

# **TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**

## **OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL A PARTIR DE SEMILLAS DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA A. JUSS), USANDO LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA CON CO<sub>2</sub> COMO SOLVENTE Y EXTRACCIÓN CONVENCIONAL CON AGUA.**

Presentado ante la Ilustre  
Universidad Central de Venezuela  
Por el Br Martín A. Hussein  
Para optar al Título de  
Ingeniero Químico.

Caracas, 2010

# **TRABAJO ESPECIAL DE GRADO**

## **OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL A PARTIR DE SEMILLAS DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA A. JUSS), USANDO LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA CON CO<sub>2</sub> COMO SOLVENTE Y EXTRACCIÓN CONVENCIONAL CON AGUA.**

TUTORES ACADÉMICOS: Prof. Francisco Yáñez

Prof. Armando Vizcaya

Presentado ante la Ilustre  
Universidad Central de Venezuela  
Por el Br Martín A. Hussein  
Para optar al Título de  
Ingeniero Químico.

Caracas, 2010

Caracas, Noviembre de 2010

Los abajo firmantes, miembros del Jurado designado por el Consejo de Escuela de Ingeniería Química, para evaluar el Trabajo Especial de Grado presentado por el Bachiller Hussein Martín A., titulado:

**“Obtención de aceite esencial a partir de semillas de Neem (Azadirachta indica a. Juss), usando los métodos de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> como solvente y extracción convencional con agua”**

Consideran que 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. María A. Rodríguez

Jurado

Prof. Jaime A. Hernández

Jurado

Prof. Armando Vizcaya

Tutor Académico

Prof. Francisco Yáñez

Tutor Académico

## DEDICATORIA

A mi madre que dios la tenga en su gloria por darme la vida, criarme de la mejor manera como un hombre de bien, darme el amor y el cariño que todo individuo desea, brindarme una buena educación, apoyarme en la realización de cada uno de los sueños que me propuse en la vida y gracias a ella hoy logre lo que ella tanto quiso tener a su hijo graduado de ingeniero. Recibiendo el titulo en su amada aula magna, no estarás físicamente en ella pero si en los corazones de todos los que la quisieron y ese día estarán a mi lado celebrando un sueño mas que se nos hizo realidad. Madre te amo.

A mi esposa mil gracias por ser esa mujer que llena mi corazón de amor, llegaste a mi vida exactamente en el momento ideal y vas a estar a mi lado por lo que me resta de vida, haciendo una bella familia junto a nuestros hijos Alfonso en su comienzo de vida y el bebe que llevas en tu vientre que completará la felicidad de nuestro hogar.

Mi hermana el gran apoyo que siempre tuve. Mi mama sustituta llenas el vacio que dejo la muerte de nuestra mama no existe dinero en el mundo que pueda pagarte todo lo que haz hecho por mí.

A mis dos hermanos gracias por compartir mi infancia y los buenos momentos de juventud enseñando las cosas buenas y malas de la vida

A todos mis amigos y compañeros de clases que aunque no lograre nombrarlos a todos saben que si me conocieron en la universidad quisiera que estuviesen aquí. Empezando por cuatro grandes amigos que fueron mi grupo de estudio y de rumba Gabriela Ramírez, Julio Ordoñez (El Bish!!!), Laura Azancot (incluyendo a Amalia) y Laurent Morales que orgulloso me siento de haber compartido tantas horas de estudio no se si estudiamos de la mejor manera pero siempre lo hacíamos juntos. Taslim León, adrian Otero, Jorge Silva, Ángel Rodríguez, Michael benzguida, Roberto Otero, Rafael De Bourg y Antonio Ruiz buenos amigos casi mis hermanos. Ana Arias, Alfonso Zambrano, Valentina del Rosario, Belkis, Stefanny, Carlos

Sanchez, Adriana, Zully, el chu, Ivan, Marco, Alejandro porromes, Julio, Julito, Darlis, Fabiola, Corina, Alezandra, Made, Maricely, Bambam, Jean Carlos, Niurka, Valentina, Vanessa, Eduvina, Alfonso, Vicente, Ini, Stefan, Tupa, el negro, Andru, Miguel, Teresita, Mariellys, Barbara, Gabo, Yesly, Richard, Ramón, Andrea, Jaime, Ali, José Moreno, Iraidá, Leudith, Ariadna, Eliana, Dayenni, Xuxa, Angela limpio, Angela Mujica, Alejandro, el líder, José Augusto, Domenico, Alexis, Johan, Charles, Alcides, Alfredo, Benito, Cesar, Ryan, Ilich, Franssisco, Luis Orta, Alexander, Jhonny, Valiushka, Darlenys, Gaby, Sergio, Candido, Enzo, Douglas Alejandro, Andrea Anastacia, Joshua, Ishtar, Héctor Elías, Héctor Rubén, Brick, Zaida, Yodis, Jean Pierre, Luis Ramón, Juliana, Tatiana, Ronald. Gracias por compartir buenos momentos de mi vida los quiero y los aprecio a todos.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Central de Venezuela, por todos estos años de tantas vivencias en sus aulas, pasillos, bibliotecas llenos de historia que me forjo el ingeniero que soy

A mis tutores Francisco Yáñez y Armando Vizcaya por creer siempre en mi y apoyarme en cada momento que los necesite no solo para la realización de mi trabajo de grado sino también para ayudarme durante mi carrera como estudiante.

A todos los que hicieron posible la realización de esta tesis, al Sr. Armando por arreglar el equipo de sus miles de fallas, por sus grandes inventos para que todo continuara. Un gran hombre con grandes conocimientos y pocos reconocimientos es un héroe anónimo si alguien hace tesis en el LOU y nunca necesito de su ayuda no es un Ingeniero Químico de la UCV.

A todos los profesores que me formaron como ingeniero, en especial a Mariluz Alonso por ser la profesora más pedagógica que tuve sin sus ayudas, cuentos y grandes inventos no hubiese logrado graduarme.

**Martín A., Hussein**

**OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL A PARTIR DE SEMILLAS DE NEEM  
(*Azadirachta indica A. Juss*), USANDO LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN  
SUPERCRÍTICA CON CO<sub>2</sub> COMO SOLVENTE Y EXTRACCIÓN  
CONVENCIONAL CON AGUA.**

**Tutores Académicos: Prof. Francisco Yáñez. Prof. Armando Vizcaya.**

**Tesis. Caracas, UCV. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería Química.**

**Año 2010, 75 p.**

**Palabras Clave:** Neem, Aceites esenciales, Extracción convencional, Extracción supercrítica, Rendimiento.

**Resumen:** El motivo de este estudio se debe a que el aceite esencial de esta planta contiene gran cantidad de compuestos importantes para el desarrollo de productos insecticidas; así como, productos farmacéuticos. Estos productos son ampliamente desarrollados en muchos de los países donde crece la planta y existe muy poco estudio en Venezuela.

Esta investigación se llevó a cabo en los módulos I y III de la escuela de Ingeniería Química de la Universidad Central de Venezuela, tuvo como objetivo principal determinar las condiciones óptimas de operación para la extracción del aceite esencial de Neem mediante el proceso de extracción supercrítica usando CO<sub>2</sub> y ETANOL como solventes para luego compararlo con el de extracción convencional. Se usaron semillas provenientes de una planta ubicada en la Facultad de Agronomía en el Núcleo de la Universidad Central de Venezuela en el estado Aragua.

En la extracción convencional se uso un extractor tipo Soxhlet, empleando agua y Etanol como solventes, en el cual se reportó el mayor rendimiento con el uso de Etanol, una vez realizados estos experimentos se conocían dos importantes datos como lo son el tipo de solvente a utilizar y el valor de rendimiento para ser comparado con el de la extracción supercrítica en donde se observó la influencia del uso de un cosolvente que favorece la extracción supercrítica, seguido por la variación de la presión y la temperatura sobre este método de extracción y así se determinaron los valores óptimos de operación. Dando como resultado que el método en el cual se obtuvo el mayor rendimiento fue el método convencional (57,12 %) pero a su vez el método de extracción supercrítica que arrojó un resultado muy cercano al otro método (51,52%) es muy viable su uso debido al corto tiempo empleado para la extracción ya que es de dos (2) horas en comparación con el método convencional que son necesarias veinticuatro (24) horas.

**ÍNDICE GENERAL**

<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>IX</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>	<b>X</b>
<b>INTRODUCCIÓN. ....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>3</b>
<b>FUNDAMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN. ....</b>	<b>3</b>
I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
I.2. OBJETIVOS. ....	5
I.2.1. Objetivo general: .....	5
I.2.2. Objetivos específicos: .....	5
<b>CAPÍTULO II .....</b>	<b>6</b>
<b>MARCO REFERENCIAL .....</b>	<b>6</b>
II.1 EL ÁRBOL DE NEEM.....	6
II.2 LA SEMILLA DE NEEM Y SU COMPOSICIÓN QUÍMICA. ....	7
II.3 USOS DEL NEEM .....	8
II.3.1 Plaguicida .....	9
II.3.2 Medicinales .....	9
II.3.3 Fuente de madera.....	10
II.3.4 Mejoramiento del suelo .....	10
II.4 ACEITES ESENCIALES .....	11
II.5 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES .....	12
II.6 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES .....	13
II.7 CLASIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES .....	14
II.8 COMPOSICION QUIMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE NEEM .....	15
II.8.1 La Azadiractina. ....	16
II.8.2 La Nimbina y Nimbidina.....	17
II.8.3 Meliantriol. ....	17



II.8.4 Salannina. ....	18
II.9 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES.....	19
II.9.1 Extracción convencional .....	22
II.9.2 Extracción con fluidos supercríticos. ....	23
II.10 VENTAJAS DEL USO DE CO <sub>2</sub> SUPERCRÍTICO COMO DISOLVENTE EN PROCESOS DE EXTRACCIÓN.....	25
II. 11 COSOLVENTES.....	26
II.12 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN QUÍMICA.....	26
II.12.1 Infrarrojo .....	27
<b>II.13 ANTECEDENTES.....</b>	<b>29</b>
II.13.1 “ESTUDIO EXPERIMENTAL SOBRE LA EXTRACCIÓN DE SEMILLAS DE NEEM CON EL MÉTODO SUPERCRÍTICO CON CO <sub>2</sub> ”. ....	29
II.13.2 “EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE LA SEMILLA DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA)” .....	30
II.13.3 “DESARROLLO DE UN BIOINSECTICIDA A PARTIR DE LA AZADIRACTINA PRESENTE EN EL ACEITE DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA)” .....	31
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>32</b>
<b>METODOLOGÍA.....</b>	<b>34</b>
III.1 DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO Y DESARROLLO CRONOLÓGICO PARA LAS PRUEBAS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA USANDO CO <sub>2</sub> COMO SOLVENTE Y ETANOL COMO COSOLVENTE.....	34
III.1.1. Descripción del equipo para el método de extracción con CO <sub>2</sub> como solvente y Etanol como cosolvente en condiciones supercríticas.....	35
III.1.2 Desarrollo cronológico de la experiencia de extracción supercrítica. ....	37
III.1.2.1 Acondicionamiento de la materia prima .....	37
III.1.2.2 Acondicionamiento del equipo .....	38
III.1.2.3 Operación del equipo .....	39

III.1.2.4 Descarga del extracto .....	41
III.2 DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO Y DESARROLLO CRONOLÓGICO CORRESPONDIENTE A LAS PRUEBAS DE EXTRACCIÓN CONVENCIONAL CON AGUA. ....	42
III.2.1 Descripción del equipo en la destilación con agua. ....	43
III.2.2.1 Acondicionamiento del extracto. ....	44
III.2.2.2 Acondicionamiento del equipo .....	44
III.2.2.3 Operación .....	45
III.2.2.4 Descarga del equipo. ....	45
<b>CAPÍTULO IV .....</b>	<b>47</b>
PRESENTACION Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS.....	47
VI.1 CONDICIONES DE OPERACIÓN .....	47
VI.2 ACONDICIONAMIENTO DE LOS EQUIPOS .....	48
VI.2.1 Equipo de extracción convencional tipo Soxhlet.....	48
VI.2.2 Equipo de extracción supercrítica.....	48
IV.3. ANALISIS DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS .....	51
IV.3.1. Análisis de las muestras obtenidas mediante el método de extracción convencional. ....	51
IV.3.1.1. Análisis de las muestras obtenidas en el estudio de la influencia del uso de distintos solventes y su rendimiento. ....	51
IV.3.2. Análisis de la influencia de la presión en la extracción supercrítica. ....	51
IV.3.2.1 Análisis de la influencia de la presión sobre el rendimiento. ....	52
IV.3.3. Análisis de la influencia de la temperatura en la extracción supercrítica. ....	53
IV.3.3.1. Análisis de la influencia de la temperatura en el rendimiento. ....	53
IV.4. CALIDAD DEL PRODUCTO EN EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA .....	54
IV.5. COMPARACIÓN CON LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LAS HOJAS Y CON LAS SEMILLAS.....	56
IV.5.1. Comparación basada en el rendimiento. ....	56

IV.5.2 Comparación basada en la calidad de la materia prima.....	57
<b>CAPÍTULO V.....</b>	<b>59</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>59</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>60</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>62</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXO A. CÁLCULO DEL RENDIMIENTO DEL PROCESO.....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXO B. GRUPOS FUNCIONALES DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE NEEM.....</b>	<b>67</b>
<b>ANEXO C. TABLAS DE INTERPRETACIÓN DE ESPECTROS DE INFRARROJO.....</b>	<b>68</b>
<b>ANEXO D. ESPECTROS REALIZADOS CON VARIACIONES DE PRESIÓN Y TEMPERATURA EN EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.....</b>	<b>69</b>
<b>ANEXO E. ESPECTROS REALIZADOS CON VARIACIONES DE SOLVENTE EN EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN CONVENCIONAL.....</b>	<b>72</b>
<b>ANEXO F: IMÁGENES DE LOS EQUIPOS UTILIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>73</b>

**ÍNDICE DE FIGURAS**

FIGURA N° 1: Fruto en plena madurez y Hojas de Neem.....	7
FIGURA N° 2: Árbol de Neem pertenecientes a la Facultad de Agronomía U.C.V.....	7
FIGURA N° 3: Estructura química de la Azadiractina. ....	16
FIGURA N° 4: Estructura molecular de la Nimbina (a) y Nimbidina (b).....	17
FIGURA N° 5: Estructura molecular de la Meliantriol. ....	18
FIGURA N° 6: Estructura molecular de la Salannina. ....	19
FIGURA N° 7. Diagrama presión-temperatura de una sustancia pura. ....	24
FIGURA N° 10. Diagrama del equipo de extracción con fluido supercrítico.....	36
FIGURA N°11: Diagrama de bloques de la destilación con agua.....	42
FIGURA N°12: Diagrama del equipo de destilación con agua. ....	43
FIGURA N°13: Equipo de extracción supercrítico. ....	49
FIGURA N°14: Envase de calentamiento con resistencia y termómetro. ....	50
FIGURA N°15: Influencia de la presión sobre el rendimiento en los experimentos de extracción supercrítica usando CO <sub>2</sub> como solvente y Etanol como cosolvente ( T=27°C )	52
FIGURA N°16: Influencia de la temperatura sobre el rendimiento en los experimentos de extracción supercrítica usando CO <sub>2</sub> como solvente y Etanol como cosolvente.....	54
FIGURA 17. Espectro infrarrojo del proceso de extracción supercrítica con las condiciones óptimas de presión a temperatura ambiente y en condiciones óptimas de temperatura y presión.....	55
FIGURA N°18: Espectro óptimo de las hojas en comparación con el espectro en condiciones óptimas de las semillas.....	57

**ÍNDICE DE TABLAS.**

TABLA N° 1: Composición física de la cascara y semilla de Neem. ....	8
TABLA N° 2. Compuestos terpénicos.....	13
TABLA N° 3: Grupos terpénicos que se encuentran en el aceite esencial de Neem y lugar de la planta donde se encuentran en mayor proporción.....	15
TABLA N° 4: Propiedades de algunos solventes comúnmente usados en condiciones supercríticas.....	25
TABLA N° 5: Condiciones de las muestras y métodos de extracción. ....	47
TABLA N° 6: Rendimientos con variación de solventes .....	51
TABLA N° 7: Rendimientos de los extractos obtenidos en el experimento variando la presión.....	52
TABLA N° 8: Rendimientos de los extractos obtenidos en el experimento variando la temperatura (P=2100 psig).....	53
TABLA N° 9: Comparación de rendimientos para ambos métodos de extracción .....	56
TABLA N° 10. Rendimientos de los extractos obtenidos .....	66
TABLA 11. Grupos funcionales característicos de los componentes del aceite de Neem. ....	67
TABLA 12. Interpretación de los grupos funcionales de los espectros infrarrojos.....	68

## INTRODUCCIÓN.

El árbol de Neem (*Azadirachta indica*) es un árbol originario de la India y se encuentra en otros países surorientales de Asia. En la India, el Neem se conoce como “la farmacia de la aldea” debido a su flexibilidad curativa. Las semillas, la corteza y las hojas contienen compuestos antisépticos, antipiréticos, antiinflamatorios, antiúlceras y aplicaciones antihongos. El Neem viene de la palabra “nimba” término que significa dar buena salud (Ma, 1999). Las primeras indicaciones del uso del Neem como medicamento, se remonta hasta hace 4.500 años. La cultura India estaba en su apogeo, esta fue una de las grandes civilizaciones del mundo antiguo. Excavaciones hechas en Harappa y Mohenjo-Daro en el oeste y noroeste de la India que se identifican con ese período, encontraron algunos preparados terapéuticos incluyendo hojas y semillas de Neem, entre las ruinas.

El método clásico para la obtención de aceite esencial de Neem es la extracción con agua o extracción convencional, pero éste es un método rudimentario y antiguo. También es conocida la extracción convencional con solventes orgánicos. Su principal inconveniente es el largo tiempo que toma este proceso de extracción y estos métodos aceleran el tiempo de descomposición del aceite de Neem, por lo que sus compuestos tienen pocos meses de vida útil.

Debido a la importancia de los compuestos, se buscan nuevos métodos de obtención como la extracción supercrítica con dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y Etanol como cosolvente, en donde se disminuye el tiempo de obtención y se mejora la calidad del producto.

Por estas razones se plantea un estudio en el cual, se evaluará y comparará la extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> y Etanol con la extracción convencional, para la obtención del aceite esencial de Neem a partir de las semillas del mismo, para así en base a datos experimentales que se obtendrán de la aplicación de estos métodos tomar la decisión ingenieril más acertada a la hora que se requiera una aplicación industrial.

Este Trabajo Especial de Grado pretende determinar las mejores condiciones de extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico como solvente junto con el Etanol como cosolvente, por medio de la evaluación de variables claves del proceso como temperatura y presión, así como comparar los resultados de dicha experiencia con la extracción convencional, mediante la cuantificación de parámetros comunes en ambas pruebas como lo son la cantidad de extracto obtenido, el porcentaje de rendimiento y también mediante la posterior caracterización que se realizará sobre cada una de las muestras obtenidas tanto en la experiencia de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> y Etanol, como en la experiencia de extracción convencional con agua.

## **CAPÍTULO I**

### **FUNDAMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN.**

#### **I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

El estudio sobre el árbol de Neem se realiza debido a que el aceite esencial de esta planta contiene gran cantidad de compuestos para el desarrollo de productos farmacéuticos, productos insecticidas, combatir úlceras, reducir la fiebre, enfermedades de la piel, tiene un efecto antiparasitario y antiséptico, ayuda en la disminución de los niveles de azúcar en la sangre y hemorroides, de allí su importancia. Estos productos son ampliamente desarrollados en todos los países donde crece la planta y actualmente no existe mucho estudio ni desarrollo de la extracción del aceite en Venezuela.

