía de microondas.

## II.4 **Métodos de extracción con solventes**

### II.4.1 **Extracción soxhlet** (Largo, 2004)

La destilación por arrastre de vapor o Soxhlet ha sido (y en muchos casos, continua siendo) el procedimiento estándar de extracción de muestras sólidas más

utilizado desde su diseño en el siglo pasado, y actualmente es el principal método de referencia con el que se comparan otras técnicas.

Para su funcionamiento la muestra se introduce en un cartucho poroso de celulosa, que actúa como filtro. Este cartucho se coloca en el interior del tubo soxhlet como indica la Figura 12. En el matraz de fondo redondo se introduce el disolvente que al aplicar calor se evapora, llegando al refrigerante por el tubo A y destilando encima del cartucho que contiene la muestra. El disolvente va llenando lentamente el compartimiento de la matriz sólida hasta llegar al nivel del tubo B, que por efecto sifón arrastra todo el extracto de vuelta al matraz. Este ciclo se repite varias veces, obteniéndose siempre una extracción de la muestra con disolvente puro.

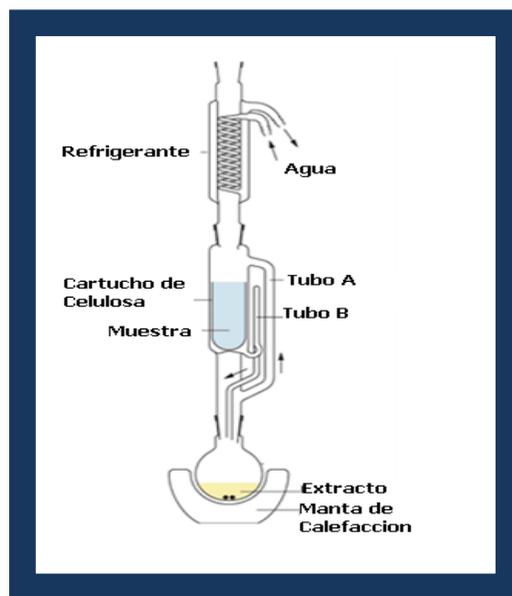


Figura 12. Esquema de un extractor soxhlet. (Largo, 2004)

#### II.4.2 Hidrodestilación (Armas y Corredor, 2007)

La destilación con agua o hidrodestilación, es una de las técnicas más antiguas y simples usadas para la extracción de los aceites esenciales. En este método el material vegetal se pone en contacto con agua dentro de un recipiente o alambique donde se calienta directamente hasta ebullición, permitiendo que la esencia contenida

en la planta se desprenda por el calentamiento y forme una mezcla junto con el agua que se evapora. El vapor pasa a través de un conducto y llega a un sistema de enfriamiento donde se condensa la mezcla, y luego a otro recipiente donde se recolecta el aceite líquido. La separación del aceite del agua líquida se realiza, bien sea aprovechando la diferencia de volatilidad, o por diferencia de densidad entre las sustancias.

### **II.4.3 Extracción supercrítica**

La extracción con fluidos supercríticos es una técnica de separación de sustancias disueltas o incluidas dentro de una matriz, basada fundamentalmente en la capacidad que tienen determinados fluidos en estado supercrítico (FSC) de modificar su poder disolvente. La extracción se realiza sin cambios de fase, simplemente variando las condiciones de presión y/o temperatura de los FSC. (Raventós, 2005)

La extracción supercrítica consta de 4 pasos: extracción, expansión, separación y compresión del solvente. En primer lugar, el fluido es sometido a compresión y calentamiento con la finalidad de alcanzar las condiciones supercríticas a las que disuelve los compuestos a extraer. Luego se carga el extractor con la materia prima a utilizar en la extracción del compuesto requerido y se coloca en contacto con el fluido supercrítico. Transcurrido cierto tiempo, la mezcla de extracto y solvente se somete a una descompresión. Se obtiene el extracto en la etapa de separación liberando el soluto, y el solvente puede ser sometido a un proceso de condensación y compresión para volver a utilizarse. (Soledad, 2007).

### **II.4.4 Extracción asistida por microondas (EAM) (Vivekananda et. al., 2007)**

La extracción asistida por microondas emplea radiación electromagnética de microondas para desorber el analito de su matriz. Estas radiaciones generan un aumento de la temperatura y la presión dentro de la muestra sólida, causando un

rompimiento de su pared celular, dando paso al solvente y disolviendo al compuesto de interés.

Las microondas son ondas electromagnéticas de alta energía. Su principal actuación consiste en su capacidad de producir cambios en la rotación molecular y en la movilidad iónica del medio sin alterar la muestra.

De todo el espectro electromagnético, sólo se considera radiación de microondas a aquella cuya longitud de onda esté comprendida entre 1 mm y 30 cm, con frecuencias de 100 GHz a 100 MHz, esto sitúa a éste tipo de radiación entre las ondas de radio y la zona infrarroja. A pesar del amplio rango de frecuencias posibles, los hornos microondas comerciales, tanto domésticos como científicos, sólo trabajan a frecuencias de 2450 MHz.

El horno microondas es una cavidad multifuncional diseñada para resonar las microondas emitidas por el magnetrón (Figura 13). Las microondas son emitidas desde la antena del magnetrón y transferidas hacia la cavidad del horno a través de otras guías de ondas diseñadas para transferir energía sin pérdidas de ningún tipo. Cuando las emisiones llegan a la cavidad son absorbidas directamente por la materia o rebotan en las paredes hasta que finalmente chocan con el cuerpo absorbiéndose de manera definitiva. (Parra, 1995)

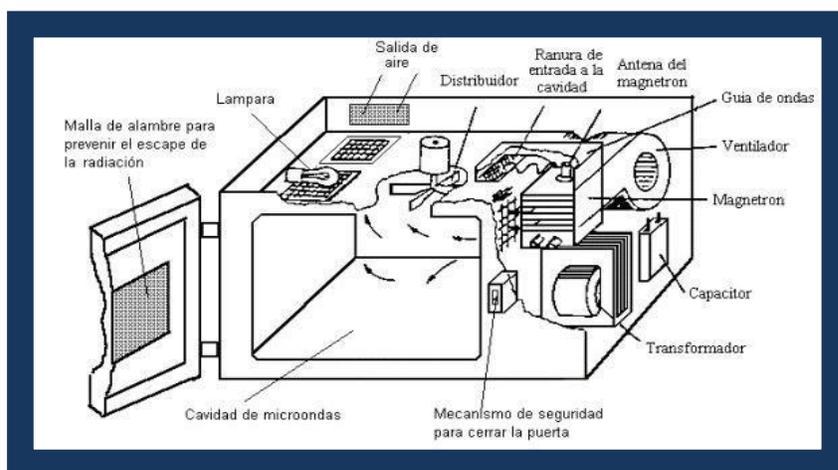


Figura 13. Esquema de un horno microondas (Vivekananda et. al., 2007)

El principio por el cual se produce calentamiento al emplear energía de microondas puede ser por conducción iónica o por rotación bipolar, produciéndose ambos mecanismos simultáneamente en multitud de ocasiones.

→ *Disipación de energía por conductividad iónica.*

Se produce por la migración electroforética de los iones al aplicar un campo electromagnético. Al atravesar una onda electromagnética a un fluido, los iones presentes en éste se ven afectados por su paso ejerciendo una fuerza que los hace migrar en función del campo eléctrico. Esta migración lleva asociada una resistencia del fluido al movimiento iónico produciendo un calentamiento generalizado de la muestra.

→ *Disipación de energía por rotación de dipolos.*

En moléculas con dipolos eléctricos, el campo eléctrico asociado a la radiación electromagnética produce un alineamiento de los mismos con el campo. De este modo, cuando pasa la onda los dipolos se encuentran ordenados perfectamente en la dirección del campo, pero cuando éste cesa las moléculas se reorganizan anárquicamente produciéndose fricción con el disolvente y por lo tanto, calor.

Ambos fenómenos de disipación de energía ocurren en todos los lugares de la disolución por igual permitiendo un calentamiento homogéneo de la muestra. Este calentamiento es más eficiente que el llevado a cabo con el empleo de mantas, donde primero se calienta el recipiente y luego el recipiente calienta a la muestra.

La capacidad de un disolvente para absorber energía de microondas y comunicarla a otras moléculas presentes en él depende de su factor de disipación. El factor de disipación ( $\tan \delta$ ) de un disolvente es el cociente entre su pérdida dieléctrica ( $\epsilon''$ ), la eficiencia en convertir la energía microondas en calor, y su constante dieléctrica ( $\epsilon'$ ), la polarizabilidad de una molécula en un campo magnético.

Las moléculas polares y los ácidos absorben las microondas muy intensamente por presentar una constante dieléctrica muy elevada, mientras que solventes no polares como el hexano o el tolueno absorben una menor cantidad de energía por poseer una constante dieléctrica baja.

La Tabla 5 muestra la constante dieléctrica de los disolventes más usados en el proceso de extracción asistida por microondas (EAM).

Tabla 5. Constante dieléctrica ( $\epsilon'$ ) de los principales disolventes usados en EAM.

(Vivekananda et. al., 2007)

Disolvente	Constante Dieléctrica. $\epsilon'$
Agua	80,1
Acetonitrilo	37,5
Metanol	32,6
Etanol	24,3
Acetona	20,7
Ciclohexanona	18,3
Tolueno	2,3
Hexano	1,9

Existen tres mecanismos por los cuales se produce la extracción de un analito de una muestra empleando microondas:

- *Mecanismo I:* la muestra se sumerge en un disolvente o mezcla de ellos que absorben intensamente la energía de las microondas y producen un calentamiento.
- *Mecanismo II:* la muestra se puede extraer combinando disolventes polares que absorban las microondas y apolares que extraigan el analito.

- *Mecanismo III*: se emplean disolventes transparentes a las microondas para extraer el analito. Esto se debe a que las muestras por sí solas son capaces de absorber la energía de microondas, sobre todo aquellas con un elevado contenido de agua. (Vivekananda et. al., 2007)

#### *II.4.3.1 Ventajas y desventajas del uso de las microondas* (Señoráns, 2004)

Entre las ventajas que se obtienen al realizar la extracción por microondas están:

- Técnica rápida.
- Baja presión de operación.
- Control de todos los parámetros de extracción.
- La energía está localizada y se aprovecha mejor (menor consumo).
- El tamaño de muestra puede ser muy variado.
- Es una técnica robusta y fácil de usar.
- Procesado de varias muestras.

Como todo proceso, el uso de microondas para la separación presenta algunas desventajas, entre las que se pueden mencionar:

- Depende de la matriz y limita los disolventes que se pueden utilizar (conviene que no absorban la energía de microondas).
- El extracto queda en contacto con la muestra al acabar la extracción y necesita una posterior filtración o separación.
- Alteración de componentes termodegradables si se emplean solventes con constantes dieléctricas altas.

#### II.4.3.2 Aplicaciones y estudios anteriores de la extracción con microondas

La aplicación de la extracción asistida con microondas abarca muchas áreas, entre ellas están; ambiente, agricultura, alimentos, biomédica, farmacéutica y productos consumibles. Algunos ejemplos de este tipo de extracción son:

- Determinación de grasa en el cacao en polvo y en la semilla del cacao, sustituyendo los métodos convencionales de extracción por el tratamiento en microondas, sumergiendo las muestras en diferentes solventes.(ElKhorri et. al., 2007)
- Aplicación de la extracción asistida por microondas, para la determinación de paeonol en medicinas tradicionales chinas. (Chunhui et. al., 2006)
- Comparación entre los métodos de extracción convencionales y el asistido por microondas, en la extracción de polifenoles de algunas plantas aromáticas de origen griego (Rosmarinus officinalis, Vitex agnus-cactus, Origanum dictamnus, Origanum majorana, Syrax officinalis.), utilizando diferentes disolventes. (Charalampos y Komaitis, 2008)
- Evaluación de la eficiencia de la extracción asistida por microondas, en la extracción de los componentes del ginseng, esto a través del análisis de la cantidad de solvente utilizado y el tiempo de retención requerido para extracción. (Kwon et. al., 2003)

Entre otras de las aplicaciones que se pueden mencionar está la extracción del aceite de la planta Mentha Piperita (Paré, 1991) y la extracción de residuos de pesticidas a partir de semillas de girasol (Prados et. al., 2003).

En la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad Central de Venezuela también se han realizado estudios de extracción asistida por microondas, entre los que se destacan: la extracción de la cafeína contenida en muestras de granos de café (Carballo, 2008), y de los derivados del cacao venezolano. (Bastidas, 2008)

A pesar de ser un método de extracción relativamente nuevo, la extracción asistida por microondas ya ha sido ampliamente utilizada en muchas áreas, especialmente en la vegetal, obteniéndose excelentes resultados debido a que es una técnica rápida, sencilla y altamente eficiente.

#### **II.4.5 Extracción asistida por ultrasonido (EAU)**

La extracción asistida por ultrasonido emplea sonidos de alta frecuencia para la creación, expansión y destrucción de pequeñas burbujas cerca de las paredes celulares de la materia prima, obligando al solvente a adentrarse dentro de la célula y disolver el compuesto de interés.

Los ultrasonidos son sonidos cuya frecuencia es inaudible para el oído humano y de magnitud muy alta. Constituye una manera barata, simple y eficaz de producir una disolución en muestras sólidas.

Las ondas sonoras son ondas de presión que se transmiten a través de un medio material, en ausencia de éste es imposible su transmisión. Precisamente por ello las ondas sonoras provocan la contracción y posterior expansión del medio en el cual se propagan. Cuando este medio es un disolvente pueden formarse burbujas o cavidades en el líquido que terminen por explotar en un proceso que se conoce como cavitación. Estas burbujas explotan violentamente produciendo un incremento local de presión y temperatura muy notable, que no es perceptible en el sistema como un conjunto debido al pequeño tamaño de las mismas. Debido al aumento de temperatura, el proceso de sonicación favorece la solubilidad donde se produce la explosión de la burbuja, además, el aumento de presión produce una mejor penetración del disolvente al interior del sólido y la formación de un medio reactivo que ataque a la muestra.

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. (Carballo, 2008)

La primera aplicación comercial del ultrasonido fue en 1917; desde entonces, el tema se ha desarrollado y expandido a un gran número de aplicaciones. Los proyectos más importantes que envuelven esta técnica no se encuentran entre los confines de la química sino en tecnologías de procesamiento, ya que ha sido más reconocido en la industria que en los ámbitos de la ciencia pura. (Azuola y Vargas, 2007)

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. (Carballo, 2008)

En la Figura 14 se puede observar un esquema del sistema de extracción asistida por ultrasonido.

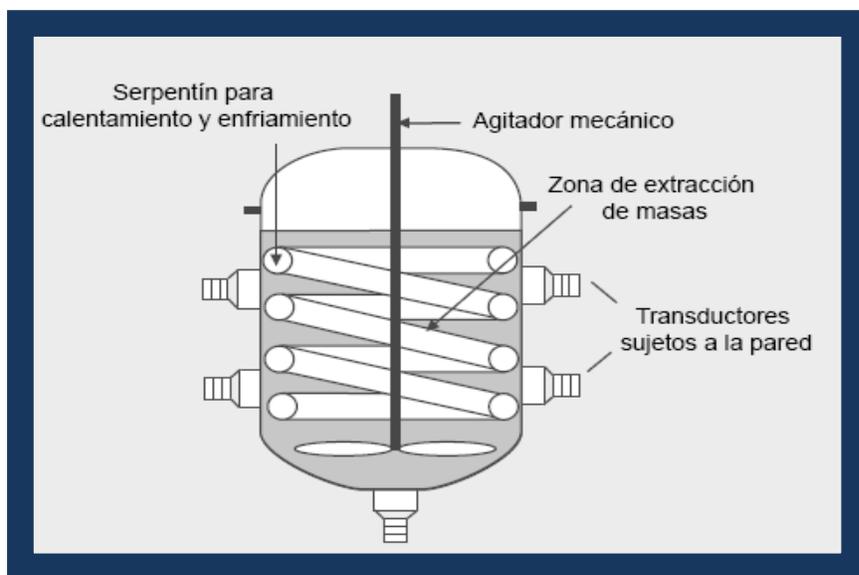


Figura 14. Esquema de un equipo de ultrasonido. (Azuola y Vargas, 2007)

*II.4.4.1 Ventajas y desventajas del uso de ultrasonido (Nollet y Grob, 2006)*

Entre las ventajas del uso de esta técnica están:

- Extracciones rápidas.
- Baja presión de operación.
- Control de todos los parámetros de extracción.
- Es una técnica sencilla.
- Procesado de varias muestras.

Las desventajas que presenta la extracción con ultrasonido:

- Puede ser que se requiera repetir la extracción ya que en algunos casos no se logran los resultados esperados.
- Se requiere filtrar las muestras.
- El envejecimiento de la superficie de la sonda puede afectar la eficiencia de la extracción.
- El tamaño de la muestra es un factor crítico.

*II.4.4.2 Aplicaciones y estudios anteriores de la extracción con ultrasonido.*

La extracción por ultrasonido ha sido usada en varias áreas en el sector industrial y a nivel de laboratorio, entre las que se pueden mencionar:

- Comparación de la eficacia de la extracción con ultrasonido respecto a los métodos tradicionales y la extracción con microondas del aceite de las semillas de tabaco (*Nicotiana. tabacum L.*). (Stanisavljevic et. al., 2007)
- Extracción por ultrasonido de capsaicinoides (capsaicinoids, nordihydrocapsaicin, capsaicin, dihydrocapsaicin, homocapsaicin y homodihydrocapsaicin) presentes en pimientos picantes. (Barbero et. al., 2007)

- Extracción asistida por ultrasonido de compuestos valiosos de plantas aromáticas entre las que se pueden mencionar: las hojas de laurel (*Laurus nobilis* L.), romero (*Rosmarinus officinalis* L.), tomillo (*Thymus vulgaris* L.) y orégano (*Oreganum majorana*). (Roldán et. al., 2008)
- Extracción asistida por ultrasonido de flavonoides en *Saussurea medusa* Maxim (una valiosa y tradicional hierba china) y de las isoflavonas de soya. (Azuola y Vargas, 2007)

Entre otras aplicaciones del uso del ultrasonido se puede mencionar la extracción de Betacyanin (pigmentos de color rojo, por ejemplo, de remolacha) y Betaxanthin (pigmentos de color amarillo), además de ser muy utilizado para la extracción de lípidos y proteínas de semillas vegetales como la soja, y del aceite de semillas oleaginosas. (Dolatowsky et. al., 2007)

De la misma forma que para el caso del microondas, en la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad Central de Venezuela se han desarrollado investigaciones sobre la extracción asistida por ultrasonido, entre los que se destacan: la extracción de la cafeína contenida en muestras de granos de café (Carballo, 2008), y de los derivados del cacao venezolano. (Bastidas, 2008)

## **II.5 Métodos de análisis químico (González, 2007)**

La caracterización y análisis químico de los aceites esenciales se hacen necesarios para determinar la calidad del aceite y su valor comercial. 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 lo que se busca es determinar la cantidad o concentración en que se encuentra una sustancia específica en una muestra.

