

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

**EXTRACCION SUPERCRITICA CON CO<sub>2</sub>**

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

**EDGAR SAUL LOAIZA SALGUERO**

PARA OPTAR AL TITULO DE

**QUIMICO**

BIBLIOTECA CENTRAL-USAC  
DEPOSITO LEGAL  
PROHIBIDO EL PRESTAMO EXTERNO

GUATEMALA, OCTUBRE DE 1,994.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

INTERACCION SUPERCRITICA CON CO  
N

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

EDGAR SAUL LOAIZA SALGUEIRO

PARA OPTAR AL TITULO DE

QUIMICO

BIBLIOTECA CENTRAL-USAC  
DEPOSITO LEGAL  
PROHIBIDO EL PRESTAMO EXTERNO

GUATEMALA, OCTUBRE DE 1998.

PROGRAMA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

DL  
06  
†(1200)

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO	Lic. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIA	Licda. ELEONORA GAITAN IZAGUIRRE
VOCAL PRIMERO	Lic. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL SEGUNDO	Lic. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL TERCERO	Lic. MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME
VOCAL CUARTO	Br. JORGE LUIS GALINDO AREVALO
VOCAL QUINTO	Br. EDGAR ANTONIO GARCIA DEL POZO

## DEDICATORIA

A DIOS

A MIS PADRES Roberto Loaiza Fabian y

Fidelia Salguero Gonzalez de Loaiza

A MIS HERMANOS Francisco, Julio Roberto y Sandra Lorena

A José Pablo Salazar

A MIS AMIGOS

Y COMPANEROS Igor Slowing, Karla Molina, Rodolfo Orozco,  
Cesar Palma, Mabi Rivera, Miguel Martinez,  
Edgar García, Lorena García y Claudia Pérez.

A Sergio Ortiz Martínez

A Eduardo Robles Aguirre

A Erick Pineda (Q.P.D.)

Al Departamento de Fisicoquímica

A la UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A la FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco al Lic. Sergio Domingo Ortíz Martínez y al Lic. Eduardo Robles Aguirre (Laboratorio de Investigación y Desarrollo, Empresa XANTOGUA S.A.) por la asesoría prestada, por brindar el apoyo incansable e invertir su valioso tiempo en parte de la investigación.

A la empresa XANTOGUA S.A. por proveer el soporte económico, por brindar el espacio y préstamo de equipo para la realización de la investigación. Así mismo, al personal que labora en ella, por haber colaborado en la elaboración de la estructura del aparato de extracción Supercrítica con CO<sub>2</sub>.

A la Ingeniera Irina Wöler (Laboratorio de Investigación Fitoquímica, Facultad de Agronomía, USAC) por proporcionar la muestra de material vegetal de Pericón.

Al departamento de Fisicoquímica (Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC) por brindar el espacio necesario para realizar algunas extracciones y por el préstamo de equipo.

Al departamento de Química Orgánica (Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC) por el préstamo de equipo.



## INDICE

1. RESUMEN.....	página	1
2. INTRODUCCION.....	página	3
3. ANTECEDENTES.....	página	5
4. JUSTIFICACIONES.....	página	21
5. OBJETIVOS.....	página	22
6. HIPOTESIS.....	página	23
7. MATERIALES Y METODOS.....	página	24
8. RESULTADOS.....	página	33
9. DISCUSION.....	página	46
10. CONCLUSIONES.....	página	56
11. RECOMENDACIONES.....	página	58
12. REFERENCIAS.....	página	59
13. ANEXOS.....	página	62



## 1. RESUMEN

El diseño y montaje del aparato para extracción Supercrítica con CO<sub>2</sub> se realizó con el propósito de demostrar que en Guatemala es posible diseñar y montar un aparato de alta tecnología que permita hacer micro extracciones en el menor tiempo posible y obtener mejores porcentajes de rendimiento de extracción, comparados contra el método de extracción exhaustiva con Soxhlet.

Para ello se diseñó y montó el aparato para extracción supercrítica a escala analítica, con materiales y accesorios obtenidos en Guatemala.

Se hicieron diez extracciones de 7-metoxicumarina en Pericón (Tagetes lucida) con el aparato de extracción Supercrítica con CO<sub>2</sub> y diez extracciones por el método de extracción Soxhlet. En ambos casos se evaluó la concentración de 7-metoxicumarina por Cromatografía de Gases.

El material vegetal utilizado era procedente de Chimaltenango. Se hizo la selección de hojas y flores de Pericón y luego fue molido, tamizado y homogenizado.

Se midió la linealidad del detector de ionización de llama en el cromatógrafo de gases utilizado, para encontrar la concentración ideal para la medición de 7-metoxicumarina presente en el Pericón.

Los resultados al cuantificar la 7-metoxicumarina,

## 2. INTRODUCCION

Uno de los más grandes problemas que se presentan en química es la separación de componentes complejos que se encuentran dentro de las partes de un material, ya sea para caracterizar una mezcla de productos naturales o para remover un componente en particular desde la matriz.

El uso de CO<sub>2</sub> como Fluido Supercrítico en extracción, ha sido una alternativa atractiva comparado con los métodos convencionales donde se utilizan grandes cantidades de disolvente y mayor consumo de tiempo.

En la época de los 80's, el desenvolvimiento de muchos procesos de separación utilizando Fluidos Supercríticos con bajo consumo de energía, ayudó en el alcance de muchos objetivos en la industria química, prevaleciendo sucesos y resultados desde aplicaciones de la técnica, hasta méritos económicos sobre sus bases. El dióxido de carbono puede reemplazar una gran variedad de disolventes, pero la economía del sistema puede evaluarse determinando la viabilidad de el fluido extractor. Sin embargo, como es requerido para una evaluación realista, todas las alternativas en un proceso de separación, sus costos de capital y costos de operación, pueden pesar sobre el desenvolvimiento de un proceso para separar una mezcla específica. La familiaridad que se ha tenido con los fluidos supercríticos, es la razón para la selección de las mejores aplicaciones (1).

En esta investigación se diseñó y construyó un aparato para extracción supercrítica con  $\text{CO}_2$  utilizando tecnología de nuestro medio y materiales accesibles en Guatemala. Luego se probó el funcionamiento mediante la extracción en material vegetal seco de Pericón (Tagetes Lucida), comparando el porcentaje de extracción cuantitativa de 7-metoxicumarina contra extracción exhaustiva del mismo material vegetal con Soxhlet, utilizando etanol al 80% como disolvente.

Se demostró que el método de extracción supercrítica con  $\text{CO}_2$  es más ventajoso que el método de extracción exhaustiva con Soxhlet.

## 2. ANTECEDENTES

### EXTRACCION SUPERCRITICA CON CO

2

Los fenómenos de fluidos críticos ha fascinado a muchos investigadores. Experimentos de solubilidad realizados con fluidos arriba del punto crítico se comenzaron a publicar en 1879. La simple ecuación cúbica de estado que van der Waals concebió, en 1873, describe cualitativamente cada fase observada experimentalmente, pero estos fenómenos llevados a cabo a altas presiones demuestra el interés por la investigación en este campo en los últimos cien años. Sin embargo, muchos avances se han llevado a cabo sin conocer la conducta a una alta presión, y que tiene dificultad sin un dato experimental.

En los últimos 100 años se han acumulado una gran cantidad de datos experimentales para distintas clases de sistemas, pero muchos de estos se aplican a sistemas con puntos críticos que no difieren enormemente.

Las técnicas en distintos procesos químicos se han desenvuelto en un gran periodo de tiempo y esto puede parecer que los procesos supercríticos pueden reemplazar rápidamente técnicas como destilación, extracción líquido-líquido o muchos procesos de absorción (1).

El reciente crecimiento en la obtención de equipos de alta presión ha facilitado la expansión en el número de estudios de sistemas supercríticos. Este incremento puede aumentar las expectativas en investigar procesos de separación y técnicas analíticas.

La aplicación de fluidos supercríticos puede estar intimamente relacionado con el comportamiento de una fase de alta presión y la termodinámica del sistema. Los Fluidos Supercríticos han recibido mucha atención debido a que la solubilidad de un soluto es influenciada por pequeñas variaciones en la presión o en la temperatura. En ambos casos la densidad del fluido supercrítico puede cambiar. La solubilidad de un compuesto dado puede estar influenciado en distintas condiciones. Ambas fuerzas de presión de vapor y fuerzas intermoleculares, determinan las solubilidades (1).

#### SOLUBILIDAD DE SÓLIDOS EN FLUIDOS SUPERCRTICOS:

Segun Burk y Kruus (1992), las ventajas de utilizar Fluidos Supercríticos en la extracción son: utilización de bajos volúmenes de solvente, una extracción más completa, tiempos de extracción bajos (2, 3).

Charpentier y Sevenants (1988) mencionan que el poder de extracción del CO<sub>2</sub> utilizado como disolvente, está relacionado con la densidad del medio y de ello depende el incremento de la solubilidad. También, basados en la

ecuación de Clausius-Mossotti, concluyen que la solubilidad depende del poder de solvatación, el cual puede estar relacionada a la constante dieléctrica del solvente y al índice de refracción. Los modelos predicen que un compuesto dado puede ser más soluble en un fluido supercrítico con una mayor constante dieléctrica o índice de refracción a la misma densidad y temperatura. Aunque éste comportamiento es usualmente importante, frecuentemente son de importancia también las fuerzas repulsivas, polaridad y efectos ácido-base.

Lo mencionado anteriormente fue considerado para una molécula con momento dipolar a dilución infinita y en un fluido supercrítico apolar. Para solventes polares, es inadecuada la explicación ya que existe dificultad en la descripción de los campos locales que actúan sobre cada molécula de solvente y la configuración de las moléculas de solvente alrededor del soluto (1).

Burk y Kruus (1992) mencionan en su investigación que debido a que el  $\text{CO}_2$  es no polar, la entalpía para las especies no polares es poco endotérmica. Los valores de entalpía para especies polares (P.Ej. fenol y un ácido aromático) son más endotérmicas debido a que existe menos interacción entre estos compuestos y el  $\text{CO}_2$  (2).

Ellos también mencionan que cuando la densidad de  $\text{CO}_2$  se incrementa, el nivel de solvatación aumenta y el proceso de solución es más exotérmico. Como es de esperar, al

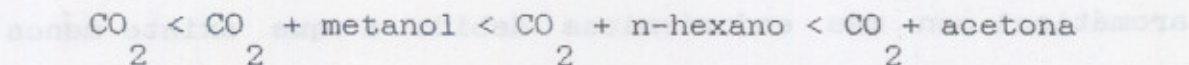
incrementar la densidad en un proceso de disolución con  $\text{CO}_2$ , el cambio en la entropía del sistema disminuye. Esto refleja un mayor ordenamiento a mayor densidad del solvente.

#### SISTEMAS SOLUTO/COSOLVENTE/SOLVENTE:

La solubilidad de un sólido puede modificarse por la adición de un hidrocarburo apolar o una molécula polar en pequeña concentración. El  $\text{CO}_2$  tiene una pequeña polarizabilidad y no tiene momento dipolar, pero los aditivos aumentan la polarizabilidad del solvente, el índice de refracción y la constante dieléctrica.

Las moléculas de un cosolvente polar pueden interactuar con los grupos funcionales de un soluto. Los cosolventes pueden aumentar la solubilidad, pero depende de la concentración del cosolvente. Se han publicado relativamente pocos estudios sobre el uso de cosolventes (1).

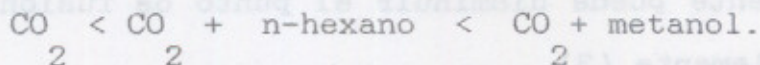
Burk y Kruus en 1992 (10) hacen un estudio sobre la solubilidad de un soluto en  $\text{CO}_2$  modificado. Ellos mencionan que a baja densidad, la solubilidad de un soluto incrementa en el orden:



Esto demuestra que la adición de solventes modificadores causa un gran efecto en la solubilidad a baja densidad. Pero a una alta densidad, la solubilidad no varía mucho con respecto al fluido sin modificador. Esto indica que el

soluto es igualmente solubilizado por el  $\text{CO}_2$  a una alta densidad, que el  $\text{CO}_2$  modificado.

El orden de solubilidad queda:



Esté efecto fue descrito por Donohue (1989) quien predijo que la solubilidad es mayor en un sistema donde existen más puentes de hidrogeno entre el soluto y el solvente modificado.

Van Alsten y Shmitt presenta datos los cuales demuestran que las interacciones ácido-base son un efecto secundario del co-solvente sobre la concentración de éste, y tienen un efecto primario sobre la extracción.

Otros estudios realizados por van Alsten mencionan que las interacciones ácido-base pueden ocurrir entre el cosolvente y el fluido supercrítico (1).

Yonker C. (1987) presenta un estudio de mezclas de  $\text{CO}_2$  /metanol a  $50^\circ\text{C}$ . Mencionó que la mezcla es insensible a la presión, e indica que el soluto/solvente no cambia con la densidad (3). Otros estudios realizados por Smith W. (1987) concluyen que la solubilidad aumenta poco para compuestos que no contienen grupo funcional, y el aumento depende más de la concentración del cosolvente que del grupo funcional. Cosolventes no polares con hidrocarburos polarizables son más efectivos que cosolventes polares, para aumentar la solubilidad de compuestos sin grupo funcional con el  $\text{CO}_2$  como



fluido supercrítico, sin embargo la diferencia es pequeña.

Adición de cosolvente, cambia las propiedades críticas desde el cosolvente puro, utilizado con propiedades críticas. También el cosolvente puede disminuir el punto de fusión del sólido considerablemente (3).

Mulcahey, J. y Taylor, L. hicieron un estudio sobre el efecto que tiene el modificar un fluido supercrítico agregándole un cosolvente en una extracción sólida. Ellos estudiaron la extracción de compuestos en sílica de octadecilo con dióxido de carbono puro y dióxido de carbono modificado con metanol a concentraciones de 1%, 2%, 4% y 8%. Utilizaron un rango de temperaturas desde 5 hasta 80 grados centígrados para atrapar la muestra. A concentraciones de metanol abajo de 2% no fue necesario utilizar temperaturas arriba del punto de ebullición del metanol para recuperar las muestras. A concentraciones mayores de 2% de metanol, temperaturas entre 40-50°C fueron requeridas para obtener mayor eficiencia de recuperación. Altas concentraciones de metanol, disminuyen la eficiencia en la recuperación de muestras en la fase de sílica (4).