Por las propiedades antes mencionadas del Neem llega a tierras americanas, principalmente a las de los países cercanos al Ecuador, motivando así que sean estudiados los métodos de extracción del aceite esencial del mismo, ya que es utilizado con fines farmacéuticos y en la formulación de insecticidas.

El árbol de Neem es llamado también árbol milagroso, ya que es conocido por sus inmejorables cualidades para combatir las plagas que afectan las plantas, mejorar la alimentación bovina y como medicamento para los humanos, entre otras propiedades, por lo cual ha llamado la atención de los investigadores.

Quizás la principal ventaja del Neem es que crece hasta seis metros de altura en zonas muy áridas, donde otras especies no lo harían, y requiere cantidades mínimas de humedad y precipitación para subsistir. Este árbol necesita una atención mínima y si no se maltrata, sigue creciendo; además, es una de las pocas especies que mantiene su follaje aún en épocas de sequía y puede crecer en la mayoría del territorio nacional.

Más de la mitad de los medicamentos modernos, desde la aspirina hasta los nuevos y útiles para tratar el cáncer de seno, tienen su origen en los ingredientes obtenidos de



las plantas. Los médicos del subcontinente Indio han desarrollado un extenso conocimiento médico basado en las plantas medicinales que no tienen paralelo en el mundo.

En la Facultad de Ingeniería de la UCV, se han venido realizando estudios referentes a la extracción supercrítica en productos agrícolas como el Cacao (Soledad, 2007), Café (González, 2007), Vetiver (Armas y Corredor, 2007) y Hojas de Neem (Rosas, 2009). Todos estos trabajos han sido pioneros al trabajar con cada una de las matrices vegetales anteriormente mencionados. En Venezuela, en el área de Ingeniería Química se ha estudiado poco éste árbol, del cual no se aprovecha casi ninguna de las cualidades antes mencionadas. Este Trabajo Especial de Grado espera obtener los mejores resultados con la extracción de aceite esencial de las semillas de Neem usando los métodos de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> y Etanol y de extracción convencional con agua, para así estudiar la factibilidad de la aplicación de alguno de estos métodos a nivel industrial.

## **I.2. OBJETIVOS.**

### **I.2.1. Objetivo general**

Establecer las condiciones óptimas de presión y temperatura de extracción del aceite esencial de la semilla de Neem, usando los métodos de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> y Etanol como solventes y extracción convencional con agua.

### **I.2.2. Objetivos específicos**

- Realizar una revisión bibliográfica sobre la materia prima y de ambos procesos de extracción.
- Determinar la presión óptima de operación sobre usando el método de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> como solvente y Etanol como cosolvente.
- Determinar la temperatura óptima de operación usando el método de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> como solvente y Etanol como cosolvente.
- Aplicar el método de extracción convencional con Etanol mediante el equipo de extracción Soxhlet a semillas de Neem para determinar el porcentaje de recuperación.
- Comparar el método de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> como solvente y Etanol como cosolvente con el método de extracción convencional con agua.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO REFERENCIAL**

En el siguiente capítulo se describen los conceptos más importantes para la planta de Neem y los aceites esenciales, en particular el aceite esencial de Neem a partir de la semilla. Posteriormente, se definen los aspectos relacionados con la extracción por el método convencional y usando fluidos supercríticos. Finalmente se trata las técnicas de caracterización del aceite esencial de Neem.

#### **II.1 EL ÁRBOL DE NEEM**

El árbol del Neem (*Azadirachta Indica A. Juss*) es un árbol de rápido crecimiento que puede alcanzar 15 a 20 metros de altura, de abundante follaje todas las temporadas del año. El ramaje es amplio que puede alcanzar 20 m de diámetro. Originario de la India y Birmania. Solo vive en regiones tropicales y subtropicales

El Neem taxonómicamente hablando, es del reino Plantae, división Magnolio Phyta, orden Sapindales, pertenece a la familia Meliáceae, genero *Azadirachta* especie *A. indica*. Entre los nombres más conocidos se encuentran: *Antalea Azadirachta*, *Melia Azadirachta*, *Melia Indica*. Los nombres más comúnmente usados son: Neem, Margosa, Caoba criolla, Caoba haitiana, Árbol milagroso y Árbol farmacia.

En general el árbol de Neem comienza a producir frutos entre los tres y cinco años de edad, un árbol desarrollado podrá dar hasta 50 kg. de fruto por año. El mismo es suave y carnoso en forma elipsoidal, de 1.2 a 2 cm de largo, conteniendo usualmente una semilla, el fruto es inicialmente verde y se vuelve amarillo conforme madura, cerca de 12 semanas después de la floración, como se observa en la Figura N° 1.



Figura N° 1: Fruto en plena madurez y hojas de Neem.

## **II.2 LA SEMILLA DE NEEM Y SU COMPOSICIÓN QUÍMICA.**

Las semillas deben de obtenerse solamente de árboles cultivados orgánicamente o en su hábitat natural, lo anterior asegura tener el total de los elementos naturales de las semillas y así mismo se reduce el riesgo de contaminación por toxinas, es por esta razón que se ha decidido tomar como materia prima las semillas de Neem pertenecientes a la Facultad de Agronomía de la UCV, ciudad de Maracay en el estado Aragua, como se muestra en la Figura N° 2.



Figura N° 2: Árbol de Neem pertenecientes a la Facultad de Agronomía UCV.

Las concentraciones mayores de ingredientes activos se encuentran en la semilla, en las hojas y en la corteza en menores proporciones. En la Tabla N° 1 se pueden observar los compuestos que se encuentran en la cascara y semilla del árbol de Neem.

Tabla N° 1: Composición física de la cascara y semilla de Neem. (Romero y Vargas, 2005)

	cáscara		Semilla	
	Promedio	desviación estándar	Promedio	Desviación estándar
% Humedad	11,9	0,2	9,5	0,1
%Extracto etéreo	No detectado	-	28	1,7
%Cenizas	1,6	0,1	5,6	0,4
% Fibra cruda	55	1,4	24	2
% Proteínas	4,45	0,03	21,8	0,5
% Carbohidratos	27	1,4	11,1	2,7

Las semillas de Neem poseen muchos componentes químicos, de especial interés son los terpenos, constituidos por C, H y O; la presencia de oxígeno hace esos compuestos más solubles en agua, Metanol o Etanol que en hexano, gasolina u otros solventes similares (Rosas 2008). Actualmente se conoce de la existencia de unos 100 terpenos. El más activo es la Azadiractina, de la que existen varios tipos que varían desde la Azadiractina A hasta la Azadiractina K, de la cual posteriormente se hará una explicación más extensa.

### II.3 USOS DEL NEEM

El motivo principal por el cual se hizo esta investigación se debe a los innumerables usos de la planta y es por eso que a continuación se mencionan los más importantes en distintas áreas de aplicación.

### **II.3.1 Plaguicida**

Uno de los ingredientes más efectivos como repelente de insectos es el DEET (n,n,-diethyl-m-toluamide) químico usado mundialmente, del cual se sospecha puede causar cáncer en uso prolongado. Los extractos de Neem han sido aprobados por la EPA (Agencia de Protección del Ambiente de los E.U.A) para su uso como insecticida en cultivos alimenticios. Siendo no tóxico para las aves, animales de sangre caliente y humanos, puede proteger los cultivos de más de 200 especies de insectos.

### **II.3.2 Medicinales**

- **Psoriasis:** Los extractos de aceite de semilla de Neem son el remedio en el tratamiento de los síntomas de la psoriasis. Alivian el dolor y la comezón, reduciendo las escamas e inflamación en las áreas afectadas.
- **Diabetes:** Las dosis orales de extracto de aceite de Neem redujeron la necesidad de insulina entre un 30 y 50% para los pacientes con diabetes tipo I. Según estudios realizados en la Universidad Autónoma de Sinaloa.
- **Sida:** Institutos de salud de varios países han reportado resultados muy prometedores de pruebas in vitro del Neem como agente anti viral contra el virus del Sida.
- **Cáncer:** Polisacáridos y Limonoides que se encuentran en la corteza, hojas y semillas del Neem, reducen los tumores y el cáncer sin efectos secundarios indeseables, lo anterior se apoya en varios estudios.
- **Enfermedades del corazón:** Los extractos de Neem tienen la capacidad de retardar la formación de coágulos en la sangre, combatir la arritmia, bajar los latidos del corazón y la tensión arterial.
- **Herpes:** Pruebas realizadas en Alemania mostraron que los extractos de Neem son tóxicos para el virus del Herpes y producen un rápido alivio en la cura de las llagas.
- **Problemas Dentales:** Investigadores alemanes y americanos han afirmado que los extractos de Neem previenen las enfermedades periodontales.

- **Dermatología:** El Neem es altamente efectivo en el tratamiento del acné, caspa y verrugas.
- **Alergias:** Las propiedades antihistamínicas del Neem ayudan a inhibir las reacciones alérgicas, ya sea aplicado externamente o duodenales.
- **Ulceras:** Los extractos de Neem son de gran ayuda para reducir las molestias y sanar las úlceras gástricas y duodenales.

### **II.3.3 Fuente de madera**

La porción de madera del centro es entre rojo y rojo castaño, mientras que la madera intermedia tiene un color amarillento-grisáceo o gris blanquecino. La madera es dura, durable, de opaca a algo lustrosa, aromática y resistente a los insectos y hongos. La madera seca con sólo un leve encogimiento, se aclimata bien y es fácil de trabajar, pero en la áspera y entrelazada fibra no coge un alto brillo. La madera aserrada de Neem es usada en la construcción ligera y para hacer vigas, marcos de puertas y ventanas, cajas, embalajes, carretas, ejes, yugos, estantes, paneles, botes, remos, cajas de puros, esculturas, juguetes, tambores, e instrumentos de labranza. También es usada para muebles, especialmente roperos, libreros y guardarropas, debido a que la madera repele los insectos.

Los árboles de Neem a menudo son manejados con sistemas de aclareo y poda o tala para producir pilares y postes. La madera redonda es también usada como leña y da muy buen carbón. A un contenido de humedad del 14%, la madera da un valor de energía de 16.92 MJ/kg.

### **II.3.4 Mejoramiento del suelo**

Después de extraer el aceite de las almendras, el material sobrante es llamado "Torta de Neem". Este producto ha sido usado por siglos a través de la India como mejorador de suelo. La experiencia ha enseñado a los agricultores que si se incorpora esta torta al suelo de cultivo, producirá mejores y más grandes plantas y a la vez menos problemas con larvas.

## **II.4 ACEITES ESENCIALES**

Los aceites esenciales se definen, según la Organización Internacional de Estandarización (ISO) y la Asociación de Normativa Francesa (AFNOR) como, “productos obtenidos a partir de una materia prima vegetal, bien por arrastre con vapor o agua, bien por procedimientos mecánicos a partir del epicarpio de las frutas cítricas, o bien por destilación seca. El aceite esencial se separa posteriormente de la fase acuosa por procedimientos físicos”.

El término de aceite esencial fue acuñado en el siglo XVI por Paracelso, conocido como el mejor alquimista, farmacéutico y químico de la Edad Media, significando con el término "esencia" una entidad inmaterial que impregnaba todo ser viviente e inanimado y que se compararía con el alma y los cuerpos divinos. El aislamiento de esa “esencia” debía de ser el fin último de la ciencia farmacéutica (Mazzani, 1973).

Se les llama aceites por su apariencia física y consistencia que es bastante parecida a los aceites grasos, pero se distinguen de ellos, porque al dejar caer unas gotas de esencia sobre el papel, éstas se volatilizan fácilmente sin dejar ninguna huella ni mancha grasosa (Gil y Saez, 2005). El nombre que se le asigna al aceite esencial es de acuerdo a la planta aromática de la cual se obtiene (Leupin, 2003).

Los aceites se forman en las partes verdes (con clorofila) del vegetal y al crecer la planta, éstos son transportados y se sitúan en los tejidos finos de la planta o en sacos, células, glándulas o conductos especiales encontrados en varias partes tales como flores, hojas, corteza, vástagos, semillas y raíces. La mayoría de los aceites ya existen mientras se extrae del material vegetal, pero algunos se forman únicamente como resultado de una reacción enzimática que se produce una vez que se hayan machacado o se hayan tratado especialmente los tejidos finos de la planta.

Se conocen alrededor de tres mil especies de plantas que producen cantidades significativas de aceites esenciales, incluso de algunas plantas se extrae más de un aceite esencial. Es posible sin embargo, que todas las plantas sean capaces de



producir alguna cantidad de aceites esenciales (Mazzani, 1973). Los aceites esenciales se encuentran ampliamente distribuidos en unas 60 familias de plantas entre las cuales se pueden mencionar las Compuestas, Labiadas, Lauráceas, Mirtáceas, Pináceas, Rosáceas, Rutáceas, Umbelíferas y las Gramíneas. (Cardenaz, 1997).

## **II.5 PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE LOS ACEITES ESENCIALES**

Los aceites esenciales son generalmente líquidos a temperatura ambiente y son sustancias muy volátiles. Por lo general no presentan coloración o son amarillo pálido, tienen una densidad inferior a la del agua y poseen un olor intenso característico, extraordinariamente variable que constituye su característica más definida (Gil y Saez, 2005). En su gran mayoría son de olor agradable, aunque existen algunos de olor relativamente desagradable como por ejemplo los componentes que forman parte de la fracción aromática del ajo y la cebolla, los cuales contienen compuestos azufrados.

Son sustancias fácilmente alterables sensibles a la oxidación y tienen tendencia a polimerizarse dando lugar a la formación de productos resinosos, especialmente aquellas que contienen alcoholes terpénicos insaturados (auto oxidación), variando su olor, color y viscosidad. Presentan un índice de refracción elevado y son solubles en alcohol y en disolventes orgánicos habituales. Además son liposolubles, muy poco solubles en agua, y arrastrables por el vapor de agua.

Las propiedades químicas de los aceites esenciales varían de acuerdo a la presencia de los principios activos de sus compuestos químicos, como lo son los alcoholes que tienen propiedades antisépticas y tonificantes; los aldehídos que tienen propiedades sedantes y antisépticas; los ésteres con propiedades fungicidas y sedantes; las cetonas, que ayudan a equilibrar la secreción mucosa; y los terpenos, que tienen propiedades antiinflamatorias y antisépticas. Por lo tanto, los aceites esenciales tienen algunas de las siguientes propiedades terapéuticas: antisépticas, antibacterianas, diuréticas,

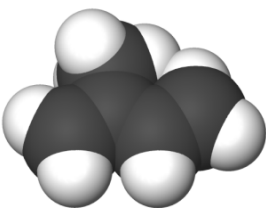
antiespasmódicas, sedantes, tonificantes, reequilibrantes, depurativas, antirreumáticas y afrodisíacas, entre otras.

## II.6 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES

Los aceites esenciales son una compleja mezcla de sustancias químicas que en algunos casos puede superar los cien componentes. La mayor parte de éstos están compuestos de terpenos juntos con sustancias oxigenadas, aromáticos derivados del fenilpropano y otros compuestos diversos.

Los terpenos están formados por unidades isoprénicas que responden a la fórmula  $(C_5H_8)_n$  cuyo número "n" sirve como criterio para la clasificación de los terpenos: monoterpenos (n = 2), sesquiterpenos (n = 3), diterpenos (n = 4) y triterpenos (n = 6). Los compuestos terpénicos presentes en las esencias son principalmente mono y sesquiterpenos y raramente diterpenos. Los terpenos pueden ser acíclicos, monocíclicos o bicíclicos (Gil y Saez, 2005). En la Tabla N° 2 se presentan los compuestos derivados de unidades isoprénicas que forman los terpenos, con su respectivo nombre y el número de átomos de carbono que los conforman.

Tabla N° 2. Compuestos Terpénicos (Armas y Corredor, 2007)

		unidades isoméricas	N° de átomos de carbono
	Nombre		
	Monoterpenos	2	C <sub>10</sub>
	Sesquiterpenos	3	C <sub>15</sub>
	Diterpenos	4	C <sub>20</sub>
	Sesterpenos	5	C <sub>25</sub>
Triterpenos	6	C <sub>30</sub>	
Isopreno	Carotenoides	8	C <sub>40</sub>
2-metil-1,3-butadieno	Resinoides	N	(C <sub>5</sub> ) <sub>n</sub>

## **II.7 CLASIFICACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES**

Los aceites esenciales son mezclas de sustancias orgánicas volátiles, pertenecientes a diferentes clases de compuestos, como por ejemplo hidrocarburos, ésteres, alcoholes, aldehídos, algunos ácidos, fenoles, lactonas, etc. Todos, son productos de largas cadenas de biosíntesis vegetal, los llamados metabolitos secundarios de las plantas. Por definición, los aceites esenciales son productos de la destilación con vapor o hidrodestilación de las plantas, o sea, corresponden a aquellas sustancias que pueden ser “evaporadas” de las plantas por acción del vapor. Las esencias cítricas pueden ser obtenidas también por expresión y/o raspado de la cáscara de fruta.

Las mezclas que se obtienen de las plantas por otras técnicas como la extracción con solventes volátiles, con alcohol etílico, con grasa animal o con fluido supercrítico, se llaman extractos, que según el método de su aislamiento, se denominan concretos, absolutos, pomadas, etc., pero “esencias” propiamente son aquellas destiladas por acción del vapor sobre el material vegetal. Aceites esenciales se extraen de las llamadas “plantas aromáticas”, las cuales en sus glándulas, células u otros depósitos especiales en la estructura vegetal, contienen aceites volátiles, en cantidades apreciables, posibles de aislar por acción de vapor. Alrededor de 17.500 plantas aromáticas han sido encontradas en el mundo, donde las familias mirtaceae, laureaceae, rutaceae, labiatae, compositae, umbelliferae, pinaceae, poaceae, verbenacea, zingiberaceae y piperaceae, representan las plantas con mayor contenido de esencias. (Stashenko, 1998).

Desde el punto de vista químico, a pesar de su composición compleja los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo a los componentes mayoritarios presentes. Los aceites esenciales ricos en monoterpenos se denominan aceites esenciales monoterpénicos, como el aceite de hierbabuena, albahaca y salvia. Los ricos en sesquiterpenos son los aceites esenciales sesquiterpénicos, como el aceite de copaiba, pino, junípero y vetiver. Los ricos en fenilpropanos son los aceites esenciales

fenilpropanoides; por ejemplo el de clavo, canela y anís. Aunque esta clasificación es muy general resulta útil para estudiar algunos aspectos fisicoquímicos de los monoterpenos, los sesquiterpenos y los fenilpropanos, sin embargo existen clasificaciones más complejas que tienen en cuenta otros aspectos químicos.

## **II.8 COMPOSICION QUIMICA DEL ACEITE ESENCIAL DE NEEM**

El encontrar exactamente cómo actúa una planta medicinal y cuáles compuestos o combinación de compuestos la hacen actuar, es una tarea difícil. Estando constituida por cientos de ingredientes algunos activos otros no, las plantas son analizadas generalmente por sus ingredientes activos más potentes. Esto demuestra a qué clase de químico pertenece y usualmente indica el tipo de efecto esperado en moléculas complejas. (Ramos, 2004)

El aceite esencial de Neem dependiendo de la parte del árbol donde haya sido extraído, tiene en mayor o en menor proporción una gama de ingredientes activos los cuales han sido identificados y otros no; los componentes más importantes son los llamados Triterpenos, estos compuestos según su actividad y su concentración en el árbol, pertenecen a los 8 grupos básicos mostrados en la Tabla N° 3.