### **II.5.1 Espectroscopia infrarroja (IR) (Walton y Reyes, 1983)**

Cuando se habla de espectroscopia infrarroja, se refiere al campo de longitudes de onda que va de 2,5 a unas 20 o 25 micras. Esta es la región de longitudes de onda que da mayor información sobre las vibraciones de las moléculas y, por lo tanto, sobre la estructura de las mismas.

La espectroscopia infrarroja se emplea principalmente para la identificación y determinación de estructuras. No es muy empleada en el análisis cuantitativo de mezclas, aunque lo puede ser en casos especiales, ciertamente sin la precisión que alcanza la espectroscopia visible y ultravioleta en las determinaciones cuantitativas, en cambio es mucho más útil para fines de identificación cualitativa.

El espectro infrarrojo (IR) no sólo sirve para caracterizar al compuesto sino que indica su grado de pureza y proporciona frecuentemente alguna orientación acerca de la naturaleza de las impurezas presentes. Además, permite detectar la presencia de grupos hidroxilo, carbonilo, anillos aromáticos, enlaces dobles, cis y trans y tipos de vibraciones.

## CAPÍTULO III

### MARCO METODOLÓGICO

En este capítulo se explica la metodología aplicada para el desarrollo de la investigación de la extracción del aceite esencial de Neem y para el cumplimiento de los objetivos de este Trabajo Especial de Grado. También se explican brevemente los equipos utilizados así como el procedimiento experimental llevado a cabo en cada una de las experiencias.

#### III.1 Metodología general

##### III.1.1 Evaluación preliminar

- Se realizó una revisión bibliográfica para recolectar la información básica acerca del Neem y de los aspectos importantes que involucran la aplicación de las técnicas de extracción asistida por microondas y por ultrasonido.
- Se seleccionaron los solventes: agua, etanol, propanol, hexano y ciclohexano, con base a las siguientes consideraciones:
  - *Agua*. Seleccionado por ser el solvente universalmente más utilizado, de bajo costo y fácil adquisición.
  - *Etanol*. La presencia de compuestos oxigenados en el aceite esencial de Neem que son altamente solubles en alcoholes permitió la escogencia del etanol como solvente, siendo éste uno de los empleados con mayor frecuencia en la industria química.
  - *Propanol*. Se seleccionó básicamente para efectos de comparación con el etanol.
  - *Hexano*. Se eligió debido a su baja constante dieléctrica, lo que evita la degradación del aceite.

- *Ciclohexano*. El aceite esencial de Neem presenta compuestos cíclicos que, por similitud molecular pueden ser extraídos por el ciclohexano.
- Se fijó la cantidad de materia prima a emplear en 5gr. (Se escogió este valor con la finalidad de obtener el extracto suficiente, para realizar el posterior análisis de rendimiento y selectividad)
- Se preparó una mezcla de materia prima y solvente, en una relación 1:3 en peso. (Se seleccionó esta relación para garantizar que el solvente cubriera en su totalidad a la materia prima)

Como este Trabajo Especial de Grado consta de dos partes, primero se explica la metodología aplicada en la extracción asistida por microondas y más adelante la metodología para la extracción asistida por ultrasonido.

### **III.1.2 Extracción asistida por microondas (EAM)**

- Se llevó a cabo el proceso de extracción en el microondas para cada uno de los solventes hasta alcanzar el punto de ebullición, estableciendo una potencia fija de 100% en el equipo. Se registraron estos tiempos. (Tabla 8 de la sección IV.I de resultados y discusión)
- Se determinó el rendimiento y la selectividad del extracto obtenido y se seleccionó el solvente que proporcionó el mejor resultado para ambos parámetros.
- Una vez elegido el mejor solvente, se efectuó la extracción variando la potencia del microondas en 70, 50 y 30%, estableciendo como tiempo de residencia, el registrado para este solvente en la primera parte de la experiencia al alcanzar el punto de ebullición.
- Se determinó el rendimiento y la selectividad del extracto obtenido y se seleccionó la potencia que proporcionó el mejor resultado para ambos parámetros.

- Con el solvente y la potencia antes seleccionados, se realizó la extracción en el microondas modificando el tiempo de residencia de la muestra mediante un barrido de dos (2) tiempos inferiores al registrado para este solvente en la primera parte de la experiencia al alcanzar el punto de ebullición.
- Se determinó el rendimiento y la selectividad del extracto obtenido y se seleccionó el tiempo que proporcionó el mejor resultado para ambos parámetros.
- Se determinaron dos (2) tipos de rendimiento, total (relacionado a toda la masa extraída de las hojas) y específico (relacionado solo a los componentes no volátiles extraídos). El rendimiento total se obtuvo mediante la diferencia de peso de las hojas de Neem antes y después de realizar las pruebas correspondientes. El rendimiento específico se obtuvo pesando la masa del residuo de un proceso de evaporación de la muestra líquida en el cual se separaron los compuestos volátiles de los no volátiles (aceite).
- La selectividad se determinó a través de un análisis de espectroscopia infrarroja.

### **III.1.3 Extracción asistida por ultrasonido (EAU)**

- Basándose en la bibliografía estudiada, se establecieron como tiempos de residencia para la muestra en el ultrasonido los valores de 15, 25 y 35 minutos. (Zhang et. al., 2008)
- Se llevó a cabo el proceso de extracción en el ultrasonido para cada uno de los solventes, estableciendo como temperatura fija la ambiental durante un tiempo de 15 minutos.
- Se determinó el rendimiento y la selectividad del extracto obtenido y se seleccionó el solvente que proporcionó el mejor resultado para ambos parámetros.

- Una vez elegido el mejor solvente se efectuó la extracción en el ultrasonido para los tiempos de residencia de 25 y 35 minutos, manteniendo fija la temperatura del equipo en el valor ambiental.
- Se determinó el rendimiento y la selectividad del extracto obtenido y se seleccionó el tiempo que proporcionó el mejor resultado para ambos parámetros.
- Con el solvente y el tiempo antes seleccionados, se realizó la extracción en el ultrasonido para tres (3) valores de temperatura comprendidos entre la temperatura ambiente y la temperatura correspondiente al punto ebullición del solvente mostrada en la Tabla 4 de la sección II.3.I.I de marco teórico.
- Se determinó el rendimiento y la selectividad del extracto obtenido y se seleccionó la temperatura que proporcionó el mejor resultado para ambos parámetros.
- Se determinaron dos (2) tipos de rendimiento, total (relacionado a toda la masa extraída de las hojas) y específico (relacionado solo a los componentes no volátiles extraídos). El rendimiento total se obtuvo mediante la diferencia de peso de las hojas de Neem antes y después de realizar las pruebas correspondientes. El rendimiento específico se obtuvo pesando la masa del residuo de un proceso de evaporación de la muestra líquida en el cual se separaron los compuestos volátiles de los no volátiles (aceite).
- La selectividad se determinó a través de un análisis de espectroscopia infrarroja.

Finalmente se compararon los resultados arrojados por las técnicas de extracción asistida por microondas y ultrasonido con los reportados en la bibliografía para las técnicas de destilación por arrastre de vapor (soxhlet), hidrodestilación y extracción supercrítica.

### III.2 Plan de experiencias.

En esta sección se presenta el plan de experiencias o pruebas que se realizaron para el cumplimiento de los objetivos de este Trabajo Especial de Grado.

A continuación se muestra la Tabla 6 donde se observa de manera detallada las experiencias efectuadas en la extracción asistida por microondas del aceite esencial de Neem, así como el número de pruebas y repeticiones.

Tabla 6. Número de experiencias realizadas en la extracción asistida por microondas

Variables	Número de pruebas	Número de repeticiones	Total
Solvente	5	2	10
Potencia	3	2	6
Tiempo de Residencia	2	2	4
<i>Total</i>	<i>10</i>	<i>2</i>	<i>20</i>

Las experiencias realizadas en la extracción asistida por ultrasonido se observan de manera detallada en la Tabla 7.

Tabla 7. Número de experiencias realizadas en la extracción asistida por ultrasonido

Variables	Número de Pruebas	Número de Repeticiones	Total
Solvente	5	2	10
Tiempo de Residencia	2	2	4
Temperatura	3	2	6
<i>Total</i>	<i>10</i>	<i>2</i>	<i>20</i>

### III.3 Descripción de los principales equipos.

#### III.3.1 Horno microondas

El equipo utilizado para el desarrollo de las pruebas en la extracción asistida por microondas, fue un horno marca Sharp, modelo R-520L (Figura 15), cuya potencia máxima es de 1200 watts y opera a una frecuencia de 2450 MHz. Posee un panel de control en donde se manipula la potencia y el tiempo de residencia a la que se someten las muestras dentro del equipo.



Figura 15. Horno microondas empleado en las experiencias de EAM.

Tiene un peso aproximado de 20 kilos; sus dimensiones exteriores son de 24” de largo, 13 <sup>3</sup>/<sub>8</sub>” de alto y 19 <sup>1</sup>/<sub>9</sub>” de ancho. Posee una bandeja giratoria de vidrio que permite una irradiación uniforme a través de la muestra.

#### III.3.2 Ultrasonido

Para la extracción asistida por ultrasonido se empleó un equipo marca Brason, modelo 8845-30 Cole Parmer (Figura 16), cuya potencia máxima es de 80 watts y opera a una frecuencia de ultrasonido de 50/60 MHz. Posee un dispositivo de

encendido y apagado y está conformado por una bandeja de acero inoxidable donde se colocan las muestras.



Figura 16. Equipo de ultrasonido empleado en las experiencias de EAU.

Para controlar la temperatura en el equipo se dispuso de un baño termostático (Figura 17). El sistema de circulación se llevó a cabo por el método sifón para lograr el paso de agua desde el equipo de ultrasonido al baño. El baño tiene una manguera que permite el bombeo del agua contenida en el sistema.



Figura 17. Baño termostático empleado en las experiencias de EAU.

### **III.4 Materiales**

Los materiales utilizados en este Trabajo Especial de Grado se listan a continuación:

- Espátula de acero inoxidable.
- Cajas Petri.
- Beakers 100 ml.
- Matraz Kitasato de 500 ml.
- Embudo Büchner.
- Filtro de vacío.
- Papel de filtro para café.
- Viales para muestras color ámbar de 24 ml.
- Balanza Electrónica.
- Escobilla.
- Mascarilla.
- Pipeta de 25 ml.
- Tubos de ensayo.
- Embudo.
- Estufa.

### **III.5 Procedimiento experimental**

#### **III.5.1 Evaluación preliminar y preparación de las muestras**

- Separar las hojas de Neem del tallo y cortarlas en pequeños trozos de aproximadamente 4 mm de longitud, a fin de aumentar el área de contacto con el solvente.
- Preparar una muestra sumergiendo completamente las hojas picadas en el solvente dentro de un beaker de 100 ml.

### **III.5.2 Extracción con el microondas**

- Verificar que el microondas este enchufado.
- Colocar la muestra dentro del equipo.
- Fijar la potencia y el tiempo para la extracción y presionar la tecla *START*.
- Dejar que opere durante el tiempo estipulado para la extracción.
- Retirar la muestra del microondas.

### **III.5.3 Extracción con ultrasonido.**

- Colocar el baño termostático en un nivel más bajo que el ultrasonido con el fin de garantizar la recirculación del agua desde el ultrasonido al baño por medio del método sifón.
- Llenar el baño termostático con agua por encima del nivel de la manguera de descarga ubicada dentro del equipo para asegurar su buen funcionamiento.
- Tomar la manguera de descarga y la manguera de recirculación y colocarla dentro del ultrasonido.
- Enchufar y encender el baño.
- Regular la temperatura del baño utilizando la perilla de control de temperatura.
- Para llevar a cabo la circulación de agua por medio de la manguera de recirculación, se debe succionar físicamente por el extremo posterior de la manguera y colocarla rápidamente dentro del baño.
- Medir la temperatura del agua contenida dentro del baño hasta que alcance el valor deseado.
- Llenar el ultrasonido con agua corriente hasta llegar a una cuarta parte del alto del recipiente de acero inoxidable.
- Colocar la muestra dentro del ultrasonido.

- Encender el ultrasonido y dejar que opere durante el tiempo estipulado.
- Apagar el equipo.
- Retirar la muestra del equipo y dejarla reposar por espacio de un minuto para recuperar el solvente adherido en las paredes del beaker.

#### **III.5.4 Preparación del extracto para el análisis de rendimiento y selectividad**

- Filtrar la muestra al vacío para separar las hojas del extracto obtenido.
- Colocar las hojas en la estufa para evaporar los restos de líquido y dejarlas enfriar por un tiempo.
- Pesar las hojas y registrar este valor. (Tablas 22 y 23 del Anexo A)
- Depositar en un beaker limpio el extracto procedente del filtrado.
- Colocar el beaker con el extracto en una estufa a una temperatura de 60 °C por 24 horas para evaporar todos los compuestos volátiles y dejar reposar hasta que se enfríe.
- Pesar el residuo obtenido luego de la evaporación y anotar este valor. (Tablas 22 y 23 del Anexo A)

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

A continuación se exponen las propiedades físicas, químicas y organolépticas de los extractos obtenidos en los procesos de extracción asistida por microondas y extracción asistida por ultrasonido, correspondientes a las diversas etapas experimentales de evaluación de las variables que se indican en los objetivos específicos. El análisis de estas propiedades se presenta a partir de la comparación con un aceite esencial de Neem comercial que fue obtenido empleando destilación por arrastre de vapor de agua (soxhlet). Finalmente, se compara el rendimiento, la selectividad y las condiciones de operación (presión, temperatura y tiempo de residencia) de las técnicas de extracción asistida por microondas y ultrasonido con los reportados en la bibliografía para las técnicas de extracción supercrítica, hidrodestilación y soxhlet.

#### **IV.1 Consideraciones Generales**

Todos los resultados presentados en este capítulo corresponden a las pruebas realizadas siguiendo los procedimientos explicados de forma detallada en la sección de metodología.

El análisis de los espectros infrarrojos de las muestras se realizó mediante la determinación de las bandas de absorción según los valores reportados en el Anexo C y tomando en cuenta los grupos funcionales presentes en la estructura molecular de los principales componentes del aceite esencial de Neem observados en el Anexo D.

Se determinaron dos clases de rendimiento, total y específico. El rendimiento total representa toda la masa extraída (componentes volátiles y no volátiles) de la matriz vegetal respecto a su masa inicial, y se calculó a partir de la relación entre la diferencia de peso de las hojas antes y después de realizar la extracción y la masa

inicial de las hojas. El rendimiento específico representa sólo la masa de componentes no volátiles extraídos (aceite esencial) de la matriz vegetal respecto a su masa inicial, y se calculó a partir de la relación entre el peso del residuo resultante de un proceso de evaporación de la muestra líquida y la masa inicial de las hojas. En la Tabla 8 mostrada a continuación se resumen las experiencias llevadas a cabo en la extracción asistida por microondas indicando los parámetros involucrados en cada una de ellas.

Tabla 8. Lista de pruebas realizadas en la EAM y sus parámetros de extracción.

Identificación de la Prueba		Parámetros de extracción		
		Solvente	Potencia (%)	Tiempo (seg)
M1	A	Agua	100	13
	B			
M2	A	Etanol	100	7
	B			
M3	A	Propanol	100	9
	B			
M4	A	Hexano	100	8
	B			
M5	A	Ciclohexano	100	8
	B			
M6	A	Etanol	70	7
	B			
M7	A	Etanol	50	7
	B			
M8	A	Etanol	30	7
	B			
M9	A	Etanol	100	6
	B			
M10	A	Etanol	100	4
	B			

Los ensayos correspondientes a la extracción asistida por ultrasonido y sus parámetros de operación se presentan en la Tabla 9.

Tabla 9. Lista de pruebas realizadas en la EAU y sus parámetros de extracción.

Identificación de la Prueba		Parámetros de extracción		
		Solvente	Tiempo (min)	Temperatura (°C)
U1	A	Agua	15	25
	B			
U2	A	Etanol	15	25
	B			
U3	A	Propanol	15	25
	B			
U4	A	Hexano	15	25
	B			
U5	A	Ciclohexano	15	25
	B			
U6	A	Etanol	25	25
	B			
U7	A	Etanol	35	25
	B			
U8	A	Etanol	25	40
	B			
U9	A	Etanol	25	50
	B			
U10	A	Etanol	25	60
	B			

A las pruebas identificadas con “A” se les determinó el rendimiento total y se les realizó un análisis de espectrometría infrarroja, mientras que a las pruebas identificadas con “B” se les determinó el rendimiento total, el rendimiento específico y la densidad.

Las identificaciones asignadas a cada prueba realizada, tanto en la extracción asistida por microondas como en la extracción asistida por ultrasonido, se utilizan a lo largo de este capítulo como una referencia para ubicar de manera sencilla las condiciones de operación asociadas a cada uno de los resultados mostrados.

## IV.2 Análisis del espectro infrarrojo del aceite esencial de Neem comercial (muestra patrón)

La muestra patrón es un aceite esencial comercial extraído de semillas del árbol de Neem en España mediante el empleo del método de destilación por arrastre de vapor de agua (Soxhlet). Dicha muestra fue analizada bajo las mismas condiciones que las pruebas realizadas en el laboratorio. A continuación se presenta en la Figura 18 el espectro infrarrojo del aceite esencial de Neem comercial.