Fahmy, T. y Paulaitis, M. realizaron un estudio sobre el efecto que tiene los disolventes modificadores polares en extracciones de compuestos presentes en suelo, arena y plantas bajo condiciones supercríticas. Ellos concluyen que se obtienen mayores rendimientos de extracción al utilizar cosolventes de mayor polaridad debido a que el fluido

supercrítico puede solubilizar más al soluto y se obtienen mayor eficiencia de extracción (5).

#### TRANSICIONES EN LA FASE SUPERCRITICA:

En recientes años, numerosos artículos han aparecido en la literatura describiendo el comportamiento de fluidos supercríticos en un gran número de aplicaciones incluyendo separación de muestras complejas, extracción, polímeros y otros.

Scholsky, K. en 1989 presenta un estudio del comportamiento de los fluidos supercríticos visto con diagramas de fases (ver anexos 5 y 6). En el primer diagrama indica que sobre la temperatura crítica ( $T_c$ ) y presión crítica ( $P_c$ ), en el cual es común referirse a que en la región del fluido supercrítico, la sustancia únicamente existe en una fase como fluido. Bajo estas condiciones existe un error en la mayoría de regiones de alta presión-temperatura, regiones citadas en la literatura, y estos son casos de ultra alta presión en donde este diagrama es una representación inadecuada (6).

En el segundo diagrama que se presenta en el estudio, se menciona que a altas presiones (mayores a  $10^8$  Pascales) puede ser que el punto de congelación de la curva pueda interumpirse en la región supercrítica. Ambas fases de sólidos y fluidos pueden existir a temperatura y presión,

excediendo la presión crítica y temperatura crítica. La razón para la existencia de una fase sólido-líquido unida arriba de la temperatura crítica, en contraste con la situación líquido-gas, es debido a que las fases sólido y líquido difieren en simetría, y la fase líquido-gas no. Scholsky concluye que bajo ciertas condiciones críticas, más de un tipo de fase puede existir en la región crítica (6).

#### SISTEMA SOLUTO/SOLUTO/SOLVENTE:

Desafortunadamente, algunos estudios con Fluidos Supercríticos no aclaran qué solutos son sólidos bajo condiciones críticas experimentales. En general se nota que para solutos sólidos, la solubilidad ternaria de un sólido poco soluble, es incrementada por la presencia de un sólido más soluble. Estos sólidos substancialmente solubles actúan como cosolventes para otros compuestos poco solubles (1).

#### SOLUBILIDAD DE LIQUIDOS EN FLUIDOS SUPERCRITICOS:

Un compuesto líquido que se encuentra como soluto a la temperatura de extracción, tiene propiedades críticas mucho más cerradas a las propiedades críticas de los sólidos discutidos anteriormente cuando se encuentran en un Fluido Supercrítico. Investigaciones realizadas por distintos autores mencionan que la mezcla tiene menos molecularidad

asimétrica, la temperatura crítica del fluido supercrítico varía con respecto a la temperatura de fusión del soluto (1).

Se han observado comportamientos interesantes en sistemas ternarios cuando dos líquidos inmiscibles hacen contacto con un fluido supercrítico. El fluido supercrítico es solubilizado en la fase químicamente similar, aumentando el grado de inmiscibilidad líquido-líquido (1).

En adición, esto es posible para crear inmiscibilidad desde una mezcla líquida homogénea, pero contactando la fase líquida con un gas de alta presión, si uno de los líquidos es diferente químicamente al componente supercrítico.

#### FUSION DE SOLIDOS EN FLUIDOS SUPERCRITICOS:

El estudio de sólidos cristalinos en fluidos supercríticos es elemental. Muchos investigadores han reconocido que bajo condiciones críticas, los puntos de fusión de los sólidos disminuyen al encontrarse en un fluido supercrítico (7).

La disminución del punto de fusión para sistemas binarios puede no parecer de gran interés ya que muchos estudios han mejorado en el punto crítico del solvente, en sistemas ternarios con dos sólidos y un fluido supercrítico lo cual hace que sus puntos de fusión bajen significativamente. La historia de fenómenos de solubilidad

de fluidos supercríticos fueron resumidos en un reporte hecho en 1984 por Krukonis. Este reporte hace una revisión de la primera literatura reportada sobre fluidos supercríticos por Hannay and Hogarth en 1879, además el trabajo de muchos investigadores quienes revisaron el comportamiento de varios materiales disueltos en fluidos supercríticos, y algunas aplicaciones de extracción con fluidos supercríticos en procesos químicos para la obtención de productos (1).

#### EXTRACCION SUPERCRITICA DE ANALITOS POLARES

La extracción con Fluidos Supercríticos en escala analítica, recientemente, ha sido una alternativa atractiva a los métodos de extracción convencional donde se utilizan solventes líquidos para la recuperación de analitos orgánicos presentes en sólidos y resinas adsorbentes. Esto se hace con el fin de reducir el uso de solventes orgánicos que dejan trazas en la muestra y contaminan el ambiente, y además, por obtener buenos rendimientos en la recuperación y pequeños tiempos de extracción.

La mayoría de reportes se han centrado sobre analitos relativamente no polares (por ejemplo, analitos tratados por análisis de CG convencional), extracciones cuantitativas con fluidos supercríticos de analitos polares y analitos iónicos que han requerido la adición de solventes

orgánicos para modificar la polaridad a el  $\text{CO}_2$ , ó el uso de fluidos (por ejemplo  $\text{CHCl}_3$ ) el cual son menos aceptables para análisis rutinarios (7).

Estudios realizados por Hawthorne, S., Miller D., Nivens y White, sobre extracción con Fluidos Supercríticos de compuestos orgánicos polares desde sólidos, fue hecho por derivatización de los analitos a especies menos polares bajo condiciones de extracción supercrítica estática, utilizando reactivos como Hidróxido de trimetilfenilamonio y trifluoruro de boro en metanol. Después de la derivatización, los analitos fueron extraídos con  $\text{CO}_2$  utilizando técnicas estándar de extracción supercrítica y analizadas sin tratamiento adicional utilizando CG capilar convencional.

El estudio lo hacen sobre el desenvolvimiento y aplicación de metodos de Derivatización/Extracción con  $\text{CO}_2$  Fluidos Supercríticos para la derivatización y cuantificación (>90%) de herbicidas (ácido (2,4-diclorofenoxi)acético y ácido 3,6 dicloro-2-metoxibenzoico) desde suelos y sedimentos, ácidos grasos fosfolípidos desde células microbianas y desperdicios fenólicos acuosos presentes en agua. Ellos concluyen que la derivatización química en la celda de extracción bajo condiciones de extracción supercríticas puede ser usada para reducir la polaridad de analitos durante un proceso de extracción supercrítica estática. Además, está técnica es una forma facil de extraer sustancias polares con alto rendimiento y pueden ser analizadas sin ninguna preparación

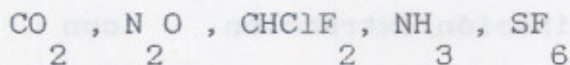
previa (7).

Este método ha sido aplicado en la extracción de una gran cantidad de compuestos polares desde bentazona, fenilurea, herbicidas, ácidos clorados, hasta aminoácidos y fármacos (7, 8).

#### SOLVENTES SUPERCRITICOS MAS UTILIZADOS:

El uso de solventes supercríticos para la extracción de compuestos orgánicos, ha recibido mayor atención debido a la disminución en el tiempo de extracción (comparado con otras técnicas de extracción) y la utilización de solventes líquidos en menor cantidad (7, 9, 10).

Los fluidos Supercríticos más utilizados son:



La mayoría de investigaciones de extracción con fluidos supercríticos, han utilizado  $\text{CO}_2$  debido a su baja toxicidad y costo, sus parámetros críticos razonables y su habilidad para solvatar un gran rango de compuestos orgánicos de baja y moderada polaridad (9,11). Sin embargo, extracciones cuantitativas desde algunas matrices ambientales, requieren fluidos supercríticos que no sean capaces únicamente de solvatar el analito a extraer, sino que sean capaces de interactuar con la matriz (o analito) para facilitar la interacción entre el soluto y el fluido supercrítico (9).

Desafortunadamente, muchos de los fluidos supercríticos

puros, que son significativamente más polares que el  $\text{CO}_2$  tienen condiciones críticas (temperatura y presión) altas o son reactivos (por ejemplo amoníaco) para utilizarse en extracciones supercríticas analíticas. Sin embargo, extracciones supercríticas con una mayor polaridad, como  $\text{N}_2\text{O}$  (momento dipolar permanente de 0.2 Debye versus 0.0 para el  $\text{CO}_2$ ) pueden incrementar eficiencia de la extracción de compuestos de alto peso molecular, indicando que los fluidos con altos momentos dipolares permanentes, pueden utilizarse para incrementar eficiencias de extracción como fluidos supercríticos (12).

Investigaciones realizadas por Hawthorne, Lagenfeld y Miller (1992), indican que la selección de fluidos para extracciones supercríticas, es limitada debido a la necesidad de alcanzar presiones y temperaturas críticas altas, que sean químicos inertes, baja toxicidad, y un estado gaseoso a condiciones ambientales (para facilitar recolección de analitos extraídos). Algunos freones no exhiben esta posibilidad, aunque pueden tener propiedades como alto momento dipolar. Pero el uso de fluoroclorocarbonados, freones en particular, para proceso industrial es también reducido (pueden tener menos uso para pruebas analíticas), el probable reemplazamiento, por los clorofluorocarbonados hidrogenados que, tiene menor efecto en el agotamiento de la capa de ozono y son mejores fluidos extractores (13).

Hawthorne y demás investigadores, no recomiendan



utilizar el  $\text{N}_2\text{O}$  como solvente extractor, ya que es altamente oxidante, y extracciones de grandes cantidades de material orgánico a alta temperatura puede causar accidentes fatales (13).

Raynie, D. (1993), realizó extracciones de aceites esenciales de café utilizando  $\text{N}_2\text{O}$ , resultando una explosión y destrucción de el recipiente de extracción. El recomienda no utilizar  $\text{N}_2\text{O}$  en extracciones supercríticas, especialmente cuando las muestras a extraer, tienen alto contenido de compuestos orgánicos. Además no utilizar mezcla de cosolventes en la extracción junto al  $\text{N}_2\text{O}$  (14).

Sievers y Hansen analizan el potencial explosivo que tiene el Oxido nitroso al utilizarlo como solvente. Ellos mezclaron el  $\text{N}_2\text{O}$  junto a metanol en la extracción, lo cual produjo una explosión de la celda inmediatamente (14).

Hawthorne, Langenfeld y Miller concluyen que extracciones supercríticas con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , da consistentemente mayores rendimientos de extracción de Hidrocarburos Poli-alcíclicos, Policloro bifénilos, un rango de analitos iónicos y no polares, que utilizando otros solventes supercríticos como el  $\text{CO}_2$  y  $\text{N}_2\text{O}$ . Recomiendan el uso de  $\text{CO}_2$  como supercrítico ya que los otros dos antes mencionados, el  $\text{N}_2\text{O}$  es altamente peligroso y el  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  destruye la capa de ozono (13).

Langenfeld, J. y Hawthorne, S. midieron la densidad de tres fluidos supercríticos  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y  $\text{CO}_2$

modificado con metanol al 5% en volumen, utilizando un gran rango de presiones (60-600atm) y temperaturas (40-150°C). Las densidades de los fluidos supercríticos calculados con la ecuación de estado modificada, concordaron con las mediciones experimentales y hubo desviación menor al 4% entre los valores obtenidos. La técnica utilizada es buena, segura y reproducible, y el aparato utilizado fue fácilmente ensamblado (12).

#### APLICACIONES DE LOS FLUIDOS SUPERCRÍTICOS:

Una gran variedad de aplicaciones demuestran el potencial y la viabilidad económica que tienen los fluidos supercríticos, la cual son ejemplificadas con la siguiente tabla (1, 9, 10):

- Recristalización de farmacos.
- Separación de aceites y polimeros.
- Extracción de solventes residuales desde polimeros.
- Polimerización en fluidos supercríticos.
- Tratamiento de desechos líquidos y sólidos.
- Reacciones enzimáticas.
- Extracción de aromatizantes, saborizantes y colorantes.
- Concentración de ácido eicosapentanoico desde aceite de pescado.
- Extracción de colesterol desde mantequilla, huevos, manteca y sebo.

-Descafeinación de Café.

-Análisis de contaminantes en suelos, plantas y aguas.

#### 7-METOXICUMARINA EN EL PERICÓN:

El pericón (*Tagetes lúcida*) es una planta nativa de Guatemala y México, la cual ha sido utilizada tradicionalmente en nuestro país como elemento importante dentro de la medicina popular, especialmente por sus propiedades antiespasmódicas (15). Por esta razón es conveniente realizar estudios sobre el método de extracción más rápido y eficiente.

El análisis fitoquímico preliminar y elucidación de estructuras en el Pericón fue realizada por Ortiz, S. en 1977 (15). Guzmán, N. en 1987 (16) hizo el análisis espectrométrico, conociéndose aproximadamente 12 componentes fitoquímicos. En 1987, Ortiz, S. logró aislar e identificar el principio activo antiespasmódico del Pericón a partir del extracto n-hexano, corroborando que la 7-metoxicumarina es responsable del efecto antiespasmódico (15).

Guillermo Monzón (1989) hizo una cuantificación del principio antiespasmódico y antibacterial, 7-metoxicumarina en el Pericón. El hizo extracciones de hojas y flores del Pericón, por medio de Soxhlet utilizando metanol como disolvente extractor, y el tiempo óptimo de extracción encontrado fue de 8 horas (19).

### 3. JUSTIFICACIONES

En la última década se ha utilizado en procesos químicos las extracciones con fluidos supercríticos, para el desarrollo de investigación a nivel analítico y a nivel industrial.

Velando por la salud humana y la protección ambiental, se deben utilizar métodos de extracción como el presentado en ésta investigación, que sustituyan a los métodos tradicionales donde se utilizan solventes peligrosos y tóxicos, que dejan residuos en el extracto obtenido y dañan el medio ambiente.

La utilización y aplicación de  $\text{CO}_2$  como fluido supercrítico en la extracción, es debido a su baja toxicidad y costo, sus parámetros críticos razonables, su habilidad para solvatar una gran cantidad de compuestos orgánicos de baja y moderada polaridad, se obtiene fácilmente en el mercado, no produce cambios químicos en los extractos (es inerte) y no contamina el medio ambiente (10, 13).