A continuación se hace referencia a los compuestos más importantes presentes en la semilla del Neem.

Tabla N° 3: Grupos terpénicos que se encuentran en el aceite esencial de Neem y lugar de la planta donde se encuentran en mayor proporción. (Ramos, 2004)

<b>Azadirona</b>	Se encuentra en el aceite que se extrae de las semillas
<b>Amorastaititna</b>	Aparece en las hojas frescas de Neem.
<b>Vepinina</b>	En el aceite de las semillas.
<b>Vilasinina</b>	En las hojas de Neem.
<b>Nimbina</b>	En las hojas y las semillas.
<b>Nimbolina</b>	También presente en las semillas.
<b>Salannina</b>	En las hojas y semillas.

### II.8.1 La Azadiractina.

Es un tetranotriterpenoide, cuya fórmula molecular es  $C_{35}H_{44}O_{16}$  y representa el principio activo más importante del Neem. Este compuesto (Figura N° 3) no puede ser sintetizado en el laboratorio de manera artificial. Está constituido por al menos nueve isómeros estrechamente relacionados. Los tipos A y B de la Azadiractina son los que se presentan en mayor cuantía. Se piensa que el 83% de la Azadiractina natural es tipo A y el 16 % es de tipo B. El resto lo constituyen las variaciones de la C a la K. (Montañez 2005). La estructura molecular de la Azadiractina se observa en la Figura N° 3.

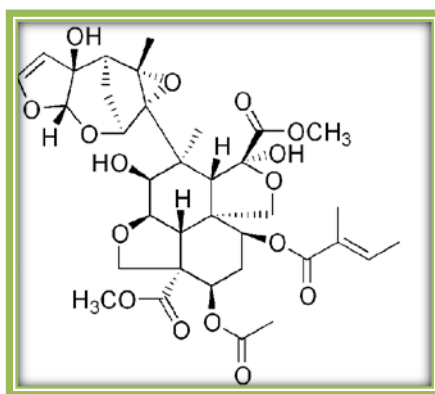


Figura N° 3: Estructura química de la Azadiractina. (Nagasampagi, 1995)

La Azadiractina parece que actúa bloqueando la producción de ecdisoma, de esta forma altera el delicado equilibrio hormonal de los insectos, afectando a su metamorfosis. Las malformaciones producidas en cualquiera de los daños morfogénéticos en adultos, como alas, aparato bucal mal desarrollado entre otros, provoca que los daños que puedan producir estos insectos se reduzcan ya que su actividad alimentaria se ve afectada, a su vez no pueden volar y se vuelven estériles muriendo rápidamente. Estos efectos se producen de forma combinada y con diferente grado de acción, dependiendo de la especie de insecto, de su estado de desarrollo, de la concentración del preparado y del proceso de extracción. (Guerra, 2001).

Por tanto, la Azadiractina es una materia activa de origen natural que resulta bastante eficaz, de hecho, es tan potente que una simple señal de su presencia previene a algunos insectos incluso de tocar las plantas. No obstante, se han mostrado algunas limitaciones sobre todo debido a efectos de los rayos ultravioletas, los cuales aceleran la degradación de esta sustancia.

### II.8.2 La Nimbina y Nimbidina.

Tiene actividad antiviral. Es el componente primario de los principios amargos obtenidos cuando los gérmenes del Neem se extraen con alcohol. Causan efectos repelentes y antialimentarios. Afectan el virus X de la patata, el virus del Vaccinia y el virus del Pox de las aves. La estructura molecular de la Nimbina se puede observar en la Figura N° 4.

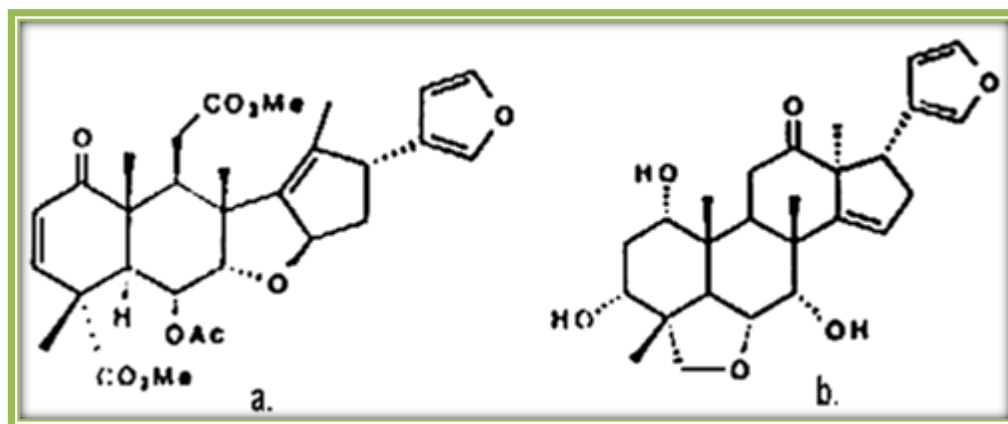


Figura N° 4: Estructura molecular de la Nimbina (a) y Nimbidina (b).

### II.8.3 Meliantriol.

Fue aislado por primera vez por Lavie en 1967. Su estructura (figura N°5) es también muy complicada al igual que la de la Azadiractina. Este compuesto actúa también como inhibidor de la alimentación. Hace posible que en concentrados

extremadamente bajos, los insectos cesen de comer. Además también actúa sobre el crecimiento de los insectos y afecta también a nemátodos.

La demostración de su habilidad para prevenir el mascado de las langostas en los cultivos, fue la primera prueba científica del uso tradicional del Neem para el control de insectos en los cultivos de La India.

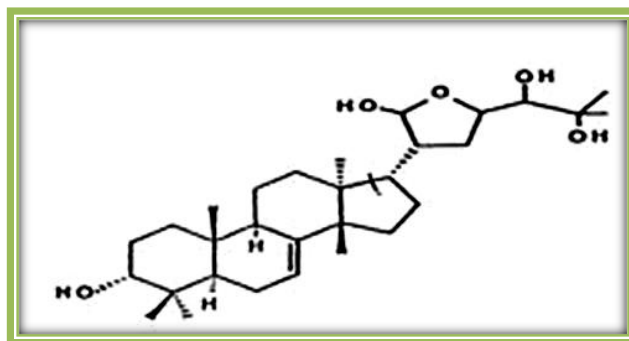


Figura N° 5: Estructura molecular de la Meliantriol.

#### **II.8.4 Salannina.**

Fue la tercera materia activa aislada del Neem. Estudios indican que este compuesto inhibe también, poderosamente la alimentación, pero no influye en los distintos cambios hasta que los insectos no llegan a ser adultos.

Se probó su poder en laboratorio contra varios tipos de plagas, (langosta migratoria, trepadora roja de California, el escarabajo rayado del pepino, el escarabajo japonés y la mosca doméstica), en todos los casos se demostró su alto poder inhibitor de la alimentación.

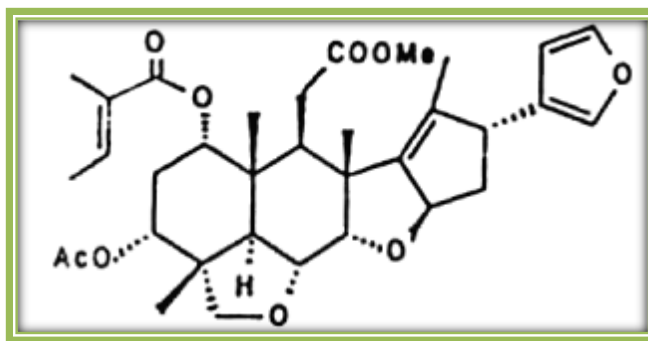


Figura N° 6: Estructura molecular de la Salannina.

Los principales compuestos terpénicos que se encuentran en el aceite esencial de Neem son lípidos, y a pesar de que como se mencionó anteriormente actúan sobre el sistema nervioso central no se pueden clasificar como alcaloides, ya que como se observa en las estructuras moleculares de la Azadiractina (Figura N° 3) y la Nimbina (Figura N° 4) las mismas carecen de grupos nitrogenados, que son los constituyentes principales de estas sustancias derivadas de los aminoácidos. El aceite esencial de Neem si posee algunos alcaloides aunque en muy poca cantidad, pero estos no representan los compuestos activos más importantes del mismo.

Entre los alcaloides más importantes del aceite esencial de Neem se encuentran la Margosina y la Azadarina.

## II.9 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES.

La extracción de aceites esenciales modernamente requiere de procesos de separación que comúnmente estudia la Ingeniería Química y la Bioquímica. La separación se realiza debido a la transferencia por difusión de uno o varios componentes cuando dos fases se ponen en contacto. Por difusión se entiende el movimiento a escala molecular de componentes químicos dentro de una sustancia, de una región de alta concentración a una de baja concentración (Garmendia, 2004).

En el área de tecnología de alimentos, la extracción se define como la operación unitaria por la cual un componente de un alimento se separa o elimina mediante el



contacto con otro material o fase que tiene mayor afinidad por él; mientras que el resto de los componentes permanecen en el alimento. Esta separación implica, por lo tanto, la existencia de dos fases, siendo el disolvente aquella que se añade al material original. Las dos fases pueden ser un sólido y un líquido, dos líquidos inmiscibles o un sólido o líquido y un gas; ésta es, además, la base de la clasificación de las operaciones de extracción. La extracción requiere tres pasos sucesivos: la mezcla de la materia prima con el disolvente, la separación de las dos fases después del contacto y la disminución de la cantidad de soluto contenido en el disolvente. La eficacia de la recuperación del disolvente, si su costo es elevado, es uno de los factores a considerar a la hora de determinar la viabilidad económica de la operación.

La selección de los métodos o técnicas de extracción de los aceites esenciales depende de las diferentes características del aceite como la volatilidad, cantidad presente del mismo, punto de ebullición de sus componentes y parte de la planta de procedencia; estos factores afectan la calidad y el rendimiento de la extracción, así como la estabilidad de sus compuestos sin alteraciones, ya que la mayoría tienden a degradarse cuando se someten a altas temperaturas o a otro tipo de tratamiento intenso. Los principales métodos utilizados para obtener aceites esenciales a partir de plantas aromáticas son la destilación, prensado, maceración, extracción con fluidos supercríticos y extracción con solventes orgánicos.

En la extracción se han de considerar los siguientes fenómenos físicos:

- La difusión del compuesto de interés desde el interior de la materia prima hasta su superficie y, de aquí, hacia el grueso de la fase del disolvente. Para ello es necesario que, previamente, el disolvente penetre en el interior de la materia prima para arrastrar dicho componente. Su velocidad de difusión determinará el tiempo necesario para que se alcance el equilibrio entre las dos fases.
- La solubilidad del soluto que se desea extraer en el disolvente utilizado. Dado que la máxima concentración posible en el extracto final es la saturación del soluto, cuanto

mayor sea ésta, menor será el número de ciclos necesarios para lograr el grado de separación deseado.

- El equilibrio de la concentración del soluto en la materia prima y en el disolvente, que requiere que ambos estén en contacto durante un tiempo adecuado.

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

Otros factores que afectan a la velocidad de extracción son:

- El área de exposición o grado de contacto de la materia prima con el disolvente y la profundidad de penetración de éste último. La reducción del tamaño de partícula facilita la extracción, al aumentar el área de exposición y también disminuir la distancia que el soluto ha de migrar desde la materia prima hasta ponerse en contacto con el disolvente. El tamaño de partícula ha de controlarse, para que el flujo en el extractor no se reduzca en exceso.
- El gradiente de concentración del soluto entre la materia prima y el disolvente, que es la fuerza conductora de la extracción.
- La temperatura a la cual se realiza la operación. En general, al aumentar la temperatura se facilita la operación.
- La velocidad y las características del flujo del disolvente. Para mejorar la extracción conviene aumentar la velocidad de flujo del disolvente y que éste sea turbulento.
- La extracción más simple es la que se lleva a cabo en una etapa o contacto. Una etapa es una unidad del equipo en la que una o más fases se ponen en contacto, se mantienen así durante un período de tiempo en el que se produce la transferencia de masa de una fase a otra hasta alcanzar un estado de equilibrio (no necesariamente termodinámico) y se separan mecánicamente.

Seguidamente, se procederá a explicar a detalle los métodos de extracción que son de interés para este Trabajo Especial de Grado, como lo son el método de extracción convencional con agua, y el método de extracción supercrítica.

### **II.9.1 Extracción convencional**

La destilación es un proceso convencional para la extracción, y consiste en eliminar uno o más de los componentes de una mezcla volátil por medio de la transferencia simultánea de calor y masa. Para llevar a cabo la operación se aprovecha la diferencia de volatilidad de los constituyentes de la mezcla, separando o fraccionando éstos en función de su temperatura de ebullición. Se usa para concentrar mezclas alcohólicas y separar aceites esenciales así como componentes de mezclas líquidas que se deseen purificar.

La destilación con agua o hidrodestilación, es una de las técnicas más antiguas y simples usadas para la extracción de los aceites y grasas. 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, en el cual se condensa la mezcla, y luego a otro recipiente donde se recolecta el aceite líquido. La separación de la grasa del agua líquida se realiza, bien sea aprovechando la diferencia de volatilidad, o por diferencia de densidad entre las sustancias.

Los productos obtenidos mediante destilación en agua, normalmente presentan olores más fuertes y un color más oscuro con respecto a los producidos por otros métodos. En general se puede decir que los aceites extraídos por destilación en agua son de menor calidad que los extraídos por otros métodos, debido a las siguientes razones:

- Algunos componentes, como los ésteres, son sensibles a la hidrólisis, mientras que otros componentes, tales como los hidrocarburos monoterpénicos acíclicos o los aldehídos, son susceptibles de polimerización.

- Los compuestos oxigenados, tales como los fenoles, tienden a ser parcialmente solubles en el agua, hecho por el cual es imposible la remoción completa de estos compuestos.
- Los tiempos requeridos de destilación son demasiado largos, lo cual se asocia a un decremento de la calidad del aceite obtenido. Una ventaja de este procedimiento es que el costo involucrado para la fabricación del equipo es de los más bajos; además que su operación no requiere de servicios costosos de energía eléctrica, vapor, aire u otros (Garmendia, 2004).

### **II.9.2 Extracción con fluidos supercríticos.**

Aparte de los métodos convencionales, se han desarrollado varias técnicas para la extracción de solutos de matrices sólidas, tales como: la extracción asistida con ultrasonido, la extracción asistida con microondas, la extracción con solvente acelerado y la extracción con fluidos supercríticos, con el objeto de acortar el tiempo de extracción, disminuir el consumo de solvente, aumentar el rendimiento de extracción y mejorar la calidad del extracto (Velasco y Villana, 2007).

La extracción con fluidos supercríticos se puede definir como la operación unitaria que utiliza el poder solvente de determinadas sustancias, a temperaturas y presiones superiores a sus valores críticos. Se basa fundamentalmente en la capacidad que tienen determinados fluidos en estado supercrítico para modificar su poder solvente. Bajo estas condiciones, el fluido supercrítico se encuentra en un estado de agregación entre la fase líquida y gaseosa, con las siguientes características (Ordóñez, 1998):

- Una elevada densidad a alta presión, similar a la fase líquida. Por ello, actúan como excelentes solventes líquidos; cuanto mayor es la presión, más aumenta su capacidad solvente.
- Una alta difusividad, viscosidad relativamente baja y ausencia de tensión superficial, semejante a las propiedades del gas. Esto les confiere un excelente poder de penetración y de mezcla, así como una gran velocidad de transferencia de masa.

Un fluido supercrítico se define como un gas pesado con propiedades de líquido y un poder disolvente controlable. En otras palabras, es una forma de materia en la cual el estado líquido y gaseoso son indistinguibles; de esta manera el fluido se encuentra en un estado donde la materia es compresible y se comporta como un gas, ya que adquiere la forma del recipiente que lo contiene, sin embargo al mismo tiempo presenta la densidad típica de un líquido como también su característico poder disolvente (Tapia, 2005).

Cada sustancia presenta su propia región supercrítica, la cual se produce a partir de un punto denominado “punto crítico”; este es característico para cada sustancia, definiéndose en el diagrama de fases por una temperatura crítica ( $T_c$ ) y una presión crítica ( $P_c$ ). Para una sustancia, la densidad del líquido y del gas es idéntica, tanto que las dos fases son indistinguibles. Sobre tal temperatura y presión, el líquido y el gas coexisten como una fase única. Como se muestra en el diagrama presentado en la Figura N° 7.

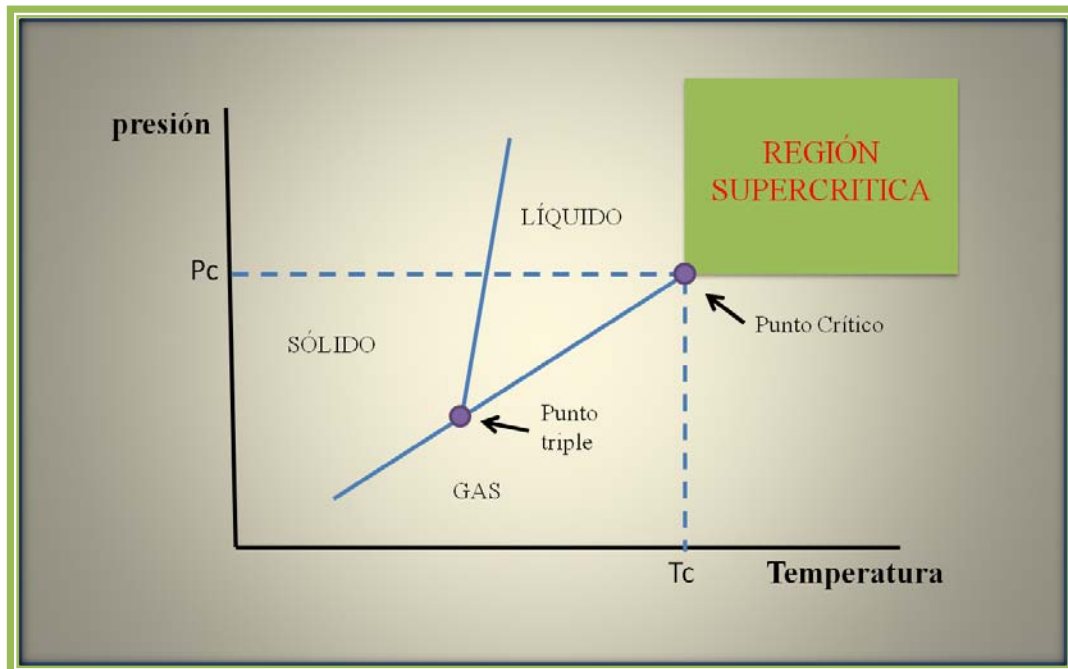


Figura N° 7. Diagrama presión-temperatura de una sustancia pura. (Elaboración propia).

En la industria de la extracción supercrítica existe una gran variedad de compuestos utilizados como solventes supercríticos. Algunos de ellos se presentan resumidos en la tabla N° 4, y se observa que el CO<sub>2</sub> posee constantes críticas relativamente fáciles de alcanzar.

Tabla N° 4: Propiedades de algunos solventes comúnmente usados en condiciones supercríticas (Mukhopadhyay, 2000).