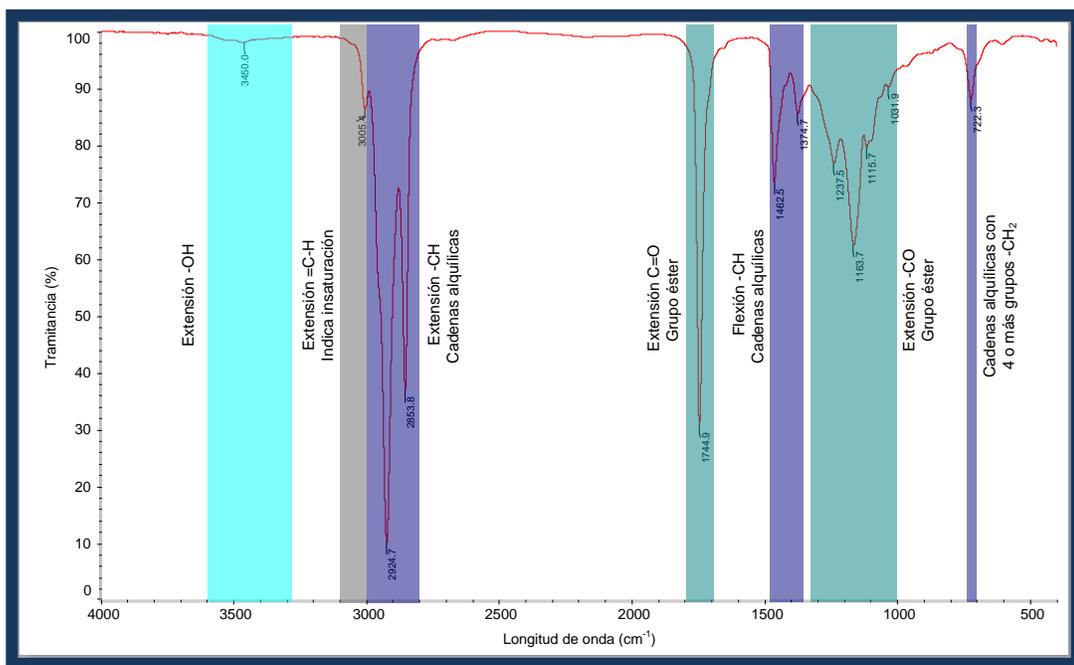


Figura 18. Espectro infrarrojo del aceite esencial de Neem comercial (muestra patrón).

El aceite esencial de Neem está constituido mayoritariamente por triglicéridos y por tal motivo su espectro infrarrojo, mostrado en la Figura 18, se encuentra dominado por las señales características de estos elementos (Anexo D).

La presencia de las cadenas alquílicas de los ácidos grasos que conforman los triglicéridos del aceite esencial de Neem se evidencia a través de varias bandas de absorción en el espectro. Los movimientos de alargamiento asimétrico y simétrico de los enlaces  $-CH$  de los grupos  $CH_2$  y  $CH_3$  generan absorciones en el rango de longitud de onda que va de  $3000$  a  $2830\text{ cm}^{-1}$  y se observan con los picos ubicados en  $2924,7$  y  $2853,8\text{ cm}^{-1}$ . La banda situada entre  $1470$  y  $1350\text{ cm}^{-1}$  es también característica de los enlaces  $-CH$  y se identifica con las absorciones mostradas en  $1462,5$  y  $1374,7\text{ cm}^{-1}$  generadas por movimientos de vibración de flexión asimétrica y simétrica de los grupos  $CH_3$ . La señal que corresponde a la flexión simétrica de los enlaces  $-CH$  de los grupos  $CH_2$  se encuentra solapada con la de  $1462,5\text{ cm}^{-1}$ . El movimiento vibratorio de las cadenas alquílicas formadas por 4 ó más grupos  $-CH_2$  se visualiza en el espectro a través del pico en  $722,3\text{ cm}^{-1}$ .

Los grupos funcionales éster de los triglicéridos se identifican principalmente por la señal emitida en  $1744,9\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente a la vibración de extensión del enlace  $C=O$  del grupo. Las inflexiones percibidas en los valores de longitud de onda de  $1237,5$ ,  $1163,7$ ,  $1115,7$  y  $1031,9\text{ cm}^{-1}$  ubicadas en el intervalo de  $1320-1000\text{ cm}^{-1}$ , se relacionan con las vibraciones de alargamiento de enlaces  $-CO$  que confirman la presencia de ésteres.

El pequeño pico ubicado en  $3005,4\text{ cm}^{-1}$  puede asociarse a los dobles enlaces  $C=C$  (insaturaciones) de las cadenas alquílicas de algunos de los ácidos grasos que conforman los triglicéridos, como por ejemplo: el oléico y el linoléico.

Las señales de los grupos funcionales de los otros elementos constituyentes del aceite esencial de Neem (terpenos, flavonoides y esteroides) presentadas en el Anexo D, no se observan con claridad en el espectro infrarrojo de la Figura 18, lo

cual es indicativo de que su concentración en el aceite es baja. Las bandas de absorción relacionadas a las vibraciones de los enlaces  $\text{-CO}$ ,  $\text{C=O}$ ,  $\text{=C-H}$  y  $\text{-CH}$  de los grupos funcionales éster, éter, cetona, alcohol y las cadenas alquílicas que forman parte de la estructura molecular de los terpenos, flavonoides y esteroides pueden estar solapadas con las de los triglicéridos anteriormente descritas, mientras que la señal correspondiente a la extensión del enlace  $\text{-OH}$  de los grupos alcohol se puede notar muy débilmente en el espectro a través de la pequeña inflexión ubicada en  $3450\text{ cm}^{-1}$ .

### IV.3 Análisis del espectro infrarrojo de los solventes puros

A continuación se presenta una tabla donde se exponen las absorciones típicas de los espectros infrarrojos de los solventes puros utilizados en las experiencias de extracción asistida por microondas y extracción asistida por ultrasonido.

Tabla 10. Bandas de absorción características de los espectros infrarrojos de los solventes puros.

Solvente	Señales en el espectro IR	
	Tipo de vibración	Longitud de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )
Agua	-OH extensión	3600-3000
	-OH flexión	1645
Etanol	-OH extensión	3500-3200
	-CH extensión	3000-2830
	-CH flexión	1470-1350
	-CO extensión	1320-1000
Propanol	-OH extensión	3500-3200
	-CH extensión	3000-2830
	-CH flexión	1470-1350
	-CO extensión	1320-1000
Hexano	-CH extensión	3000-2830
	-CH flexión	1470-1350
	$\text{-(CH}_2\text{)}_{n \geq 4}$ - flexión	725-720
Ciclohexano	-CH extensión	3000-2830
	-CH flexión	1470-1350

El espectro de cada una de las muestras obtenidas presenta las señales típicas del solvente empleado para su extracción y los espectros infrarrojos de los solventes puros se encuentran ubicados en el Anexo E.

#### IV.4 Evaluación de la influencia de las variables de proceso en la extracción asistida por microondas

##### IV.4.1 Evaluación de la influencia del tipo de solvente

###### IV.4.1.1 Densidad y propiedades organolépticas

A continuación se muestra una tabla donde se resumen las densidades de los solventes puros, de los extractos obtenidos con dichos solventes empleando la técnica de extracción asistida por microondas y del aceite esencial de Neem comercial.

Tabla 11. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en el proceso de EAM.

	M1-B (Agua)	M2-B (Etanol)	M3-B (Propanol)	M4-B (Hexano)	M5-B (Ciclohexano)
<b>Densidad del extracto a 25°C (g/ml)</b>	0,9537	0,8432	0,8382	0,7091	0,8379
<b>Densidad del solvente puro a 25°C (g/ml)</b>	0,9778	0,8087	0,8040	0,6819	0,8044
<b>Diferencia de densidad extracto respecto a solvente (g/ml)</b>	-0,0241	0,0345	0,0342	0,0272	0,0335
<i>Densidad del aceite esencial de Neem comercial a 25°C: 0,9491 (g/ml)</i>					

Las densidades de las muestras obtenidas con etanol, propanol, hexano y ciclohexano son mayores que las de los solventes puros, lo cual indica que dichos solventes extrajeron de la matriz vegetal algunos compuestos más densos que ellos. La muestra del agua posee una densidad inferior a la del solvente puro, indicando que extrajo compuestos menos densos que ella. Los compuestos que conforman el aceite esencial de Neem cumplen las 2 características anteriormente mencionadas, su densidad es ligeramente inferior a la del agua y al mismo tiempo es notablemente superior a la de los otros solventes, con lo que podría presumirse la presencia del aceite en los extractos. La diferencia de densidad puede dar una idea de la cantidad de material extraído de la matriz, sin embargo, no es un parámetro determinante como lo es el rendimiento. En la Tabla 11 se aprecia que la mayor diferencia corresponde al etanol y la menor al agua.

Se definieron las propiedades organolépticas (color, olor y apariencia) de los extractos y del aceite esencial de Neem. Estas propiedades se determinaron mediante la simple observación de las muestras y las descripciones se resumen en la Tabla 12 que se presenta a continuación.

Tabla 12. Propiedades organolépticas de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAM.

Muestra	Propiedades		
	Color	Olor	Apariencia
<b>Neem (Patrón)</b>	Ámbar claro	Fuerte y penetrante, similar al del ajo	Aceitoso. Moderadamente viscoso 
<b>Agua M1-B</b>	Crema	Levemente similar al del patrón	Ligeramente aceitoso 

Continuación Tabla 12. Propiedades organolépticas de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAM.

Muestra	Propiedades		
	Color	Olor	Apariencia
<b>Etanol</b> <b>M2-B</b>	Verde	Característico del solvente con una leve sensación al del patrón	Poco aceitoso 
<b>Propanol</b> <b>M3-B</b>	Verde claro	Característico del solvente con una leve sensación al del patrón.	Poco aceitoso 
<b>Hexano</b> <b>M4-B</b>	Amarillo claro	Característico del solvente con una moderada sensación al olor del patrón.	Poco aceitoso 
<b>Ciclohexano</b> <b>M5-B</b>	Amarillo	Característico del solvente con una moderada sensación al olor del patrón.	Poco aceitoso 

En cuanto a la propiedad del color no se observa un parecido resaltante entre los extractos y el patrón. No obstante, el extracto asociado al agua es el que presenta la mayor similitud. Las muestras correspondientes a los solventes etanol y propanol son las que difieren de forma más evidente con relación al modelo comercial, mostrando una coloración verduzca que podría atribuirse a la existencia de moléculas de clorofila. Es importante destacar que pese a las observaciones realizadas, el

parámetro del color no es una característica que se considere como determinante en la identificación de los componentes del aceite esencial de Neem en los extractos.

El olor si es considerado como un parámetro de gran importancia en la determinación de los compuestos propios del aceite esencial del Neem. En las muestras experimentales se obtienen variaciones en esta propiedad organoléptica debido a la presencia de los solventes utilizados en la extracción y dicha variación se hace más notoria en el caso de los solventes orgánicos, quienes poseen un fuerte olor característico que tiende a opacar a los demás. En el hexano y el ciclohexano se pudo percibir moderadamente el olor del modelo comercial a pesar de la presencia del fuerte olor típico del disolvente.

Como se aprecia en la tabla anterior, la muestra patrón tiene consistencia aceitosa. Los extractos obtenidos con etanol, propanol, hexano y ciclohexano presentan una apariencia poco oleosa, pero se puede identificar claramente un cambio en su viscosidad respecto a la observada en los solventes puros, lo que permite suponer que en ellos se encuentra disuelto el aceite. El extracto obtenido utilizando agua exhibe una contextura ligeramente más viscosa que los demás, pero menos que el patrón.

#### *IV.4.1.2 Selectividad*

A continuación se muestra una figura comparativa de los espectros infrarrojos de los productos obtenidos en las pruebas de evaluación de la influencia de los solventes en el proceso de extracción asistida por microondas.

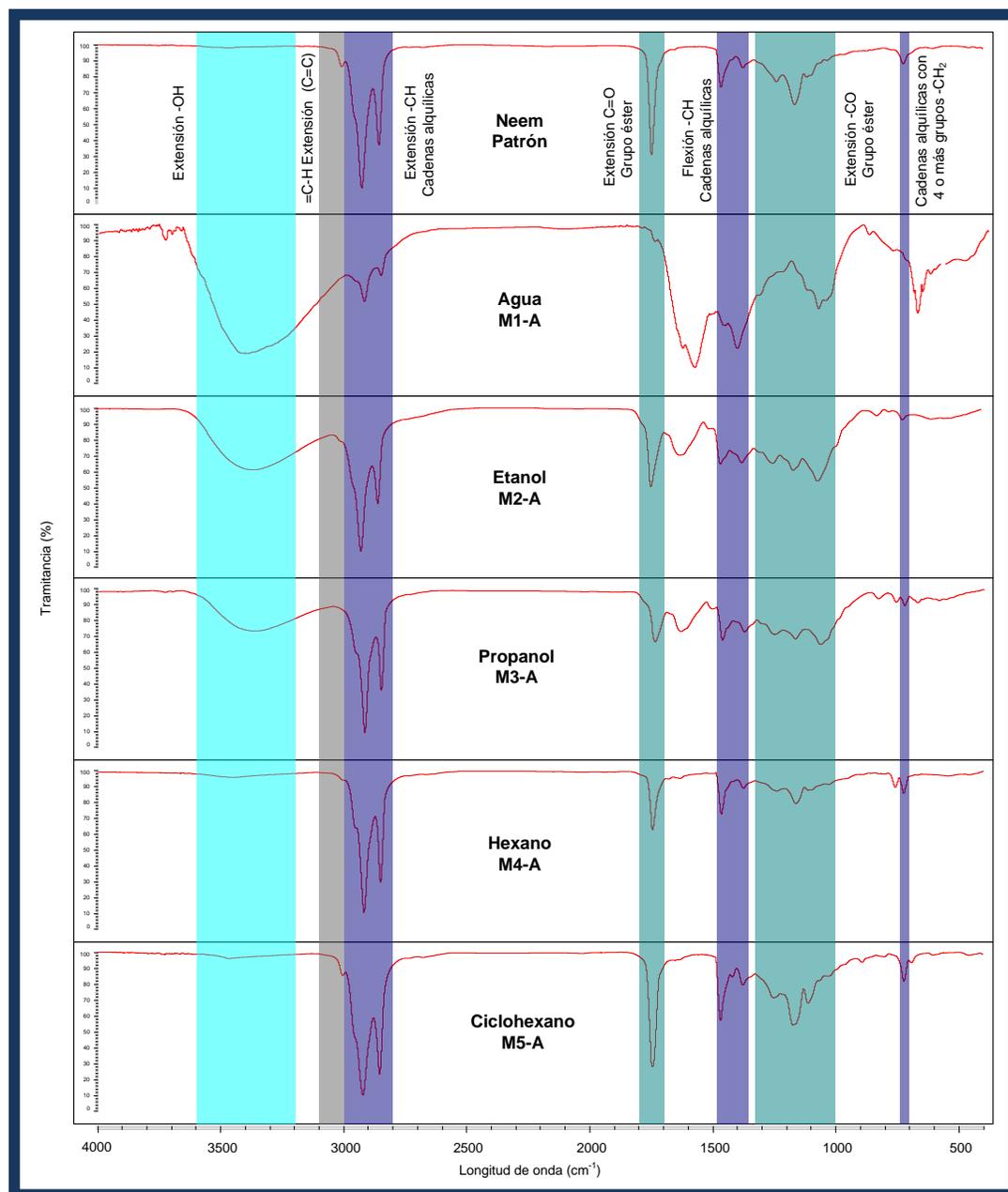


Figura 19. Comparación de las bandas de absorción del espectro infrarrojo de la muestra patrón de aceite de Neem con las de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAM.

En la Figura 19 se observa que los espectros de las muestras obtenidas empleando etanol, propanol, hexano y ciclohexano como solventes, presentan las absorciones características de los grupos funcionales éster de los triglicéridos del

aceite esencial de Neem. En todos estos espectros se puede visualizar con claridad el pico correspondiente a los enlaces C=O y las señales típicas de los enlaces –CO del grupo éster. También se puede observar la inflexión ubicada en una longitud de onda aproximada de  $720\text{ cm}^{-1}$  que indica la existencia de las largas cadenas alquílicas de los ácidos grasos que conforman los triglicéridos.

La inflexión correspondiente a los enlaces C=C de las cadenas alquílicas de los ácidos grasos insaturados se puede detallar con claridad para la muestra obtenida utilizando ciclohexano y débilmente para las muestras obtenidas con hexano y etanol.

En el caso del agua el pico característico de los enlaces C=O es de baja intensidad y no corresponde a los grupos éster de las moléculas de triglicéridos que constituyen el aceite esencial de Neem debido a que no se observa la inflexión relacionada a las cadenas alquílicas de los ácidos grasos en  $720\text{ cm}^{-1}$ . Las señales relacionadas a las vibraciones de los enlaces –CO, C=O y –CH se asocian a los grupos funcionales éster, éter, cetona, alcohol y las cadenas alquílicas que forman parte de la estructura molecular de los terpenos, flavonoides y esteroides presentes en el aceite. La señal del grupo –OH de los alcoholes puede estar solapada con la del enlace –OH del agua.

En los espectros de las muestras extraídas con etanol y propanol las bandas de absorción correspondientes a los movimientos vibracionales de los enlaces presentes en la estructura molecular de los elementos terpénicos, flavonoides y esteroides del aceite se encuentran solapadas con las inflexiones generadas por los triglicéridos (C=O), por los solventes (–OH) y por ambos (–CO y –CH). Para el extracto obtenido con etanol la señal relacionada a la vibración de los enlaces =C-H de estos elementos se solapa con la asociada a las insaturaciones de los ácidos grasos que conforman los triglicéridos.

Las muestras de hexano y ciclohexano manifiestan débilmente una señal alrededor de  $3500\text{ cm}^{-1}$  que puede asociarse a los enlaces –OH de los terpenos,

flavonoides y esteroides del aceite esencial de Neem. Las bandas de absorción correspondientes a los movimientos vibracionales de los enlaces C=O, -CO y =C-H de estos elementos se encuentran solapadas con las de los triglicéridos, mientras que las señales generadas por los enlaces -CH se solapan tanto con las inflexiones de los triglicéridos como con las de los solventes.

#### IV.4.1.3 Rendimiento

En la Tabla 13 se muestran los valores de rendimiento total y específico correspondientes a las pruebas de evaluación de la influencia del tipo de solvente en el proceso de extracción asistida por microondas.

Tabla 13. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAM.