En Guatemala se hace necesario desarrollar métodos de extracción de alta tecnología que puedan aplicarse en distintas áreas de química analítica.

#### 4. OBJETIVOS

##### 4.1 OBJETIVO GENERAL

4.1.1 Diseñar y montar con tecnología apropiada, un aparato de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> a escala analítica.

2

##### 4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

4.2.1 Probar el funcionamiento del aparato, realizando extracciones cuantitativas de 7-metoxicumarina del Pericón (Tagetes lucida).

4.2.2 Comparar tiempo de extracción entre: Fluido Supercrítico CO<sub>2</sub> vrs. extracción exhaustiva con etanol al 80% en un Soxhlet, midiendo porcentaje relativo de 7-metoxicumarina en el extracto del Pericón (Tagetes lucida), por medio de cromatografía de gases.

5. HIPOTESIS

5.1 Hipotesis

En Guatemala es posible diseñar y montar un aparato a escala analítica para extracción supercrítica con CO<sub>2</sub>, que permita hacer extracciones en el menor tiempo posible y obtener mejores porcentajes de rendimiento, comparado con el método de extracción exhaustiva con Soxhlet.

un molino de agua, con criba de 3mm.

Materiales y equipo para montar el aparato de extracción

supercrítica con CO<sub>2</sub>

5.2 Recursos

5.2.1 Recursos Humanos

\* Asesor de Tests: Guisado Sergio Domingo Ortiz Hernández.

Jefe de la sección de investigación y desarrollo de la Empresa XANTOQUA S.A. donde se realizó la parte de la investigación.

\* Guisado Eduardo Rodolfo Aguirre, Jefe de la sección de producción de la empresa XANTOQUA S.A.

\* Ing. Agrónomo Irina Weller, proporcionó el material

vegetal para la investigación.

\* Edgar Solís Leizaola, estudiante de la carrera de Guisado.

## 7. MATERIALES Y METODOS

### 6.1 Materiales:

#### 6.1.1 Universo de Trabajo:

Muestra vegetal de la especie Tagetes lúcida (Pericón), que contiene hojas y flores secas, recolectada en Chimaltenango durante el mes de agosto de 1993, a una altitud aproximada de 1832 metros. El material vegetal fué molido en un molino de aspas, con criba de 3mm.

Material y equipo para armar el aparato de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub>.

2

### 6.2 Recursos:

#### 6.2.1 Recursos Humanos:

- \* Asesores de Tesis: Químico Sergio Domingo Ortiz Martínez, Jefe de la sección de investigación y desarrollo de la Empresa XANTOGUA.S.A. donde se realizó la parte de la investigación.
- \* Químico Eduardo Robles Aguirre, Jefe de la sección de producción de la empresa XANTOGUA.S.A..
- \* Ing. Agronomo Irina Wöller, proporcionó el material vegetal para la investigación.
- \* Edgar Saúl Loaiza Salguero, estudiante de la carrera de Químico.

6.2.2) Recursos Físicos:

Laboratorio de Investigación y Desarrollo de la empresa  
XANTOGUA.S.A.

Laboratorios del departamento de Fisicoquímica,  
Facultad de CC.QQ. y Farmacia, USAC.

6.2.3) Recursos Materiales:

- Damper con tubo de acero inoxidable de 1/8" por 2m.
- Cilindro de CO<sub>2</sub> con 2200 psi de presión.
- Celda de extracción de acero inoxidable de 25cm de largo y 0.4cm de diametro interno.
- Uniones de 1/4" y 1/16" de acero inoxidable
- Llaves de paso para alta presión, de acero inoxidable.

Las llaves utilizadas son de aguja.

- Manómetro con escala de 0-3000 psi.
- Baño de calentamiento para la celda de extracción.
- Tubo capilar de 178µm de diametro interno por 15cm de largo.
- Recipiente de vidrio para la recolección del extracto de 10ml de capacidad.

-Cromatógrafo de Gases Varian 3300 equipado con:

Detector: ionización de llama (FID)

Columna: Columna capilar DB-1 de sílica fundida, de 30 metros de largo por 50µm de diametro interno.

Integrador: Varian 4290.

Gases: Gas portador: Hidrogeno

En el detector: Aire e Hidrogeno.



-Molino de aspas con criba de 3mm.

-Tamiz con Mesh desde 20 a 100.

-Sohxlet de 250ml de capacidad.

-Cristalería.

-Reactivos:

Etanol al 80%, para análisis.

Estandar de 7-metoxicumarina (98% pureza)

Glicerol

### 6.3) METODOS Y PROCEDIMIENTOS:

#### 6.3.1) APARATO DE EXTRACCION SUPERCRITICA:

El aparato utilizado en la extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> fué construido según el esquema que se muestra en el anexo 1.

Cilindro de CO<sub>2</sub>:

El cilindro de CO<sub>2</sub> utilizado, contenía una presión de 2200 psi y una pureza de 99.8%. El cilindro fué colocado en forma invertida sobre una estructura rígida de metal para que el CO<sub>2</sub> que se encontrara líquido en la parte inferior del cilindro, saliera directamente hacia el sistema de extracción.

Amortiguador:

El CO<sub>2</sub> pasó despues del cilindro sobre un amortiguador de presión que consiste en un tubo de acero

inoxidable de 2m de largo y 1/16" de diametro externo enrollado en forma de espiral el cual permite un flujo constante.

**Manómetro:**

Despues del amortiguador, se colocó un manómetro con escala de 0-3000 psi sobre el tubo que conduce el fluido supercrítico.

**Válvulas:**

En la entrada y en la salida de la celda de extracción se colocó una válvula de aguja para alta presión.

**Celda de Extracción:**

La celda de extracción utilizada tiene un volumen interno de 3.15ml. Esta celda fue preparada utilizando una columna de acero inoxidable para HPLC, con medidas de 0.4cm de diametro interno y 25cm de largo. En la salida de la celda, la válvula de salida sirvió para controlar la salida del fluido supercrítico despues de la celda de extracción.

Despues de la llave de paso, hay un tubo capilar de 178 $\mu$ m de diametro interno y 15cm de largo para la expansión del gas, insertado en el recipiente de extracción unos 5mm.

**Recipiente de Recolección:**

El recipiente de recolección de la muestra consiste en un recipiente de vidrio de 10ml de capacidad, con un tapón de hule donde se insertó el tubo capilar de salida (1).

### 6.3.2) PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION:

#### 6.3.2.1) EXTRACCION SUPERCRITICA:

Aproximadamente 1.3g de muestra vegetal (molida y tamizada previamente) se colocó en la celda de extracción. Para evitar que se tape la celda con partículas de material vegetal, se colocó una precolumna (de 0.2  $\mu\text{m}$ ) en la salida de la celda. La celda fué colocada en el sistema y equilibrada en el baño de agua a una temperatura de 40°C por unos 10 minutos. La llave de entrada en la celda quedó abierta y la llave de salida cerrada. La llave del cilindro del CO<sub>2</sub> se abrió para que pase el fluido supercrítico en el sistema a una presión de 1900psi por 2 minutos, para que llene la celda. La extracción es estática por 2 minutos a una presión de 1900psi con CO<sub>2</sub> y una temperatura de 40°C. Al finalizar este tiempo de extracción, la llave de salida se abrió para que salga la muestra con el CO<sub>2</sub> hasta que no existan signos visibles y audibles de descompresión del gas (típicamente se hace a un tiempo menor de 30 seg). Para evitar posibles pérdidas de 7-metoxicumarina por volatización despues de la expansión, se agregó 5ml de etanol en el recipiente colector despues de que la extracción ha finalizado. El extracto se aforó en un balón de 25ml con etanol al 80% (2, 11).

#### 6.3.2.2) EXTRACCION CON SOXHLET:

Porciones de 1.3g de muestra de material vegetal son extraídos exhaustivamente con etanol al 80% por 12 horas en un aparato de extracción soxhlet de 250ml de capacidad. Los extractos de cada porción fueron aforados en un balón de 500ml con etanol al 80% (8).

#### 6.3.2.3) ANALISIS:

Los extractos obtenidos por extracción supercrítica y extracción exhaustiva con soxhlet, fueron aforados en etanol al 80% y analizados por cromatografía de gases, inyectando 0.45 $\mu$ L de muestra en cada análisis. Se utilizó un cromatógrafo de gases Varian 3300.

Las condiciones de operación fueron:

##### Temperaturas:

-inyector 200°C

-detector 250°C.

-Columna: T(1)= 150°C durante 6 minutos 2°C/minuto

T(2)= 165°C durante 0 minutos 30°C/minuto

T(3)= 200°C durante 0 minutos

##### Gases:

-Portador: hidrogeno a un flujo de 4.23ml/min.

-En detector: Aire 300ml/min.: hidrogeno 26ml/min.

#### 6.4) DISEÑO DE INVESTIGACION:

##### A) NUMERO DE REPETICIONES:

###### A.1) Métodos de Extracción:

En cada método de extracción se hicieron diez extracciones.

-Diez extracciones con Soxhlet

-Diez extracciones con Fluido Supercrítico CO<sub>2</sub>

2

###### A.2) Análisis de Extractos:

Cada extracto obtenido en cada una de los métodos, se analizó 3 veces por Cromatografía de Gases.

##### B) VARIABLE DE INTERES:

La variable de interés es:  
la concentración de 7-metoxicumarina en cada extracto.

##### C) PRUEBA ESTADISTICA:

###### 1) Criterio para poner a prueba valores extremos:

En los tres valores de concentración obtenidos en cada uno de los extractos analizados por Cromatografía de Gases, se le hizo una prueba para aceptar o rechazar alguno de los tres datos cuando tiene demasiada desviación.

Suponiendo una probabilidad de 95% de estar en lo correcto, la fórmula a utilizar es la siguiente:

$$r = \text{valor crítico} = \frac{\text{dato menor} - \text{dato probable}}{\text{dato menor} - \text{dato mayor}}$$

El valor r obtenido se comparó con el cuadro de valores críticos en 0.05 (nivel de significancia de 95%). Si el valor de la prueba es menor que el de la tabla, no rechazamos el valor sospechoso (tabla IA, 20).

### C.2) Diferencia en Porcentaje de Extracción:

Para ver si existe una diferencia en porcentaje de 7-metoxicumarina extraída por medio de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> (A) y por medio de Soxhlet (B), se utilizó el siguiente método de análisis:

#### 1) Análisis de Varianzas:

Comparación de la varianza del porcentaje de extracción obtenido en los dos métodos de extracción por medio de una prueba bilateral de la siguiente manera:

-Calcular la variación para los porcentajes de extracción obtenidos en cada método.

-Determinar el cociente de la varianza para los dos

$$\begin{aligned} \text{métodos: } F_1 &= \frac{\text{Varianza de A}}{\text{Varianza de B}} \quad (\text{método A}) \\ F_2 &= \frac{\text{Varianza de B}}{\text{Varianza de A}} \quad (\text{método B}) \end{aligned}$$

Comparar los valores críticos del cuadro que contiene cocientes de varianzas (cuadro 1b ref.20) con los valores de los cocientes de varianzas obtenidos, con una probabilidad de 95% de estar en lo correcto. Si el valor obtenido ( $F_1$  y  $F_2$ ) es menor al valor del cuadro, entonces podemos decir que el método es menos variable.

## 2) METODO DE T-STUDENT:

Comparación de la T-student obtenida con los conjuntos de datos de ambos métodos de extracción contra la T-student teórica con un 95% de confiabilidad. Esto sirvió para determinar si los dos métodos difieren con respecto a alguna propiedad o variable. El procedimiento seguido fue el siguiente:

- Calcular la media aritmética en cada método.
- Calcular la desviación estandar en cada método (S).
- Calcular la desviación estandar ( $S_c$ ) para los dos métodos en conjunto con la siguiente ecuación:

$$S_c = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

- Calcular t para la comparación de las dos medias:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_c \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

- Comparar t con  $t(0.95)$  para  $(n_2 + n_1 - 2)$ .

## 8. RESULTADOS

### 8.1 LINEALIDAD DEL DETECTOR DE IONIZACION DE FLAMA PARA 7-METOXICUMARINA

Se hizo una inyección por cada estandar de 7-metoxicumarina analizado en el cromatógrafo de gases.

NUMERO DE INYECCION	CONCENTRACION (PPM)	UNIDADES DE AREA
1	80	0
2	136.14	18091
3	155.4	23958
4	183	32244
5	200	39026
6	206.62	39380
7	240	47249
8	256.43	54426
9	320	72856
10	400	98406

Ecuación de la línea recta obtenida al graficar unidades de área versus concentración de patrón de 7-metoxicumarina.