Fluido	Punto de ebullición normal (°C)	Presión crítica (bar)	Temperatura crítica (°C)	Densidad en el punto crítico (g/cm <sup>3</sup> )
Dióxido de Carbono	-78,5	73,8	31,1	0,464
Etanol	78,5	63,1	243,1	0,276
Agua	100	217,5	374	0,348

Con la extracción supercrítica se obtienen altos rendimientos en recuperación de las grasas y además, muchas opciones para lograr y controlar la selectividad deseada, la cual es bastante sensible a variaciones en la presión y la temperatura.

Además, las bajas temperaturas no afectan químicamente los componentes de la grasa. Entre las limitaciones de esta técnica, figuran la extracción preferencial de sustancias oxigenadas y el alto costo en la inversión inicial, puesto que se requieren bombas y sistemas de extracción resistente a las altas presiones, haciendo el equipo requerido relativamente costoso (Gil y Saez, 2005).

## II.10 VENTAJAS DEL USO DE CO<sub>2</sub> SUPERCRÍTICO COMO DISOLVENTE EN PROCESOS DE EXTRACCIÓN.

El CO<sub>2</sub> posee propiedades de naturaleza física que lo hacen la principal referencia a la hora de hablar de extracción supercrítica, entre sus principales ventajas se pueden citar:

- Constantes críticas bajas ( $P_c = 7.38 \text{ MPa}$ ,  $T_c = 304.15\text{K}$ ). Permite trabajar con bajas temperaturas de extracción aconsejables para productos termolábiles.
- Baja viscosidad, alta difusividad y baja tensión superficial.
- Elevado poder de extracción de compuestos orgánicos, dependiente de la densidad, fácilmente modificable por variación de P y T.
- Elevada velocidad de transferencia de materia.
- Permite obtener extractos de un elevado grado de pureza (el aroma, sabor, color y textura del producto extraído es similar al del producto original o "fresco").
- No inflamable, no reactivo, no tóxico y relativamente económico.

## **II. 11 COSOLVENTES.**

Los cosolventes son sustancias de volatilidad intermedia con respecto al solvente y al soluto a ser extraído, y se agregan en una concentración mucho menor con respecto a la del solvente supercrítico (entre 1 y 5 % molar, inclusive hasta 10 % molar). Se adicionan con la finalidad de cambiar las características solventes, tales como el aumento de la polaridad y de las interacciones específicas, sin cambiar significativamente la densidad y la compresibilidad del solvente supercrítico original. (Soledad y Zuriday, 2007)

El cosolvente mezclado con el solvente supercrítico (para una composición particular), se vuelve supercrítico cuando su presión está por encima de la presión crítica de la mezcla, y cuando su temperatura está por encima de la temperatura crítica de mezcla, siendo estos valores críticos de mezcla muy parecidos a los valores críticos del solvente supercrítico puro. Para el Etanol, una sustancia polar, la presión crítica es de 61,4 bar (890,3 psig) y la temperatura crítica es de 240,4 °C.

## **II.12 MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN QUÍMICA**

Los métodos de caracterización química comprenden una serie de técnicas y procedimientos usados con la finalidad de identificar y cuantificar la composición química de una sustancia en estudio. Estos métodos permiten realizar análisis

cuantitativos y cualitativos de la muestra, donde se identifican las sustancias de una muestra (análisis cualitativo) y se determina la cantidad o concentración de una determinada sustancia en la muestra (análisis cuantitativo). A continuación se explica de manera general, la técnica de caracterización utilizada en cada una de las muestras de este Trabajo Especial de Grado.

- **II.12.1 Infrarrojo**

La espectroscopia infrarroja se basa en el hecho de que las moléculas tienen frecuencias a las cuales rotan y vibran, es decir, los movimientos de rotación y vibración moleculares tienen niveles de energía discretos. Las frecuencias resonantes o frecuencias vibracionales son determinados por la forma de las superficies de energía potencial molecular, las masas de los átomos y eventualmente por el acoplamiento vibrónico asociado. Para que un modo vibracional en una molécula sea activa al IR, debe estar asociada con cambios en el dipolo permanente.

Las moléculas diatómicas simples tienen solamente un enlace, el cual se puede estirar. Moléculas más complejas pueden tener muchos enlaces, y las vibraciones pueden ser conjugadas, llevando a absorciones en el infrarrojo a frecuencias características que pueden relacionarse a grupos químicos. Los átomos en un grupo  $\text{CH}_2$ , encontrado comúnmente en compuestos orgánicos pueden vibrar de seis formas distintas, estiramientos simétricos y asimétricos, flexiones simétricas y asimétricas en el plano, y flexiones simétricas y asimétricas fuera del plano.

- La porción infrarroja del espectro electromagnético se divide en tres regiones; el infrarrojo cercano, medio y lejano, así nombrados por su relación con el espectro visible. El infrarrojo lejano (aproximadamente  $400\text{-}10\text{ cm}^{-1}$ ) se encuentra adyacente a la región de microondas, posee una baja energía y puede ser usado en espectroscopia rotacional. El infrarrojo medio (aproximadamente  $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ ) puede ser usado para estudiar las vibraciones fundamentales y la estructura rotacional vibracional,



mientras que el infrarrojo cercano ( $14000-4000\text{ cm}^{-1}$ ) puede excitar sobretonos o vibraciones armónicas. (Rubinson y Rubinson, 1997)

En la región de espectros de infrarrojo (0) existen dos zonas que definen las vibraciones de los diferentes tipos de enlaces, que corresponden a frecuencias entre  $4000$  y  $800\text{ cm}^{-1}$ , siendo de  $4000$  a  $1500\text{ cm}^{-1}$  la zona de identificación de grupos funcionales y de  $1500$  a  $800\text{ cm}^{-1}$  la zona de huella digital.

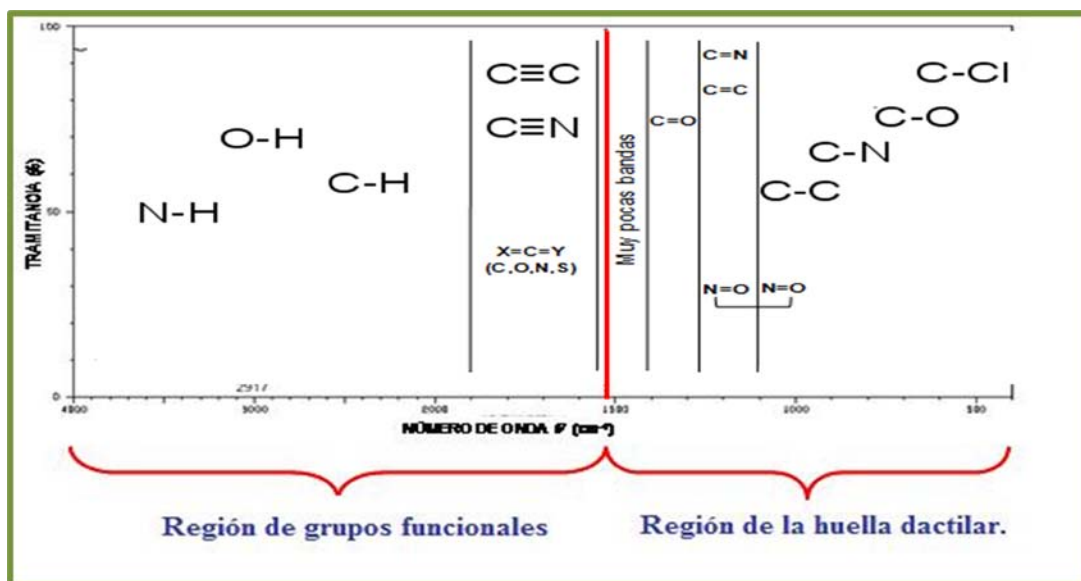


Figura N°8: Zona de identificación típica de los espectros de infrarrojo (Higson, 2007).

Con frecuencia, en los espectros, se observan menos picos que los esperados, y este fenómeno puede ser explicado con los siguientes factores principales (Higson, 2007):

- Si una molécula puede tener dos o más vibraciones distintas que tengan energía casi idéntica, los picos de absorción IR de esos procesos se pueden fundir y parecer como uno solo.
- Si una vibración molecular produce una absorción extremadamente pequeña, en algunos casos será demasiado débil para poder detectarla.
- Puede ser que la absorción de un pico no se mida si está fuera del intervalo de longitudes de onda que se evalúa, o fuera del alcance del instrumento.

## **II.13 ANTECEDENTES.**

Para la realización de este Trabajo Especial de Grado, se realizó una investigación sobre los diferentes trabajos referentes a la extracción supercrítica y a las características más relevantes del árbol de Neem:

II.13.1 “ESTUDIO EXPERIMENTAL SOBRE LA EXTRACCIÓN DE SEMILLAS DE NEEM CON EL MÉTODO SUPERCRÍTICO CON CO<sub>2</sub>” (Mongkholkhajornsilp, 2004).

En este trabajo de investigación se enfocan en la importancia que tiene la planta de Neem y uno de sus compuestos activos (Nimbina) para la formulación de medicamentos de gran relevancia en la industria farmacéutica. Utilizan el método de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> en un rango de temperatura de 35 a 60 °C para evitar que se degraden los compuestos activos debido a altas temperaturas. Las conclusiones de mayor interés para este trabajo son:

- Los rendimientos obtenidos de la Nimbina son de 35% en las semillas utilizando la extracción supercrítica con CO<sub>2</sub>. El rendimiento de extracción por semilla fue de aproximadamente 0,175 mg de Nimbina/g de semilla y las semillas de Neem se supone que contienen alrededor de 0,5 mg de Nimbina/ g de semillas.
- Las mejores condiciones de extracción de los experimentos fue 303K, 23 MPa para una muestra de 2 gr. de Neem.
- Una óptima presión de extracción es 23 MPa y a una temperatura de 328K.
- La tasa de extracción específica no es función del tamaño de la muestra.

II.13.2 “EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE LA SEMILLA DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA)”. (Romero y Vargas, 2005).

En este trabajo de investigación se determinan los parámetros dimensionales y la composición química proximal, de la semilla no germinable del árbol de Neem recolectada siguiendo un muestreo aleatorio sistemático estratificado, en una plantación nacional. Se comparan diferentes técnicas convencionales de extracción del aceite y se realiza la caracterización físico química y el perfil de ácidos grasos del aceite. Las conclusiones de mayor interés para este trabajo son:

- El plan de muestreo aleatorio sistemático permitió realizar la caracterización dimensional de la semilla; ésta se adapta a un modelo elipsoidal, con una proporción ancho largo igual a 2,06.
- La evaluación proximal de la almendra de la semilla arrojó como principales componentes aceite, fibra cruda y proteínas. La cáscara está constituida principalmente por fibra y carbohidratos.
- Las propiedades físicas de índice de refracción, punto de fusión y título resultaron semejantes para los extractos con solventes y prensado. Las propiedades químicas de los aceites extraídos se encuentran en los rangos reportados para aceites de semillas comunes.
- El perfil de ácidos grasos por cromatografía, muestra una composición de ácidos grasos totales semejantes, entre los aceites extraídos. Aproximadamente entre el 51 y 59 por ciento de los ácidos grasos son insaturados y 34 a 46 por ciento son saturados.

**II.13.3 “DESARROLLO DE UN BIOINSECTICIDA A PARTIR DE LA AZADIRACTINA PRESENTE EN EL ACEITE DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA)” (Montañez, 2005).**

En este trabajo de investigación se estudiaron los aspectos más importantes de la planta de Neem y de la Azadiractina para así formular un insecticida a base de este terpenoide, también se estudiaron otros aspectos como la influencia del insecticida formulado sobre ciertas enfermedades y los factores que alteran la estabilidad en el tiempo de los mismos. Las conclusiones de mayor interés para este Trabajo Especial de Grado son:

- Los insecticidas sintéticos ejercen un efecto negativo en la salud de los seres humanos, ya que causan daños, en ocasiones irreparables sobre el sistema nervioso humano, los cuales pueden persistir mucho tiempo después de finalizada la exposición a los mismos.
- Se requiere implementar la utilización de materiales alternativos en la elaboración de insecticidas, que no pongan en riesgo la salud de los seres humanos.
- La Azadiractina presente en el aceite de Neem puede ser utilizada como componente activo para la formulación de un repelente, ya que posee propiedades insecticidas.
- La Azadiractina contenida en las diferentes partes del árbol de Neem constituye una estrategia efectiva a ser usada en los programas de control de plagas, pues presenta diferentes mecanismos de acción, lo que garantiza un efecto prejudicial en la plaga, sin el riesgo de incrementar la resistencia en las mismas, ya que la Azadiractina no puede ser sintetizada artificialmente en el laboratorio dado a la complejidad de su molécula, lo que dificulta que las plagas desarrollen resistencia.

**II.13.4 “OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE LAS SEMILLAS DEL FRUTO DEL ÁRBOL DE NEEM (*Azadirachta indica* A. Juss), EMPLEANDO MICROONDAS Y ULTRASONIDO COMO MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.”(Morales, L 2010)**

Se evaluó la influencia que ejerce sobre el rendimiento del proceso de extracción el uso de diferentes solventes (etanol, metanol, hexano, ciclohexano y acetato de metilo), potencia del equipo (20, 40, 60 80 y 100%) y tiempo de residencia (4,7 y 13 seg), y para la EAU se evaluó la influencia que tiene la temperaturas (30,40 y 50 °C) y tiempos de residencia (15,25 y 35 min). Para cada experiencia las muestras se caracterizaron mediante espectroscopía infrarroja para determinar la composición del extracto obtenido. Las conclusiones de mayor interés para este Trabajo Especial de Grado son:

- Al aumentar la potencia del equipo microondas, aumenta la densidad de los extractos y el rendimiento sin embargo al aumentar más del 80% de potencia en el microondas se presenta una disminución del rendimiento que puede ser ocasionado a un daño producido en el extracto.
- Las condiciones óptimas de operación para la Extracción Asistida por Microondas del aceite esencial de semillas del fruto del árbol de Neem es con una potencia de 80% durante un tiempo de residencia de 7 segundos empleando etanol como solvente.
- Las condiciones óptimas de operación para la extracción asistida por ultrasonido del aceite esencial de semillas del fruto del árbol de Neem es con una temperatura de 40 °C, durante un tiempo de residencia de 25 min, empleando etanol como solvente.
- La Extracción Asistida por Microondas es más eficiente que la Extracción Asistida por Ultrasonido, ya que genera mayor rendimiento y menos tiempo de extracción.

**II.13.5 OBTENCIÓN DE ACEITE ESENCIAL A PARTIR DE HOJAS DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA A. JUSS), USANDO LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA CON CO<sub>2</sub> COMO SOLVENTE Y EXTRACCIÓN CONVENCIONAL CON AGUA.(Rosas, L 2008)**

En este Trabajo Especial de Grado se habló de la influencia del uso de un cosolvente que favoreciera la extracción supercrítica, seguido por cómo influye sobre la variación de la presión y la temperatura de este método de extracción. En cuanto a la extracción convencional con agua el parámetro a variar fue el volumen de este solvente. También se estudió la viabilidad de la aplicación de uno de estos métodos, según los compuestos extraídos. Finalmente, se realizó una caracterización en base a la espectroscopía de infrarrojos para estudiar la composición de las muestras obtenidas en cada experiencia. Las conclusiones de mayor interés para este Trabajo Especial de Grado son:

- El incremento del volumen en las pruebas de hidrodestilación no muestra un cambio significativo en cuanto al porcentaje de recuperación, tampoco lo hace en cuanto a la composición de los grupos funcionales mostrados en los espectros de infrarrojo.
- El aumento de la temperatura influye favorablemente sobre la cantidad recuperada en las pruebas de extracción supercrítica, y también permite que se observen con mayor claridad los grupos funcionales presentes en el extracto, debido al aumento de la transmitancia en los espectros de Infrarrojo.
- El estudio de los espectros de infrarrojo no permite tener una idea clara de la composición de los extractos debido a que existe en cada uno de ellos, una gran cantidad de solvente o medios de arrastre presente en las todas las muestras.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA.

A continuación se presenta el desarrollo sinóptico que se empleó en este Trabajo Especial de Grado para poder cumplir con los objetivos planteados previamente, así como también se da una explicación a fondo de los equipos que se utilizaron. Posteriormente se explica a profundidad el procedimiento experimental usado para llevar a cabo cada una de las experiencias, tomando en cuenta el acondicionamiento del equipo, la operación del proceso y la recolección del extracto.

**III.1 DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO Y DESARROLLO CRONOLÓGICO PARA LAS PRUEBAS DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA USANDO CO<sub>2</sub> COMO SOLVENTE Y ETANOL COMO COSOLVENTE.**

A continuación se presenta un diagrama de bloque en la figura N° 9, correspondiente a la Extracción supercrítica usando CO<sub>2</sub> como solvente y Etanol como cosolvente

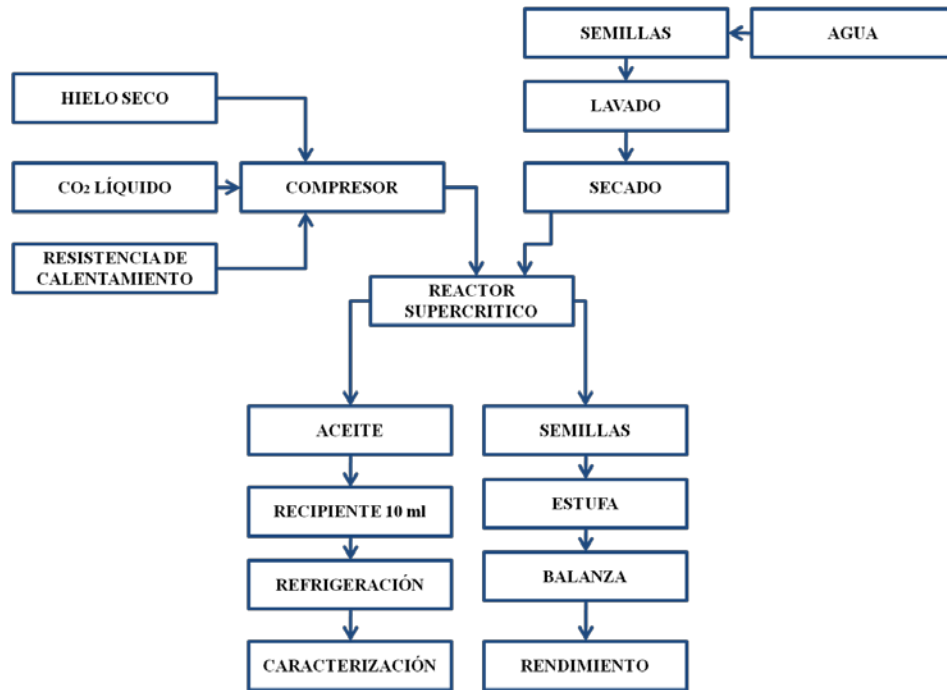


Figura N° 9. Diagrama del equipo de extracción con fluido supercrítico. (Elaboración propia)

### **III.1.1. Descripción del equipo para el método de extracción con CO<sub>2</sub> como solvente y Etanol como cosolvente en condiciones supercríticas.**

La extracción supercrítica se realizó en un montaje como se muestra en la Figura N° 10. Éste equipo consta de tres secciones principales: una sección de alimentación y presurización de CO<sub>2</sub>, una segunda sección donde se lleva a cabo la extracción y una última sección donde se realiza la separación del solvente, la grasa y el cosolvente.