Identificación de prueba		Rendimiento total (%)	Rendimiento total promedio (%)	Rendimiento específico (%)
<b>M1</b> (Agua)	<b>A</b>	63,1	63,2	-
	<b>B</b>	63,3		6,5
<b>M2</b> (Etanol)	<b>A</b>	66,0	66,1	-
	<b>B</b>	66,2		7,0
<b>M3</b> (Propanol)	<b>A</b>	59,9	59,8	-
	<b>B</b>	59,7		6,0
<b>M4</b> (Hexano)	<b>A</b>	59,8	59,6	-
	<b>B</b>	59,4		2,8
<b>M5</b> (Ciclohexano)	<b>A</b>	60,6	60,8	-
	<b>B</b>	61,0		5,9

En la tabla 13 se observa que es el etanol el solvente que proporciona el rendimiento total y específico más alto en el proceso de extracción asistida por microondas, lo que implica que este solvente extrae en mayor cantidad los

compuestos presentes en las hojas del árbol de Neem y específicamente los componentes no volátiles característicos del aceite esencial. Por otra parte, el hexano es quien presenta los rendimientos más bajos, particularmente en cuanto a la obtención de los elementos no volátiles con un 2,8%.

Entre todos los solventes utilizados en el proceso de extracción asistida por microondas se seleccionó al etanol como el mejor por ser el que arrojó el mayor rendimiento, tanto total como específico, por presentar una alta selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem y por mostrar la mayor diferencia de densidad entre el extracto y el solvente puro.

#### IV.4.2 Evaluación de la influencia de la potencia del equipo microondas.

##### IV.4.2.1 Densidad

En la figura presentada a continuación se puede detallar de manera gráfica la tendencia de las densidades correspondientes a los productos obtenidos en la extracción asistida por microondas para diferentes potencias en el equipo y empleando como solvente etanol durante un tiempo de residencia de 7 seg.

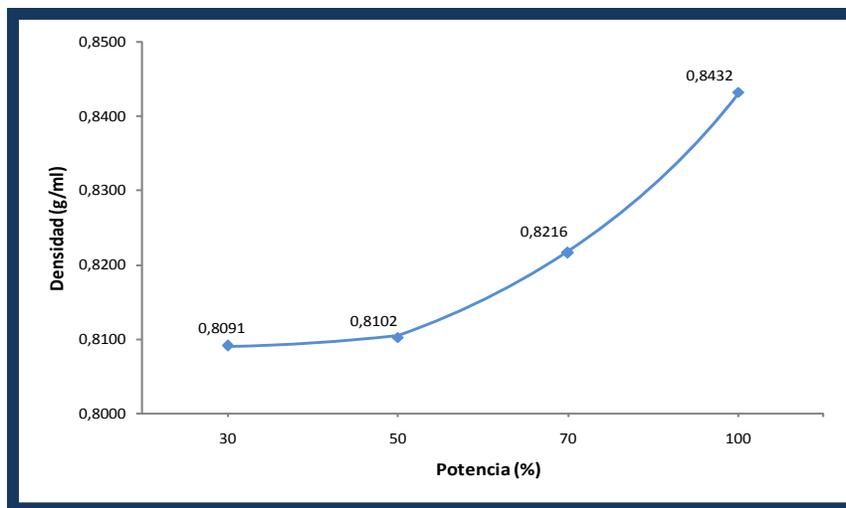


Figura 20. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia de la potencia del equipo en el proceso de EAM.

En la figura anterior se puede apreciar que para valores bajos de potencia en el equipo microondas (hasta 50%) la densidad de las muestras tiende a parecerse a la del solvente puro (0,8087g/ml) y al incrementar la potencia se produce un aumento de la densidad que indica la presencia de mayor cantidad de componentes extraídos de las hojas árbol, siendo la densidad correspondiente a la muestra obtenida empleando una potencia del 100% la más alta (0,8432 g/ml).

#### IV.4.2.2 Selectividad

La comparación de las bandas características de los espectros infrarrojos de los productos obtenidos en las pruebas de evaluación de la influencia de la potencia en el proceso de extracción asistida por microondas se representa gráficamente en la Figura 21.

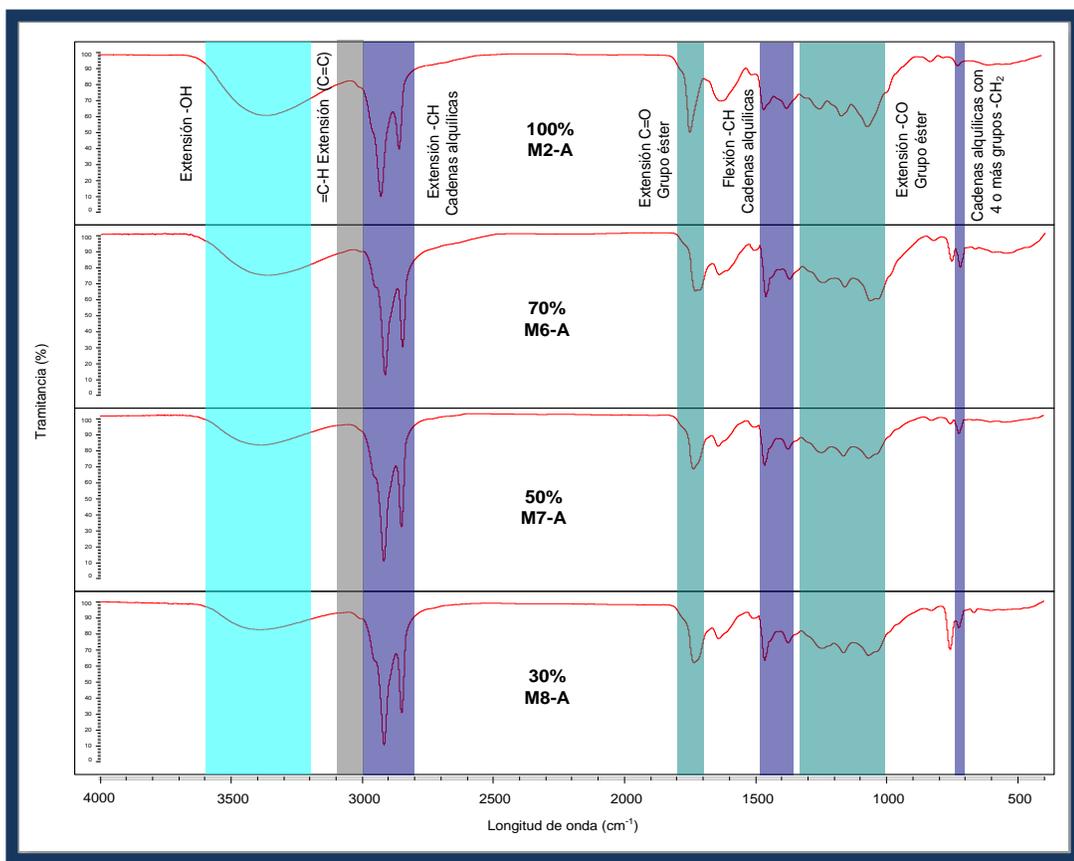


Figura 21. Comparación de las bandas de absorción de los espectros infrarrojos de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia de la potencia del equipo en la EAM.

Se puede evidenciar que los espectros correspondientes a los extractos obtenidos empleando 100, 70, 50 y 30% de potencia del equipo en el proceso de extracción asistida por microondas presentan las bandas de absorción analizadas en el espectro de la muestra patrón (sección IV.2). Esto implica que para todas estas potencias se logra una alta selectividad hacia los componentes que constituyen el aceite esencial de Neem. Sin embargo, se pueden notar algunas diferencias en la intensidad y forma de las señales de un espectro respecto al otro, lo que evidencia que la extracción lograda es de distinta magnitud al emplear diversas potencias del equipo. Los picos asociados a los enlaces C=O y –CO de los grupos éster en el espectro correspondiente a la potencia de 100% son ligeramente más pronunciados y puntiagudos que los observados en los demás espectros, lo cual podría indicar que con esta potencia se logra una extracción ligeramente superior.

#### IV.4.2.3 Rendimiento

En la Tabla 14 se exponen los valores de rendimiento correspondientes a las pruebas de evaluación de la influencia de la potencia en la EAM, realizadas empleando como solvente etanol durante un tiempo de residencia de 7 seg.

Tabla 14. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia de la potencia del equipo en la EAM.

Identificación de prueba		Rendimiento total (%)	Rendimiento total promedio (%)	Rendimiento específico (%)
<b>M2</b> (100%)	<b>A</b>	66,0	66,1	-
	<b>B</b>	66,2		7,0
<b>M6</b> (70%)	<b>A</b>	59,7	59,3	-
	<b>B</b>	58,9		4,8
<b>M7</b> (50%)	<b>A</b>	57,5	56,5	-
	<b>B</b>	55,5		3,7
<b>M8</b> (30%)	<b>A</b>	55,2	55,0	-
	<b>B</b>	54,8		3,5

Como se puede apreciar en la Tabla 14 el aumento de la potencia ejerce un efecto positivo sobre los rendimientos total y específico de la EAM. Con el empleo de la máxima energía del equipo microondas se presenta un rendimiento de 66,1% que se reduce de manera progresiva con la disminución de la energía irradiada, lo que implica que la potencia de 100% permite extraer en mayor cantidad los compuestos presentes en las hojas del árbol de Neem y específicamente los componentes no volátiles característicos del aceite esencial.

Para obtener un mismo rendimiento de extracción empleando 2 potencias diferentes del equipo microondas se requeriría de un tiempo de residencia más largo para el caso de la muestra irradiada con la menor energía.

Entre todas las potencias utilizadas en el proceso de extracción asistida por microondas se seleccionó la de 100% como la mejor por ser la que arrojó el mayor rendimiento, tanto total como específico, por presentar una alta selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem y por mostrar la mayor diferencia de densidad entre el extracto y el solvente puro.

### **IV.4.3 Evaluación de la influencia del tiempo de residencia**

#### *IV.4.3.1 Densidad*

En la figura presentada a continuación se puede detallar de manera gráfica la tendencia de las densidades correspondientes a los productos obtenidos en la extracción asistida por microondas para diferentes tiempos de residencia de la muestra en el equipo, trabajando a una potencia de 100 % y empleando como solvente etanol.

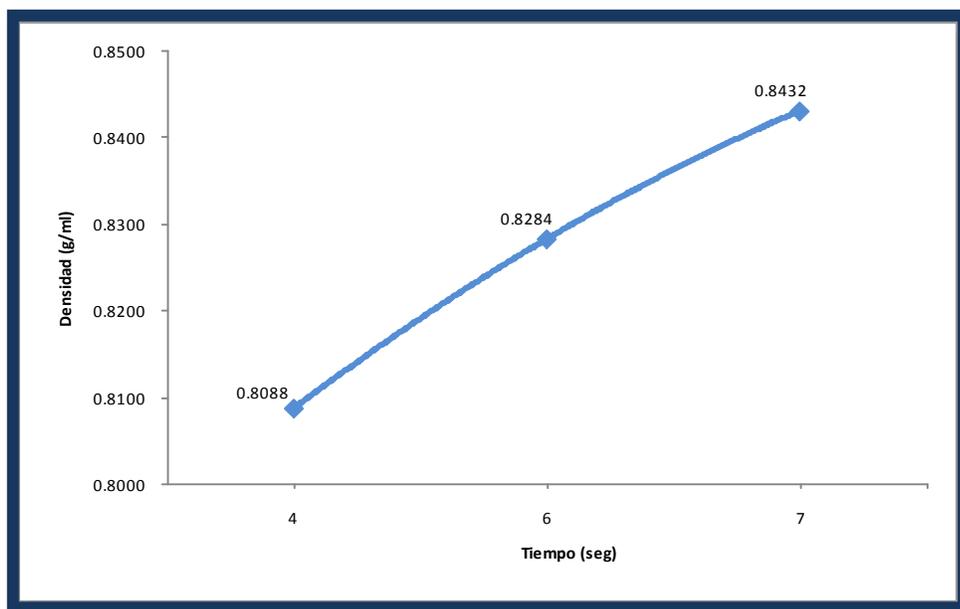


Figura 22. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en el proceso de EAM.

En la figura anterior se puede apreciar que a medida que el tiempo de residencia es más corto la densidad del extracto obtenido tiende a parecerse más a la del solvente puro (0,8087g/ml) y al incrementar dicho tiempo se produce un aumento de la densidad que indica la presencia de mayor cantidad de componentes extraídos de las hojas del árbol, siendo la densidad correspondiente a la muestra obtenida empleando un tiempo de 7 seg la más alta (0,8432 g/ml). Esto es debido a que durante periodos más largos la muestra es irradiada con más ondas de microondas lo cual favorece el proceso de extracción.

#### IV.4.3.2 Selectividad

La comparación de las bandas características de los espectros infrarrojos de los productos obtenidos en las pruebas de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en el proceso de extracción asistida por microondas se representa gráficamente en la Figura 23.

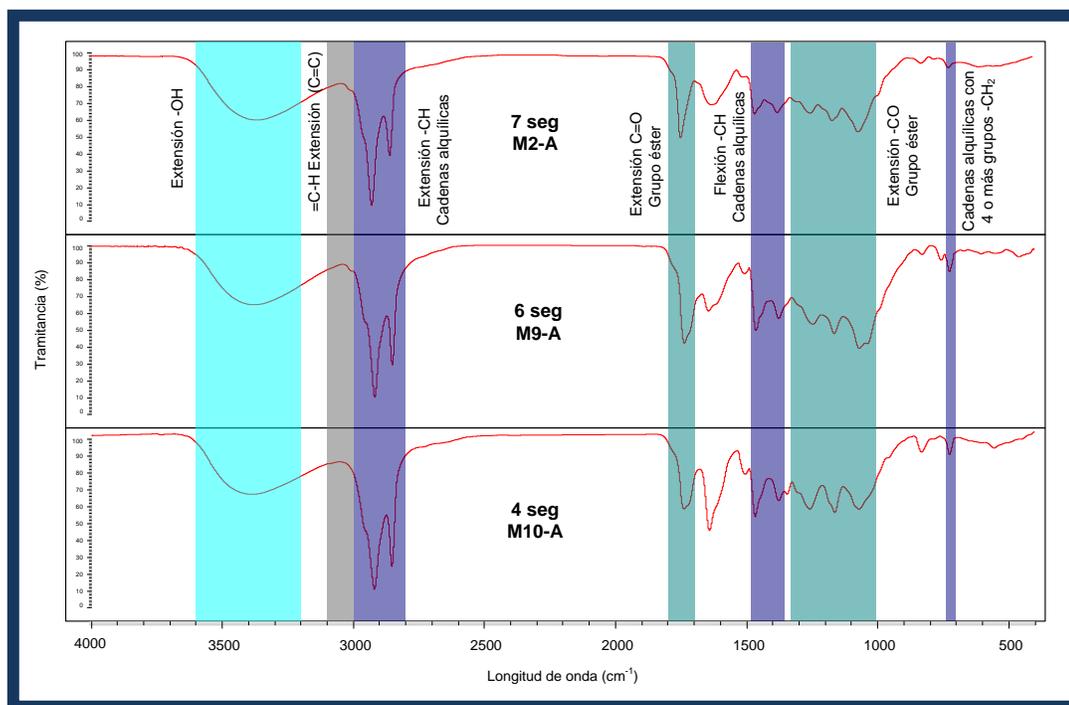


Figura 23. Comparación de las bandas de absorción de los espectros infrarrojos de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en la EAM.

Se puede evidenciar que los espectros correspondientes a los extractos obtenidos en el proceso de extracción asistida por microondas empleando tiempos de residencia de 7, 6, y 4 segundos presentan las bandas de absorción analizadas en el espectro de la muestra patrón (sección IV.2). Esto implica que para todos estos tiempos de residencia se logra una alta selectividad hacia los componentes que constituyen el aceite esencial de Neem. Sin embargo, se pueden notar algunas diferencias en la intensidad de las señales de un espectro respecto al otro, lo que evidencia que la extracción lograda es de distinta magnitud al emplear diversos tiempos de residencia. Los picos asociados a los enlaces C=O y -CO de los grupos éster en el espectro correspondiente al tiempo de residencia de 6 segundos son ligeramente más pronunciados que los observados en los demás espectros, lo cual podría indicar que con ese tiempo de operación se logra una extracción ligeramente superior.

IV.4.3.3 Rendimiento

En la Tabla 15 se exponen los valores de rendimiento total y específico correspondientes a las pruebas de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en la EAM, realizadas empleando una potencia de 100% en el equipo y etanol como solvente.

Tabla 15. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en la EAM.

Identificación de prueba		Rendimiento total (%)	Rendimiento total promedio (%)	Rendimiento específico (%)
M2 (7seg)	A	66,0	66,1	-
	B	66,2		7,0
M9 (6seg)	A	56,1	55,4	-
	B	54,7		3,3
M10 (4seg)	A	43,8	42,9	-
	B	41,9		0,7

En la tabla presentada anteriormente se puede apreciar que el aumento del tiempo de residencia ejerce un efecto positivo sobre los rendimientos total y específico de la EAM. A pesar de que la diferencia entre los periodos de operación utilizados es mínima, los valores de rendimiento difieren significativamente entre un tiempo y otro. El mayor rendimiento se alcanza en el lapso de 7 segundos correspondiente al tiempo que se necesitó para alcanzar el punto de ebullición de la muestra a una potencia de 100%.

Entre todos los tiempos de residencia utilizados en el proceso de extracción asistida por microondas se seleccionó el de 7 segundos como tiempo óptimo de operación. A pesar de que para un tiempo de extracción de 6 segundos se obtiene una mejor selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem, la gran

diferencia entre los valores de rendimiento, tanto total como específico, permite escoger el tiempo de 7 segundos como parámetro de operación. Además este tiempo mostró la mayor diferencia de densidad entre el extracto y el solvente puro.

#### IV.5 Evaluación de la influencia de las variables de proceso en la extracción asistida por ultrasonido.

##### IV.5.1 Evaluación de la influencia del tipo de solvente

###### IV.5.1.1 Densidad y propiedades organolépticas

A continuación se muestra una tabla donde se resumen las densidades de los solventes puros, de los extractos obtenidos con dichos solventes empleando la técnica de extracción asistida por ultrasonido y del aceite esencial de Neem comercial.

Tabla 16. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en el proceso de EAU.

	U1-B (Agua)	U2-B (Etanol)	U3-B (Propanol)	U4-B (Hexano)	U5-B (Ciclohexano)
<b>Densidad del extracto a 25°C (g/ml)</b>	0,9669	0,8281	0,8187	0,6958	0,8178
<b>Densidad del solvente puro a 25°C (g/ml)</b>	0,9778	0,8087	0,8040	0,6819	0,8044
<b>Diferencia de densidad extracto respecto a solvente (g/ml)</b>	-0,0109	0,0194	0,0147	0,0139	0,0134
<i>Densidad del aceite esencial de Neem comercial a 25°C: 0,9491 [g/ml]</i>					

Al igual que para la extracción asistida por microondas, en la tabla anterior se puede apreciar que las densidades de las muestras obtenidas con etanol, propanol, hexano y ciclohexano son superiores que las de los solventes puros, lo que permite predecir que dichos solventes extrajeron de la matriz vegetal, compuestos más densos que ellos. Para la muestra obtenida con el agua se observa que posee una densidad inferior a la del solvente puro lo que permite suponer que extrajo de la hoja Neem compuestos menos densos que ella. De acuerdo con las características del aceite de Neem podría suponerse la presencia de éste en los extractos. El etanol es el que presenta una mayor diferencia de densidades, mientras que con el agua se obtiene una menor variación.