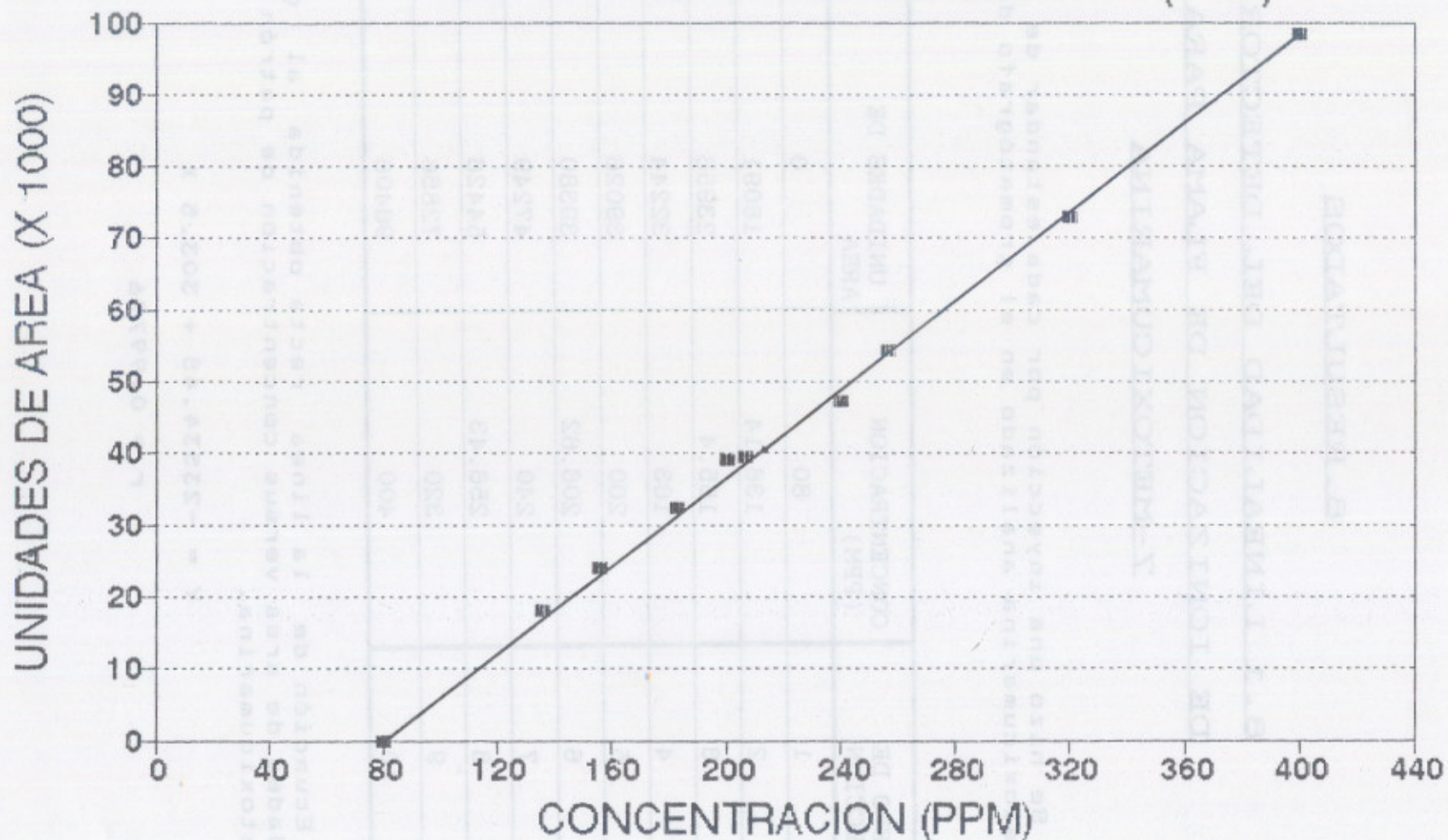
$$Y = -23534.45 + 303.5 X$$

$$r = 0.99776$$



GRAFICA # 1

# LINEALIDAD DEL DETECTOR DE IONIZACION DE LLAMA (FID)



UNA INYECCION POR CADA ESTANDAR  
ANALIZADO DE 7-METOXICUMARINA.

$$Y = -23534.45 + 303.5X$$

**8.2. PORCENTAJE DE 7-METOXICUMARINA  
EXTRACCION EXHAUSTIVA CON SOXHLET**

Cuantificación de extractos de 7-metoxicumarina obtenidos de pericón por extracción exhaustiva con Soxhlet utilizando Etanol al 80%.

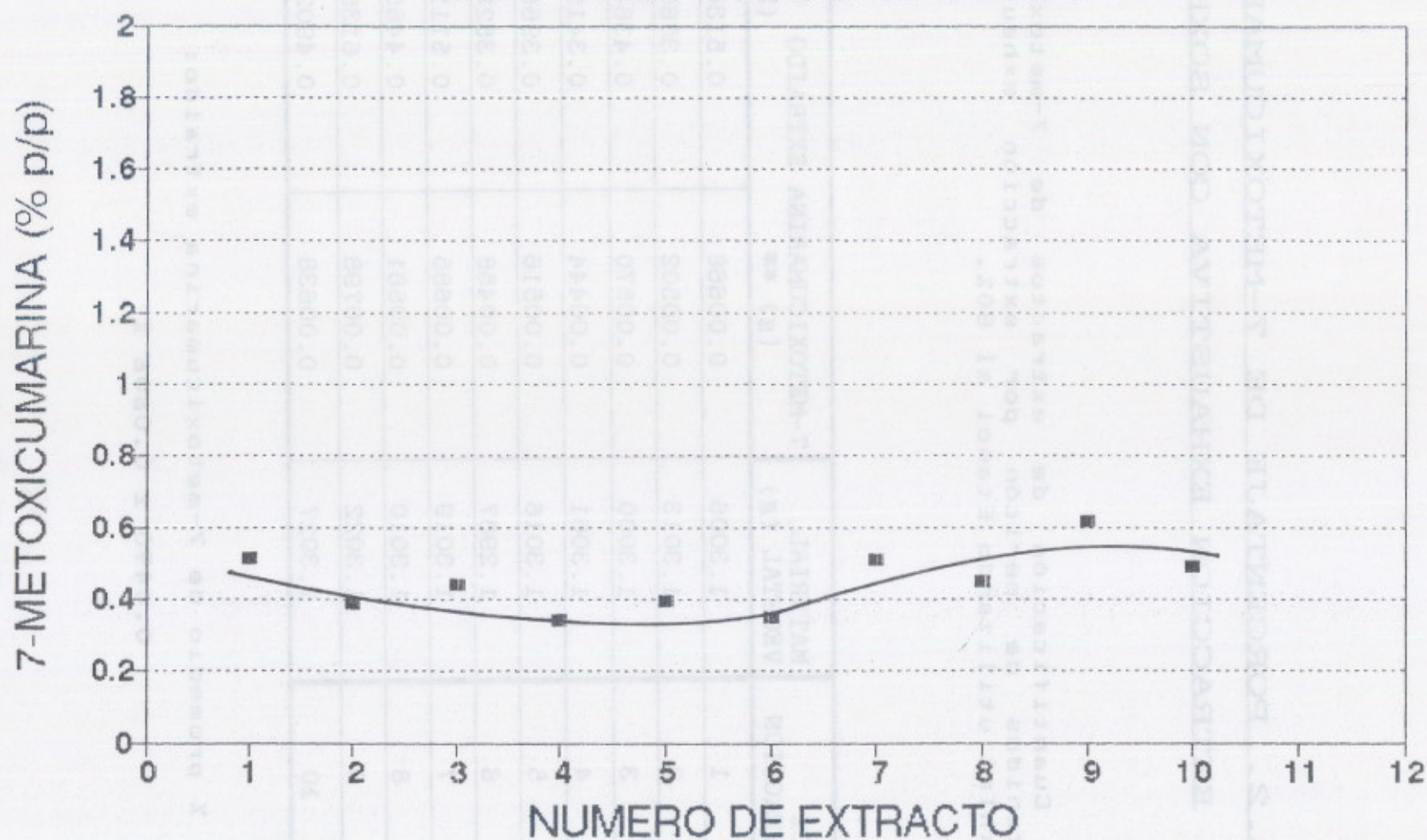
# DE EXTRACCION	MATERIAL VEGETAL (g)	7-METOXICUMARINA EXTRAIDO (g) ** (%)	
1	1.3006	0.00668	0.5134
2	1.3013	0.00502	0.3860
3	1.3000	0.00570	0.4384
4	1.3061	0.00444	0.3415
5	1.3016	0.00516	0.3966
6	1.2987	0.00458	0.3523
7	1.3019	0.00665	0.5111
8	1.3010	0.00581	0.4465
9	1.3022	0.00798	0.6138
10	1.3027	0.00638	0.4902

% promedio de 7-metoxicumarina extraido:

0.4490 ± 0.0606 %

GRAFICA # 2

# EXTRACCION CON SOHXLET DE 7-METOXICUMARINA



ANALISIS POR TRIPLICADO (TRES INYECCIONES)  
EN CADA EXTRACTO ETANOLICO (ETANOL AL 80%).

### 8.3. PORCENTAJE DE 7-METOXICUMARINA

#### EXTRACCION SUPERCRITICA CON CO2

Cuantificación de extractos de 7-metoxicumarina obtenidos de Pericón por extracción supercrítica con CO2.

# DE EXTRACCION	MATERIAL VEGETAL (g)	7-METOXICUMARINA EXTRAIDA (g) ** (%)	
1	0.5000	0.00522	1.04452
2	0.5000	0.00542	1.08396
3	0.5035	0.00482	0.95713
4	0.5000	0.00479	0.95764
5	0.5002	0.00542	1.08329
6	0.5000	0.00477	1.15201
7	0.5007	0.00400	0.97014
8	0.5027	0.00416	1.00559
9	0.5024	0.00416	1.00618
10	0.5000	0.00389	0.94419

% promedio de 7-metoxicumarina extraído:

$$1.001 \pm 0.0383 \%$$

### 8.5. TIEMPOS DE EXTRACCION

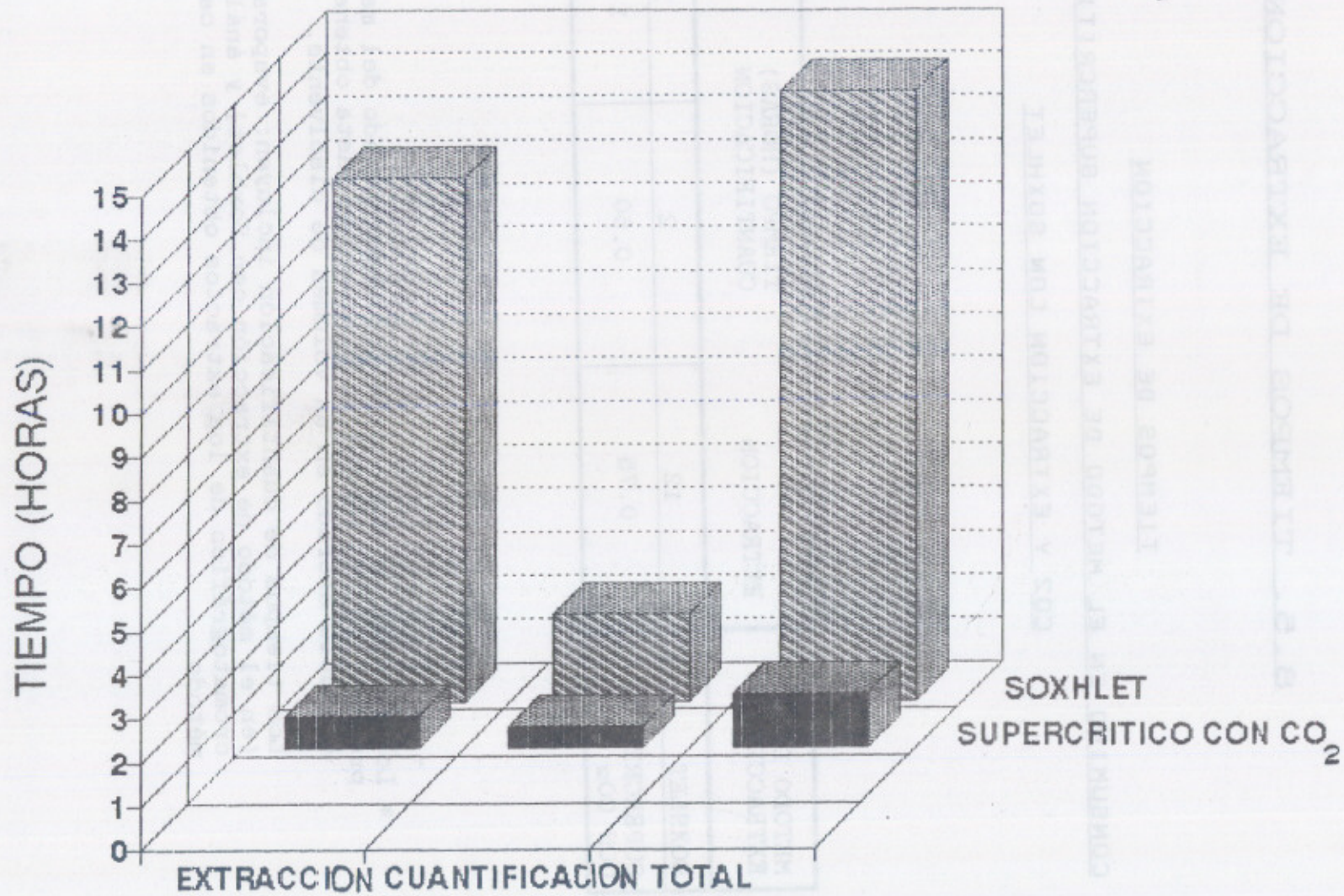
TIEMPOS DE EXTRACCION  
CONSUMIDO EN EL METODO DE EXTRACCION SUPERCRITICA CON  
CO<sub>2</sub> Y EXTRACCION CON SOXHLET

METODO DE EXTRACCIÓN	EXTRACCION	TIEMPO (HORAS) CUANTIFICACION	TOTAL
SOXHLET	12	2	14
SUPERCRITICO CON CO <sub>2</sub>	0.75	0.50	1.25

\* Los tiempos de extracción incluyen: pesado del material, preparación del equipo de extracción hasta obtener el extracto aforado en un volumen de disolvente.

Los tiempos de cuantificación incluyen: evaporaciones (en el método de extracción con Soxhlet) y análisis cromatográfico de los extractos obtenidos en cada método.