En la sección de alimentación está una bombona de dióxido de carbono (B-01), en estado líquido, a una presión de 900 psig (61,2 atm) y a 27°C aproximadamente. Esta bombona posee una válvula de aguja (V-01), que permite la alimentación del CO<sub>2</sub> líquido al sistema mediante una tubería de acero inoxidable 316 de ¼". En la sección de presurización se encuentra un recipiente presurizado (RP-01), o autoclave de forma cilíndrica, con una capacidad de 2 litros, hecho de acero inoxidable 316 de ¼" que aguanta presiones de hasta 4500 psig (306,2 atm).

Este recipiente o autoclave está rodeado por una resistencia de calentamiento eléctrica de 4,5 Kw que posee un regulador e indicador de temperatura (TI-01). El recipiente RP-01, posee en el tope un manómetro tipo Bourdon (PI-01), donde se puede leer la presión dentro del mismo. Para la comunicación de la sección de alimentación a la de presurización se tiene una válvula de aguja (V-02) y una válvula check ubicada antes de la entrada del recipiente de presurización (RP-01).

En la línea de salida del recipiente presurizado (RP-01) se encuentra instalada una válvula (V-03), que permite el paso del CO<sub>2</sub> al equipo de extracción, así como una válvula de alivio (V-04) para mantener el recipiente en una presión adecuada para mantener la seguridad del sistema.



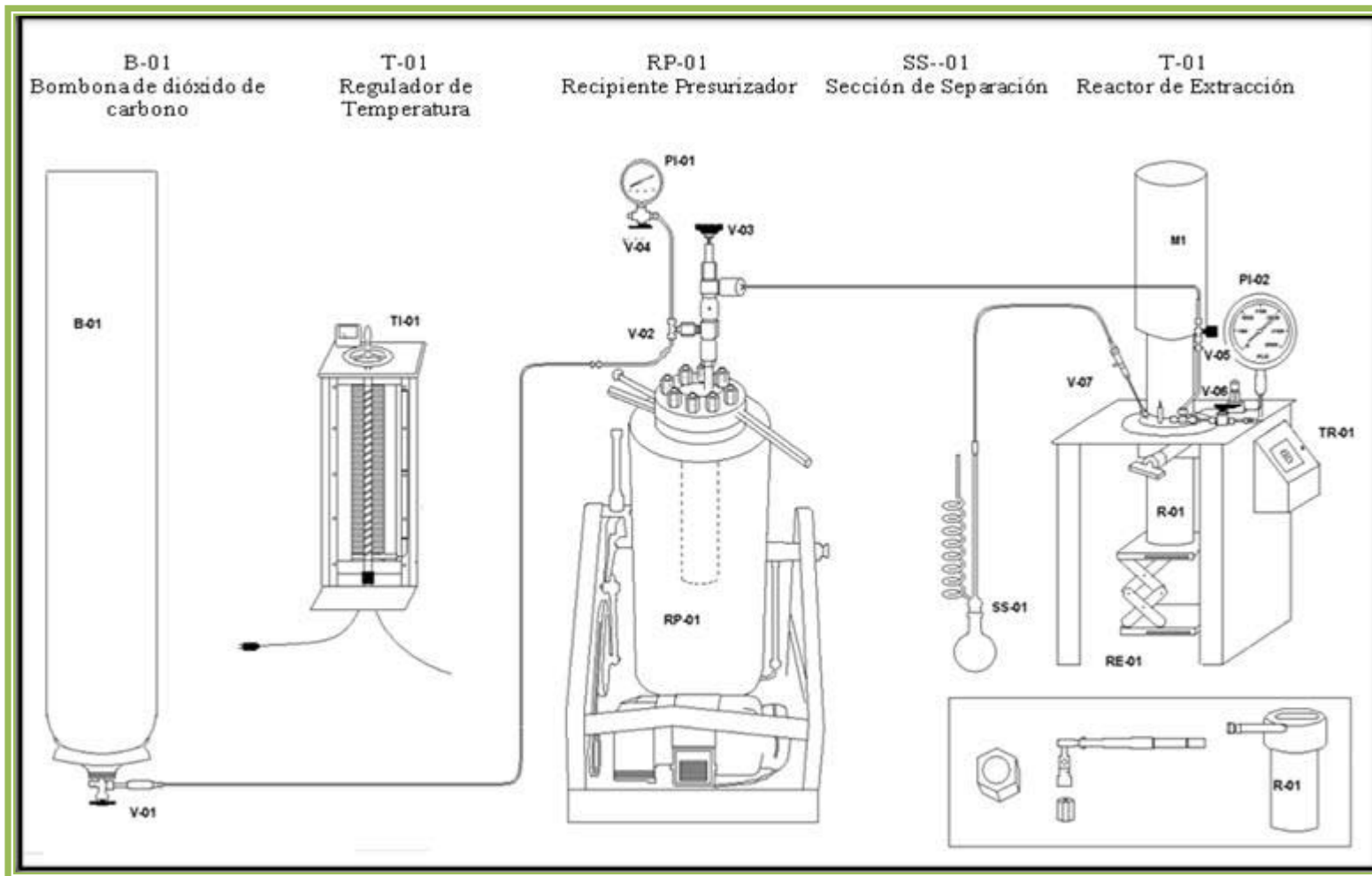


Figura N° 10. Diagrama del equipo de extracción con fluido supercrítico. (Armas y Corredor, 2007)

La sección de extracción consiste de un equipo o extractor (RE-01), que soporta presiones de hasta 2000 psig contenido en un recipiente de aluminio (R-01) de 700 mililitros de capacidad, que posee un sello hermético. En el tope del equipo se encuentra una válvula (V-05) que permite regular la entrada del gas. Además, hay un manómetro tipo Bourdón (PI-02), que mantiene la lectura de la presión dentro del recipiente donde ocurre la extracción.

Para la salida del reactor se cuenta con una válvula (V-07), donde pasa el aceite esencial, el solvente y el cosolvente, de la sección extracción a la sección de separación, a través de una tubería de acero inoxidable 316 de ¼". El equipo cuenta además, en el tope, con un sistema de venteo de dióxido de carbono al medio ambiente, para mantener la seguridad del proceso, que se controla mediante una válvula de alivio (V-06)

Finalmente, en la sección de separación (SS-01), se recupera la grasa extraída y el Etanol mediante la conexión con el equipo de extracción, y se separa del CO<sub>2</sub> gaseoso. Éste componente del equipo se une a la sección de extracción mediante la conexión de la tubería de acero inoxidable 316 de ¼" a la válvula de salida (V-07) del equipo de extracción hacia un balón, donde se produce la recuperación del aceite esencial y Etanol. Este tubo o sección de separación se sumerge durante la experiencia en un baño de hielo seco y agua para producir la condensación de la grasa. En esta sección, el CO<sub>2</sub> se libera al ambiente.

### **III.1.2 Desarrollo cronológico de la experiencia de extracción supercrítica.**

#### **III.1.2.1 Acondicionamiento de la materia prima.**

Para la realización de la experiencia es necesario que las semillas se encuentren sin impurezas para evitar la contaminación de las mismas. A continuación se presentan los pasos a seguir:

- Se separaron las hojas, tallos y cualquier otro agente externo como insectos y rocas del fruto.
- Se separó el exocarpo (cascara) y mesocarpo (pulpa) de la semilla mediante varias etapas de enjuagues y tamizados.
- Se colocaron las semillas a secar a temperatura ambiente sobre papel absorbente por veinte (20) minutos para evitar el exceso de agua en el almacenamiento.
- Se realizó un secado durante veinticuatro (24) horas a una temperatura de 40°C en la estufa para retirar la mayor cantidad de agua a 50gr de semillas por experimento a realizar.

### **III.1.2.2 Acondicionamiento del equipo**

El montaje del equipo implica la correcta conexión de la bombona de dióxido de carbono a la línea de presurización, compuesta por la tubería de acero inoxidable 316 de ¼” y del recipiente de presurización. El acondicionamiento del equipo consiste en la realización de pruebas de fugas en las conexiones del montaje para mantener la seguridad y evitar pérdidas de la esencia. Además comprende el correcto proceso de presurización que permite alcanzar las condiciones necesarias para trabajar en el rango supercrítico del Dióxido de Carbono y Etanol.

Dicho montaje se realizó únicamente cuando se preparó por vez primera todo el proceso para la extracción supercrítica para comprobar la seguridad de las experiencias a realizar. El procedimiento fue el siguiente:

- Se verificó que la válvula V-01 de la bombona de dióxido de carbono (B-01) se encuentre cerrada.
- Se realizó la conexión de la bombona de dióxido de carbono (B-01) al recipiente de presurización (RP-01) con la tubería de acero 316 de ¼”.
- Se verificó que la válvula de entrada (V-02) del recipiente presurizador (RP-01) se encuentre cerrada, así como la válvula de salida (V-03) y la válvula de alivio (V-04).

- Se realizó la conexión de la salida del recipiente presurizador a la entrada del equipo de extracción supercrítica con la tubería de acero 316 de ¼”.
- Se colocó el recipiente de extracción (R-01) vacío en el equipo (RE-01) mediante el uso del soporte que se encontraba en el fondo del equipo y se selló herméticamente con el dispositivo de seguridad (zipper).
- Se abrió lentamente la válvula de aguja (V-01) de la bombona de CO<sub>2</sub> y luego la válvula de entrada del recipiente presurizado (V-02) hasta que se estabilizó la presión dentro del recipiente, mediante la lectura del manómetro (PI-01) y se alcanzó una presión aproximadamente igual a 850 psig.
- Se cerró la válvula de aguja (V-01) de la bombona de CO<sub>2</sub>, así como la válvula de salida (V-07) del equipo de extracción (RE-01), y la válvula de alivio (V-06).
- Se abrió la válvula de salida del recipiente presurizado (V-03) y la válvula de entrada (V-05) del equipo de extracción supercrítica, y se esperó hasta que se estabilizó la presión en el equipo.
- Se comprobó que no existan fugas en el sistema usando líquido jabonoso alrededor de las conexiones del gas y en aquellas partes donde se pudiera filtrar el gas hacia el exterior.

### **III.1.2.3 Operación del equipo**

Una vez realizado el acondicionamiento y montaje se procede a la realización de la experiencia donde se extrajo el aceite esencial. El procedimiento fue el siguiente:

- Se verificó que la presión del recipiente de presurización (RP-01) es de 0 psig.
- Se abrió el recipiente de presurización aflojando las tuercas que posee con ayuda de un torquímetro. Seguidamente se cargó el recipiente con aproximadamente 1 kilo de hielo seco, para aumentar la presión del sistema.
- Se cerró rápidamente el recipiente de presurización, colocando las tuercas en su lugar original ya que las mismas se encontraban enumeradas.

- Se abrió la válvula de aguja (V-01) y la válvula de alimentación de CO<sub>2</sub> al sistema (V-02), y se esperó hasta que la presión se estabilizó para posteriormente cerrar la válvula (V-01).
- Se encendió la resistencia de calentamiento (TI-01) para acelerar el proceso de sublimación del hielo seco.
- Se colocó 20 gr de semillas de Neem con 10 ml de Etanol en el recipiente de extracción (R-01) y se hizo calzar el recipiente en el equipo (RE-01) mediante el soporte que se encuentra en el fondo del equipo.
- Se procedió a sellar herméticamente el recipiente con el zipper para asegurar que no habrá fugas en la extracción. Asimismo se verificó que las válvulas de salida del equipo (V-06) y (V-07) se encuentren cerradas.
- Se esperó hasta alcanzar una presión de aproximadamente de 2300 psig en el recipiente presurizado (RP-01), para abrir la válvula de salida (V-03).
- Se abrió progresivamente la válvula de entrada del equipo de extracción supercrítica (V-05) hasta que se alcanzo la primera presión de extracción de 1500 psig e inmediatamente fue cerrada.
- Se dejó el proceso estable durante dos horas para que se produzca la extracción del aceite esencial de las semillas de Neem.
- Se preparó un baño de hielo para sumergir el balón de separación del aceite. El mismo se recolectó en dicho balón junto al Etanol, mientras que el Dióxido de Carbono se liberó al ambiente.
- Se conectó la tubería de acero inoxidable al balón de separación y se garantizó que no existiesen fugas con ayuda de cinta de teflón.
- Se sumergió el balón de separación (SS-01) en el baño de hielo.
- Se abrió lentamente la válvula de salida (V-07) del equipo de extracción y se empezó a descargar el contenido. Como la expansión de CO<sub>2</sub> causó que se congelara la tubería de descarga, fue necesario usar una manta de calentamiento y así no afectar la velocidad de descarga del extracto.

#### **III.1.2.4 Descarga del extracto**

Una vez que concluyó el tiempo de contacto de la matriz vegetal con el solvente y el cosolvente en estado supercrítico se tomó algunas precauciones a la hora de descargar el equipo y a continuación se explicará el procedimiento utilizado:

- Se descargó todo el contenido gaseoso del equipo de extracción, hasta que la presión en el manómetro del equipo (PI-02) fue de 0 psig.
- Se arrastró el aceite contenido dentro del capilar de descarga con una inyectora llena de Etanol.
- Se almacenó el aceite extraído en frascos de color ámbar de 10 ml para su posterior análisis.
- Se retiró el recipiente de extracción del equipo (R-01), y se colocaron las semillas en una capsula de petri que fue previamente pesada.
- Se lavó el recipiente de extracción del equipo (R-01).
- Se despresurizó todo el sistema abriendo las válvulas correspondientes de salida del gas.
- Se colocó la capsula de petri con las semillas en la estufa a una temperatura de 60°C por 24 horas.

Para completar el estudio del efecto de la presión sobre la semilla de Neem se hizo un barrido de cuatro (4) presiones hasta llegar a 2100 psig con un tiempo de extracción de dos (2) horas, se calculo el rendimiento a cada uno de los extractos, secando las semillas después de la extracción durante veinticuatro (24) horas para luego mediante la diferencia de masas y dividiendo entre la masa inicial.

Una vez que se fijó el valor de la presión óptima se hizo un barrido de cuatro (4) temperaturas desde 30 hasta 60°C con un tiempo de extracción de dos (2) horas. Se calculó el rendimiento a cada uno de los extractos secando las semillas después de la extracción durante veinticuatro (24) horas y así se obtuvo el valor de temperatura óptima.

Se compararon los métodos de extracción en cuanto al rendimiento y composición de cada uno de los extractos y se concluyó cuál de ellos sería más conveniente.

### III.2 DESCRIPCIÓN DEL EQUIPO Y DESARROLLO CRONOLÓGICO CORRESPONDIENTE A LAS PRUEBAS DE EXTRACCIÓN CONVENCIONAL CON AGUA.

A continuación se presenta un diagrama de bloque en la figura N° 11, correspondiente a la extracción convencional con agua utilizando un extractor tipo Soxhlet.

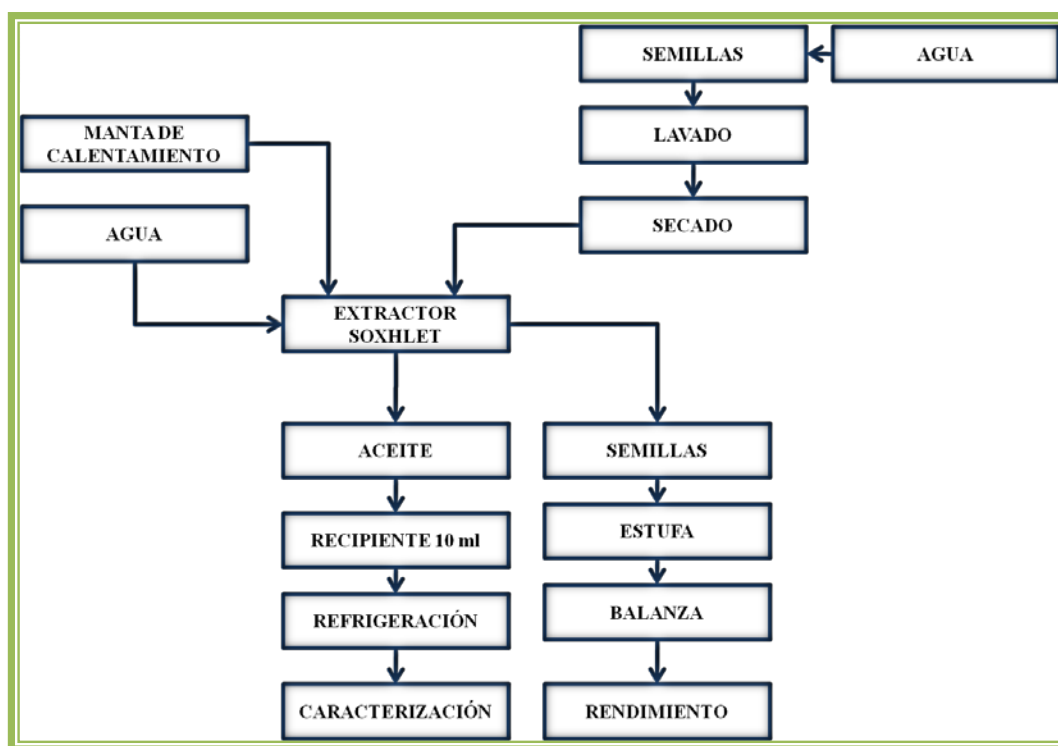


Figura N°11: Diagrama de bloques de la destilación con agua. (Elaboración propia.)

### III.2.1 Descripción del equipo en la destilación con agua.

La experiencia se realizó en el extractor tipo Soxhlet (ES-01) de la Figura N° 12, donde se introdujeron las semillas de Neem a destilar y en el balón o matraz (M-01) se colocó el agua destilada que actuó como solvente extractor.

Sobre el matraz se colocó un extractor tipo Soxhlet (ES-01) luego el condensador vertical (C-01) que constó de dos espigas (E1) y (E2) para la entrada y salida del agua de enfriamiento mediante las mangueras (M1) y (M2). El calor necesario para la destilación se produjo en una manta de calentamiento donde se colocó el balón o matraz (M-01) con el agua. El calor de la manta se controló mediante un regulador del calentamiento (RC-1) que esta posee. Todo el montaje se aseguró a una pinza (P1) conectada al soporte de la manta para asegurar el material.

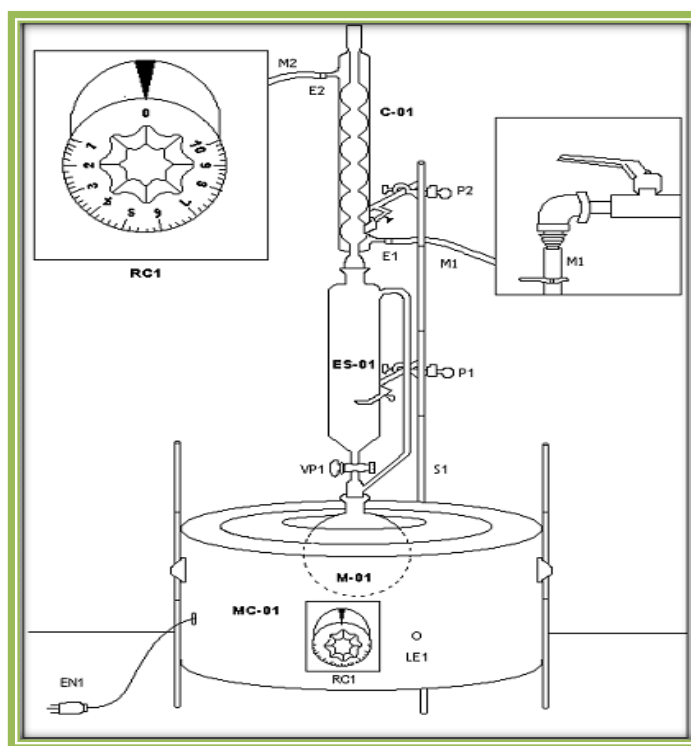


Figura N°12: Diagrama del equipo de destilación con agua. (Armas, 2007)



### **III.2.2.1 Acondicionamiento de la materia prima.**

Para la realización de la experiencia es necesario que las semillas se encuentren sin impurezas para evitar la contaminación de las mismas. A continuación se presentan los pasos a seguir:

- Se separaron las hojas, tallos y cualquier otro agente externo como insectos y rocas del fruto.
- Se separó el exocarpo (cascara) y mesocarpo (pulpa) de la semilla mediante varias etapas de enjuagues y tamizados.
- Se colocaron las semillas a secar a temperatura ambiente sobre papel absorbente por veinte (20) minutos para evitar exceso de agua en el almacenamiento.
- Se realizó un secado durante veinticuatro (24) horas a 50gr de semillas por experimento a realizar.