Se definieron las propiedades organolépticas (color, olor y apariencia) de los extractos y del aceite esencial de Neem. Estas propiedades se determinaron mediante la simple observación de las muestras y las descripciones se resumen en la Tabla 17 que se expone a continuación.

Tabla 17. Propiedades organolépticas de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAU.

Muestra	Propiedades			
	Color	Olor	Apariencia	
<b>Neem (Patrón)</b>	Ámbar claro	Fuerte y penetrante, similar al del ajo	Aceitoso. Moderadamente viscoso	
<b>Agua U1-B</b>	Arena	Levemente similar al del patrón	Poco aceitoso	

Continuación Tabla 17. Propiedades organolépticas de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAU.

Muestra	Propiedades		
	Color	Olor	Apariencia
<b>Etanol</b> <b>U2-B</b>	Verde	Característico del solvente con una leve sensación al del patrón	Poco aceitoso 
<b>Propanol</b> <b>U3-B</b>	Verde claro	Característico del solvente. Casi no se percibe olor del patrón.	Poco aceitoso 
<b>Hexano</b> <b>U4-B</b>	Amarillo claro	Característico del solvente con moderada sensación al olor del patrón.	Ligeramente aceitoso 
<b>Ciclohexano</b> <b>U5-B</b>	Amarillo	Característico del solvente con una moderada sensación al olor del patrón.	Ligeramente aceitoso 

Observando el color que presentan las muestras no se aprecia un parecido sobresaliente entre los extractos y el patrón, siendo las obtenidas con etanol y propanol las que difieren de forma más evidente con relación al modelo comercial, ya que en estas se visualiza una coloración verduzca que podría deberse a la existencia de moléculas de clorofila.

Otra propiedad organoléptica estudiada en los extractos obtenidos es el olor. En el hexano y el ciclohexano se pudo percibir moderadamente el olor del modelo

comercial a pesar de la presencia del fuerte olor típico del disolvente. En las muestras extraídas con los alcoholes el olor predominante es el del solvente puro, aunque sí se pudo distinguir ligeramente el olor característico del aceite de Neem.

Respecto a la apariencia, la muestra patrón tiene una consistencia aceitosa. Los extractos obtenidos con agua, etanol y propanol exhiben una textura poco oleosa, pero se puede observar una variabilidad en su viscosidad respecto a la que se visualiza en los solventes puros. Las muestras extraídas empleando hexano y ciclohexano muestran una apariencia ligeramente más viscosa respecto a la de los demás solventes, lo que permite sospechar que en estos se encuentra presente una mayor cantidad de aceite.

#### *IV.5.1.2 Selectividad*

A continuación se muestra una figura comparativa de los espectros infrarrojos de los productos obtenidos en las pruebas de evaluación de la influencia del tipo de solvente en el proceso de extracción asistida por ultrasonido.

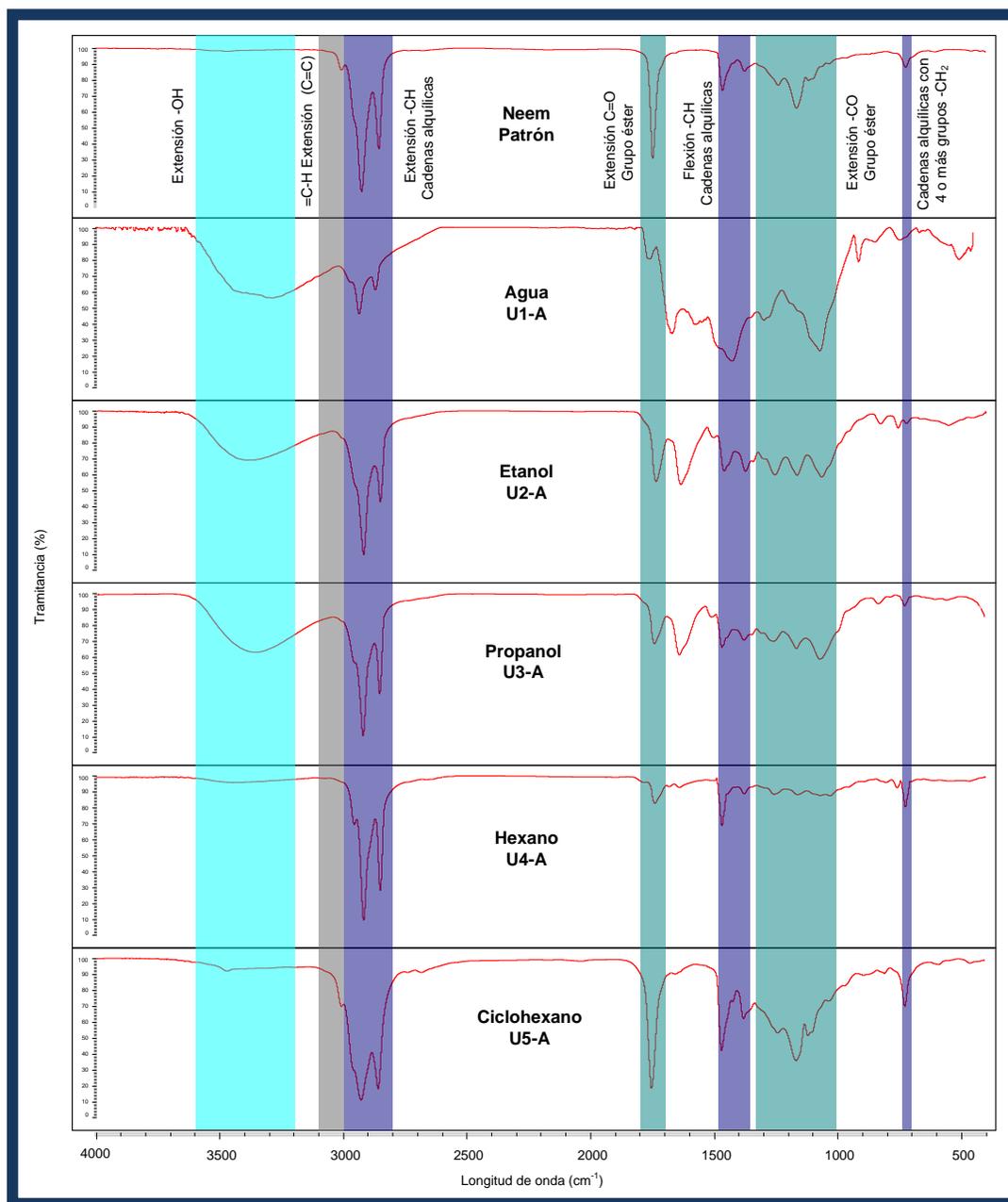


Figura 24. Comparación de las bandas de absorción del espectro infrarrojo de la muestra patrón de aceite de Neem con las de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAU.

En la Figura 41 se observa que los espectros de las muestras obtenidas empleando etanol, propanol, hexano y ciclohexano como solventes, presentan las absorciones características de los grupos funcionales éster de los triglicéridos del aceite esencial de Neem. En todos estos espectros se puede visualizar con claridad el pico correspondiente a los enlaces C=O y las señales típicas de los enlaces –CO del grupo éster. También se puede observar la inflexión ubicada en una longitud de onda aproximada de  $720\text{ cm}^{-1}$  que indica la existencia de las largas cadenas alquílicas de los ácidos grasos que conforman los triglicéridos.

La inflexión correspondiente a los enlaces C=C de las cadenas alquílicas de los ácidos grasos insaturados se puede detallar con claridad para la muestra obtenida utilizando ciclohexano y débilmente para la muestra obtenida con etanol.

En el caso del agua el pico característico de los enlaces C=O es de baja intensidad y no corresponde a los grupos éster de las moléculas de triglicéridos que constituyen el aceite esencial de Neem debido a que no se observa la inflexión relacionada a las cadenas alquílicas de los ácidos grasos en  $720\text{ cm}^{-1}$ . Las señales relacionadas a las vibraciones de los enlaces –CO, C=O y –CH se asocian a los grupos funcionales éster, éter, cetona, alcohol y las cadenas alquílicas que forman parte de la estructura molecular de los terpenos, flavonoides y esteroides presentes en el aceite. La señal del grupo –OH de los alcoholes puede estar solapada con la del enlace –OH del agua.

En los espectros de las muestras extraídas con etanol y propanol las bandas de absorción correspondientes a los movimientos vibracionales de los enlaces presentes en la estructura molecular de los elementos terpénicos, flavonoides y esteroides del aceite se encuentran solapadas con las inflexiones generadas por los triglicéridos (C=O), por los solventes (–OH) y por ambos (–CO y –CH). Para el extracto obtenido con etanol la señal relacionada a la vibración de los enlaces =C-H de estos elementos se solapa con la asociada a las insaturaciones de los ácidos grasos que conforman los triglicéridos.

Las muestras de hexano y ciclohexano manifiestan débilmente una señal alrededor de  $3500\text{ cm}^{-1}$  que puede asociarse a los enlaces  $\text{-OH}$  de los terpenos, flavonoides y esteroides del aceite esencial de Neem. Las bandas de absorción correspondientes a los movimientos vibracionales de los enlaces  $\text{C=O}$  y  $\text{-CO}$  de estos elementos se encuentran solapadas con las de los triglicéridos, mientras que las señales generadas por los enlaces  $\text{-CH}$  se solapan tanto con las inflexiones de los triglicéridos como con las de los solventes. Para el extracto obtenido con ciclohexano la señal relacionada a la vibración de los enlaces  $\text{=C-H}$  se solapa con la asociada a las insaturaciones de los ácidos grasos que conforman los triglicéridos.

#### IV.5.1.3 Rendimiento

En la Tabla 18 se muestran los valores de rendimiento total y específico correspondientes a las pruebas de evaluación de la influencia del tipo de solvente en el proceso de extracción asistida por ultrasonido.

Tabla 18. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia del tipo de solvente en la EAU.

Identificación de prueba		Rendimiento total (%)	Rendimiento total promedio (%)	Rendimiento específico (%)
U1 (Agua)	A	51,3	51,0	-
	B	50,6		1,2
U2 (Etanol)	A	54,2	54,6	-
	B	55,1		3,2
U3 (Propanol)	A	53,8	53,7	-
	B	53,7		2,6
U4 (Hexano)	A	52,7	52,9	-
	B	53,1		2,8
U5 (Ciclohexano)	A	51,8	52,2	-
	B	52,6		2,3

Como se aprecia en la tabla 18 el extracto obtenido empleando etanol como solvente obtuvo el rendimiento total y específico más alto en el proceso de extracción asistida por ultrasonido, lo que permite asumir que se extrae una mayor cantidad de compuestos presentes en las hojas del árbol de Neem y específicamente los componentes no volátiles característicos del aceite esencial. Por otra parte, el agua es quien presenta los rendimientos más bajos, particularmente en cuanto a la obtención de los elementos no volátiles.

Entre todos los solventes utilizados en el proceso de extracción asistida por ultrasonido se seleccionó al etanol como el mejor por ser el que arrojó el mayor rendimiento, tanto total como específico, por presentar una alta selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem y por mostrar la mayor diferencia de densidad entre el extracto y el solvente puro.

#### **IV.5.2 Evaluación de la influencia del tiempo de residencia**

##### *IV.5.2.1 Densidad*

En la siguiente figura se puede detallar de manera gráfica la tendencia de las densidades correspondientes a los productos obtenidos en la extracción asistida por ultrasonido para diferentes tiempos de residencia de la muestra en el equipo, trabajando a una temperatura de 25°C y empleando como solvente etanol.

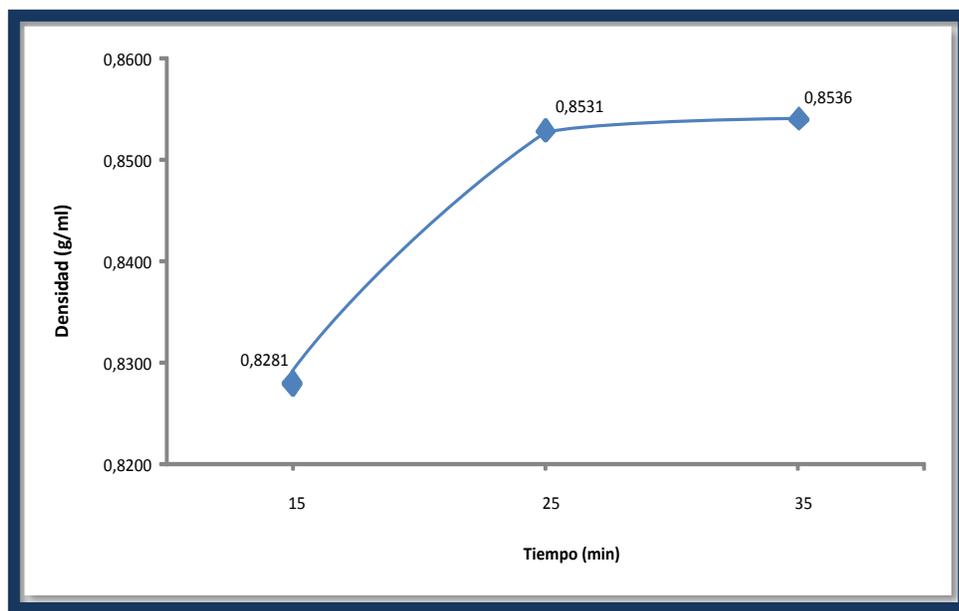


Figura 25. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en el proceso de EAU.

En la figura anterior se puede apreciar que la densidad correspondiente al menor tiempo de residencia se parece a la del solvente puro (0,8087g/ml) y para un período de 25 minutos el valor de la densidad se incrementa considerablemente. Con el empleo de tiempos superiores a 25 minutos no se obtiene una variación significativa en la densidad del extracto. Esto indica que la exposición de la muestra a los sonidos de alta frecuencia durante tiempos comprendidos entre 15 y 25 minutos genera un marcado aumento en la extracción de los componentes presentes en las hojas del árbol, mientras que para tiempos entre 25 y 35 minutos el incremento en la extracción es mínimo.

#### IV.5.2.2 Selectividad

La comparación de las bandas características de los espectros infrarrojos de los productos obtenidos en las pruebas de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en el proceso de extracción asistida por ultrasonido se representa gráficamente en la Figura 26.

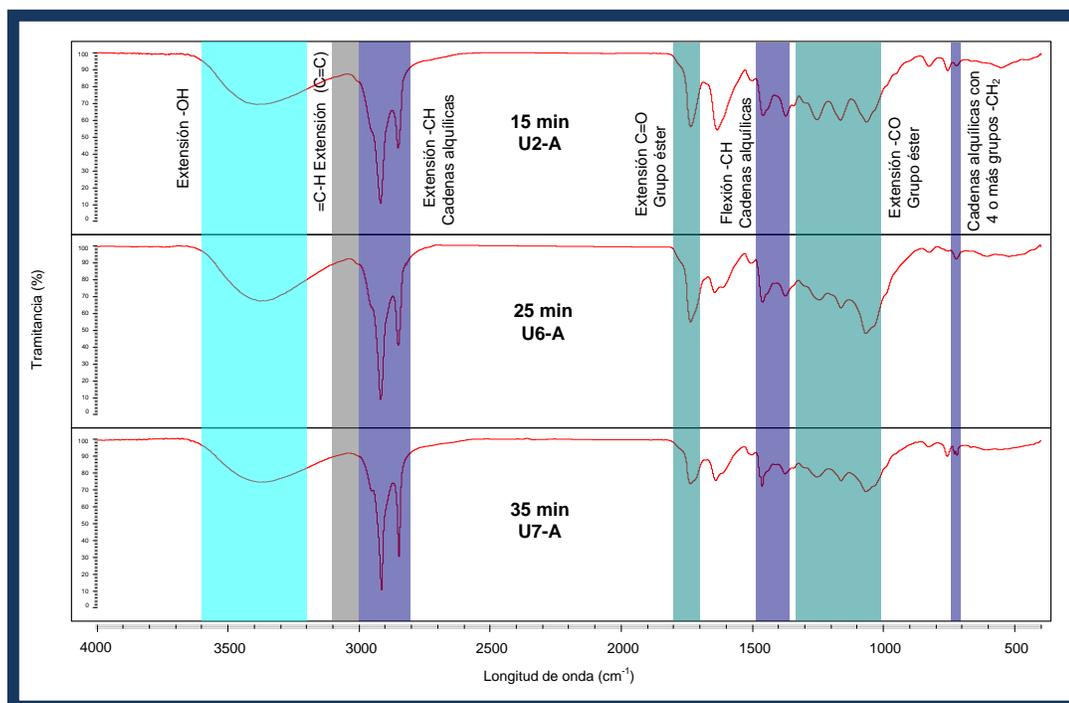


Figura 26. Comparación de las bandas de absorción de los espectros infrarrojos de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en la EAU.

Se puede evidenciar que los espectros correspondientes a los extractos obtenidos en el proceso de extracción asistida por ultrasonido empleando tiempos de residencia de 15, 25, y 35 minutos presentan las bandas de absorción analizadas en el espectro de la muestra patrón (sección IV.2). Esto implica que para todos estos tiempos de residencia se logra una alta selectividad hacia los componentes que constituyen el aceite esencial de Neem. Sin embargo, se pueden notar algunas diferencias en la intensidad de las señales de un espectro respecto al otro, lo que evidencia que la extracción lograda es de distinta magnitud al emplear diversos tiempos de residencia. Los picos asociados a los enlaces C=O y -CO de los grupos éster en el espectro correspondiente al tiempo de residencia de 25 minutos son ligeramente más pronunciados que los observados en los demás espectros, lo cual podría indicar que con ese tiempo de operación se logra una extracción ligeramente superior.

IV.5.2.3 Rendimiento

En la Tabla 19 se exponen los valores de rendimiento total y específico correspondientes a las pruebas de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en la EAU, realizadas empleando una temperatura de 25 °C y etanol como solvente.

Tabla 19. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia del tiempo de residencia en la EAU.

Identificación de prueba		Rendimiento total (%)	Rendimiento total promedio (%)	Rendimiento específico (%)
U2 (15min)	A	54,2	54,6	-
	B	55,1		3,2
U6 (25min)	A	59,8	60,4	-
	B	61,0		4,0
U7 (35min)	A	60,4	60,7	-
	B	61,0		4,1

En la tabla presentada anteriormente se puede apreciar que el aumento del tiempo de residencia ejerce un efecto positivo sobre los rendimientos total y específico de la EAU. Sin embargo, la diferencia de rendimiento entre la extracción de 25 min y la de 35 min no es muy significativa, lo cual permite presumir que el empleo de tiempos mayores en la EAU no influiría de forma determinante en la obtención de mejores rendimientos.

Entre todos los tiempos de residencia utilizados en el proceso de extracción asistida por ultrasonido se seleccionó el de 25 minutos como el mejor porque a pesar de que para 35 minutos se obtuvo un mayor rendimiento y una mayor densidad, la diferencia que presentan estos parámetros para un tiempo respecto al otro es mínima y no justifica el gasto energético extra asociado al uso de un tiempo mayor a 25 minutos. Adicionalmente, con el tiempo de 25 minutos se logra la mejor selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem.

### IV.5.3 Evaluación de la influencia de la temperatura

#### IV.5.3.1 Densidad

En la siguiente figura se puede detallar de manera gráfica la tendencia de las densidades correspondientes a los productos obtenidos en la extracción asistida por ultrasonido para diferentes temperaturas de operación empleando como solvente etanol durante un tiempo de residencia de 25 min.

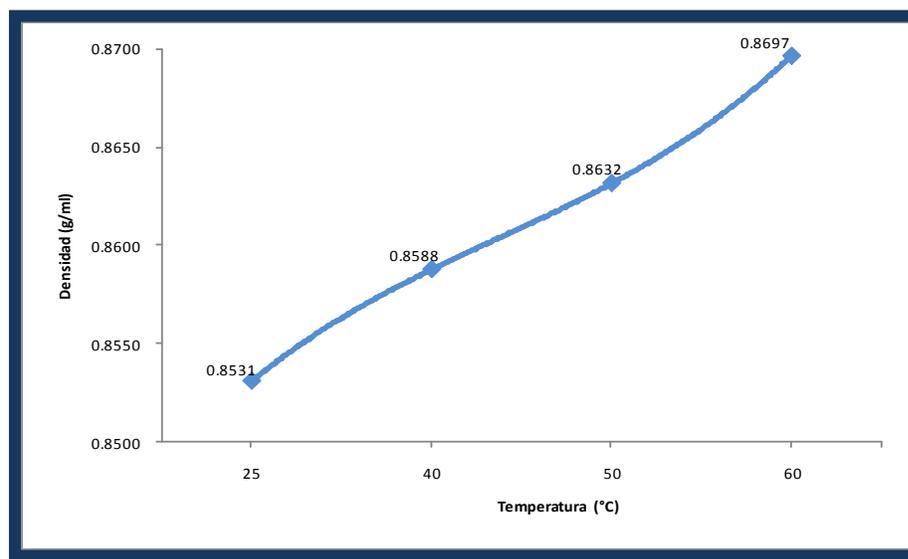


Figura 27. Densidad de los extractos obtenidos en la etapa de evaluación de la influencia de la temperatura en el proceso de EAU.

En la figura anterior se puede apreciar que para temperaturas bajas la densidad del extracto obtenido es muy parecida a la del solvente puro (0,8087g/ml) y al incrementar dicha temperatura se produce un aumento de la densidad que indica la presencia de mayor cantidad de componentes extraídos de las hojas del árbol, siendo la densidad correspondiente a la muestra obtenida empleando una temperatura de 60°C la más alta (0,8697 g/ml).

IV.5.3.2 Selectividad

La comparación de las bandas características de los espectros infrarrojos de los productos obtenidos en las pruebas de evaluación de la influencia de la temperatura en el proceso de extracción asistida por ultrasonido se representa gráficamente en la Figura 28.

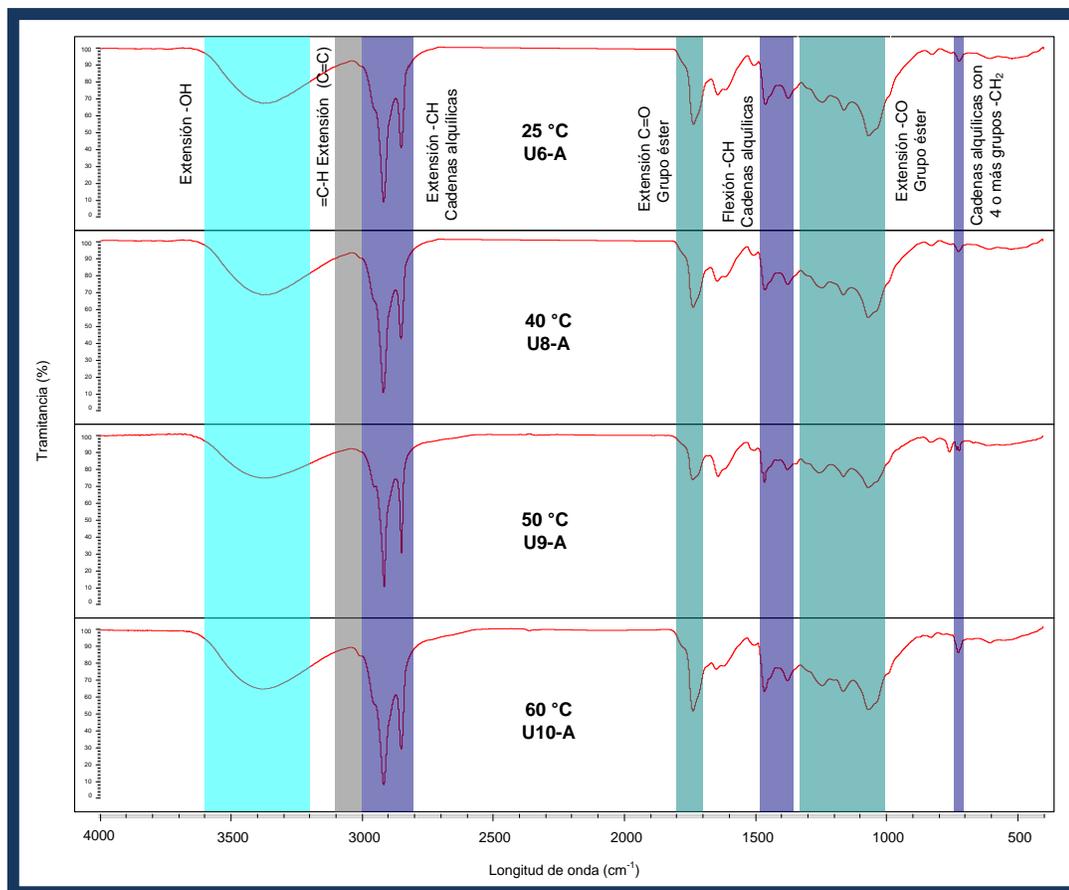


Figura 28. Comparación de las bandas de absorción de los espectros infrarrojos de las muestras obtenidas en la etapa de evaluación de la influencia de la temperatura en la EAU.

Se puede evidenciar que los espectros correspondientes a los extractos obtenidos en el proceso de extracción asistida por ultrasonido empleando temperaturas de 25, 40, 50 y 60°C presentan las bandas de absorción analizadas en el espectro de la muestra patrón (sección IV.2). Esto implica que para todos estos tiempos de residencia se logra una alta selectividad hacia los componentes que

constituyen el aceite esencial de Neem. Sin embargo, se pueden notar algunas diferencias en la intensidad de las señales de un espectro respecto al otro, lo que evidencia que la extracción lograda es de distinta magnitud al emplear diversas temperaturas. Los picos asociados a los enlaces C=O y –CO de los grupos éster en el espectro correspondiente a la temperatura de 60°C son ligeramente más pronunciados que los observados en los demás espectros, lo cual podría indicar que con esa temperatura de operación se logra una extracción ligeramente superior.

#### IV.5.3.3 Rendimiento

En la Tabla 20 se exponen los valores de rendimiento correspondientes a las pruebas de evaluación de la influencia de la temperatura en la EAU, realizadas empleando etanol como solvente durante un tiempo de residencia de 25 minutos.

Tabla 20. Rendimiento correspondiente a las pruebas de evaluación de la influencia de la temperatura en la EAU.

Identificación de prueba		Rendimiento total (%)	Rendimiento total promedio (%)	Rendimiento específico (%)
U6 (25°C)	A	59,8	60,4	
	B	61,0		4,0
U8 (40°C)	A	61,8	62,0	-
	B	62,2		4,7
U9 (50°C)	A	63,4	63,2	-
	B	63,1		5,3
U10 (60°C)	A	64,1	64,4	-
	B	64,6		5,9

Como se puede observar en la tabla anterior, la temperatura es un factor determinante en la obtención de un alto rendimiento. Al aumentar la temperatura de operación el rendimiento total y específico se incrementan de manera progresiva, lo cual implica que a temperaturas más altas se logra una mayor extracción de los

componentes presentes en las hojas y concretamente los compuestos no volátiles. El extracto obtenido empleando una temperatura de 60°C obtuvo el rendimiento total y específico más alto en el proceso de extracción asistida por ultrasonido.

Entre todas las temperaturas utilizadas en el proceso de extracción asistida por ultrasonido se seleccionó la de 60°C como la mejor por ser la que arrojó el mayor rendimiento, tanto total como específico, por presentar una alta selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem y por mostrar la mayor diferencia de densidad entre el extracto y el solvente puro.

#### **IV.6 Comparación de los métodos de extracción asistida por microondas, extracción asistida por ultrasonido, destilación por arrastre de vapor, hidrodestilación y extracción supercrítica.**

Para llevar a cabo la comparación de los diversos métodos de extracción se seleccionaron los datos correspondientes a la muestra que obtuvo los mejores resultados de rendimiento y selectividad para cada uno de ellos. En el caso de la extracción asistida por microondas la muestra escogida es la que posee como parámetros de operación una potencia del 100% en el equipo durante 7 seg empleando etanol como solvente (M2). La elegida para la extracción asistida por ultrasonido es la que posee como parámetros de operación una temperatura de 60 °C durante 25 min empleando etanol como solvente (U10). Los datos para la extracción supercrítica, la hidrodestilación y la destilación por arrastre de vapor (soxhlet) se tomaron de la bibliografía.

La comparación de las bandas características de los espectros infrarrojos de los diversos métodos de extracción se representa gráficamente en la Figura 29.

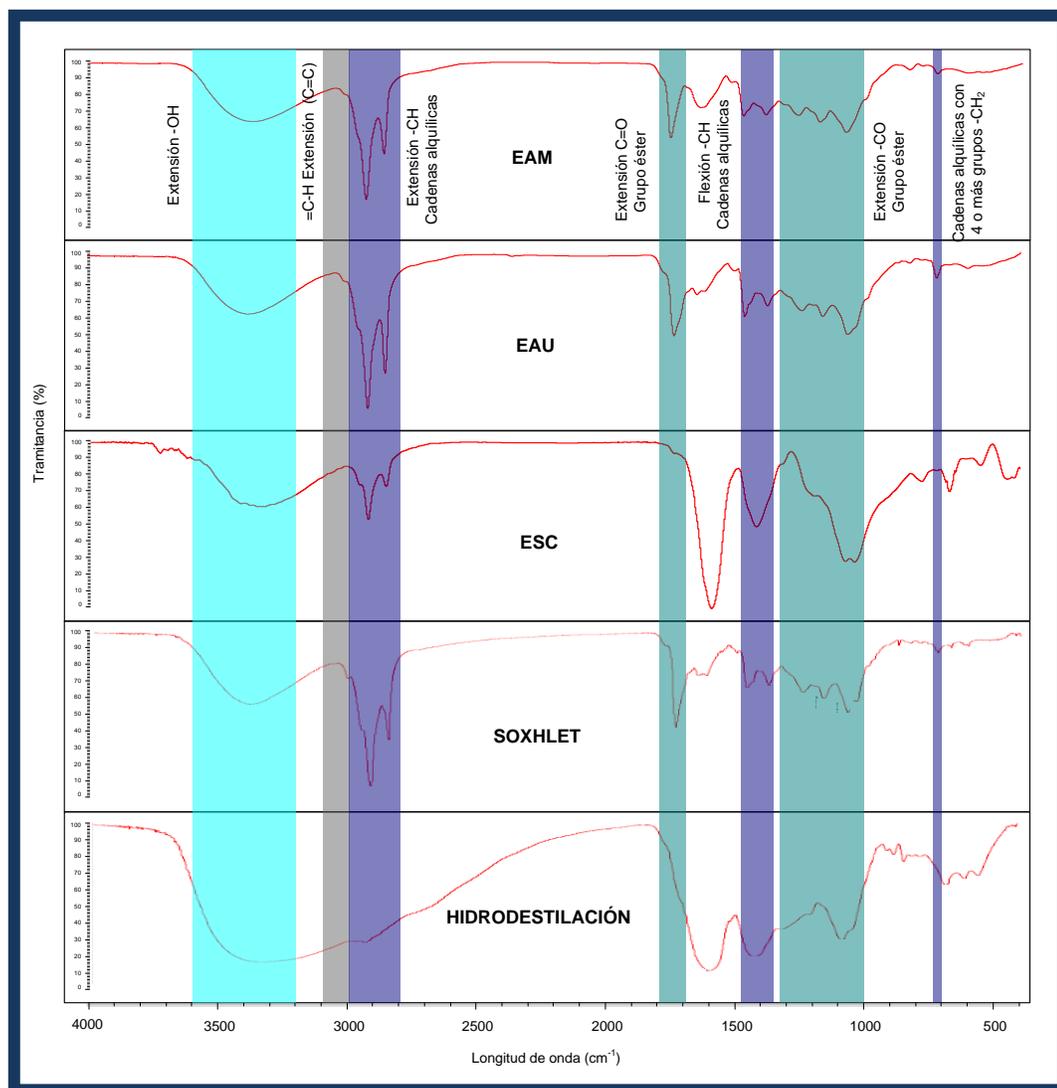


Figura 29. Comparación de las bandas de absorción de los espectros infrarrojos de los distintos métodos de extracción.

En la Figura 29 se observa que los métodos de extracción asistida por microondas, extracción asistida por ultrasonido y destilación por arrastre de vapor presentan las absorciones características de los triglicéridos de la muestra patrón. En los espectros de estas tres técnicas se puede apreciar el pico asociado al enlace C=O y las inflexiones características de los enlaces -CO de los grupos éster de los triglicéridos. Además, están presentes las señales que indican la existencia de las

largas cadenas alquílicas de los ácidos grasos que conforman los triglicéridos ( $725-720\text{cm}^{-1}$ ) y las insaturaciones C=C de algunos de esos ácidos grasos ( $3100-3000\text{cm}^{-1}$ ).

Los espectros de la extracción supercrítica y la hidrodestilación no muestran las inflexiones relacionadas a las insaturaciones C=C y a las cadenas alquílicas de más de 4 átomos de carbono. La muestra obtenida mediante hidrodestilación no presenta el pico característico de los enlaces C=O y en la obtenida mediante extracción supercrítica ese pico es de baja intensidad. Estas observaciones indican que en ninguna de estas muestras se encuentran los triglicéridos típicos del aceite esencial de Neem.

Las señales de los demás componentes del aceite (terpenos, flavonoides y esteroides) se pueden encontrar solapadas con las de los solventes o las de los triglicéridos que dominan los espectros en el caso de la EAM, la EAU y la extracción Soxhlet.

A continuación se presenta una tabla donde se resumen los parámetros de operación, rendimiento y selectividad de los diversos métodos de extracción del aceite esencial de Neem.

Tabla 21. Parámetros de operación y rendimiento para cada uno de los procesos de extracción.

Método de extracción	Temperatura de operación (°C)	Presión de operación (atm)	Tiempo de extracción	Solvente	Rendimiento total(%)
<b>EAM</b>	25-78	1	7 seg	Etanol	66,1
<b>EAU</b>	60	1	25 min	Etanol	64,4
<b>ESC*</b>	60	129	2 hrs	CO <sub>2</sub>	30,7
<b>HIDRO-DESTILACIÓN*</b>	78	1	24 hrs	Agua	26,2
<b>SOXHLET*</b>	78	1	24 hrs	Etanol	24,3

*\*Extraído de (Rosas, 2009)*

En cuanto a la temperatura de operación se observa que para la EAM, la hidrodestilación y la extracción soxhlet se alcanza un valor de 78 °C, mientras que las temperaturas de trabajo para la EAU y ESC son inferiores.

Para realizar la ESC se requiere una presión de trabajo notablemente más alta que la empleada en los demás métodos, los cuales se llevan a cabo a presión atmosférica. Esto representa una desventaja para la ESC respecto a las otras técnicas ya que es necesario el uso de equipos especializados que son más costosos.

Los métodos de EAM y EAU presentan tiempos de extracción cortos con respecto a los necesarios para efectuar la ESC, la hidrodestilación y la extracción soxhlet lo que implica un ahorro energético. Destacando que el periodo de operación

para la EAM es el más breve de todos (7 seg) y los correspondientes a la hidrodestilación y la extracción soxhlet los más prolongados (24 hrs).

Con respecto al rendimiento se aprecia que es superior en la EAM y EAU en comparación con el observado en la ESC, hidrodestilación y la extracción soxhlet. Resaltando que el valor obtenido en la EAM es el mas alto (66,1%) mientras que para el método soxhlet resulta ser el menor (24,3%). Esto implica que con la EAM se extraen en mayor cantidad los compuestos presentes en las hojas de Neem.

A partir del análisis realizado a los espectros de cada uno de los métodos extracción, se observa que la EAM, la EAU y la extracción soxhlet son técnicas altamente selectivas hacia los componentes que forman parte del aceite esencial de Neem ya que presentan las bandas de absorción características del espectro de la muestra patrón (sección IV.2). Por el contrario, las técnicas de hidrodestilación y ESC muestran una baja selectividad.

Comparando la extracción asistida por microondas y la extracción asistida por ultrasonido se puede apreciar que la primera es más eficiente ya que a pesar de que los valores de rendimiento obtenidos para estas técnicas no difieren considerablemente, el tiempo de operación empleado en la EAM es significativamente mas corto.