GRAFICA # 6  
COMPARACION EN TIEMPOS  
ENTRE SOXHLET Y CO<sub>2</sub>



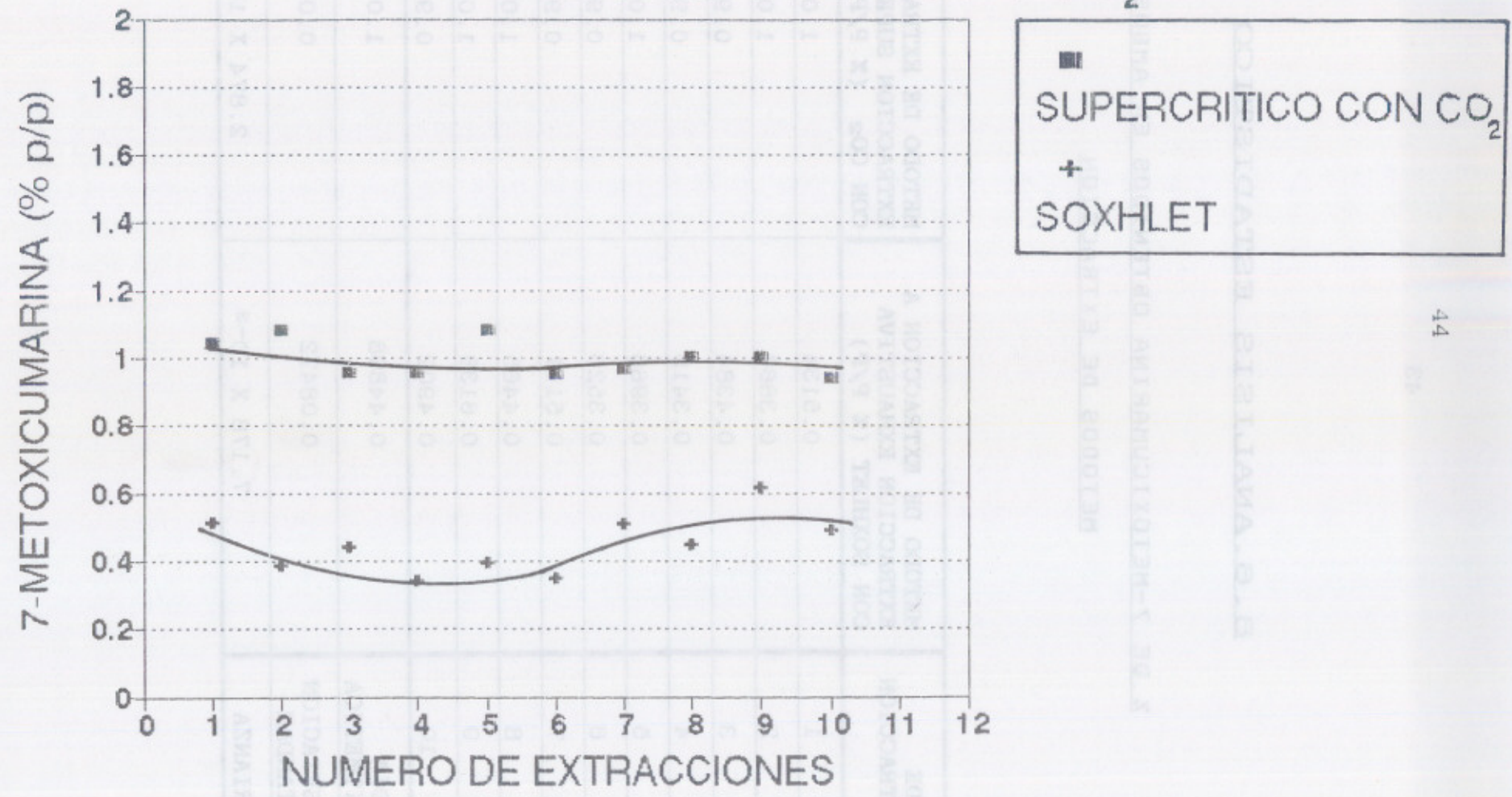
### 8.6. ANALISIS ESTADISTICO

% DE 7-METOXICUMARINA OBTENIDOS EN AMBOS  
METODOS DE EXTRACCION

# DE EXTRACCION	METODO DE EXTRACCION A EXTRACCION EXHAUSTIVA CON SOXHLET (% P/P)	METODO DE EXTRACCION B EXTRACCION SUPERCRITICA CON CO <sub>2</sub> (% P/P)
1	0.5134	1.04452
2	0.3860	1.08396
3	0.4384	0.95713
4	0.3415	0.95764
5	0.3966	1.08329
6	0.3523	0.95318
7	0.5111	0.97014
8	0.4465	1.00559
9	0.6138	1.00618
10	0.4902	0.94419
MEDIA ARITMETICA	0.44898	1.00058
DESVIACION ESTANDAR	0.08472	0.05361
VARIANZA	$7.178 \times 10^{-3}$	$2.874 \times 10^{-3}$

GRAFICA # 5

# RENDIMIENTOS DE EXTRACCION ENTRE SOXHLET Y CO<sub>2</sub>



EXTRACCIONES HECHAS EXHAUSTIVAMENTE  
EN AMBOS METODOS



### 8.6.1. ANALISIS DE VARIANZAS:

% DE CONFIABILIDAD	RELACION DE VARIANZAS		F TEORICO ***
	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	
95%	2.4975	0.4004	3.18
90%	2.4975	0.4004	3.18
80%	2.4975	0.4004	1.80

\* F<sub>1</sub> es la relación entre la varianza del método A y el método B.

\*\* F<sub>2</sub> es la relación entre la varianza del método B con el método A.

\*\*\* Valores de F teórico tomados de la tabla 1,2 y 3 de referencia 20.

### 8.6.2. METODO DE T STUDENT:

	METODO A **	METODO B ***	AMBOS METODOS
NUMERO DE DATOS	10	10	(10,10)
DESVIACION ESTANDAR	0.08472	0.05361	0.070893
T-STUDENT	-----	-----	-17.4132
T-STUDENT TEORICO *	-----	-----	2.101
VALORES LIMITES ****	0.4490 ± 0.0606%	1.001 ± 0.0383%	-----

\* T-student teórico obtenido de tabla 3A de referencia 20. Para 18 grados de libertad y para 95% de confiabilidad.

\*\* Método A equivale al método de extracción con Soxhlet.

\*\*\* Método B equivale al método de extracción Supercrítica con CO<sub>2</sub>.

\*\*\*\* Valores limite encontrados para cada método de extracción.

## 9. DISCUSION DE RESULTADOS

### 1. DISEÑO Y MONTAJE DEL APARATO PARA EXTRACCION SUPERCRITICA CON CO<sub>2</sub>:

En Guatemala si es posible diseñar y montar un aparato para extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> a escala analítica. El diseño del aparato se puede observar en la figura 1 de anexos. Este contiene las partes más elementales para hacer una extracción supercrítica. Las partes son: cilindro con CO<sub>2</sub> a alta presión, manómetro para medir altas presiones, celda de extracción, llaves para regular el flujo en el sistema y un recipiente colector.

#### 1.1. CILINDRO CON CO<sub>2</sub>:

Se utilizó en el sistema un cilindro con CO<sub>2</sub> a alta presión (presión de 2200psi a temperatura ambiente) suficiente para hacer las extracciones, ya que bajo esas condiciones se encuentra en el estado líquido (observar esquema #6 de anexos).

El sistema de extracción, para trabajar bajo condiciones críticas, necesita presiones de CO<sub>2</sub> entre 1000 y 2000psi, ya que a presiones menores de 1000psi se encuentra en estado gaseoso.

### 1.2. MANOMETRO:

En el sistema de extracción se utilizó un manómetro para medir presiones con escala entre 0 y 4000psi e intervalos de 100psi. Fué apropiado para el sistema de extracción ya que la respuesta a las presiones de medición fué rápida y funcional bajo las condiciones de trabajo.

### 1.3. SISTEMA CONDUCTOR:

En todo el sistema de extracción, se utilizó tubería de acero inoxidable. En Guatemala, si es posible adquirir de este tipo de material, de buena calidad y resistente a altas presiones.

El tubo utilizado, resiste presiones arriba de 3500psi. En todas las extracciones realizadas, no hubo problema de fugas del fluido extractor (CO<sub>2</sub> supercrítico) o fracturas en el material.

### 1.4. LLAVES REGULADORAS DE FLUJO:

Las llaves utilizadas para regular el flujo en el aparato de extracción, son llaves de aguja con resistencia a presiones mayores a 2200psi. Son llaves de cierre lento e ideales para graduar flujos en el fluido extractor.

Se colocaron dos llaves en el sistema, una en la entrada de la celda y otra en la salida de la celda.

### 1.5. CELDA DE EXTRACCION:

La celda de extracción utilizada, es una columna de acero inoxidable para HPLC. Esta fué recubierta con un sistema de calefacción que permite un calentamiento rápido y mantiene el sistema adiabático.

El sistema de calefacción, consiste en un tubo de hierro galvanizado que rodea totalmente la celda, con dos empaques de hule en los extremos para evitar fugas de agua, y además con una entrada y una salida laterales para la circulación de agua a una temperatura de 40°C. Para mantener el sistema adiabático, se cubrió el tubo galvanizado con dos paredes de poliestireno (duroport).

### 1.6. SISTEMA DE DESCOMPRESION:

La llave de salida colocada en uno de los extremos de la celda, se utilizó para regular el flujo de CO<sub>2</sub> y extracto, necesario para una descompresión completa. Después de la llave se colocó un tubo de plástico de mayor diametro para la conducción del extracto hasta un recipiente colector el cual contenía 5ml de etanol, necesario para recolectar el extracto.

## 2. ANALISIS POR CROMATOGRAFIA DE GASES:

Para hacer el análisis de los extractos por cromatografía de gases, fué necesario encontrar el rango de linealidad en el detector de ionización de llama del equipo utilizado, para la 7-metoxicumarina.

Con base en la curva de linealidad del detector, se puede extraer por medio CO<sub>2</sub> supercrítico y luego analizar la 7-metoxicumarina en Pericón, utilizando cantidades de un material vegetal desde 0.2 hasta 1.0g y aforando el extracto obtenido a un volumen de 25ml.

Para el método de extracción con soxhlet deben utilizarse desde 0.5g hasta 2.6g de Pericón para que sea detectable con este método y bajo estas condiciones.

Las cantidades de Pericón utilizadas en las extracciones, tanto en el método de extracción con Soxhlet como el método de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub>, se calcularon en base a la curva de linealidad ya que se obtuvieron concentraciones de 7-metoxicumarina intermedias en la curva.

### 3. VARIABILIDAD DEL METODO:

A los datos obtenidos de porcentaje de 7-metoxicumarina extraído, se les hizo un tratamiento estadístico par determinar la variabilidad entre los dos métodos y poder concluir si son diferentes.

Se aplico un análisis de varianzas para encontrar la variabilidad de ambos métodos. Se obtuvo una relación  $F_1$  entre la varianza del método de Extracción con Soxhlet respecto al método de extracción Supercrítica con  $CO_2$ , y otra relación  $F_2$  entre el método de Extracción Supercrítica con  $CO_2$  respecto al método de extracción con Soxhlet. Estas relaciones fueron comparadas contra el valor de  $F_{teórico}$  con 80%, 90% y 95% de confiabilidad.

Al comparar la relación de varianzas teórica (ver resultados de análisis de varianzas inciso 8.4) con el valor de varianzas al 95% y 90% de confiabilidad, no se pudo concluir cual de los métodos era más variable ya que las dos relaciones de varianzas eran menores al valor teórico.  $F_1 = 2.4975$  y  $F_2 = 0.4004 < F_{teórico} = 3.18$ .

En estas relaciones de varianzas, por ser  $F_2$  menor a  $F_1$ , se dice que el método de extracción con Soxhlet es más variable que el método de extracción supercrítica con  $CO_2$ .

Luego se comparó los valores de  $F_1$  y  $F_2$  con el valor de

Teórico con un 80% de confiabilidad ( $F_{0.80} = 1.80$ ). Como el valor de  $F_1$  es mayor que 1.80 y el valor de  $F_2$  es menor a 1.80, se confirma que el método de extracción con Soxhlet es más variable que el método de extracción Supercrítica con  $CO_2$ .

La variabilidad entre los dos métodos puede observarse también con las gráficas 2, 3 y 5. En la gráfica 2 se observan los porcentajes de extracción de 7-metoxicumarina obtenidos con Soxhlet y en la gráfica 3 están los porcentajes de extracción obtenidos con el método de extracción supercrítica con  $CO_2$ .

Los datos en la gráfica 2, indican que existe mayor dispersión entre los datos obtenidos con Soxhlet que con la extracción Supercrítica con  $CO_2$  observados en la gráfica 3.

#### 4. DIFERENCIA EN LOS DOS METODOS DE EXTRACCION:

Para determinar la diferencia en porcentaje de extracción, se analizaron estadísticamente los datos obtenidos por medio del método de t-student.

Se calculó la t-student para los dos métodos, el cual fue igual a -17.4132 y se comparó contra la t-student teórica, igual a 2.101 (con un 95% de confiabilidad).

Como el valor de t-student calculado en los dos métodos de extracción, no se encuentra dentro del rango de  $\pm 2.101$ , se concluyó con un 95% de confiabilidad que los dos métodos de extracción, tanto extracción con Soxhlet como extracción Supercrítica con  $\text{CO}_2$ , son distintos.

En la gráfica 5 se hizo una comparación de los porcentajes de rendimiento obtenidos en ambos métodos. Con el método de extracción con Soxhlet, se obtuvo un 55% de rendimiento menor que con el método de extracción Supercrítica con  $\text{CO}_2$ . Con esto se confirma que ambos métodos de extracción son distintos.



El porcentaje de extracción de 7-metoxicumarina en Pericón por el método Soxhlet fué de  $0.4490 \pm 0.0601$  % y el porcentaje de recuperación con el método de extracción supercrítica con  $\text{CO}_2$  fué de  $1.001 \pm 0.0383$  %. El porcentaje de desviación para el método Soxhlet fué de 13.36% y para la extracción supercrítica con  $\text{CO}_2$  fué de 3.826% para un total de diez muestras analizadas en cada método.

Los rendimientos de extracción obtenidos con el método de extracción supercrítica con  $\text{CO}_2$  fueron superiores a los rendimientos de extracción obtenidos con el método de extracción con Soxhlet. Se obtuvo un porcentaje de 55.14% de 7-metoxicumarina mayor con el método de extracción supercrítica que con el método de Soxhlet. La diferencia en las extracciones con los dos métodos, confirma lo que se discute en el inciso 4 anteriormente, que los dos métodos de extracción son distintos.

La diferencia en porcentajes de extracción de 7-metoxicumarina se explica en base a:  
Densidad del medio: La densidad del medio de extracción con  $\text{CO}_2$  bajo condiciones críticas, aumenta al aumentar la presión,

existiendo una mayor interacción entre el soluto y el solvente, y obteniéndose mayores porcentajes de extracción (12).

Nivel de solvatación: Al aumentar la presión en el sistema de extracción el número de moléculas de disolvente ( $\text{CO}_2$ ) que interactúan con las moléculas de soluto (7-metoxicumarina) aumentan y por lo tanto el porcentaje de extracción aumenta (10).

Temperatura de extracción: En la extracción con  $\text{CO}_2$  supercrítico, se utilizan temperaturas de  $40^\circ\text{C}$  y para la extracción con Soxhlet se utilizan temperaturas de reflujo y además es necesario evaporar los extractos para poder cuantificarlos. Al ser mayor la temperatura de extracción disminuye el porcentaje de 7-metoxicumarina (19).

En la gráfica # 4, se observa el porcentaje de extracción de 7-metoxicumarina en forma exhaustiva, en un mismo material vegetal. En la primera extracción exhaustiva del mismo material vegetal, se obtuvo un porcentaje de extracción igual a 0.75% de 7-metoxicumarina, el cual es mucho mayor que el porcentaje de extracción total obtenido con Soxhlet que fue de  $0.4490 \pm 0.0606\%$ .