### **III.2.2.2 Acondicionamiento del equipo**

Para cada una de las experiencias de hidrodestilación, previo al montaje del equipo se realizó el siguiente procedimiento experimental

- Se lavó y secó el matraz (M-01) y el extractor tipo Soxhlet (ES-01).
- Se pesó 20 gramos de semillas de Neem en la balanza del laboratorio.
- Se introdujeron las semillas dentro del extractor tipo Soxhlet (ES-01).
- Se midió en un cilindro graduado la cantidad de agua destilada a usar en cada destilación, y seguidamente se introdujo el agua destilada en el matraz (M-01).
- Se introdujeron al matraz (M-01) perlas de ebullición para mantener en movimiento el líquido a destilar y disminuir las burbujas.
- Se conectaron las mangueras para la entrada (M1) en la espiga inferior (E1), y la de salida (M2) en la espiga superior (E2). Luego en el otro extremo se conectó la manguera de entrada (M1), a la tubería de agua, y la de salida (M2) sobre el desagüe del laboratorio. Se aseguraron las mangueras y todas las arandelas de plástico para evitar fugas o desprendimiento de las mangueras por la presión.

- Se lubricaron con grafito los extremos del extractor tipo Soxhlet (ES-01) y del condensador vertical (C-01) para facilitar el montaje y desmontaje de los equipos.
- Se colocó el matraz (M-01) sobre la manta de calentamiento (MC-01). Sobre el matraz se colocó el extractor tipo Soxhlet (ES-01) y sobre el mismo el condensador vertical (C-01). Seguidamente se aseguró el condensador vertical al soporte (S1) que posee en su parte inferior la manta de calentamiento con la ayuda de la pinza (P1).

### **III.2.2.3 Operación**

Una vez que se aseguró que todos los pasos contenidos en la sección anterior fueron ejecutados correctamente se procedió según lo siguiente:

- Se abrió la llave de agua para garantizar la entrada del líquido al condensador, que permitió el enfriamiento del vapor que se arrastró. No se abrió demasiado la llave ya que la presión podía originar una ruptura o desprendimiento de las mangueras.
- Se enchufó y se puso en marcha la manta de calentamiento (MC-01) fijando una velocidad de calentamiento en el regulador (RC1). El equipo estuvo en marcha cuando se encendió la luz en el indicador (LE1).
- Se dejó el proceso de la destilación durante 24 horas continuas para obtener una cantidad significativa de aceite esencial.
- Luego de las 24 horas de destilación se apagó la manta de calentamiento. Se cerró la llave de servicio de agua que permitió la condensación del vapor luego se dejó enfriar el montaje, se desmontó el condensador vertical (C-01) y el extractor tipo Soxhlet (ES-01).

### **III.2.2.4 Descarga del equipo.**

- Se retiraron las semillas de Neem del extractor tipo Soxhlet (ES-01), y se colocaron en una capsula de Petri que fue previamente pesada.
- Se almacenó el aceite extraído del matraz (M-01) en frascos de color ámbar de 10 ml para su posterior análisis.

- Se colocó la capsula de Petri con las semillas en la estufa a una temperatura de 60°C por 24 horas.
- Se lavó el extractor tipo Soxhlet (ES-01).
- Se lavó el matraz (M-01).

## CAPÍTULO IV

### PRESENTACION Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS.

La composición de este capítulo, está basado en los resultados obtenidos durante la ejecución de las experiencias efectuadas para el proceso de extracción del aceite esencial de la semilla de Neem. En el mismo se desarrollan distintos puntos como lo son: la preparación de los equipos usados, análisis de resultados de las distintas experiencias, luego la culminación de la espectroscopia infrarroja y por último dar a conocer los valores del rendimiento para así demostrar que se cumplieron los objetivos planteados.

#### VI.1 CONDICIONES DE OPERACIÓN

En la tabla N° 5 se presentan las condiciones a las cuales fueron realizadas cada una de las experiencias y a su vez, el método de extracción que fue aplicado. Se estudió como influye la presión y la temperatura sobre el rendimiento.

Tabla N° 5: Condiciones de las muestras y métodos de extracción.

MUESTRA N°	TIPO DE EXTRACCIÓN	PRESIÓN (psig)	TEMPERATURA (°C)	SOLVENTE	COSOLVENTE
1	Soxhlet	14,7	100	Agua	no
2	Soxhlet	14,7	79	Etanol	no
3	Supercrítica	1500	27	CO <sub>2</sub>	no
4	Supercrítica	1500	27	CO <sub>2</sub>	Etanol
5	Supercrítica	1600	27	CO <sub>2</sub>	Etanol
6	Supercrítica	1700	27	CO <sub>2</sub>	Etanol
7	Supercrítica	1800	27	CO <sub>2</sub>	Etanol
8	Supercrítica	1900	27	CO <sub>2</sub>	Etanol
9	Supercrítica	2000	27	CO <sub>2</sub>	Etanol
10	Supercrítica	2100	27	CO <sub>2</sub>	Etanol
11	Supercrítica	2100	30	CO <sub>2</sub>	Etanol
12	Supercrítica	2100	40	CO <sub>2</sub>	Etanol
13	Supercrítica	2100	50	CO <sub>2</sub>	Etanol
14	Supercrítica	2100	60	CO <sub>2</sub>	Etanol

Las experiencias N° 1 y N° 2 mostradas en la Tabla N°5 indica que se realizaron para demostrar cuál era el solvente más efectivo mediante el cálculo del rendimiento. Mientras que las experiencias N° 3 y N° 4 se realizaron debido que al terminar las experiencias las condiciones del equipo no permitían obtener extracto ya que el mismo se evaporaba junto con el CO<sub>2</sub>. Por lo cual se utilizo el mismo solvente que en la extracción con el equipo Soxhlet, con lo cual se logro recolectar el aceite esencial junto con el solvente. Las pruebas N° 5 a la N° 10 fue la variación de presión. Y ya por ultimo después de haber conseguido la presión a la cual se obtuvo el mayor rendimiento se realizaron las pruebas N° 11 a la N° 14 variando la temperatura y dejando la presión constante.

## **VI.2 ACONDICIONAMIENTO DE LOS EQUIPOS**

En este Trabajo Especial de Grado fueron utilizados una serie de equipos a los cuales fue necesario realizar revisiones, evaluaciones y sustituciones de algunos de sus componentes y en alguno de los casos su sustitución total para poder alcanzar los objetivos planteados.

### **VI.2.1 Equipo de extracción convencional tipo Soxhlet**

Para el montaje de este equipo fue necesaria la revisión de las mangueras y abrazaderas para verificar que no hubiese alguna fuga y la utilización de grafito en las conexiones entre las diferentes partes del equipo para facilitar el montaje y desmontaje del mismo.

### **VI.2.2 Equipo de extracción supercrítica.**

Este equipo presentó un problema irreparable en la sección de extracción debido a la deformación del dispositivo de seguridad que garantizaba que el extractor quedara sin fugas y suspendido en su base. A su vez se rompieron las válvulas de seguridad por un exceso de presión debido a una falla en el barómetro. Por lo cual se tuvo que sustituir el extractor en su totalidad.

El proceso de sustitución del extractor empezó con el rediseño y ubicación del mismo, en el Modulo I del laboratorio de operaciones unitarias de la Escuela de Química de la facultad de Ingeniería de la UCV se contaba con unos reactores de altas presiones capaces de soportar 2500 psig por lo cual fue utilizado uno de ellos y colocado en una pared metálica de seguridad que se encontraba contigua a la zona donde se encontraban los demás equipos para la extracción. Las tuberías de conexión entre el recipiente de presurización y el reactor también tuvieron que ser modificadas. En cuanto al barómetro se tuvo que sustituir al igual que las válvulas a la entrada y salida del reactor como se ve en la figura N° 13.



Figura N°13: Equipo de extracción supercrítica.

Para el sistema de calentamiento utilizado en el reactor también se sustituyó por completo ya que anteriormente se colocaba una plancha de calentamiento con un beaker lleno de agua y un termómetro, el cual fue sustituido por un envase de 5

galones, como se puede ver en la figura N° 14, con una resistencia colocada en la parte superior del envase y un termómetro para verificar que la temperatura es la deseada; el sistema funciona colocando el extractor (R-01) sumergido en su totalidad dentro del envase de calentamiento el cual va a estar soportado en la misma pared metálica.



Figura N°14: Envase de calentamiento con resistencia y termómetro.

Además de todas estas revisiones y sustituciones de los equipos se llevaron a cabo pruebas para que después de todas las sustituciones no hubiese ninguna fuga utilizando la presión de la bombona de CO<sub>2</sub> líquido.

### IV.3. ANALISIS DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS

#### IV.3.1. Análisis de las muestras obtenidas mediante el método de extracción convencional.

A continuación se presentan los resultados de las pruebas de extracción convencional de donde se obtuvo en primer lugar que tipo de solvente se utilizaría para luego comparar los resultados de dicho método de extracción con el de extracción supercrítica y ver en cuál de ambos procesos el rendimiento era mayor.

##### IV.3.1.1. Análisis de las muestras obtenidas en el estudio de la influencia del uso de distintos solventes y su rendimiento.

Para la determinación del solvente a ser utilizado en las pruebas de ambos métodos de extracción se realizaron dos experiencias en el equipo Soxhlet utilizando distintos solventes (Agua y Etanol).

Tabla N° 6: Rendimientos con variación de solventes

Solvente	Rendimiento total(%) $\pm 0,10$
Agua	55,27
Etanol	57,12

Dando como resultado que el porcentaje de rendimiento de extracción era de 57,12 % cuando se utilizaba como solvente el Etanol mientras que con el uso del agua se obtenía un 55,27% por lo cual se decidió utilizar el Etanol como solvente para la reproducibilidad de la extracción convencional y en todos los experimentos de extracción supercrítica.

#### IV.3.2. Análisis de la influencia de la presión en la extracción supercrítica.

La principal variable a analizar en el método de extracción supercrítica del aceite esencial de Neem fue la presión. En dicho análisis se realizaron siete (7)



experimentos a temperatura ambiente con un incremento gradual de la variable que comprendió de 1500 psig aumentando 200 psig por experiencia hasta alcanzar un tope de 2100 psig, para luego ver el efecto en el rendimiento y la calidad del extracto.

#### IV.3.2.1 Análisis de la influencia de la presión sobre el rendimiento.

Tabla N° 7: Rendimientos de los extractos obtenidos en los experimentos variando la presión.

Presión (psig)	Rendimiento total (%) $\pm 0,1$
1500	33,69
1600	36,25
1700	38,27
1800	39,88
1900	41,08
2000	42,39
2100	43,32

En la figura N° 15 se presentan los resultados de los rendimientos obtenidos para las distintas extracciones variando la presión desde 1500 psig hasta alcanzar una presión de 2100 psig.

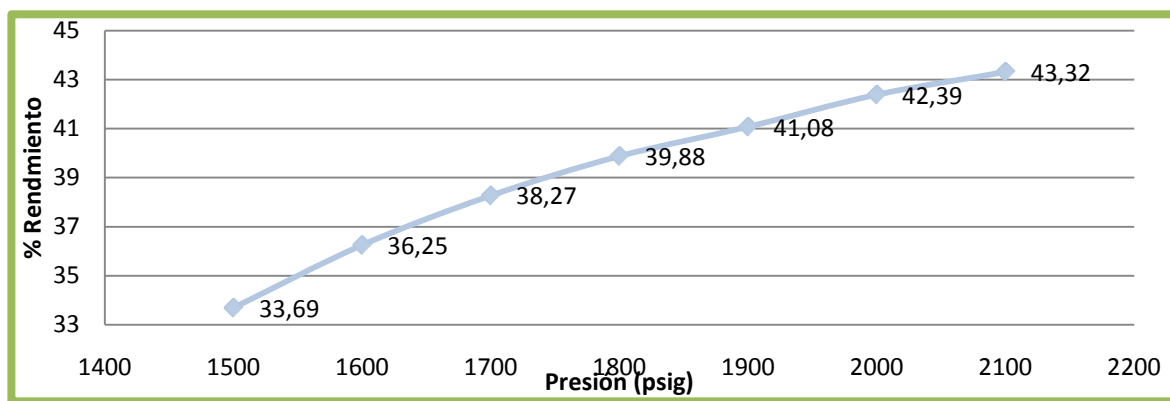


Figura N°15: Influencia de la presión sobre el rendimiento en los experimentos de extracción supercrítica usando CO<sub>2</sub> como solvente y Etanol como cosolvente (T=27°C)

En esta figura se puede observar el incremento del porcentaje del rendimiento a medida que se aumenta la presión y llegando al tope de 2100 psig como presión

óptima de extracción debido a que en ella se encuentra el valor más elevado de rendimiento. Por lo cual, para la realización de las pruebas de variación de la temperatura fue usada esta presión óptima como valor fijo. Es importante señalar que el tope de esta investigación se debió a limitaciones del equipo e implica que si se trabajara con un equipo que soportara presiones más elevadas podría ser que se consiguiera otro valor óptimo debido a la tendencia de la gráfica.

### **IV.3.3. Análisis de la influencia de la temperatura en la extracción supercrítica.**

Después de haber analizado como influyó la presión sobre el proceso de extracción supercrítica en la obtención del aceite esencial de Neem, se procedió a analizar la segunda variable de estudio, para lo cual se realizaron cuatro (4) experimentos a una presión constante de 2100 psig variando la temperatura.

#### **IV.3.3.1. Análisis de la influencia de la temperatura en el rendimiento.**

Tabla N° 8: Rendimientos de los extractos obtenidos en el experimento variando la temperatura (P=2100 psig).

Temperatura (°C)	Rendimiento total (%) $\pm 0,10$
30	45,82
40	49,35
50	50,71
60	51,52

En la figura N° 16 se presentan los resultados de los rendimientos obtenidos para las distintas extracciones variando la temperatura desde 30 °C hasta alcanzar una temperatura de 60 °C.

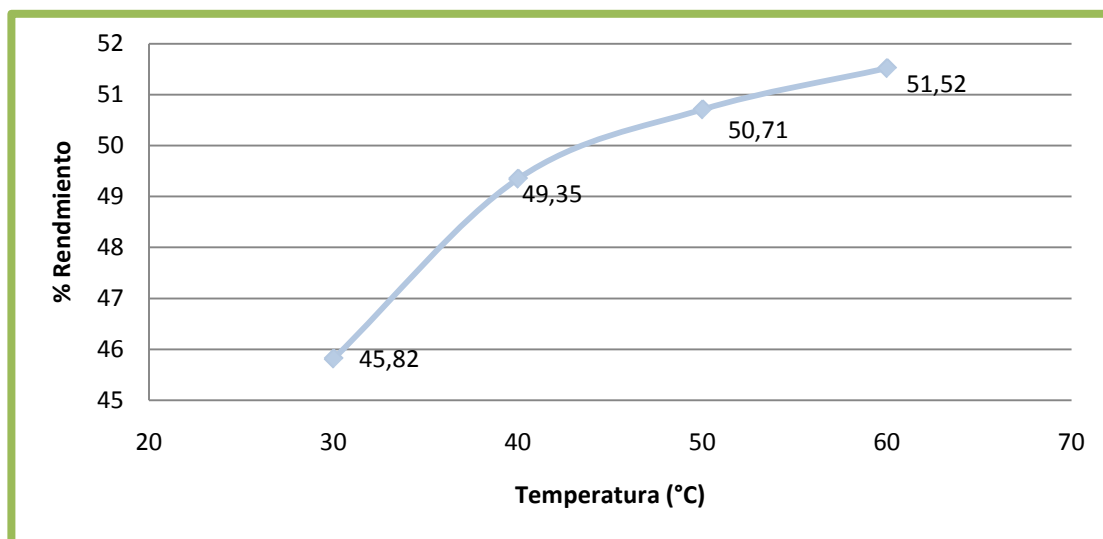


Figura N°16: Influencia de la temperatura sobre el rendimiento en los experimentos de extracción supercrítica usando CO<sub>2</sub> como solvente y Etanol como cosolvente.

La figura N°16 refleja un incremento del rendimiento al aumentar la temperatura, obteniendo el mayor rendimiento a una temperatura de 60°C; este incremento es debido a que al aumentar la temperatura del solvente aumenta su difusividad sobre la matriz vegetal y por esta razón se elige 60°C como óptima de trabajo, a una mayor temperatura se corre el riesgo que los componentes del Neem extraídos no se degraden.

#### IV.4. CALIDAD DEL PRODUCTO EN EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SUPERCRTICA

En esta sección se hace el análisis de la calidad del aceite esencial de Neem y para ello fue necesario conocer los espectros infrarrojos de todos los experimentos desde los distintos valores de variación de presión (1500, 1700, 1900, 2100 psig) hasta sus valores de variación de temperatura (30, 40, 50, 60°C), de los cuales solo se analizó los espectros en condiciones óptimas de presión y temperatura para cada caso como se observa en la figura N° 17; ya que no existía una variación notable en la estructura, intensidad de los picos o aparición de compuestos no característicos de dicho aceite esencial.

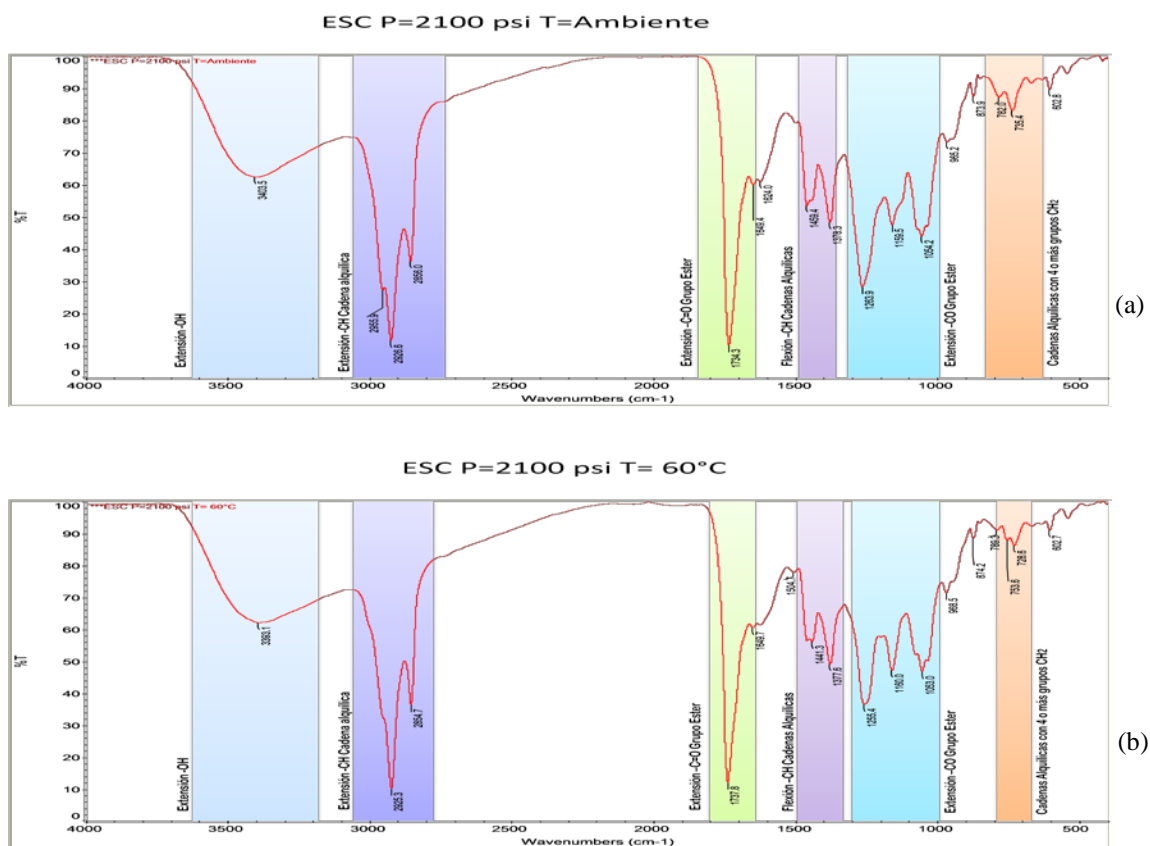


Figura 17. Espectro infrarrojo del proceso de Extracción supercrítica con las condiciones óptimas de presión a temperatura ambiente (a) y en condiciones óptimas de temperatura y presión (b)

Para dar a conocer las características, el análisis se hace desde la parte derecha donde se encuentra la región de la huella dactilar hasta la parte izquierda donde se encuentran los enlaces C-H, O-H, N-H, los enlaces triples y los enlaces dobles.

En el pico con el valor de  $728,6 \text{ cm}^{-1}$  se representa el movimiento vibratorio de las cadenas alifáticas que están formadas por cuatro (4) o mas grupos  $\text{CH}_2$  como lo son los ácidos grasos Oléico, Palmítico, Esteárico, Linoléico y Araquídico.

Para los números de onda de  $1053,0 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1160,0 \text{ cm}^{-1}$  y  $1255,4 \text{ cm}^{-1}$  indica las vibraciones de alargamiento de los enlaces  $-\text{CO}$  que representa el grupo funcional de los ésteres ya que su intensidad es fuerte, característica principal de este grupo.

En los picos  $1377,6\text{ cm}^{-1}$  y  $1441,3\text{ cm}^{-1}$  de intensidad media que muestra la presencia de cadenas alquílicas en las cuales ocurre una flexión de enlaces  $\text{-CH}$  esta flexión es simétrica (tijeras) para los grupos  $\text{CH}_2$  y asimétrica (paraguas) para los grupos  $\text{CH}_3$ .

El grupo funcional Éster con una vibración de extensión del grupo  $\text{C=O}$  con una intensidad fuerte está representado por el pico  $1737,8\text{ cm}^{-1}$ .

Los picos  $2854,7\text{ cm}^{-1}$  y  $2925,3\text{ cm}^{-1}$  son aquellos que simbolizan a las cadenas alquílicas de la extensión de los enlaces  $\text{-CH}$  simétricos y asimétricos para los grupos  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}_3$ , acotando que el pico más representativo es el que tiene el valor  $2854,7\text{ cm}^{-1}$  ya que una de las características físicas es que la intensidad del pico tiene que ser media.

Por último se analiza el pico con el número de onda  $3393,1$  que correspondiente al grupo funcional de los alcoholes que tiene una vibración de extensión del enlace  $\text{-OH}$ , este grupo funcional no es característico del aceite esencial de Neem, solo indica la presencia del solvente (Etanol) cuando fueron realizados los análisis de espectroscopia infrarroja.

#### IV.5. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LAS HOJAS Y CON LAS SEMILLAS.

Para poder comprobar si los procesos de extracción fueron mejorados después de diversas experiencias es necesario realizar una comparación de los resultados obtenidos por el ingeniero Rosas el cual extrajo el aceite esencial de las hojas del árbol de Neem y con el aceite extraído de la semilla desarrollado en este trabajo, basados en el rendimiento y la calidad mediante los espectros infrarrojos.

##### IV.5.1. Comparación basada en el rendimiento.

Tabla N° 9: Comparación de rendimientos para ambos métodos de extracción

Parte de la planta	Tipo de extracción	Masa inicial (g)	Masa final (g)	Rendimiento (%)
Hojas	Soxhlet	24,99	18,91	24,33
Hojas	Supercrítica	50,48	35,01	30,65
Semillas	Soxhlet	50,0023	21,4409	57,12
Semillas	Supercrítica	50,0076	24,2436	51,52

Como se observa en la tabla N° 9, los rendimientos obtenidos de la extracción de aceite esencial de las hojas de Neem están por debajo en más de un 20% con respecto a los valores de rendimiento de la semilla, lo que indica que la cantidad de aceite presente en la semilla es mayor que la que se puede extraer de las hojas; teniendo en cuenta que en ambos casos estaban en condiciones parecidas de presión y temperatura.

#### IV.5.2 Comparación basada en la calidad.

En la figura N° 18 que se muestra a continuación, se presentan los espectros de infrarrojo de las condiciones óptimas de presión y temperatura (1900 psig y 60 °C) de las hojas para el método de extracción supercrítica y el espectro infrarrojo óptimo para las semillas a las condiciones de 2100 psig y temperatura de 60 °C.

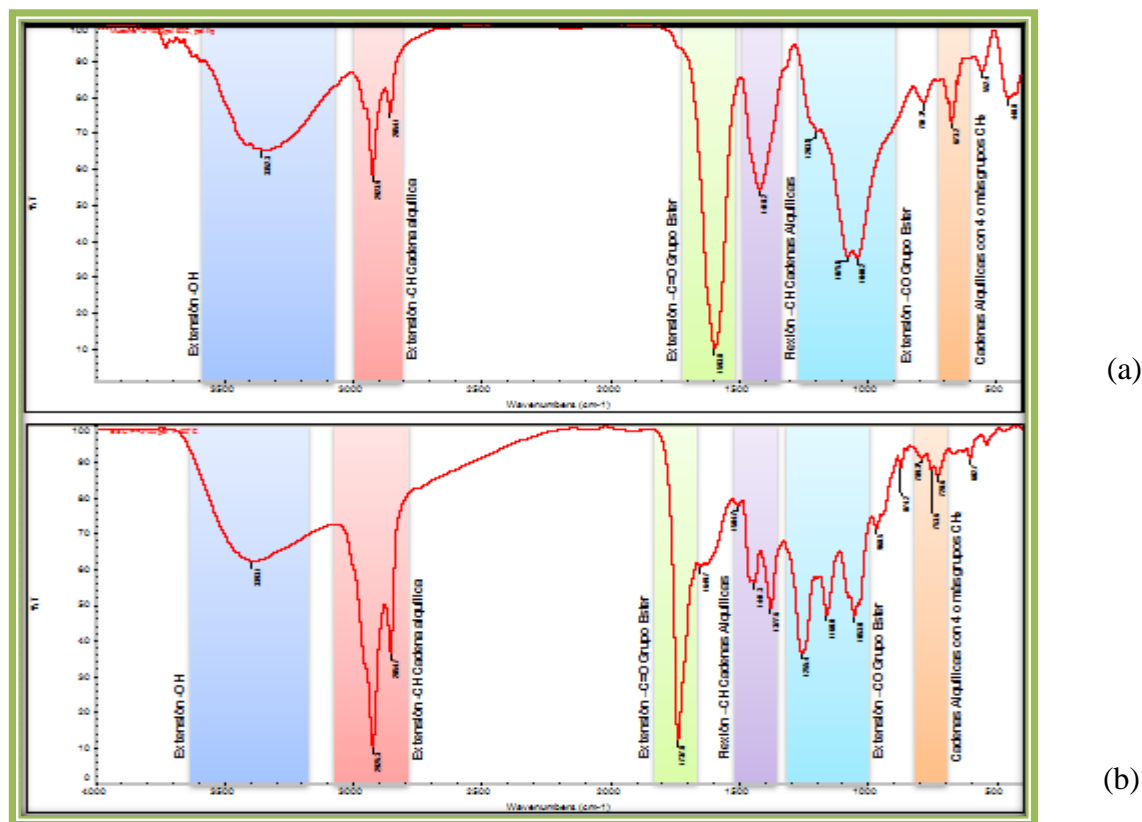


Figura N°18: Espectro óptimo de las hojas (a) en comparación con el espectro en condiciones óptimas de las semillas (b)

La calidad del producto es muy parecida, se encuentran los mismos grupos funcionales que representan al aceite esencial de Neem; las variaciones visibles es la diferencia de concentración de la cadena alquílica de extensión  $-CH$  que en el caso del estudio realizado en las hojas se podría decir que es menor que la de este Trabajo Especial de Grado también se puede visualizar la ausencia de picos característicos del aceite esencial en los picos de cadenas alquílicas con cuatro (4) o más grupos  $-CH_2$ , en el de extensión  $-CO$  del grupo Ester y en los picos de la flexión  $-CH$  de cadenas Alquílicas.

## **CAPÍTULO V CONCLUSIONES**

En este capítulo se presentan las conclusiones del Trabajo Especial de Grado, que se generaron posteriormente de ser recolectados y analizados los resultados obtenidos en cada experiencia.

1. Al usar Etanol como cosolvente en la extracción supercrítica se logra recuperar el extracto.
2. En la extracción convencional se extrae no sólo el aceite esencial sino también otros compuestos como los colorantes.
3. La presión óptima de extracción del aceite esencial de Neem en base al rendimiento fue 2100 psig.
4. La temperatura óptima de extracción del aceite esencial de Neem en base al rendimiento fue 60°C.
5. La extracción convencional presenta un mayor rendimiento que la extracción supercrítica.
6. En la extracción supercrítica la variación de la presión no presenta influencia sobre la calidad del aceite obtenido.
7. Elevar la presión en la extracción supercrítica favorece el rendimiento.
8. El incremento de la temperatura, en la extracción supercrítica aumenta el rendimiento.
9. A mayor temperatura se obtiene mayores rendimientos, debido a la presión de vapor de los componentes del aceite.
10. El estudio de los espectros de infrarrojo no permite tener una idea clara de la composición de los extractos.



## RECOMENDACIONES

En el presente Trabajo Especial de Grado se han desarrollado varias técnicas de investigación, experimentación y de análisis que permiten plantear una serie de recomendaciones basadas en la experiencia adquirida para alcanzar estos objetivos y para desarrollar estudios subsiguientes relacionados con el tema.

- Sustitución total del Autoclave E88-10531-1 MAWP 2000 psi 450°F USA 1987 debido a la deformación del dispositivo de seguridad (zipper) y daño del sistema interno de calentamiento. Adquirir un equipo que resista mayores presiones a fin de poder realizar barridos de presión en un rango mayor.
- Secar las semillas 24 horas antes de la experimentación favorece el rendimiento del extracto final.
- mejora manómetros para evitar una sobrepresión en el sistema por malas mediciones.
- Sustitución total del sistema de tuberías desde el sistema de acumulación de CO<sub>2</sub> hasta el extractor supercrítico.
- Cuando sea necesario la compra de empacaduras de goma se debe especificar que es para presiones y temperaturas altas.
- Recolectar las semillas de Neem del árbol lavar, depurar, secar e inmediatamente colocar en un sistema refrigerado para evitar su descomposición.
- Para futuros Trabajos Especiales de Grado realizar la extracción del aceite esencial del fruto entero y no solo de la semilla y así conocer si se consigue mayor cantidad de aceite esencial.
- Realizar las pruebas de extracción en un periodo no mayor de un (1) mes después de haber recolectado el fruto para obtener mayores porcentajes de rendimiento.
- Para la extracción supercrítica es recomendable utilizar una mayor cantidad de matriz vegetal; un valor aproximado de 100 a 150 gramos para obtener más cantidad de aceite esencial debido que en el proceso de descarga ocurren pérdidas por arrastre del CO<sub>2</sub> a la atmósfera.

- Adecuar un sistema de separación del aceite esencial del CO<sub>2</sub> por uno en el que el dispositivo de almacenamiento del extracto se encuentre unido a la línea de proceso, para facilitar y evitar pérdidas de extracto.
- Aplicar un control de flujo para la descarga del equipo de extracción supercrítica que garantice una velocidad de descarga constante y así se optimice la condensación del extracto luego de la salida del equipo.
- Adquirir dispositivos o controladores de presión y temperatura de la extracción para que se mantengan constantes las condiciones de operación en el extractor supercrítico.
- Realizar extracciones del aceite esencial que provengan de distintas formas de cultivo de la planta de Neem, para observar la variación de la calidad de aceite.
- Realizar pruebas a escala piloto y empezar la proyección de este proyecto a nivel comercial.
- La caracterización de los extractos debe verificarse con algún otro método aplicable como la espectrometría de masas o la cromatografía.
- Colocar una manta de calentamiento o algún otro sistema de intercambio de calor alrededor del capilar de descarga para que por el fenómeno de expansión del gas saliente esta tubería delgada no se obstruya causando problemas operacionales.
- Colocar un filtro de acero inoxidable antes de la válvula de descarga del equipo para así evitar posibles obstrucciones de la tubería con partículas de matriz vegetal en el equipo, a la salida de extracto.
- Estudiar el aumento del porcentaje de recuperación si se aplica una etapa previa de extracción sobre la matriz antes de la extracción supercrítica (microondas o ultrasonido).
- Variar el tiempo de residencia de la matriz para estudiar el comportamiento de porcentaje de rendimiento y la calidad del extracto.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.**

- ✓ Armas, C. y Corredor, J. (2007). “Comparación de procesos de extracción del aceite esencial de vetiver”. Trabajo especial de grado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- ✓ Cardenaz M. (1997). "Estudio Preliminar de la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico de terpenos del toronjil" (Melissa Officinalis). Trabajo de Grado, Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- ✓ Garmendia, P. (2004). "Estudios en domesticación y cultivo de especies medicinales y aromáticas nativas". Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay.
- ✓ Gil, E. y Sáez, A. (2005). "Evaluación a escala de planta piloto del proceso industrial para la obtención de aceite esencial de cardamomo, bajo la filosofía cero emisiones”. Universidad Eafit, Medellín.
- ✓ Guerra, M. (2001). "Formulación de insecticidas a base de Azadirachtin obtenido del árbol de Neem". Trabajo especial de grado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- ✓ Higson, S. (2007). "Química Analítica". Mc Graw Hill. México.
- ✓ Leupin, R. (2003). "Vetiveria zizanioides: an approach to obtain essential oil variants via tissue culture". Swiss Federal Institute of Technology Zürich, Zürich.
- ✓ Ma, J. (1999). “Características y especificaciones de frutas de Neen”. Disponible en:<http://spanish.alibaba.com/product-tp/neem-fruits-105948356.html>.
- ✓ Mazzani, B. (1973). "Cultivo y Mejoramiento de Plantas Oleaginosas". Trabajo Especial de Grado, Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- ✓ Montañez, J (2005). “Desarrollo de un bioinsecticida a partir de la Azadiractina presente en el aceite de Neem” (Azadirachta Indica). Trabajo Especial de Grado de, Universidad de Carabobo, Valencia Venezuela.
- ✓ Mongkholkhajornsilp, D. (2004). “Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of nimbin from Need seeds a modelling study” King Mongkut’s University of Technology, Thonburi, Bangkok 10140, Thailand
- ✓ Morales, L. (2010) “Obtención de aceite esencial de las semillas del fruto del árbol de Neem (*Azadirachta Indica a. Juss*), empleando microondas y ultrasonido como

- métodos de extracción. Trabajo especial de grado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- ✓ Mukhopadhyay M. (2000). "Natural Extracts using Supercritical Carbon Dioxide" CRC Press.
  - ✓ Nagasampagi, B. (1995). "Triterpene derivatives of azadirachtin having insect antifeedant and growth inhibitory activity and a process for extracting such compounds from the neem plant".
  - ✓ Ordoñez, J. (1998). "Tecnología de los Alimentos", volumen1. Síntesis, S.A.
  - ✓ Ramos, S. R.(2004). "Aceite de neem un insecticida ecológico para la agricultura". Disponible en:<http://www.zoetecnocampo.com>
  - ✓ Romero, C. y Vargas, M. (2005). "Extracción del aceite de la semilla de Neem (*Azadirachta indica*) *Ciencia*, dic. 2005, vol.13, no.4, p.464-474. ISSN 1315-2076.
  - ✓ Rosas, L. (2009). "Obtención de aceite esencial a partir de la hoja de Neem (*Azadirachta Indica* A. Juss), usando Extracción Supercrítica con Dióxido de Carbono (CO<sub>2</sub>) como solvente y Extracción Convencional." Trabajo especial de grado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
  - ✓ Rubinson, K.A. y Rubinson, J.F. (1997). "Infrared and Raman Spectra of inorganic and coordination compounds" New York
  - ✓ Soledad, O. y Zuriday, Y. (2007). "Extracción de manteca a partir de semillas de cacao utilizando dióxido de carbono en condiciones supercríticas como solvente". Trabajo especial de grado. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
  - ✓ Stashenko, E. (1998). "Aceites esenciales: Técnicas de extracción y análisis". Universidad Industrial de Santander, Santander.
  - ✓ Tapia, O. Tania, G. (2005). "Estudio de la composición química de volátiles de raíces de trébol rosado" (*Trifolium pratense*) de diferentes estados de desarrollo y su eventual efecto atractor hacia el insecto *Hylastinus obscurus*. Universidad de la frontera. Temuco, Chile.
  - ✓ Velasco, R. J; Villada, H. S. (2007). "Aplicaciones de los Fluidos Supercríticos en la Agroindustria Universidad del Cauca". Departamento de Agroindustria, Facultad de Ciencias Agropecuarias.

- ✓ Wade, L. G. (1993) “Química Orgánica”. Prentice Hall Latinoamericana.

**ANEXOS****ANEXO A. CÁLCULO DEL RENDIMIENTO DEL PROCESO**

Para el cálculo del rendimiento total del extracto ( $R_T$ ), se procedió a pesar la cantidad de semillas empleadas antes de la extracción y las semillas luego de la extracción, las cuales fueron secadas por 24 horas para eliminar la humedad que contenían.

$$Me = Mf - Mi \quad (\text{ec. 1})$$

Donde:

Me: masa de extraída, (g)

Mf: masa final de las semillas de Neem, (g)

Mi: masa inicial de las semillas de Neem, (g)

Por ejemplo, para el primer experimento en el caso de la extracción convencional se tiene:

$$Mf = 22,3655 \text{ g}$$

$$Mi = 50,0012 \text{ g}$$

Sustituyendo en la ec. 1, se tiene:

$$Me = 50,0012 \text{ g} - 22,3655 \text{ g}$$

$$Me = 27,6357 \text{ g}$$

Luego, el rendimiento total del extracto se calcula como sigue:

$$R_T = \left( \frac{M_{ext}}{Mi} \right) * 100 \quad (\text{ec. 2})$$

Donde:

$R_T$ : rendimiento del extracto, (%)

Mi: masa inicial de las semillas de Neem, (g)

Por ejemplo, para la misma se tiene:

Sustituyendo en la ec. 2:

$$R_T = \left( \frac{27,6357 \text{ g}}{50,0012} \right) * 100$$

$$R_T = 55,27 \%$$

Los rendimientos obtenidos a partir de los datos recolectados durante la realización de las experiencias tanto con extracción convencional como con extracción supercrítica, se muestran a continuación en la tabla N°10. Las muestras obtenidas durante las pruebas preliminares no fueron reportadas, pues se realizaron únicamente para la adecuación y familiarización con el equipo de extracción supercrítica.