La extracción asistida por microondas es el método de extracción más eficiente en comparación con las otras técnicas de extracción ya que genera un mayor rendimiento, tanto total como específico, empleando tiempos de operación más cortos y una alta selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES

En este capítulo se presentan las conclusiones del Trabajo Especial de Grado en base a los análisis y la discusión de resultados.

- El empleo de diversos solventes permite observar un variación en la selectividad y el rendimiento del proceso de EAM.
- Al aumentar la potencia del equipo se logra una alta selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem y se observa un incremento de la densidad de los extractos obtenidos y del rendimiento, tanto total como específico, del proceso de EAM.
- Al aumentar el tiempo de residencia se logra una alta selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem y se observa un incremento de la densidad de los extractos obtenidos y del rendimiento, tanto total como específico, del proceso de EAM.
- Los parámetros óptimos de operación para la extracción asistida por microondas corresponden a una potencia del equipo de 100% durante un tiempo de residencia de la muestra de 7 segundos empleando etanol como solvente.
- El empleo de diversos solventes permite observar un variación en la selectividad y el rendimiento del proceso de EAU.
- Al aumentar el tiempo de residencia se logra una alta selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem y se observa un incremento de la densidad de los extractos obtenidos y del rendimiento, tanto total como específico, del proceso de EAU.

- Al aumentar la temperatura se logra una alta selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem y se observa un incremento de la densidad de los extractos obtenidos y del rendimiento, tanto total como específico, del proceso de EAU.
- Los parámetros óptimos de operación para la extracción asistida por ultrasonido corresponden a una temperatura de 60°C durante un tiempo de residencia de la muestra de 25 minutos empleando etanol como solvente.
- La extracción asistida por microondas es más eficiente que la extracción asistida por ultrasonido ya que genera un mayor rendimiento, tanto total como específico, empleando tiempos de operación más cortos, mostrando ambas técnicas una alta selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem.
- La extracción asistida por microondas y la extracción asistida por ultrasonido son más eficientes que las técnicas de extracción supercrítica, hidrodestilación y Soxhlet, ya que generan un mayor rendimiento, tanto total como específico, empleando tiempos de operación más cortos. Además ambas presentan una mayor selectividad hacia los componentes del aceite esencial de Neem.

## CAPÍTULO VI

### RECOMENDACIONES

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

- Trabajar con tamaños de muestras variables para determinar si este factor influye de manera significativa en el rendimiento y la selectividad del proceso de extracción y en las propiedades físicas y organolépticas de los extractos obtenidos.
- Utilizar la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o la cromatografía de gas acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) como métodos de caracterización de las muestras para conocer la composición del extracto obtenido empleando la EAM y EAU
- Realizar pruebas empleando solventes como acetona, tolueno y éter etílico para determinar si el uso de cetonas, aromáticos o éteres como solvente, influye de manera significativa en el rendimiento y la selectividad del proceso de extracción y en las propiedades físicas y organolépticas de los extractos obtenidos.
- Variar la relación materia prima-solvente y estudiar su influencia tanto en el rendimiento como en la selectividad del proceso de obtención de aceite esencial de las hojas del árbol de Neem.
- Emplear como equipo de evaporación para la determinación del rendimiento específico, una estufa al vacío en lugar de una convencional, para trabajar con menores temperaturas de operación y evitar el riesgo de que ocurra la descomposición de algunos compuestos de interés obtenidos de la extracción.

- Utilizar la extracción asistida por microondas y por ultrasonidos para extraer aceite esencial de las semillas del árbol de Neem ya que es en esta parte de la planta donde puede encontrar este aceite en mayor cantidad.
- Estudiar las técnicas de extracción por prensado y enfleurage para comparar la eficiencia alcanzada por estos métodos convencionales con la obtenida para la extracción asistida por microondas y la extracción asistida por ultrasonido.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar G., R. (2006). Las propiedades curativas del Neem. [Artículo en línea]. Disponible: <http://www.enlineadirecta.info> [Consulta: 2008, octubre 10].
- Armas, C. y Corredor, J. (2007). Comparación de procesos de extracción del aceite esencial de Vetiver (*Chrysopogon Zizanoides* (L) Roberly). Trabajo Especial de Grado no publicado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- Azuola, R. y Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias asistida por Ultrasonido (EUA). Revista Tecnología en Marcha, 20(4); pp 30-40 [Revista en línea]. Disponible: <http://www.tec.cr/publicaciones/Paginas/default.aspx> [Consulta: 2008, octubre 05].
- Barbero, G. y otros (2007) Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. *Talanta*, 75(5); pp 1332-1337. Disponible: <http://www.ScienceDirect.com>
- Bastidas, M. (2008). Extracción de los derivados del cacao venezolano utilizando el proceso de extracción asistida por microondas (EAM) y extracción asistida por ultrasonido (EAU). Trabajo Especial de Grado no publicado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- Carballo, A. (2008). Extracción de cafeína a partir de café venezolano utilizando el proceso de extracción por: Microondas (EM) y Ultrasonido (EU). Trabajo Especial de Grado no publicado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- Carr, G. (2006). Galería de Imágenes. Disponible: <http://www.botany.hawaii.edu/FACULTY/CARR/pag3.htm>. [Consulta: 2008, octubre 10].
- Charalampos, P. y Komaitis M. (2008). Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. *LWT-Food science and technology*, 41(4); pp 652-659. Disponible: <http://www.ScienceDirect.com>.
- Chunhui, D. y otros (2006). Development of microwave-assisted extraction followed by headspace single-drop microextraction for fast determination of

- paeonol in traditional Chinese medicines. *Journal of Chromatography A*, 1103(1); pp 15-21. Disponible: <http://www.ScienceDirect.com>.
- Dolatowsky, Z., Stadnik, J. y Stasiak, D. (2007). Applications of ultrasound in food technology. *Acta Scientiarum Polonorum*, 6(3); pp 89-99. Disponible: [http://www.food.actapol.net/pub/8\\_3\\_2007.pdf](http://www.food.actapol.net/pub/8_3_2007.pdf)
  - ElKhorri, S. y otros (2007). The microwave-assisted process (MAPTM1): Extraction and determination of fat from cocoa powder and cocoa nibs. *Journal of Food Engineering*, 79(3); pp 1110-1114. Disponible: <http://www.ScienceDirect.com>.
  - Förster, P. y Moser, G. (2000). Status report on global Neem usage. [Libro en línea]. Editorial GTZ. 122 p. Disponible: [http://purl.pt/915/1/cd1/ta200/TA224%20Status\\_report\\_on\\_global\\_neem\\_usage\\_2000.pdf](http://purl.pt/915/1/cd1/ta200/TA224%20Status_report_on_global_neem_usage_2000.pdf). [Consulta: 2009, marzo 16]
  - Gil, E. y Sáez, A. (2000). Evaluación del proceso industrial para la obtención de aceite esencial filosofía “cero emisiones”. *Revista Universidad Eafit*, 36(122); pp 14-21. [Revista en línea]. Disponible: <http://bdigital.eafit.edu.co/bdigital/HEMEROTECA/HRU038/118revista.pdf>. [Consulta: 2008, diciembre 26]
  - González, S. (2007). Extracción de cafeína del café utilizando como solvente dióxido de carbono en condiciones supercríticas. Trabajo Especial de Grado no publicado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
  - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) (2008). Galería de Imágenes. Disponible: <http://www.inta.gov.ar> [Consulta: 2008, octubre 10].
  - Integrated Taxonomic Information System (ITIS). Disponible: <http://www.itis.gov> [Consulta: 2008, octubre 1].
  - Kwon, J., Belanger J. y Pare J. (2003). Optimization of Microwave-Assisted Extraction (MAP) for Ginseng Components by Response Surface Methodology. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(7); pp 1807-1810. Disponible: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf026068a>.

- Largo G., Á. (2004). Determinación del contenido graso de leche en polvo: Extracción Soxhlet [Artículo en línea] Disponible: <http://www.profeonline.com/laboratorioquimico/> [Consulta: 2008, octubre 10]
- Martínez M., A. (2003). Aceites Esenciales. [Artículo en línea] Disponible: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf> [Consulta: 2008, diciembre 26]
- McMurry, J. (2005). Química Orgánica, 6ta ed. [Libro en línea]. Cengage Learning Editores. 1176 p. Disponible: <http://books.google.co.ve/books?id=LZ4xXyz8Qy4C> [Consulta: 2008, octubre 26]
- National Research Council (NRC) (1992). Neem: A Tree for Solving Global Problems [Libro en línea]. National Academy Press. 141 p. Disponible: <http://www.nap.edu/openbook.php?isbn=0309046866> [Consulta: 2008, octubre 8]
- Neem Foundation (s,f). Chemistry of Neem. Disponible: <http://www.neemfoundation.org> [Consulta: 2008, octubre 8].
- Nollet, L. y Grob, R. (2006). Chromatographic Analysis of the Environment, 3era ed. [Libro en línea]. CRC Press. 1297 p Disponible: <http://books.google.co.ve/books?id=sCDTvnxs5XAC> [Consulta: 2008, septiembre 30].
- Paré, J., Sigouin, M., y Lappointe, J. (1991). Microwave-Assisted Natural Product Extraction. Patente N° 5.002.784. Disponible: <http://www.freepatentsonline.com/5002784.pdf>.
- Parra, L (1995). Hornos de Microondas. Revista Electrónica y Servicio N°10; pp 27-38. Disponible: <http://www.scribd.com/doc/6683335/Electronic-A-y-Servicio-10> [Consulta: 2008, diciembre 6]
- Parrotta, J. y Chaturvedi, A. (1994). Azadirachta Indica A. Juss. Neem, Margosa. [Artículo en línea] Disponible: <http://www.fs.fed.us/global/iitf/Azadirachtaindica.pdf> [Consulta: 2008, septiembre 20].

- Pijoan, M. (2004). El Neem: La “farmacia de la aldea”. OFFARM, 23(5); pp 128-133. [Revista en línea]. Disponible: <http://external.doyma.es/pdf/4/4v23n05a13061804pdf001.pdf>. [Consulta: 2008, octubre 7].
- Prados, R., Luque, J. y Luque, M. (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, 993(1-2); pp 121-129. Disponible: <http://www.ScienceDirect.com>.
- Primo Y., E. (1996). Química orgánica básica y aplicada: De la molécula a la industria. [Libro en línea]. Editorial Reverté, S.A. 795 p. Disponible: <http://books.google.co.ve/books?id=4ex-mdTjyHcC>. [Consulta: 2008, octubre 16]
- Puri, H. (1999). Neem: The Divine Tree: Azadirachta Indica [Libro en línea]. CRC Press. 182 p. Disponible: <http://books.google.co.ve/books?id=T94o70RSFGgC> [Consulta: 2008, octubre 2]
- Raventós S., M. (2005). Industria Alimentaria. Tecnologías Emergentes. Cataluña. Edicions UPC, S.L. 200 p. Disponible: <http://www.edicionsupc.es/ftppublic/pdfmostra/CT00803M.pdf> [Consulta: 2008, octubre 05]
- Roldán, J., Ruiz, J. y Luque, M. (2008). Ultrasound-assisted dynamic extraction of valuable compounds from aromatic plants and flowers as compared with steam distillation and superheated liquid extraction. Talanta, 75(5); pp 1369-1375. Disponible: <http://www.ScienceDirect.com>.
- Rosas, L. (2009). Obtención de aceite esencial a partir de hojas de Neem (Azadirachta Indica A. Juss), usando los métodos de extracción supercrítica con CO2 como solvente y extracción convencional con agua. Trabajo Especial de Grado no publicado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.

- Señoráns, J (2004). Nuevas técnicas de preparación de la muestra. [Artículo en línea]. Disponible: [http://www.uam.es/personal\\_pdi/ciencias/alimento/](http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alimento/). [Consulta: 2008, noviembre 2]
- Soledad, Z (2007). Extracción de manteca a partir de las semillas del cacao utilizando dióxido de carbono en condiciones supercríticas como solvente. Trabajo Especial de Grado no publicado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- Stanisavljevic, I., Lázic, M. y Veljkovic, V. (2007). Ultrasonic extraction of oil from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seeds. *Ultrasonic Sonochemistry*, 14(5); pp 646-652. Disponible: <http://www.ScienceDirect.com>.
- Stashenko, E. (2008). Estudio prospectivo de aceites esenciales colombianos de interés industrial [Artículo en línea] Disponible: <http://sisav.valledelcauca.gov.co> [Consulta: 2008, diciembre 26]
- Vivekananda, M., Mohan, Y. y Hemalatha S. (2007) Microwave Assisted Extraction – An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*, 1(1); pp 7-18. Disponible: <http://www.phcogrev.com/issue1/2.pdf>.
- Walton, H. y Reyes, J. (1983). Análisis químico e instrumental moderno. [Libro en línea]. Editorial Reverté, S.A. 405 p. Disponible: <http://books.google.co.ve/books?id=htRP2dHJKXgC> [Consulta: 2008, diciembre 2]
- Zhang, H y otros (2008). Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of *Epimedium* and extraction mechanism. *Innovative food science & Emerging Technologies*, 10(1); pp 54-60. Disponible: <http://www.ScienceDirect.com>.

## ANEXOS

## ANEXO A. Datos experimentales

A continuación se presentan los datos experimentales correspondientes a las pruebas realizadas mediante la extracción asistida con microondas.

Tabla 22. Datos experimentales para el cálculo de rendimiento total, rendimiento específico y densidad de las muestras de EAM.

Identificación de la Prueba		Masa inicial de hojas $M_i$ (g)	Masa final de hojas $M_f$ (g)	Masa extracto producto de la evaporación $M_e$ (g)	Masa picnómetro lleno $M_{pf}$ (g)
M1	A	5,0027	1,8473	-	-
	B	5,0049	1,8352	0,3246	42,1024
M2	A	5,0062	1,7009	-	-
	B	5,0471	1,7034	0,3558	39,3465
M3	A	5,0277	2,0186	-	-
	B	5,0168	2,0208	0,3005	39,2218
M4	A	5,0042	2,0136	-	-
	B	5,0235	2,0394	0,1423	36,0021
M5	A	5,0090	1,9736	-	-
	B	5,0031	1,9534	0,2927	39,2143
M6	A	5,0071	2,0160	-	-
	B	5,0066	2,0579	0,2382	38,8089
M7	A	5,0087	2,1269	-	-
	B	5,0146	2,2337	0,1859	38,5237
M8	A	5,0127	2,2432	-	-
	B	5,0245	2,2701	0,1774	38,4970
M9	A	5,0047	2,1965	-	-
	B	5,0046	2,2659	0,1652	38,2622
M10	A	5,0180	2,8210	-	-
	B	5,0520	2,9328	0,0356	37,7781

A continuación se presentan los datos experimentales correspondientes a las pruebas realizadas mediante la extracción asistida con ultrasonido.

*Tabla 23. Datos experimentales para el cálculo de rendimiento total, rendimiento específico y densidad de las muestras de EAU*

Identificación de la Prueba		Masa inicial de hojas $M_i$ (g)	Masa final de hojas $M_f$ (g)	Masa extracto producto de la evaporación $M_e$ (g)	Masa picnómetro lleno $M_{pf}$ (g)
U1	A	5,0218	2,4444	-	-
	B	5,0056	2,4703	0,0592	42,4315
U2	A	5,0055	2,2937	-	-
	B	5,0224	2,2566	0,1606	38,9695
U3	A	5,0088	2,3165	-	-
	B	5,0080	2,3184	0,1316	38,7343
U4	A	5,0527	2,3882	-	-
	B	5,0351	2,3607	0,1428	35,6694
U5	A	5,0338	2,4241	-	-
	B	5,0044	2,3734	0,1137	38,7121
U6	A	5,0187	2,1218	-	-
	B	5,0031	2,0606	0,168	39,5924
U7	A	5,0048	2,0824	-	-
	B	5,0273	2,0582	0,1691	39,6052
U8	A	5,0047	1,9120	-	-
	B	5,0156	1,8982	0,2351	39,7356
U9	A	5,0010	1,8323	-	-
	B	5,0050	1,8489	0,2677	39,8453
U10	A	5,0255	1,8017	-	-
	B	5,0211	1,7765	0,2987	40,0074

La siguiente tabla corresponde a los datos experimentales tomados para el cálculo de la densidad de los solventes puros.

Tabla 24. Datos experimentales para el cálculo de la densidad de los solventes puros y de la muestra patrón.

	<b>Masa picnómetro lleno (M<sub>pt</sub>) [g]</b>
Aceite de Neem	41,9875
Agua	42,7034
Etanol	38,4861
Propanol	38,3689
Hexano	35,3237
Ciclohexano	38,3788

## ANEXO B. Cálculos tipo para la obtención de resultados.

### B.1 Cálculo de densidad.

Para estimar analíticamente el valor de la densidad se emplea la siguiente relación:

$$\rho = \frac{Mp_f - Mp_v}{V_p} \quad [1]$$

Donde:

$\rho$ : Densidad de la muestra (g/ml).

$Mp_f$ : Masa del picnómetro lleno (g)

$Mp_v$ : Masa del picnómetro vacío (18,3171 g).

$V_p$ : Volumen del picnómetro (24,94 ml).

Los datos experimentales para el cálculo de densidad se encuentran tabulados en el ANEXO A. A continuación se presenta un cálculo tipo correspondiente a la muestra M1-B.

$$\rho = \frac{42,1024 - 18,3171}{24,94}$$

$$\rho = 0,9537 \text{ g/ml}$$

Los valores de densidad calculados para cada una de las muestras se observan en las Tablas 11 y 16 y las Figuras 20, 22, 25 y 27 ubicadas en la sección de resultados y discusión.

## B.2 Cálculo de rendimiento total.

Para estimar analíticamente el valor del rendimiento total se emplea la siguiente relación:

$$R_T = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100 \quad [2]$$

Donde:

$R_T$ : Rendimiento total (%).

$M_i$ : Masa inicial de hojas (g).

$M_f$ : Masa final de hojas (g).

Los datos experimentales para el cálculo del rendimiento total se encuentran tabulados en el ANEXO A. A continuación se presenta un cálculo tipo correspondiente a la muestra M1-A.

$$R_T = \frac{5,0027 - 1,8473}{5,0027} \times 100$$

$$R_T = 63,1 \%$$

Los valores de rendimiento total calculados para cada una de las muestras se observan en las Tablas 13, 14, 15, 18, 19 y 20 ubicadas en la sección de resultados y discusión.