En la primera y segunda extracción exhaustiva con  $\text{CO}_2$  en el mismo material vegetal, se logró obtener 1.06% de 7-metoxicumarina, al comparar con las demás extracciones hechas con  $\text{CO}_2$  supercrítico, con un rendimiento de  $1.001 \pm 0.0383\%$ , se concluyó que solamente dos extracciones exhaustivas en el mismo material vegetal, son necesarias para la cuantificación. Debido a esto, se decidió hacer 5 extracciones exhaustivas con  $\text{CO}_2$  supercrítico, para obtener totalmente la 7-metoxicumarina.

#### 6. DIFERENCIAS EN TIEMPOS DE EXTRACCIÓN:

La diferencia en tiempos de extracción en ambos métodos se observa en el cuadro 3 de resultados y en la gráfica 6.

Los tiempos de extracción totales para el método de extracción con Soxhlet fue de 12 horas y para el método de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> fue de 45 minutos. Estos tiempos de extracción incluyen desde que se pesa el material vegetal hasta que finaliza la extracción.

Los tiempos de extracción y cuantificación para el método con Soxhlet fue de 14 horas, el cual incluyen evaporaciones y cuantificaciones, mientras que el método de extracción con CO<sub>2</sub> dura 1 hora 15 minutos desde que se pesa el material hasta obtener valores de concentración por cromatografía de gases.

Los dos métodos son muy diferentes en cuanto a tiempos de extracción ya que hay un tiempo de 12.75 horas de diferencia entre un método y otro.

## 10. CONCLUSIONES

- 1) En Guatemala es posible diseñar y construir un aparato para Extracción Supercrítica con CO<sub>2</sub> a escala analítica.
- 2) Los rendimientos de extracción de 7-metoxicumarina obtenidos con el método de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub> fueron superiores a los rendimientos de extracción obtenidos con el método de extracción exhaustiva con Soxhlet.
- 3) El método de extracción Supercrítica con CO<sub>2</sub> requiere de un menor tiempo que el método de extracción exhaustiva con Soxhlet para extraer toda la 7-metoxicumarina presente en el Pericón.
- 4) El detector de Ionización de llama se comporta lineal para la 7-metoxicumarina en el rango de 80 a 400ppm de acuerdo con las condiciones y el equipo cromatográfico empleado.
- 5) Basandose en la linealidad del detector de ionización de llama, se puede cuantificar 7-metoxicumarina en el Pericón utilizando desde 0.2g hasta 1.0g de material seco de Pericón en la extracción supercrítica con CO<sub>2</sub>.

## II. RECOMENDACIONES

- 6) El porcentaje de 7-metoxicumarina cuantificado en el método de extracción exhaustiva con Soxhlet fue de  $0.4490 \pm 0.0606\%$  y para el método de extracción Supercrítica con  $\text{CO}_2$  fue de  $1.01 \pm 0.0383\%$ .
- 7) Con el método de extracción Supercrítica con  $\text{CO}_2$ , son suficientes dos extracciones para obtener toda la 7-metoxicumarina presente en el Pericón.
- 8) Con un 80% de confiabilidad se concluye que el método de extracción exhaustivo con Soxhlet es más variable que el método de extracción Supercrítica con  $\text{CO}_2$ .
- 9) Con un 95% de confiabilidad se concluye que el método de extracción supercrítica con  $\text{CO}_2$  es distinto al método de extracción con Soxhlet.

## 11. RECOMENDACIONES

11.1) Comenzar a sustituir los métodos de extracción tradicionales, actualmente empleados en docencia e investigación, por el método de extracción Supercrítica con CO<sub>2</sub>, por ser éste un método de extracción rápido, se obtienen mayores porcentajes de rendimiento y no contamina el medio ambiente con disolventes orgánicos.

11.2) Se recomienda asignar trabajos de investigación a los estudiantes de la carrera de Químico, que le permitan aportar y poner en práctica su capacidad creativa y que sean trabajos de alto nivel científico-tecnológico para ampliar sus conocimientos y de esta forma alcanzar un mayor desarrollo en el país, con el fin de ayudar a cambiar a Guatemala en el sentido de que deje de ser un país dependiente y consumidor.

12. REFERENCIAS





12. REFERENCIAS

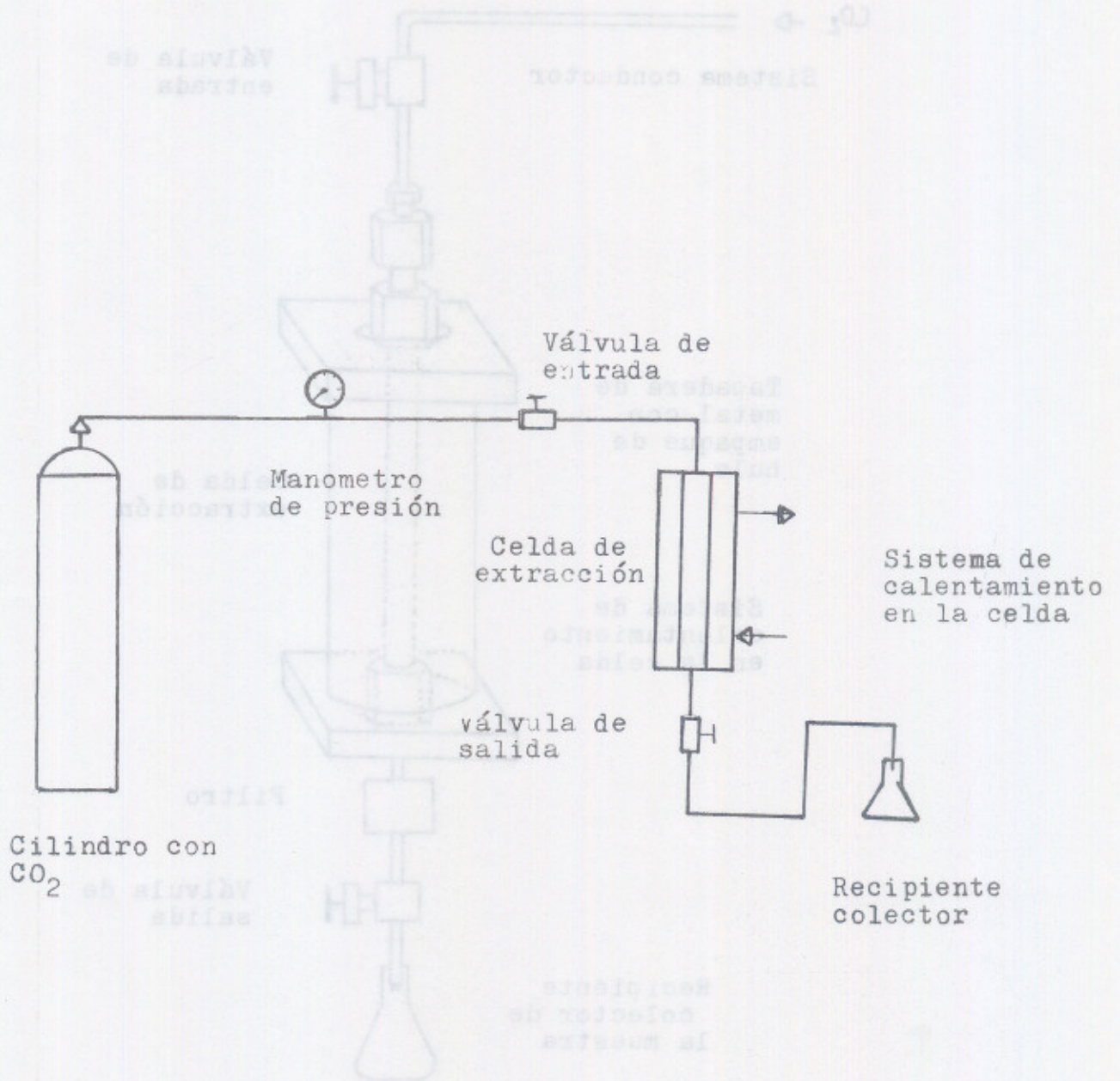
1. Charpentier, B.A., Sevenants, M.R., **Supercritical Fluid Extraction and Chromatography**. Washington D.C.: American Chemical Society, 1988. IX+253p.
2. Burk, R., Kruus, P., **Supercritical Fluid Extraction of Trace Organics From Solids**. J. Env. Sci. Health. 1990;B25:553-567.
3. Kruus, P., Burk, R., **The Use of Supercritical Fluids in Environmental Chemistry**. J.Int.of Env.Pol. 1993;9:81-85.
4. Mulcahey, L.H., Taylor, L.T., **Collection Efficiency of Solid Surface and Sorbent Traps in Supercritical Fluid Extraction with Modified Carbon Dioxide**. Anal.Chem. 1992;64:2352-2358.
5. Fahmy, T.M., et al, **Modifier Effects in the Supercritical Fluid Extraction of Solutes from Clay, Soil, and Plant Materials**. Anal. Chem. 1993;65:1462-1469.
6. Scholsky, K.M., **Supercritical Phase Transitions at Very Chromatography**. J.of Chem.Ed. 1989;66:A141-A145.
7. Hawthorne, S.B., et al, **Supercritical Fluid Extraction of Polar Analytes Using in Situ Chemical Derivatization**. Anal. Chem. 1992;64:405-412.
8. Snyder, J.L., Et al., **Comparison of Supercritical Fluid Extraction with Classical Sonication and Soxhlet Extractions for Selected Pesticides**. Anal.Chem. 1992;64:1940-1946.
9. Palmieri, M.D., **An Introduction to Supercritical Fluid Chromatography**. J. of Chem. Ed. 1989;66:A141-A145.
10. Burk, R., Kruus, P., **Solubilities of Solids in Supercritical Fluids**. Can. J. Chem. Eng. 1992;70:403-407.
11. Miller, D.J., Hawthorne, S.B., **Solventless Collection of Analytes by Rapid Depressurization After Static Supercritical Fluid Extraction**. Anal.Chem. 1993;65:1038-1042.
12. Langengeld, J.L., Hawthorne, S.B., Miller, D.J., **Method for Determining the Density of Pure and Modified Supercritical Fluids**. Anal.Chem. 1992;64:2263-2266.

13. Hawthorne, S.B., et al., Comparison of Supercritical  $\text{CHClF}_2$ ,  $\text{NO}_2$ , and  $\text{CO}_2$  for the Extraction of Polychlorinated Biphenyls and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Anal.Chem.* 1992;64:1614-1622.
14. Raynie, D.E., Warning Concerning the Use of Nitrous Oxide in Supercritical Fluid Extractions. *Anal.Chem.* 1993;65:3127-3128.
15. Ortíz Martínez S.D., Aislamiento y Elucidación de la Estructura de los Alcaloides del Pericón (Tagetes lucida) Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1977 28p.
16. Guzman Giraca, Nora, Determinación de Estructuras de los Componentes Mayoritarios del Extracto de Hojas y Flores de Tagetes lucida Cav. (Pericón) Soluble en Eter de Petroleo mediante el Uso de Cromatografía de Gases Acoplada a la Espectrometría de Masas. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1987 180p.
17. Oostdyk, T.S., et al, Study of Sonication and Supercritical Fluid Extraction of Primary Aromatic Amines. *Anal.Chem.* 1993;65:596-600.
18. Burford, M.D., Hawthorne, S.B., Miller, D.J., Extraction Rates of spiked Versus Native PAHs from Heterogeneous Environmental Samples Using Supercritical Fluid Extraction and Sonication in methylene Chloride. *Anal.Chem.* 1993;65:1497-1505.
19. Monzón, G.A., Cuantificación del principio Antiespasmódico y Antibacterial, 7-metoxicumarina en el Pericón (Tagetes lúcida). Guatemala:Universidad del Valle de Guatemala (tesis de Graduación, Facultad de Ciencias) 1989. 100p.
20. Hinchén, J., Estadística Práctica para la Investigación Química. México:El Manual Moderno, 1976. 122p.

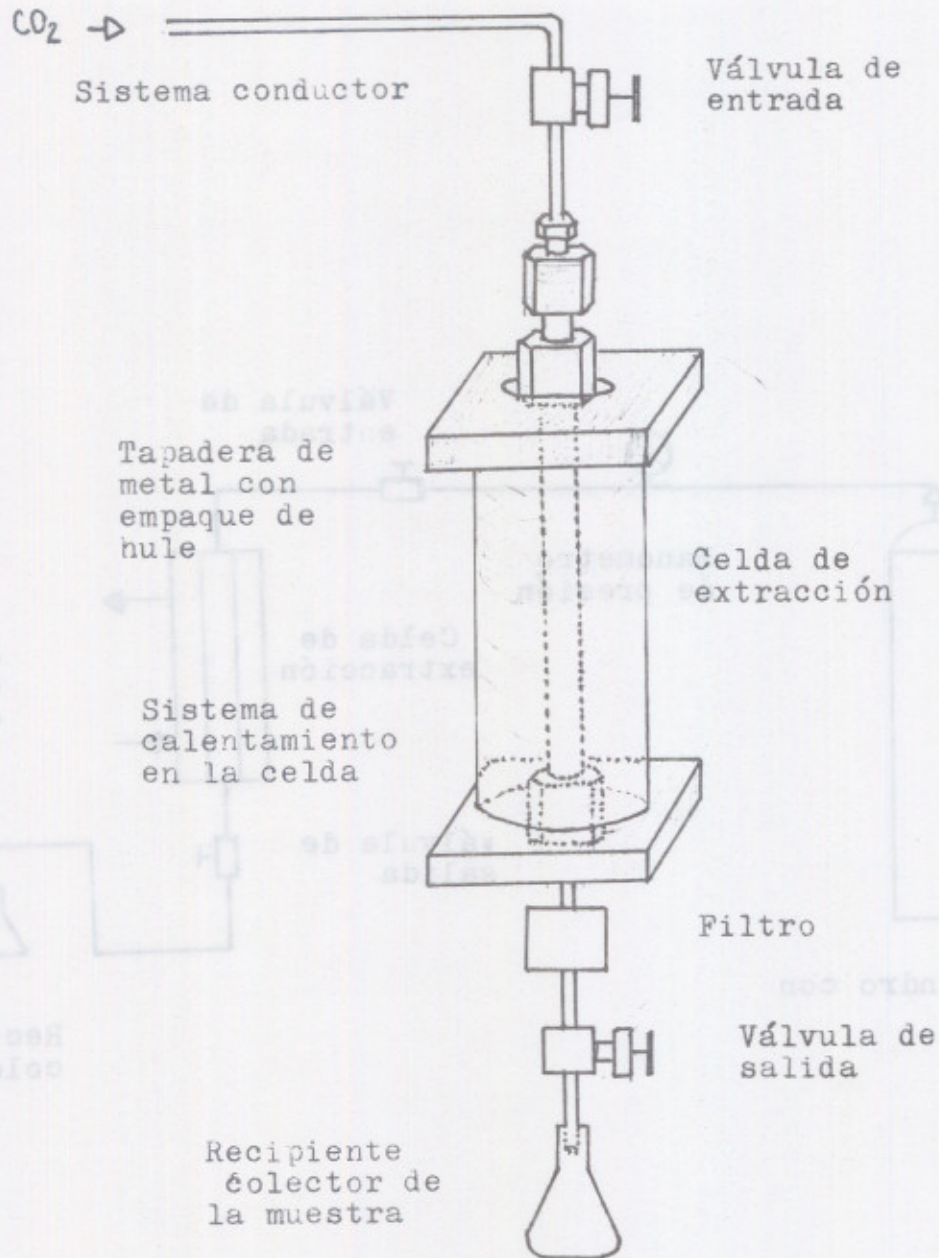
**13. ANEXOS****INDICE**

<u># DE ANEXO</u>	<u>PAGINA</u>
1. Esquema del aparato utilizado en la extracción Supercrítica con CO <sub>2</sub> .	63
2. Diagrama de la celda de extracción.	64
3. Tabla 1. Valores de densidad para el CO <sub>2</sub> . a distintas presiones.	65
4. Tabla 2. Condiciones críticas para algunos gases.	66
5. Diagrama de fase presión-temperatura utilizado en fluidos supercríticos.	67
6. Diagrama de fases presión-temperatura para una sustancia a alta presión.	68
7. Diagramas de Flujo del procedimiento.	69
10. Cromatogramas de los análisis realizados por cromatografía de gases.	73





ANEXO 1. Esquema del aparato utilizado en la Extracción supercrítica con CO<sub>2</sub>.