Tabla N°10. Rendimientos de los extractos obtenidos

Muestra N°	Tipo de extracción	Masa inicial (g)	Masa final (g)	Rendimiento (%)
1	Soxhlet	50,0012	22,3655	55,27
2	Soxhlet	50,0023	21,4409	57,12
3	Supercrítica	50,0008	36,3105	27,38
4	Supercrítica	50,0017	33,1561	33,69
5	Supercrítica	50,0089	31,8806	36,25
6	Supercrítica	50,0074	30,8695	38,27
7	Supercrítica	50,0037	30,0622	39,88
8	Supercrítica	50,0025	29,4614	41,08
9	Supercrítica	50,0079	28,8095	42,39
10	Supercrítica	50,0004	28,3402	43,32
11	Supercrítica	50,0091	27,0949	45,82
12	Supercrítica	50,0063	25,3281	49,35
13	Supercrítica	50,0028	24,6463	50,71
14	Supercrítica	50,0076	24,2436	51,52

## ANEXO B. GRUPOS FUNCIONALES DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE NEMM

A continuación se presenta la Tabla N° 11 donde se resumen los grupos funcionales presentes en las estructuras moleculares de los compuestos del aceite esencial de Neem y los enlaces que generan vibraciones observables en los espectros infrarrojos.

Tabla 11. Grupos funcionales característicos de los componentes del aceite de Neem.

COMPUESTOS	ESTRUCTURA MOLECULAR		ENLACES QUE GENERAN SEÑALES EN ESPECTRO IR
Triglicéridos	<b>Ácido graso</b> Oléico Palmítico Estearico Linoléico Araquídico	<b>Cadena alquílica</b> $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7$ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}$ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}$ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6$ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}$	<b>Éster</b> C=O -CO <b>Cadena alquílica</b> CH <b>Insaturación</b> -C-H
Terpenos	Azadiractina Meliantriol Isonimocinolida Salanina Nimbina Nimbidina nimocinolida		<b>Alcohol</b> -OH -CO <b>Cadena Alquílica</b> -CH <b>Cetona</b> C=O <b>Éster</b> C=O -CO <b>Insaturación</b> =C-H
Flavonoides	Quercetina Miricetina Kaempferol		<b>Alcohol</b> -OH -CO <b>Éster</b> C=O -CO <b>Cetona</b> C=O <b>Insaturación</b> =C-H
Esteroles	Nimbosterol		<b>Cadena Alquílica</b> -CH <b>Alcohol</b> -OH -CO <b>Insaturación</b> =C-H

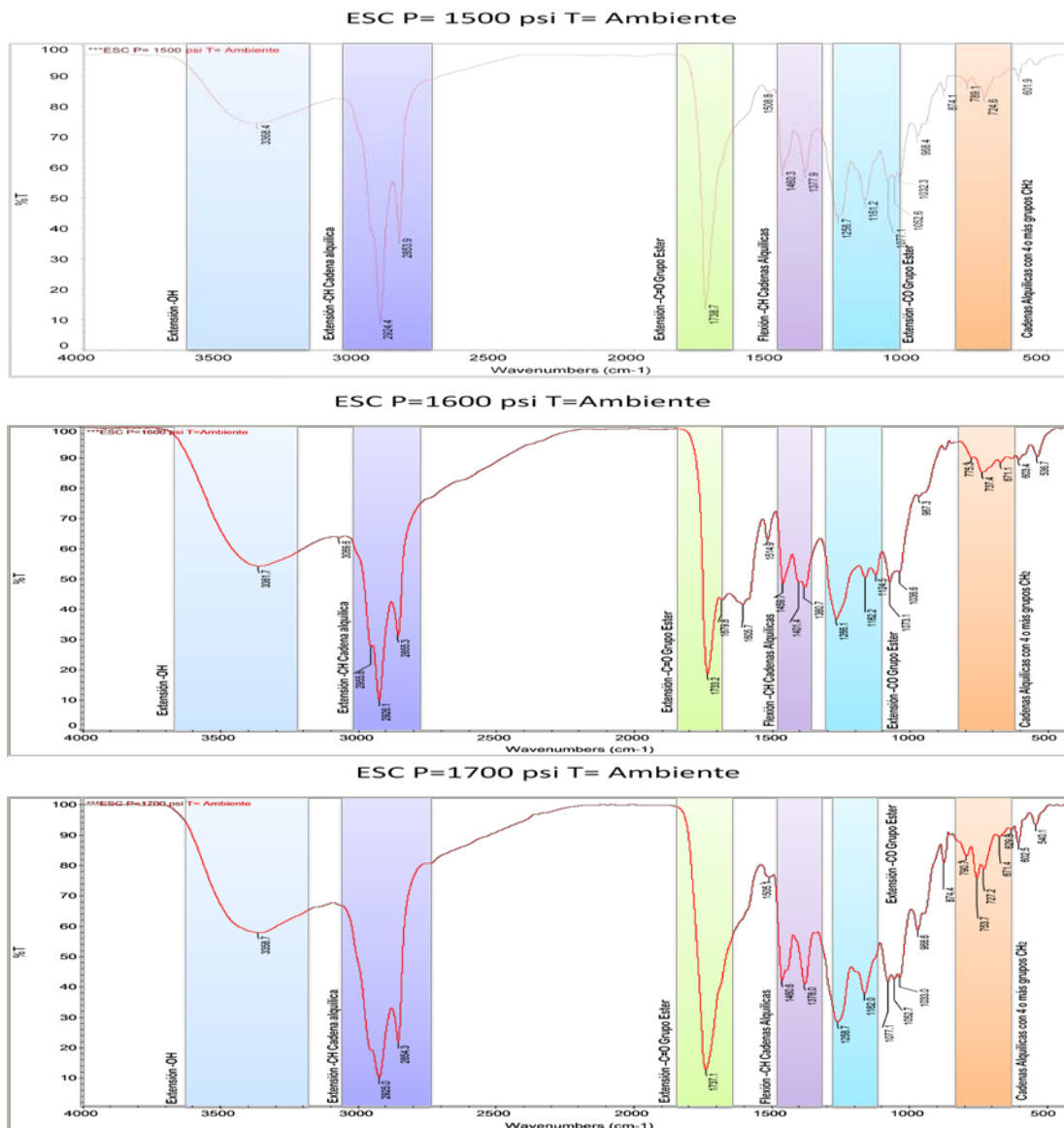


## ANEXO C. TABLAS DE INTERPRETACIÓN DE ESPECTROS DE INFRARROJO

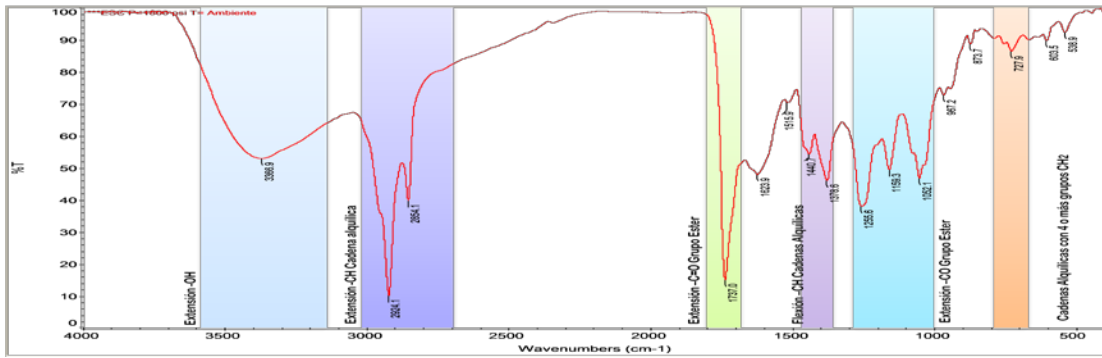
Tabla 12. Interpretación de los grupos funcionales de los Espectros Infrarrojos (Wade, 1993).

GRUPO FUNCIONAL	TIPO DE VIBRACIÓN			LONGITUD DE ONDA (cm) <sup>-1</sup>		INTENSIDAD
Alcohol	-OH extensión			3500-3200		fuerte
	-CO extensión			1320-1000		fuerte
Cadena alquílica	-CH extensión	CH <sub>2</sub>	asimétrica	3000-2830	2940-2910	media
			simétrica		2860-2840	
CH <sub>3</sub>	asimétrica	2970-2950				
	simétrica	2880-2860				
Cadena alquílica	-CH flexión	CH <sub>2</sub>	simétrica (tijeras)	1470-1350	1470-1440	media
			asimétrica		1470-1450	
		CH <sub>3</sub>	simétrica (paraguas)		1380-1360	
Éster	C=O extensión			1750-1735		fuerte
	C-O extensión			1320-1000		fuerte
Cetona	C=O extensión			1720-1710		Fuerte
Éter	C-O extensión			1320-1000		fuerte
Insaturación (doble enlace)	=C-H extensión			3100-3000		media

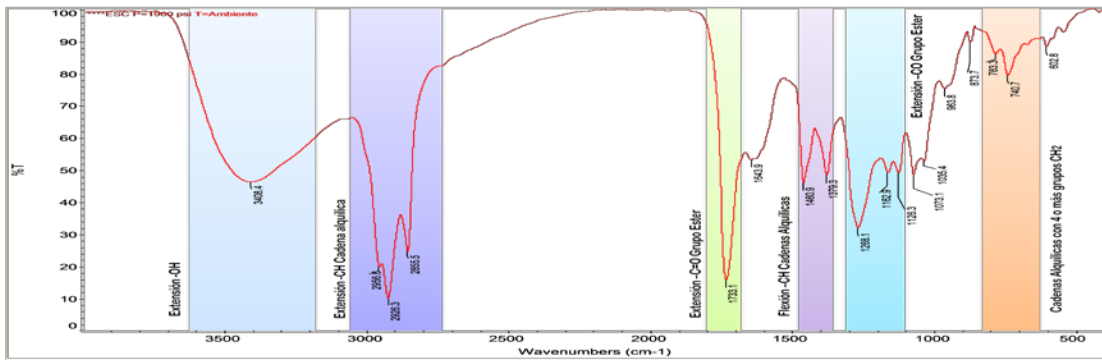
## ANEXO D. ESPECTROS REALIZADOS CON VARIACIONES DE PRESIÓN Y TEMPERATURA EN EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN SUPERCRÍTICA.



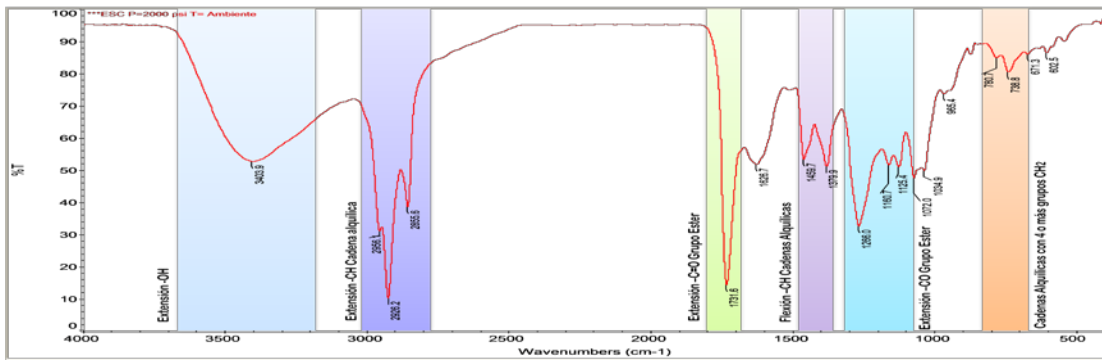
ESC P=1800 psi T= Ambiente



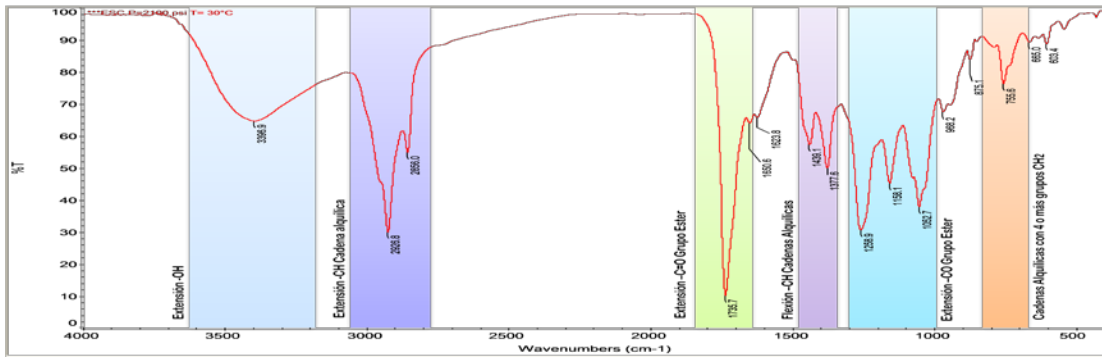
ESC P=1900 psi T= Ambiente



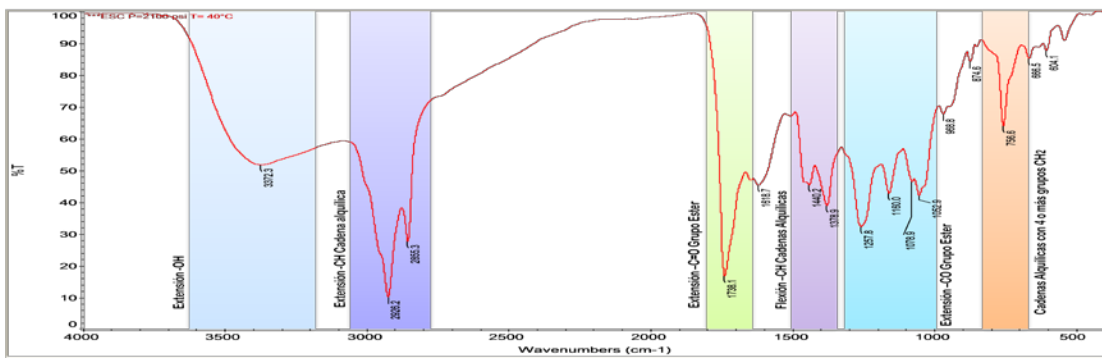
ESC P=2000 psi T= Ambiente



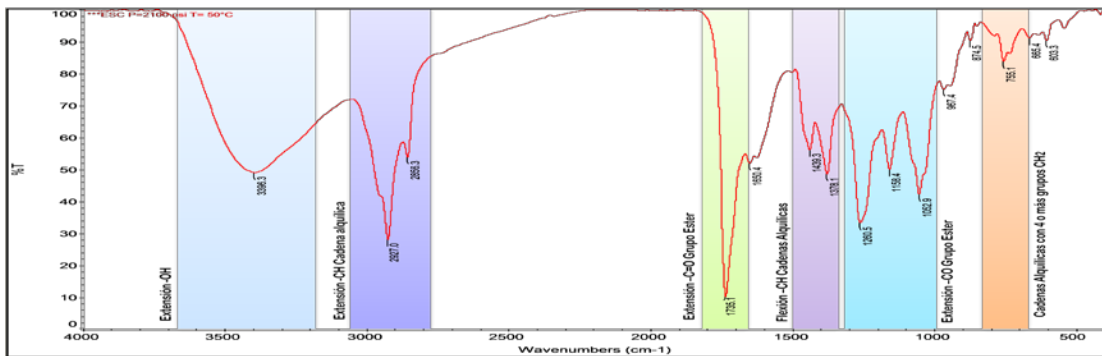
ESC P=2100 psi T= 30°C



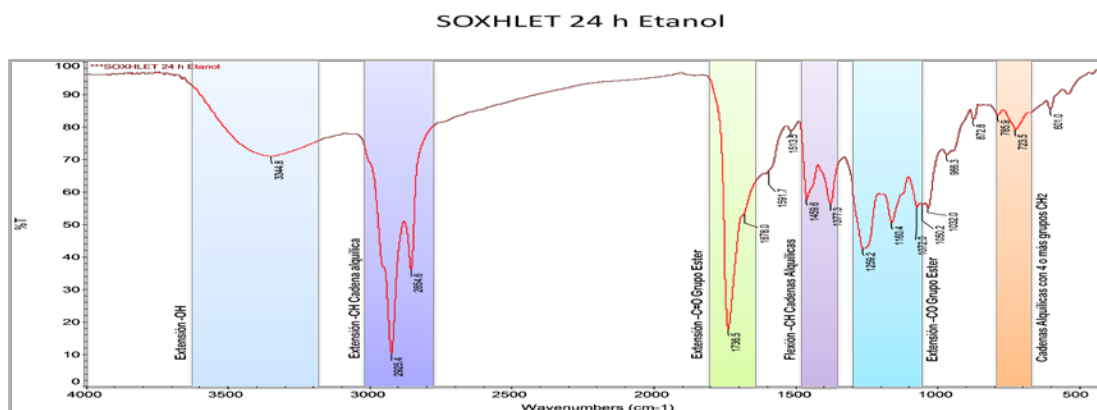
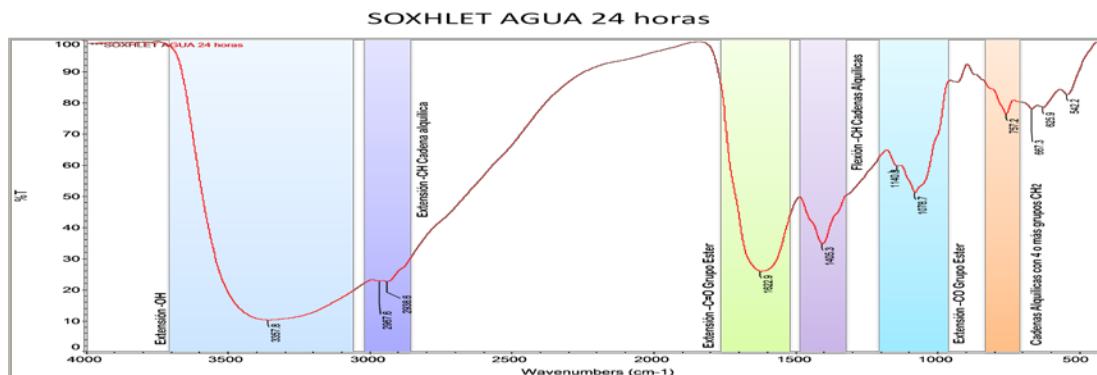
ESC P=2100 psi T= 40°C



ESC P=2100 psi T= 50°C



## ANEXO E. ESPECTROS REALIZADOS CON VARIACIONES DE SOLVENTE EL MÉTODO DE EXTRACCIÓN CONVENCIONAL.



**ANEXO F: IMÁGENES DE LOS EQUIPOS UTILIZADOS EN LA INVESTIGACIÓN.**