### B.3 Cálculo de rendimiento total promedio.

Para estimar analíticamente el valor del rendimiento total promedio se emplea la siguiente relación:

$$\bar{R}_T = \frac{R_{TA} + R_{TB}}{2} \quad [3]$$

Donde:

$\bar{R}_T$ : Rendimiento total promedio (%).

$R_{TA}$ : Rendimiento total de la muestra A (%).

$R_{TB}$ : Rendimiento total de la muestra B (%).

Los datos experimentales para el cálculo del rendimiento total promedio se encuentran en las Tablas 13, 14, 15, 18, 19 y 20 ubicadas en la sección de resultados y discusión. A continuación se presenta un cálculo tipo correspondiente a la muestra M1.

$$\bar{R}_T = \frac{63,1 + 63,3}{2} \times 100$$

$$\bar{R}_T = 63,2 \%$$

Los valores de rendimiento total promedio calculados para cada una de las muestras se observan en las Tablas 13, 14, 15, 18, 19 y 20 ubicadas en la sección de resultados y discusión.

#### B.4 Cálculo de rendimiento específico.

Para estimar analíticamente el valor del rendimiento específico se emplea la siguiente relación:

$$R_E = \frac{M_e}{M_i} \times 100 \quad [4]$$

Donde:

$R_E$ : Rendimiento específico (%).

$M_e$ : Masa de extracto producto de la evaporación (g)

Los datos experimentales para el cálculo del rendimiento específico se encuentran tabulados en el ANEXO A. A continuación se presenta un cálculo tipo correspondiente a la muestra M1-B.

$$\bar{R}_T = \frac{0,3246}{5,0049} \times 100$$

$$R_T = 6,5 \%$$

Los valores de rendimiento específico calculados para cada una de las muestras se observan en las Tablas 13, 14, 15, 18, 19 y 20 ubicadas en la sección de resultados y discusión.

### ANEXO C. Datos para el análisis de espectros infrarrojos.

A continuación se presenta una tabla que resume las bandas de absorción presentes en los diversos espectros analizados en este Trabajo Especial de Grado.

Tabla 25. Bandas de absorción características de los espectros infrarrojos. (Primo, 1996)

Grupo Funcional	Tipo de vibración		Longitud de Onda (cm <sup>-1</sup> )	Intensidad		
<b>Alcohol</b>	-OH extensión		3500-3200	fuerte		
	-CO extensión		1320-1000	fuerte		
<b>Cadena alquílica</b>	-CH extensión	-CH <sub>2</sub>	asimétrica	2940-2910	media	
			simétrica	2860-2840		
		-CH <sub>3</sub>	asimétrica	2970-2950		
			simétrica	2880-2860		
	-CH flexión	CH <sub>2</sub>	simétrica(tijeras)	1470-	1470-1440	media
		CH <sub>3</sub>	asimétrica	1350	1470-1450	
simétrica (paraguas)				1380-1360		
-(CH <sub>2</sub> ) <sub>n≥4</sub> - flexión asimétrica			725-720	media		
<b>Éster</b>	C=O extensión		1750-1735	fuerte		
	C-O extensión		1320-1000	fuerte		
<b>Cetona</b>	C=O extensión		1720-1710	fuerte		
<b>Éter</b>	C-O extensión		1320-1000	fuerte		
<b>Insaturación (doble enlace)</b>	=C-H extensión		3100-3000	media		

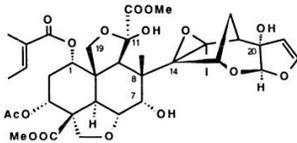
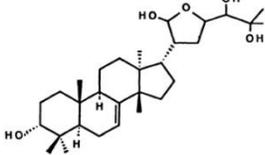
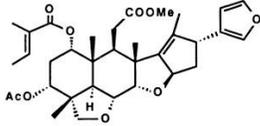
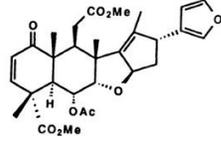
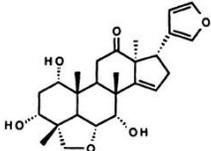
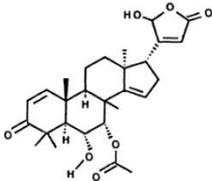
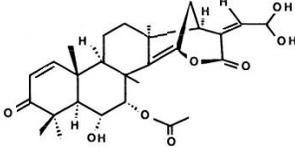
**ANEXO D. Grupos funcionales de los componentes del aceite esencial de Neem.**

A continuación se presenta una tabla donde se resumen los grupos funcionales presentes en las estructuras moleculares de los componentes del aceite esencial de Neem y los enlaces que generan vibraciones observables en los espectros infrarrojos.

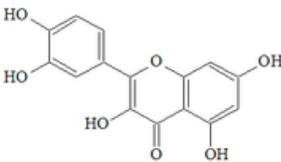
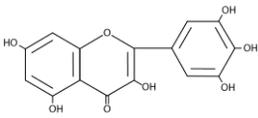
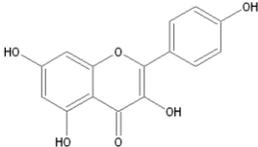
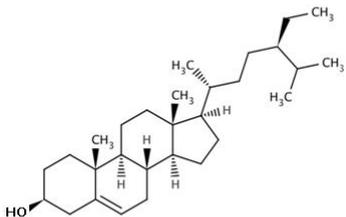
Tabla 26. Grupos funcionales característicos de los componentes del aceite de Neem.

Compuestos	Estructura molecular	Enlaces que generan señales en el espectro IR	
<b>Triglicéridos</b>	$  \begin{array}{c}  \text{O} \\  \parallel \\  \text{CH}_2-\text{O}-\text{C}-\text{R}_1 \\    \\  \text{O} \\  \parallel \\  \text{CH}-\text{O}-\text{C}-\text{R}_2 \\    \\  \text{O} \\  \parallel \\  \text{CH}_2-\text{O}-\text{C}-\text{R}_3  \end{array}  $ <p>Donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son cadenas alquílicas de ácidos grasos.</p>	<p><b>Éster</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ C=O</li> <li>✓ -CO</li> </ul>	
	Ácido Graso	Cadena alquílica	
	Oléico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ -CH</li> <li>✓ -(CH<sub>2</sub>)<sub>n≥4</sub>-</li> </ul>
	Palmítico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub>	
	Esteárico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub>	<p><b>Insaturación</b></p>
	Linoléico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> (CH=CHCH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ =C-H</li> </ul>
	Araquídico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub>	

Continuación Tabla 26. Grupos funcionales característicos de los componentes del aceite de Neem.

Compuestos	Estructura molecular	Enlaces que generan señales en el espectro IR	
<b>Terpenos</b>	Azadiractina		
	Meliantriol		<b>Alcohol</b> ✓ -OH ✓ -CO
	Salanina		<b>Éter</b> ✓ -CO
	Nimbina		<b>Cadena alquílica</b> ✓ -CH
	Nimbidina		<b>Cetona</b> ✓ C=O
	Isonimocinolida		<b>Éster</b> ✓ C=O ✓ -CO
	Nimocinolida		<b>Insaturación</b> ✓ =C-H

Continuación Tabla 26. Grupos funcionales característicos de los componentes del aceite de Neem.

Compuestos	Estructura molecular	Enlaces que generan señales en el espectro IR
Flavonoides	Quercetina 	<b>Alcohol</b> ✓ -OH ✓ -CO
	Miricetina 	<b>Éter</b> ✓ -CO  <b>Cetona</b> ✓ C=O
	Kaempferol 	<b>Insaturación</b> ✓ =C-H
Esteroles	Nimbosterol 	<b>Cadena alquílica</b> ✓ -CH  <b>Alcohol</b> ✓ -OH ✓ -CO  <b>Insaturación</b> ✓ =C-H

## ANEXO E. Espectros infrarrojos de los solventes puros.

A continuación se presentan los espectros infrarrojos de los solventes empleados en la EAM y la EAU.

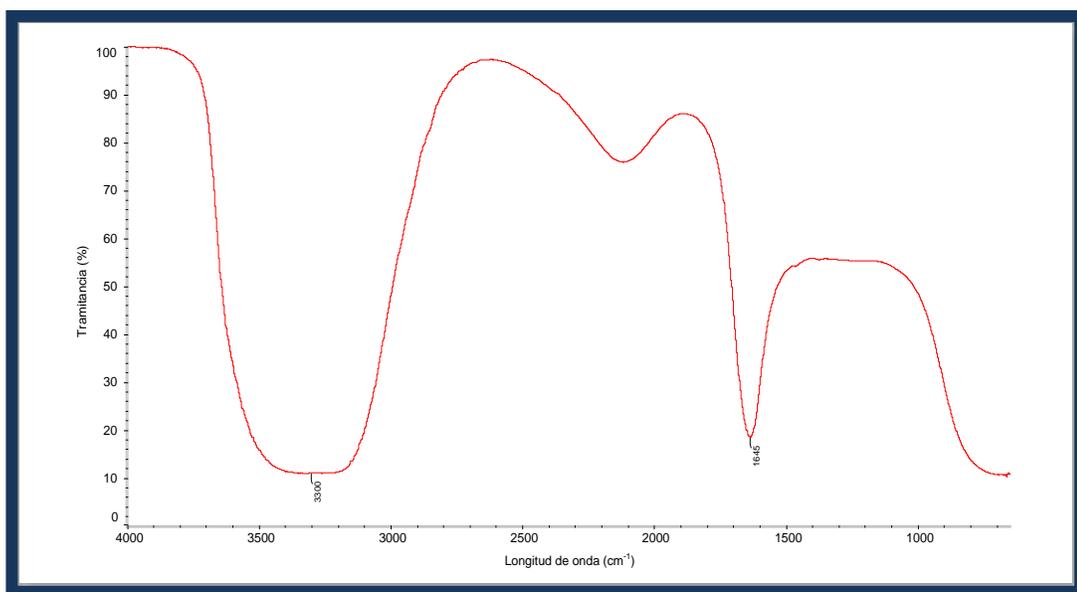


Figura 30. Espectro infrarrojo del agua.

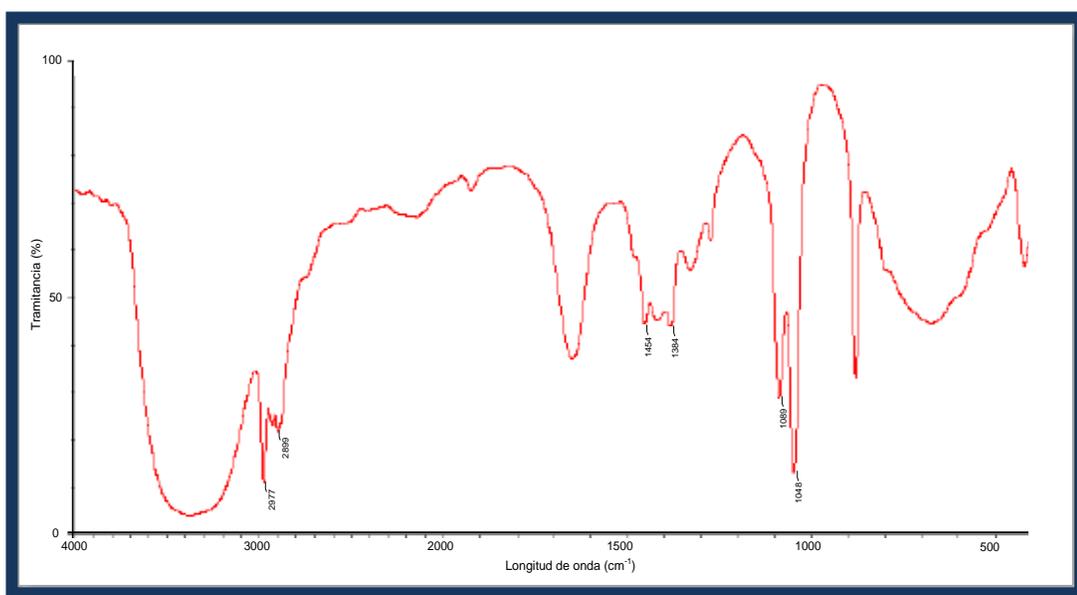


Figura 31. Espectro infrarrojo del etanol.

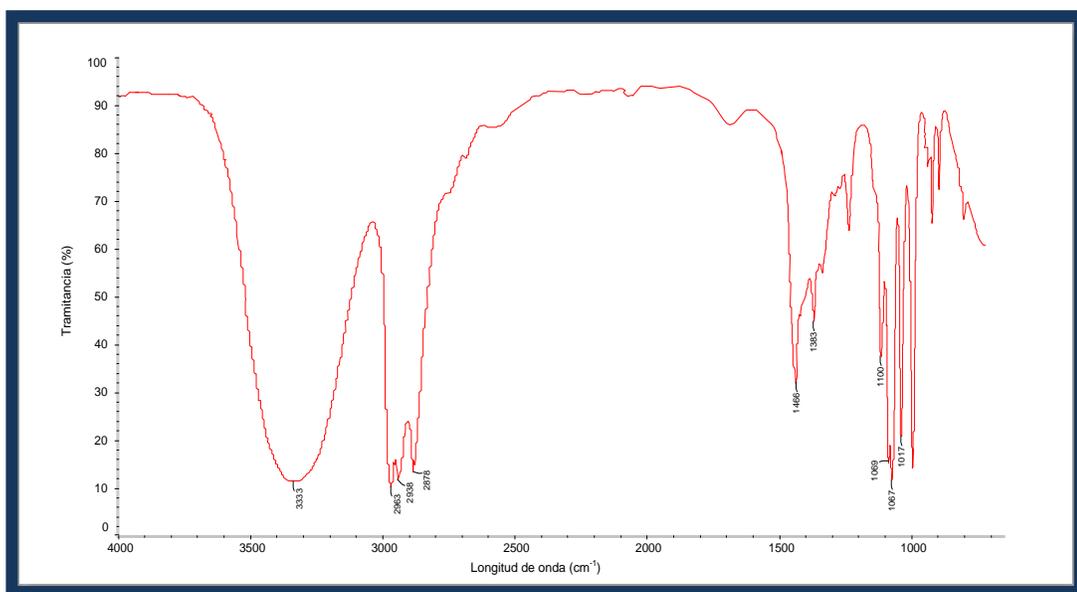


Figura 32. Espectro infrarrojo del propanol.

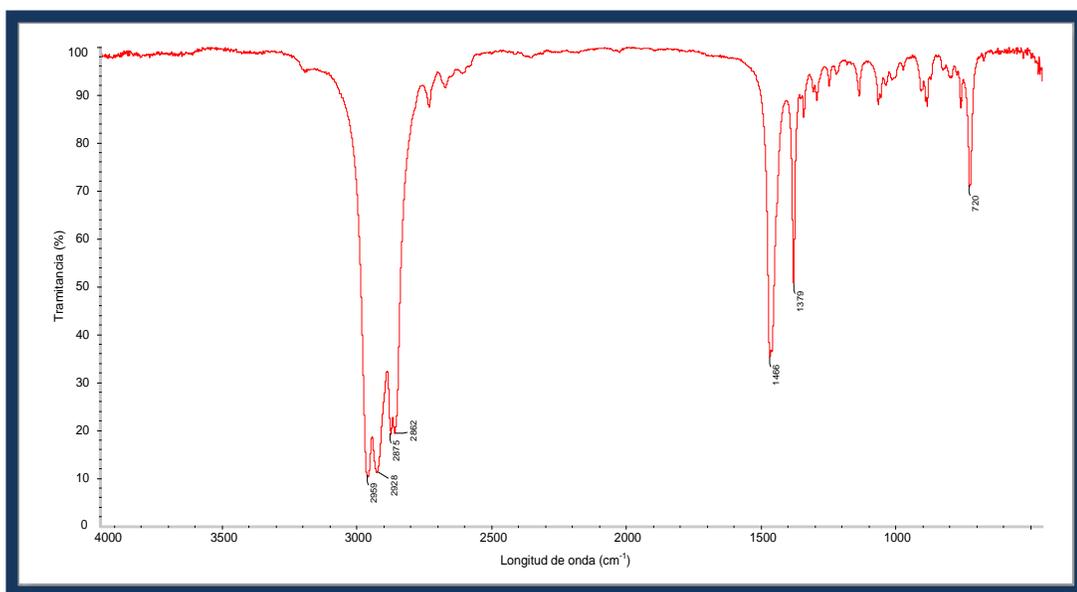


Figura 33. Espectro infrarrojo del hexano.

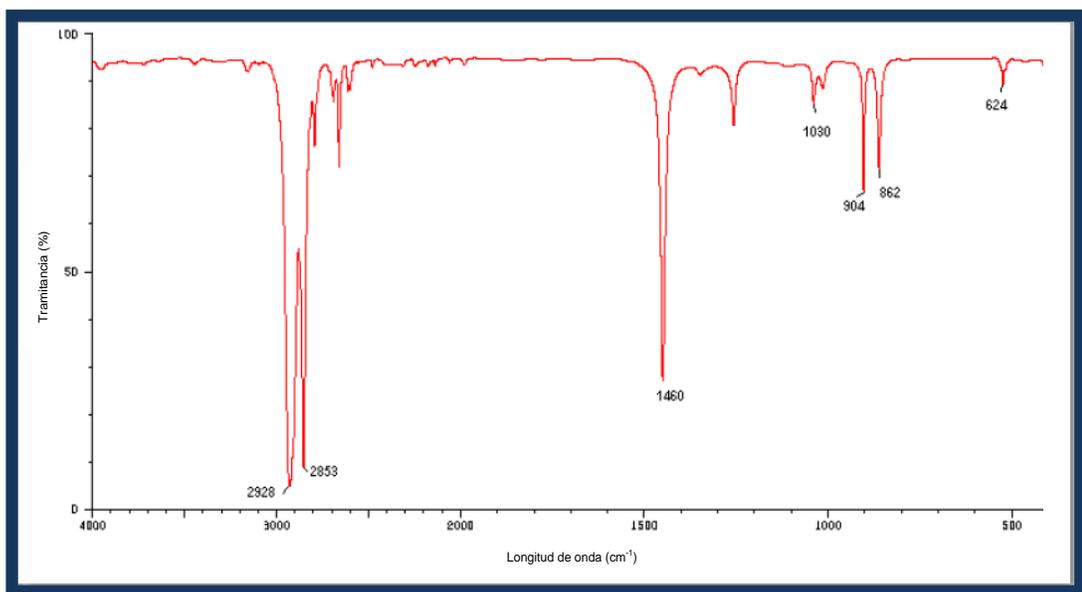


Figura 34. Espectro infrarrojo del ciclohexano.