ANEXO 2. Diagrama de la celda de extracción del aparato de extracción supercrítica con CO<sub>2</sub>.

TABLA # 1

VALORES DE DENSIDAD PARA EL CO<sub>2</sub> (12).

TEMPERATURA	Densidad (g/ml) + DS		
	EXPERIMENTAL	CALCULADA	% DIFERENCIA
600 atmof			
40	1.021 ± 0.0018	1.032	-1.1
60	0.965 ± 0.0009	0.981	-1.6
80	0.912 ± 0.0005	0.927	-1.6
100	0.864 ± 0.0008	0.874	-1.1
125	0.802 ± 0.0004	0.811	-0.1
150	0.746 ± 0.0001	0.752	-0.7
450 atmof			
40	0.967 ± 0.0008	0.984	-1.7
60	0.905 ± 0.0005	0.919	-1.5
80	0.844 ± 0.0006	0.856	-1.4
100	0.783 ± 0.0001	0.794	-1.4
125	0.712 ± 0.0004	0.721	-1.2
150	0.649 ± 0.0000	0.656	-1.1
300 atmof			
40	0.903 ± 0.0014	0.921	-2
60	0.816 ± 0.0008	0.84	-2.8
80	0.752 ± 0.0002	0.751	0.1
100	0.699 ± 0.0005	0.668	0.1
125	0.574 ± 0.0010	0.575	0.2
150	0.496 ± 0.0005	0.497	0.2
150 atmof			
40	0.766 ± 0.0015	0.793	-3.4
60	0.592 ± 0.0011	0.616	-3.8
80	0.418 ± 0.0010	0.438	-4.6
100	0.330 ± 0.0010	0.339	-2.7
125	0.270 ± 0.0009	0.276	-2.2
150	0.232 ± 0.0004	0.237	-2.1
80 atmof			
40	0.302 ± 0.0008	0.327	-7.6
60	0.204 ± 0.0015	0.2	2
80	0.166 ± 0.0005	0.166	0
100	0.149 ± 0.0001	0.146	2
125	0.130 ± 0.0001	0.128	1.6
150	0.117 ± 0.0004	0.116	0.9

\* Desviación estandar se obtuvo de mediciones por triplicado.

\* Densidades calculadas se obtuvieron utilizando una ecuación de estado modificada.

TABLA # 2

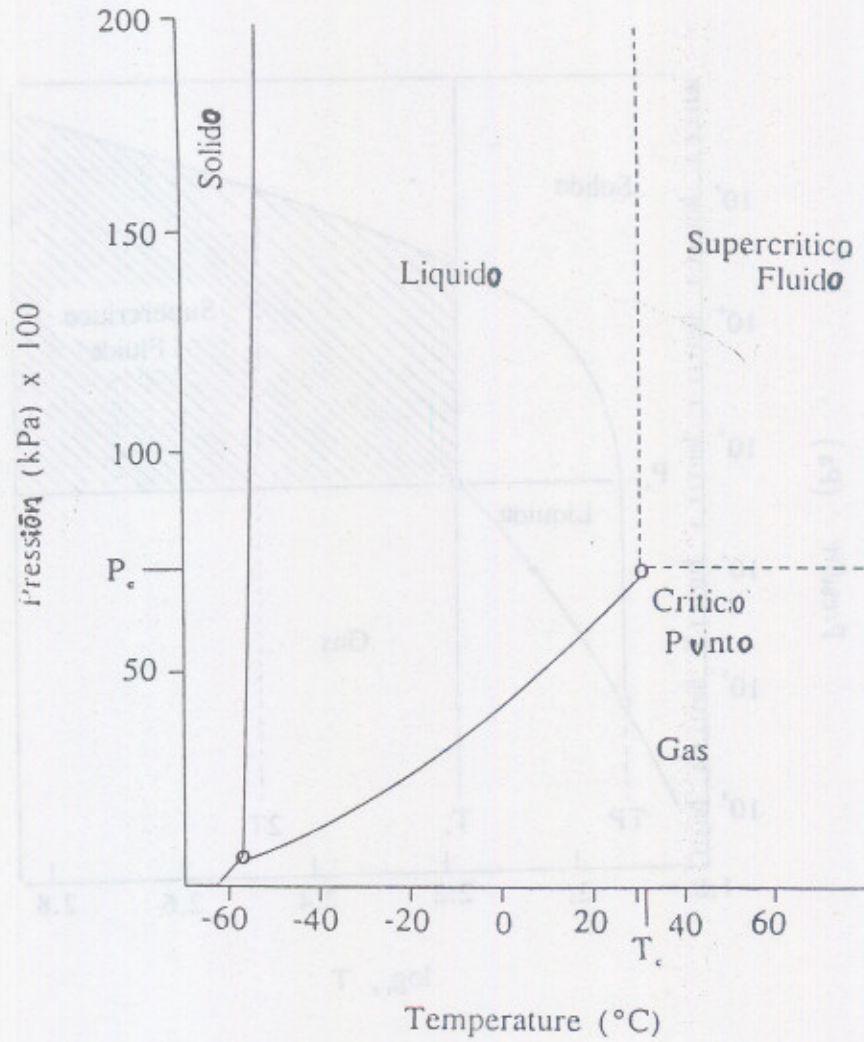
TABLA # 2

TEMPERATURA CRITICA, PRESION CRITICA Y MOMENTO DIPOLAR DE ALGUNOS FLUIDOS SULPERCRITICOS (13).

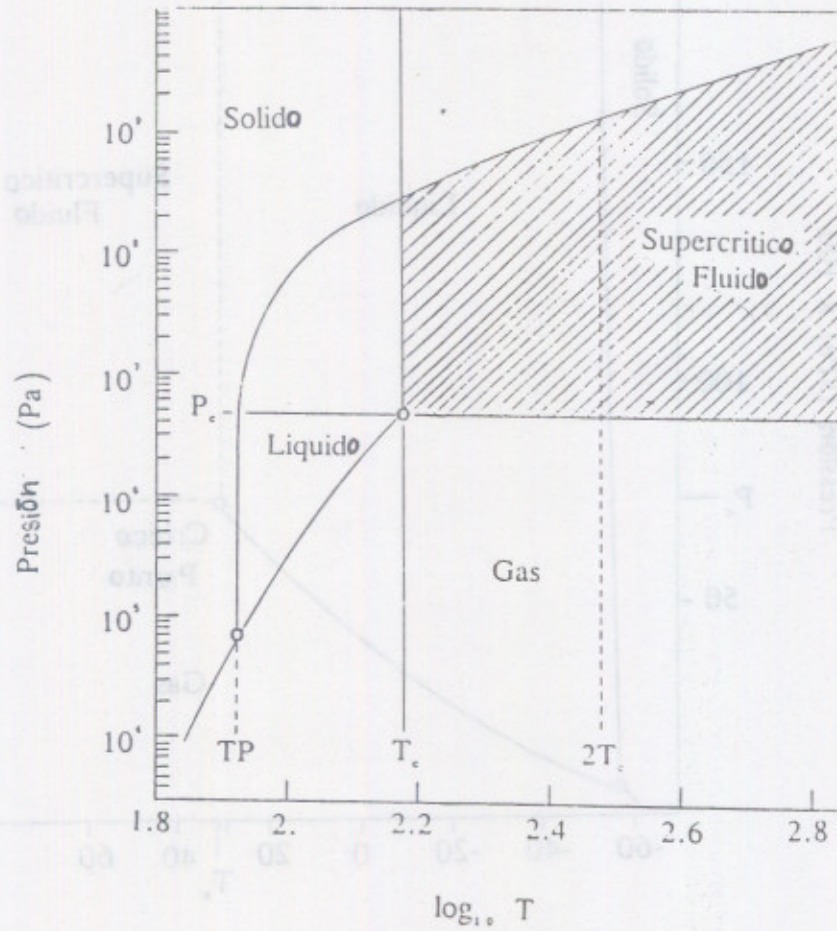
FLUIDO	Tc (°C)	Pc (atm)	M.D.
CO <sub>2</sub>	32	72	0
CHClF <sub>2</sub>	96	49	1.4
N <sub>2</sub> O	37	72	0.2
CO <sub>2</sub> /Metanol	41	74	----

- \* M.D. = momento dipolar (en debye).
- \* Pc = presión crítica.
- \* Tc = temperatura crítica.
- \* La mezcla de CO<sub>2</sub>/metanol es al 5% (v/v) de metanol en CO<sub>2</sub>.





ANEXO 5. Diagrama de fase presión-temperatura utilizado en fluidos supercríticos (6).



ANEXO 6. Diagrama de fase presión-temperatura para una sustancia a alta compresión (6).

## DIAGRAMA DE FLUJO # 1

EXTRACCION EXHAUSTIVA DE PERICON  
POR MEDIO DE SOXHLET CON ETANOL AL 80%1.300g de Pericón  
molido (mesh 80)Pesar en  
balanza analítica

A

Colocar en la  
cámara de  
extracción

B

300ml de Etanol  
al 80%Agregar solvente  
el el balón del  
soxhlet

C

Calentar a  
reflujo el  
sistema (T=100°C)

D

Extraer  
exhaustivamente  
durante 12 horas

E

Material vegetal ya  
extraído

Etanol al 80%

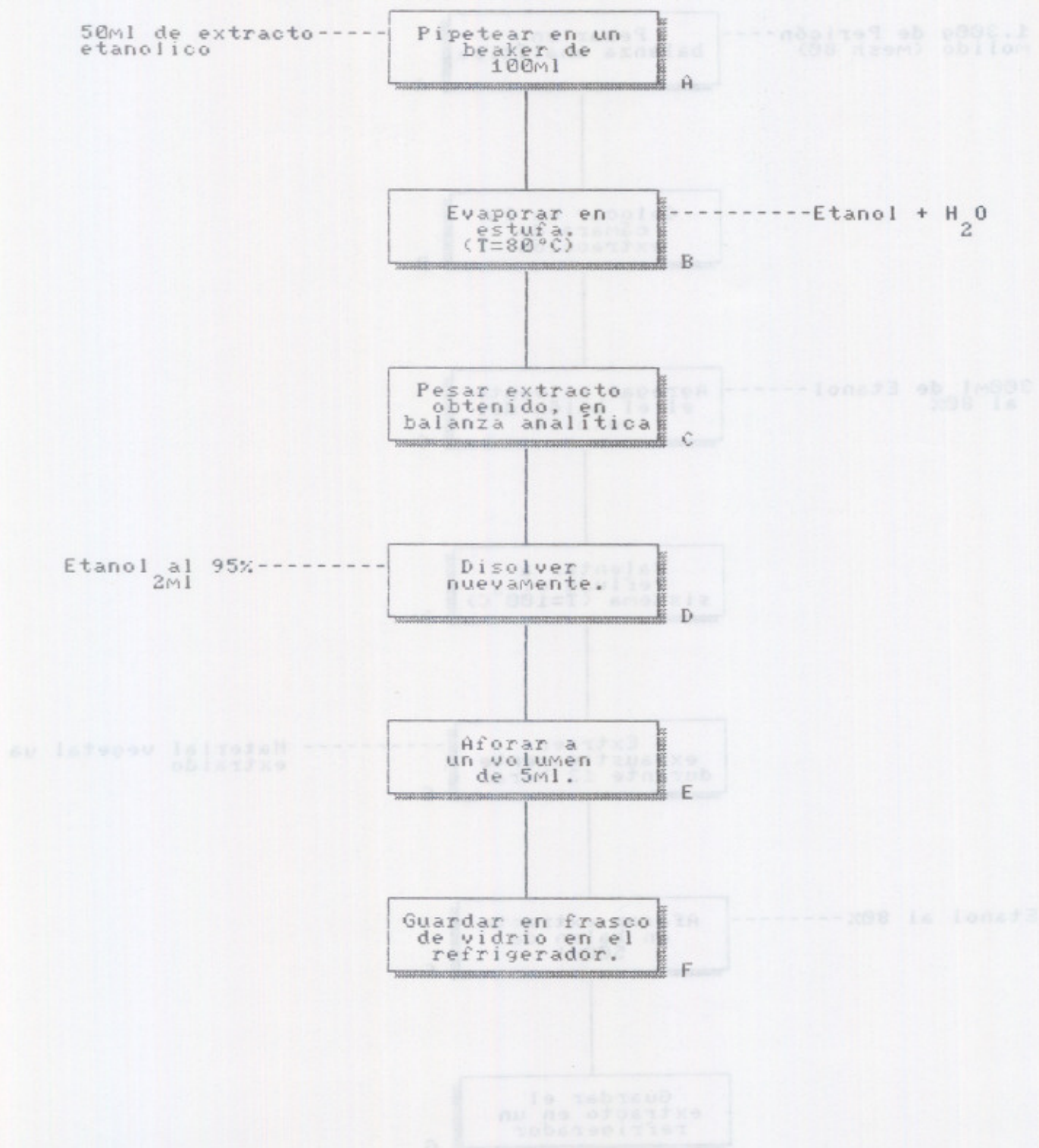
Aforar extracto  
en balón de  
500ml

F

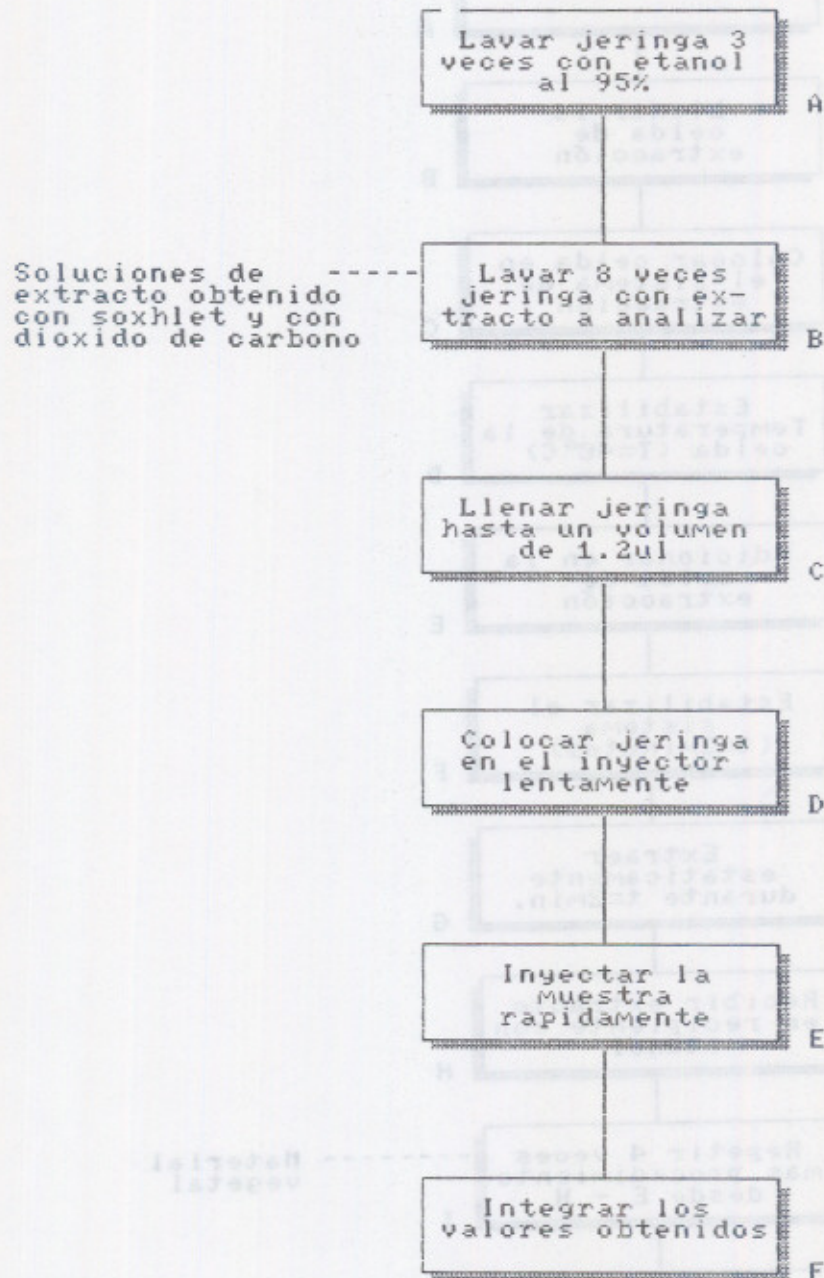
Guardar el  
extracto en un  
refrigerador

G

## DIAGRAMA DE FLUJO # 2

METODOLOGÍA EMPLEADA EN LA PREPARACION  
DE EXTRACTOS OBTENIDOS EN SOXHLET

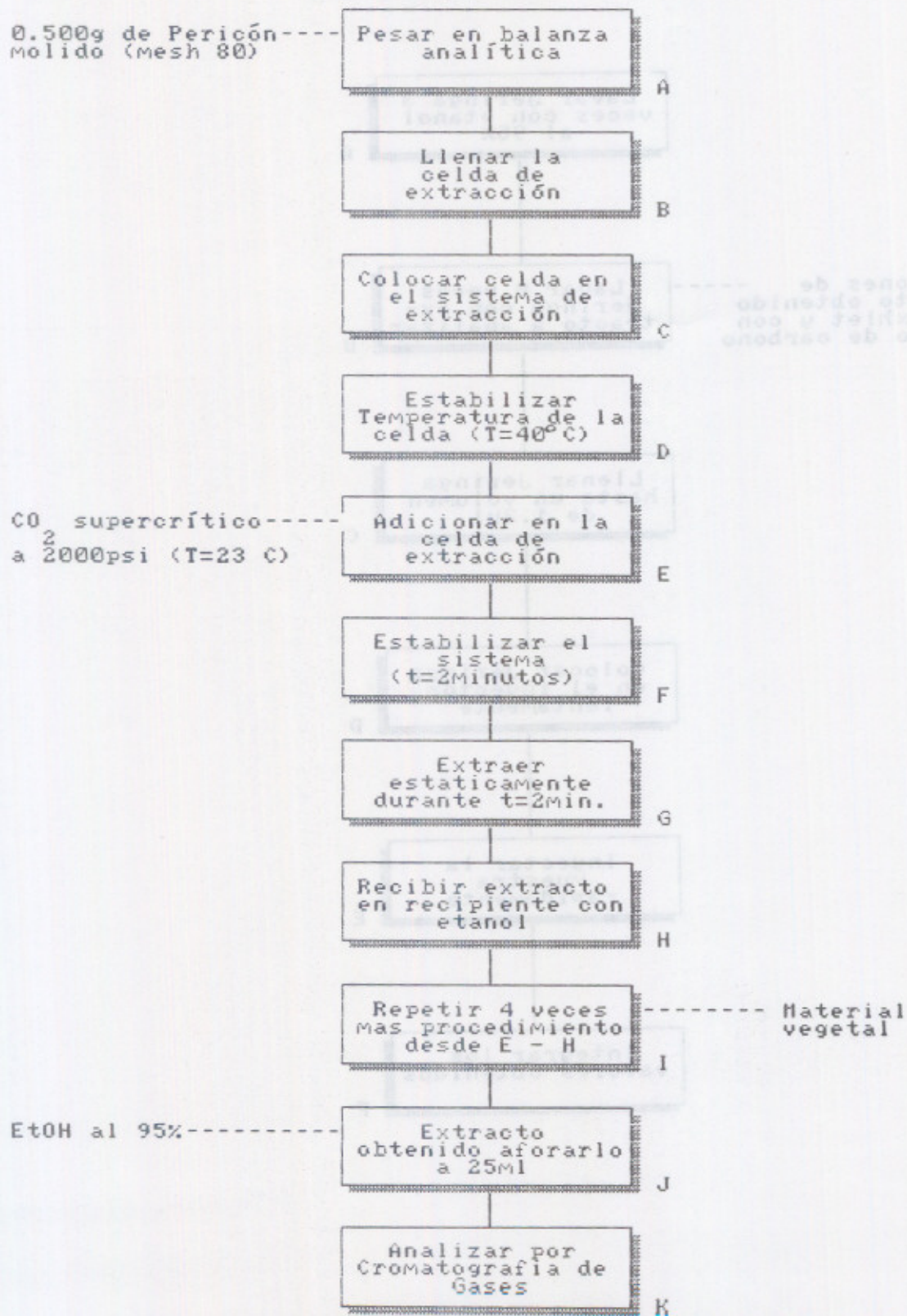
## DIAGRAMA DE FLUJO # 3

METODOLOGIA DEL ANALISIS DE MUESTRAS  
POR CROMATOGRAFIA DE GASES

## DIAGRAMA DE FLUJO # 4

METODOLOGIA PARA LA EXTRACCION  
SUPERCRITICA CON DIOXIDO DE CARBONO

0.500g de Pericón molido (mesh 80)



CROMATOGRAMAS

Cromatogramas obtenidos en el análisis de 7-metoxicumarina por medio de cromatografía de Gases.

1073 1072  
CHANNEL A INJECT 17/05/94 09:27:02

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.004	0.33	989 01
2	95.977	0.79	24225736 02
3	3.702	0.9	934470 03
4	0.316	9.58	79763 01 *
5	0.001	12.45	219 01

17/05/94 09:27:02 CH= "A" PS= 1.

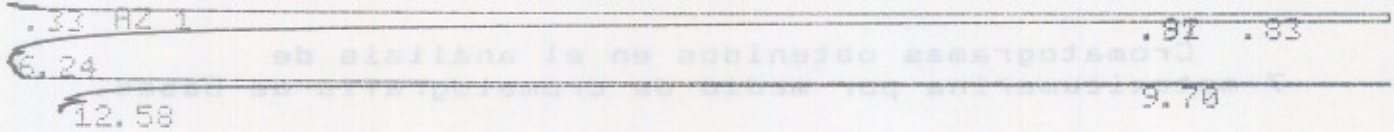
FILE	METHOD	RUN	INDEX
1.	0.	1	1

PEAK#	AREA%	RT	AREA BC
1	0.004	0.33	989 01
2	95.977	0.79	24225736 02
3	3.702	0.9	934470 03
4	0.316	9.58	79763 01 *
5	0.001	12.45	219 01
TOTAL	100.		25241177

Cromatograma 1. Estandar de 7-metoxicumarina. 1.15µl de solución con una concentración de 200ppm.

1028 1028  
CHANNEL A INJECT 17/05/94 10:34:01



17/05/94 10:34:01 CH= "A" PS= 1.

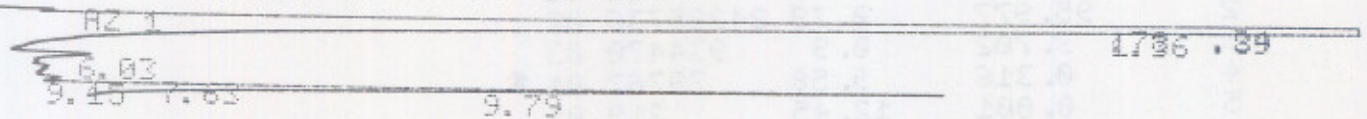
FILE 1. METHOD 0. RUN 4 INDEX 4

PEAK#	AREAZ	RT	AREA	BC
1	0.	0.33	116	01
2	83.794	0.81	23162499	02
3	10.635	0.83	2939882	02
4	5.383	0.97	1488043	03
5	0.001	6.24	162	01
6	0.185	9.7	51153	01
7	0.001	12.58	372	01

TOTAL 100. 27642227

*Cromatograma 2: Análisis de extracto obtenido por extracción Supercrítica con CO2. 1.15µl de extracto.*

1026 1026  
CHANNEL A INJECT 17/05/94 11:55:49



17/05/94 11:55:49 CH= "A" PS= 1.

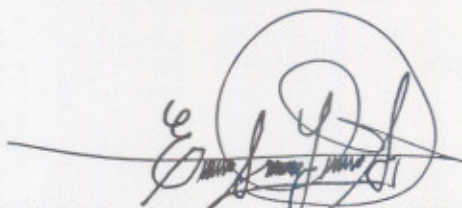
FILE 1. METHOD 0. RUN 7 INDEX 7

PEAK#	AREAZ	RT	AREA	BC
1	0.01	0.34	2165	02
2	89.901	0.78	20147316	02
3	9.468	0.89	2119886	02
4	0.393	1.36	88076	03
5	0.012	6.03	2663	01
6	0.001	7.63	330	02
7	0.002	9.15	445	02
8	0.133	9.79	29769	03

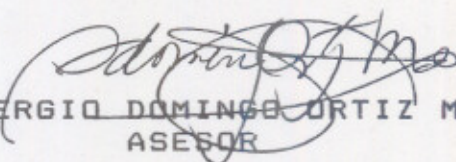
TOTAL 100. 22390650

*Cromatograma 3: Análisis de extracto obtenido por extracción exhaustiva con Soxhlet. 1.15µl de extracto.*

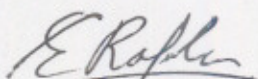




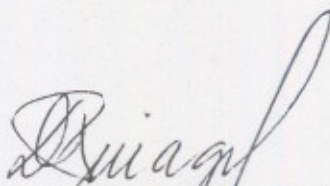
Br. EDGAR SAUL LOAIZA SALGUERO  
AUTOR



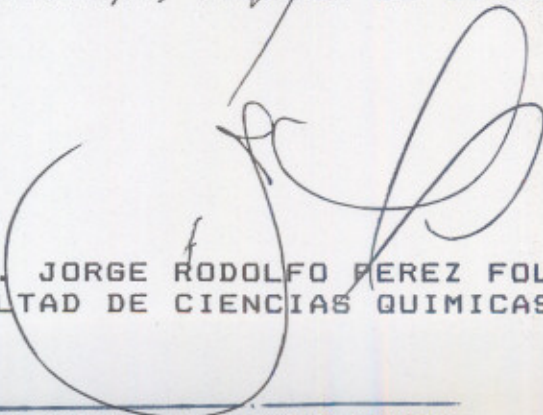
QUIMICO. SERGIO DOMINGO ORTIZ MARTINEZ  
ASESOR



QUIMICO. EDUARDO ROBLES AGUIRRE  
ASESOR



QUIMICO. DIANA ELIZABETH PINAGEL  
DIRECTORA, ESCUELA DE QUIMICA



Lic. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR  
DECANO, FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Dr. EDGAR SAUL LORIA SALCEDO  
AUTOR

QUINICO. SERGIO DOMINGUEZ CORTIZ MARTINEZ  
ASESOR

QUINICO. EDUARDO ROBLES AGUIRRE  
ASESOR

QUINICO. DIANA ELIZABETH RINABEL  
DIRECTORA, ESCUELA DE QUIMICA

DECANO, FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA  
Lic. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR