

Análisis de parámetros cinéticos y de equilibrio que gobiernan la extracción con etanol acuoso de residuos de destilación de *Lippia origanoides*

David Eduardo Vega Duarte

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero Químico

Director

Jairo René Martínez Morales

Químico, PhD.

Codirector

Ánderson Julián Arias Velandia

Ingeniero Químico, PhD.

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Físicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Bucaramanga

2022

### **Dedicatoria**

A ellas. A mi madre, **Graciela**, por su apoyo inacabable y amor incondicional, por sus sacrificios para formarme como persona y profesional, por ser mi más grande motivación. Sin ella este logro no sería posible. A mi hermana, **Karen**, por su compañía, por ser el segundo motor en mi vida. A mis tías, **Gladys, Ismenia, Mery**, por ser parte de mi proceso, por querer siempre lo mejor para mí.

### **Agradecimientos**

A los profesores Jairo R. Martínez y Elena E. Stashenko por enseñarme a escuchar y analizar, por incentivar el desarrollo de un razonamiento crítico, por fomentar el crecimiento profesional, cultural, intelectual y personal, por transmitir el sentido de la curiosidad, el trabajo bien hecho, el buen gusto y la excelencia.

A Julián Arias por su ayuda, por su guía y paciencia, por sus enseñanzas en el desarrollo de este trabajo.

A todos los compañeros de CENIVAM, CIBIMOL y CROM-MASS por permitirme ser parte de esta gran familia, por su colaboración y por su apoyo.

A la Universidad Industrial de Santander, especialmente a los profesores y compañeros de la escuela de Ingeniería Química, por acompañarme en gran parte de lo que va de este camino.

Agradecimientos a Minciencias, Mineducación, Mincomercio e ICETEX. Convocatoria Ecosistema Científico – Colombia Científica. Fondo Francisco José de Caldas, Contrato RC-FP44842-212-2018. Programa Bio-Reto XXI-15:50.

**Tabla de contenido**

<b>Introducción .....</b>	<b>12</b>
<b>1. Objetivos .....</b>	<b>14</b>
1.1 Objetivo general .....	14
1.2 Objetivos específicos .....	14
<b>2. Estado del arte.....</b>	<b>15</b>
<b>3. Descripción metodológica.....</b>	<b>22</b>
3.1 Estudio del agente extractor .....	22
3.1.1 <i>Obtención de extracto hidroetanólico</i> .....	23
3.1.1.1 Pretratamiento de los residuos.....	23
3.1.1.2 Extracción hidroetanólica a escala piloto.....	23
3.1.2 <i>Solubilidad del extracto para diferentes concentraciones de etanol acuoso y temperaturas</i> .....	24
3.1.2.1 Curva de calibración.....	24
3.1.2.2 Saturación de solventes .....	25
3.1.3 <i>Cuantificación de fenoles totales</i> .....	27
3.2 <i>Cinética de extracción para diferentes concentraciones de etanol acuoso y temperaturas</i> .....	28
3.2.1 <i>Extracción sólido-líquido en función del tiempo</i> .....	29
3.2.2 <i>Absorbancia UV-Vis de muestras</i> .....	29
3.2.3 <i>Ajuste a modelos cinéticos</i> .....	29
3.2.4 <i>Análisis factorial multinivel de los parámetros cinéticos</i> .....	30
3.3 <i>Sorción en el equilibrio</i> .....	31
3.3.2 <i>Ajuste a modelos de sorción</i> .....	32
<b>4. Resultados y discusión .....</b>	<b>34</b>
4.1 Estudio del agente extractor .....	34
4.1.1 <i>Obtención de extracto hidroalcohólico a escala piloto</i> .....	34

<b>4.1.2 Solubilidad del extracto en diferentes temperaturas y concentraciones de etanol acuoso</b> .....	<b>34</b>
<b>4.1.2.1 Curva de calibración</b> .....	<b>34</b>
<b>4.1.2.2 Solubilidades</b> .....	<b>35</b>
<b>4.1.3 Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu</b> .....	<b>36</b>
<b>4.1.3.1 Curva de calibración</b> .....	<b>36</b>
<b>4.1.3.2 Determinación del rango de concentración para cuantificar fenoles totales</b> .....	<b>37</b>
<b>4.1.3.3 Concentración de fenoles totales</b> .....	<b>38</b>
<b>4.2 Cinética de extracción en función de las relaciones material-vegetal/solvente y temperaturas</b> .....	<b>40</b>
<b>4.2.1 Ajuste de parámetros cinéticos de los modelos a los datos experimentales</b> .....	<b>40</b>
<b>4.2.2 Análisis factorial multinivel</b> .....	<b>44</b>
<b>4.3 Sorción en el equilibrio</b> .....	<b>46</b>
<b>4.3.1 Extracción exhaustiva</b> .....	<b>46</b>
<b>4.3.2 Isotermas de sorción</b> .....	<b>46</b>
<b>5. Conclusiones</b> .....	<b>50</b>
<b>Referencias bibliográficas</b> .....	<b>52</b>
<b>Apéndices</b> .....	<b>59</b>

### Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Modelos semiempíricos aplicados para describir la cinética de extracción sólido-líquido de sustratos vegetales.....	30
<b>Tabla 2.</b> Modelos de sorción para describir el equilibrio de partición del soluto entre el solvente y el sustrato en la extracción sólido-líquido de sustratos vegetales.....	32
<b>Tabla 3.</b> Parámetros y coeficientes de determinación de los modelos cinéticos de extracción de residuos de destilación de <i>L. origanoides</i> con etanol acuoso al 25 %v/v de etanol.....	42
<b>Tabla 4.</b> Parámetros ajustados para los modelos de sorción del residuo de destilación de <i>L. origanoides</i> .....	48

### Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Perfil típico que describe la cinética de extracción sólido-líquido de sustratos vegetales .....	17
<b>Figura 2.</b> Isotermas de sorción descritas por el equilibrio de partición del soluto entre el solvente y el sustrato en la extracción sólido-líquido de sustratos vegetales. Donde (A) Langmuir, (B) Anti-Langmuir y (C) BET.....	19
<b>Figura 3.</b> Etapas metodológicas para la extracción con etanol acuoso de residuos de destilación de <i>L. origanoides</i> .....	22
<b>Figura 4.</b> Marmita usada para la extracción sólido-líquido con etanol acuoso de residuos de destilación de <i>L. origanoides</i> . Donde (1) tanque con chaqueta, (2) entrada de vapor y (3) motor.....	24
<b>Figura 5.</b> Montaje experimental usado para los ensayos de saturación de etanol acuoso (0, 25, 50, 75 y 96 % v/v de etanol) con extracto hidroetanólico de residuos de destilación de <i>L. origanoides</i> a 30, 50 y 70 °C. Donde (1) cámara de calentamiento, (2) tubos eppendorf, (3) termopar, (4) agitador, (5) pistola de calor, (6) soporte y (7) controlador de temperatura. ....	26
<b>Figura 6.</b> Curvas de calibración de extracto de residuos de destilación de <i>L. origanoides</i> disuelto en etanol acuoso con composiciones de etanol de 25 % v/v (---), 50 % v/v (—) y 75 % v/v (···), analizados mediante espectroscopia UV-Vis a $\lambda_{\text{máx}} = 250 \text{ nm}$ .....	35
<b>Figura 7.</b> Solubilidad de extracto de residuos de destilación de <i>L. origanoides</i> en función de la concentración de etanol acuoso a 30 °C (●), 50 °C (■) y 70 °C (▲).....	36
<b>Figura 8.</b> Curva de calibración para el ácido gálico empleada para cuantificar fenoles totales por el método de <i>Folin-Ciocalteu</i> .....	37

- Figura 9.** Cuantificación por el método de *Folin-Ciocalteu* de los fenoles totales presentes en etanol acuoso al 50 % v/v saturado con extracto de residuos de destilación de *L. origanoides* a 50 °C ..... 38
- Figura 10.** Concentración de fenoles totales para las mezclas de etanol acuoso saturadas con extracto del residuo de destilación de *L. origanoides* a 30 °C (●), 50 °C (▲) y 70 °C (■)..... 39
- Figura 11.** Curvas cinéticas de extracción con etanol acuoso al 25 % v/v de residuos de destilación de *L. origanoides* correspondientes a 1/5 g/mL a 50 °C, descritas por los modelos: difusión parabólica,  $R^2=0,58$  (A); teoría de película,  $R^2=0,96$  (B); ley de velocidad de segundo orden,  $R^2=0,98$  (C) ..... 40
- Figura 12.** Efecto de la relación material-vegetal/solvente y la temperatura sobre la constante de velocidad de extracción ( $k$ ) del modelo de ley de velocidad de segundo orden ..... 45
- Figura 13.** Efecto de la relación material-vegetal/solvente y la temperatura sobre la concentración de equilibrio ( $c_\infty$ ) ajustada del modelo de ley de velocidad de segundo orden ..... 45
- Figura 14.** Isotermas de sorción ajustadas a los datos experimentales obtenidos a 30 °C (A), 50 °C (B) y 70 °C (C) por medio de los modelos BET (—), Langmuir (···) y anti-Langmuir (---).. 47

## Lista de apéndices

<b>Apéndice A.</b> Demostración matemática de la reescritura del modelo de ley de velocidad con el modelo de Peleg.....	59
<b>Apéndice B.</b> Solubilidades del extracto de residuos de destilación de <i>L. origanoides</i> en etanol acuoso al 0, 25, 50, 75 y 96 % v/v a temperaturas de 30, 50 y 70 °C.....	60
<b>Apéndice C.</b> Cuantificación de fenoles totales en etanol acuoso al 0, 25, 50, 75 y 96 % v/v saturados con extracto de residuos de destilación de <i>L. origanoides</i> .....	63
<b>Apéndice D.</b> Cinética de extracción con etanol acuoso al 25 % v/v de los residuos de destilación de <i>L. origanoides</i> a diferentes condiciones de relación material-vegetal/solvente y temperatura	65
<b>Apéndice E.</b> Análisis de varianza de los parámetros cinéticos del modelo de ley de velocidad	68
<b>Apéndice F.</b> Aproximación termodinámica para la derivación de la isoterma de Langmuir .....	70

### Abstract

**Title:** Analysis of kinetic and equilibrium parameters governing extraction with aqueous ethanol of *Lippia origanoides* distillation residues \*

**Author:** David Eduardo Vega Duarte \*\*

**Keywords:** Solid-liquid extraction, *Lippia origanoides*, residues, total phenols, solubility, kinetics, sorption, modeling.

**Description:** The essential oil of *Lippia origanoides* is a source of phenylpropanoids with potential implementation in the food, cosmetic, pharmaceutical and cleaning industries staff. In obtaining these volatile compounds, recoverable residues are generated due to still retained phenolic compounds in their cellular structures. In this work we analyzed the effects of aqueous ethanol, temperature and solid-liquid ratio on the extraction of polyphenols retained in plant residues of *L. origanoides* after distillation. We experimentally measured the solubility of the extract for different concentrations of mixtures ethanol-water at different temperatures and the total dissolved phenols were also quantified. With the experiments carried out, it was found that the water allowed the greatest solubility of the compounds extractable from the vegetable material, the increase in temperature increased the amount dissolved of extract in each of the mixtures and ethanol increased the selectivity of the compounds phenolics. In addition, extractive kinetics and partition equilibrium were measured and parameterized for different vegetable-material/solvent ratios and at different temperatures. The data were used to adjust semi-empirical models with utility for later stages of process design. Through this work, relevant information was contributed to take advantage of the waste of distillation of *L. origanoides*, which is expected to result in an economic benefit and competitiveness for the industry of natural products from aromatic and medicinal plants.

---

\* Thesis

\*\* Physicochemical Engineering Faculty. Chemical Engineering School. Director: Jairo René MARTÍNEZ MORALES. Codirector: Anderson Julián ARIAS VELANDIA

## Resumen

**Título:** Análisis de parámetros cinéticos y de equilibrio que gobiernan la extracción con etanol acuoso de residuos de destilación de *Lippia origanoides* \*

**Autor:** David Eduardo Vega Duarte \*\*

**Palabras clave:** Extracción sólido-líquido, *Lippia origanoides*, residuos, fenoles totales, solubilidad, cinética de extracción, modelamiento, equilibrio de sorción.

**Descripción:** El aceite esencial de *Lippia origanoides* es una fuente de fenilpropanoides con potencial implementación en las industrias alimentaria, cosmética, farmacéutica y de aseo personal. En la obtención de estos compuestos volátiles se generan residuos valorizables debido a que aún retienen compuestos fenólicos en sus estructuras celulares. En este trabajo se analizaron los efectos del etanol acuoso, la temperatura y la relación sólido-líquido sobre la extracción de los polifenoles retenidos en los residuos vegetales de *L. origanoides* después de su destilación. Se midió experimentalmente la solubilidad del extracto para diferentes concentraciones de mezclas etanol-agua a distintas temperaturas y también se cuantificaron los fenoles totales disueltos. Con los experimentos realizados se encontró que el agua permitió la mayor solubilidad de los compuestos extraíbles del sustrato, el aumento de temperatura incrementó la cantidad disuelta de extracto en cada una de las mezclas y el etanol amplió la selectividad de los compuestos fenólicos. Además, se midieron y parametrizaron la cinética extractiva y el equilibrio de partición para diferentes relaciones material-vegetal/solvente a distintas temperaturas. Los datos fueron usados para ajustar modelos semiempíricos con utilidad para posteriores etapas de diseño de procesos. Mediante este trabajo se contribuyó con información relevante para aprovechar el residuo de destilación de *L. origanoides*, lo que se espera repercuta en un beneficio económico y de competitividad para la industria de productos naturales a partir de plantas aromáticas y medicinales.

---

\* Trabajo de grado

\*\* Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Química. Director: Jairo René MARTÍNEZ MORALES. Codirector: Anderson Julián ARIAS VELANDIA

## Introducción

Los aceites esenciales (AE) extraídos de las plantas aromáticas son usados en múltiples aplicaciones debido a las propiedades biológicas de sus componentes. Con los AE se realizan formulaciones de productos farmacéuticos, de aseo personal, cosméticos y conservantes, entre otros (Stashenko, 2009). En su obtención se usan procesos destilativos cuyo subproducto sólido es la matriz vegetal destilada que es susceptible de valorización (Arias *et al.*, 2020a).

La especie *Lippia origanoides* es una planta cuyo residuo de destilación aún tiene retenidos compuestos de interés comercial (Arias *et al.*, 2020b). Flavonoides como la pinocembrina y la galangina son algunos de esos compuestos a los que se les ha comprobado capacidad de inhibir el desplazamiento de células de cáncer de mama *in vitro* (So *et al.*, 1996). El potencial que tienen estas sustancias como materia prima de productos consumibles por el ser humano, ha promovido el interés para investigar métodos de extracción escalables, que garanticen buenos rendimientos sin modificar sus estructuras.

La extracción sólido-líquido con solventes (ESL) es uno de los procesos más convenientes en la recuperación de compuestos bioactivos a partir de matrices vegetales. Es un proceso escalable que, por su fácil implementación y manejo, es deseable en industrias como la de las plantas aromáticas y medicinales (PAM), donde el trabajo de extracción, por conveniencia, se suele realizar en el mismo lugar donde se encuentran los cultivos. Estas zonas, por lo general, se encuentran alejadas de los centros industrializados donde suelen implementarse procesos más sofisticados.

Las variables de operación que influyen en el rendimiento, selectividad y desempeño de la ESL son el solvente extractor (ste), el tiempo de extracción o de residencia del solvente en procesos dinámicos, la temperatura, la relación material-vegetal/solvente y el tamaño de partícula del material vegetal (MV) (Moure *et al.*, 2001). Sin embargo, es usual que, para implementar esta

técnica en los centros de cultivo, no se estudien apropiadamente las variables y se terminen imponiendo tiempos arbitrarios y el uso indiscriminado de grandes cantidades de solventes, lo que muchas veces conduce a relaciones material-vegetal/solvente ( $MV/ste$ ) mayores de 10 g/mL (Oreopoulou *et al.*, 2020). El efecto de las variables puede ser aprovechado para mejorar la implementación de la técnica, pero para determinar las mejores condiciones extractivas, antes es concerniente tratar de comprender los fenómenos que gobiernan los procesos extractivos de las matrices específicas.

Los estudios de cinética extractiva y de equilibrio de sorción suelen ser el punto de partida para generar datos y ajustar parámetros de modelos con los cuales sería posible abordar el diseño y la implementación eficiente de estos procesos extractivos. Conocer la cinética de la extracción, en particular, es útil para determinar el estado estacionario y con este los límites de la transferencia de masa impuestos por el equilibrio. En el estado estacionario de la extracción, no existe diferencia en el tiempo respecto a la obtención de los compuestos presentes en la matriz sólida (Chan *et al.*, 2014). Prolongar la extracción más allá de lo impuesto por el equilibrio acarrearía mayor gasto de energía, solvente y tiempo, lo cual repercute en la eficiencia del proceso.

En este trabajo se determinaron la solubilidad del extracto del residuo de destilación de la *L. origanoides* y la cantidad de fenoles totales en diferentes concentraciones de etanol acuoso y se realizaron estudios cinéticos y de sorción para responder a la pregunta: ¿Cuál fue el efecto de las condiciones de extracción (concentración de etanol, temperatura y relación material-vegetal/solvente) sobre la cinética y la sorción en el equilibrio para obtener polifenoles a partir del sustrato destilado de *L. origanoides*?

## 1. Objetivos

### 1.1 Objetivo general

Determinar los efectos de etanol, agua, temperatura y proporción material-vegetal/solvente, sobre parámetros cinéticos y de equilibrio de la extracción sólido-líquido de los residuos de la destilación de *Lippia origanoides*.

### 1.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la temperatura y la concentración de la mezcla etanol-agua sobre la solubilidad del extracto de residuos de destilación de *Lippia origanoides* y sus fenoles, mediante experimentos de solvatación.
- Parametrizar la cinética extractiva del sustrato en función de la temperatura y la relación material-vegetal/solvente por medio de modelos semiempíricos que describan mediciones experimentales.
- Identificar los límites de partición del soluto impuestos por el equilibrio entre la matriz vegetal y el solvente a distintas temperaturas a través del ajuste de modelos de sorción.

## 2. Estado del arte

La especie *Lippia origanoides*, conocida como “orégano de monte”, es un arbusto silvestre nativo del continente americano y endémico de países como México, Brasil y Colombia (Vicuña *et al.*, 2010), cuyas hojas son usadas para la elaboración de infusiones con fines expectorantes y para el tratamiento del asma, tos, espasmos, entre otros (García-Barriga, 1992). La planta presenta quimiotipos como felandreno, timol y carvacrol, entre otros (Stashenko *et al.*, 2010). Los AE de los quimiotipos timol y carvacrol son de interés comercial para las industrias alimentaria y agrícola debido a su actividad antimicrobiana (Sarrazin *et al.*, 2015), capacidad antígenotóxica contra la radiación UV (Fuentes *et al.*, 2017) y actividad antiparasitaria (Soares *et al.*, 2017).

El AE de *L. origanoides* se comercializa en el mercado internacional como aditivo natural, sustituyente de los aditivos de origen sintético, en la formulación de productos farmacéuticos, alimentarios y agropecuarios (Stashenko, 2009). El subproducto sólido del proceso de obtención de ese aceite aun retiene compuestos no volátiles, principalmente, terpenos pesados (> 25 carbonos), ácidos grasos libres, compuestos fenólicos, entre otros, que le agregan valor al residuo y, consecuentemente, hace más productiva a la *L. origanoides* (Arias, 2020b). Por esta razón, se han adelantado estudios en la obtención de extractos por medio de técnicas como la extracción con CO<sub>2</sub> supercrítico (Arias, 2022a) y la extracción sólido-líquido (ESL), conocida también como lixiviación o extracción con solvente.

La extracción de flavonoides a partir de los residuos de destilación del orégano de monte usando etanol acuoso como solvente es un tema de interés para mejorar el aprovechamiento de esa planta. La ESL es la técnica más implementada en la industria de las PAM. De hecho, suele proponerse como complemento para aprovechar integralmente el residuo y obtener compuestos fenólicos con altos rendimientos de extracción (Adouni *et al.*, 2022). Entre otros solventes, las mezclas de etanol-

agua mejoran la extracción de compuestos fenólicos debido a la afinidad que hay entre estos (Oreopoulou *et al.*, 2020). El etanol aumenta la selectividad del proceso hacia los polifenoles (Valadez *et al.*, 2018) y el agua incrementa la solubilidad de estos y reduce la resistencia a la transferencia de masa (Fuentes *et al.*, 2019; del Valle *et al.*, 2019). De la selección de esta mezcla dependen propiedades importantes en el proceso de extracción, a saber: la capacidad de humedecer el material y de fluir fácilmente, la solvatación de los compuestos de interés y la fácil recuperación luego de su uso en la extracción, (Aguilera, 2003).

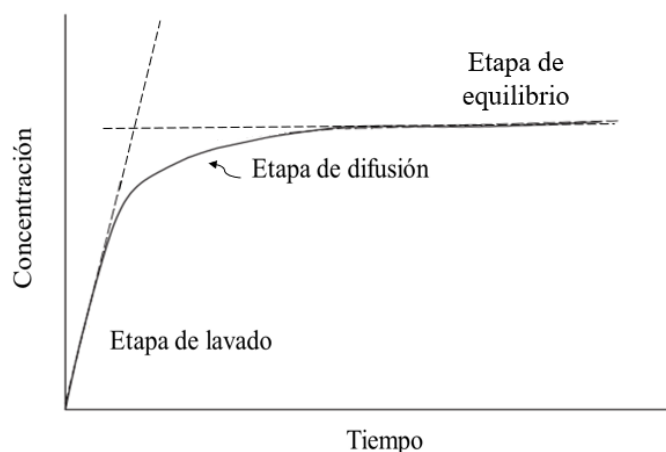
Aparte del solvente, otros factores que influyen en el rendimiento y en el perfil fenólico del extracto son el tiempo de extracción, la temperatura, la relación sólido-líquido y el tamaño de partícula (Moure *et al.*, 2001). El estudio de los anteriores factores permite identificar las limitantes en los fenómenos de transferencia de masa y la cinética extractiva, encontrar las condiciones de operación que maximicen el rendimiento de los compuestos de interés y minimizar el consumo de solvente y de servicios energéticos. Esta información es indispensable para etapas posteriores de diseño y dimensionamiento de procesos y equipos de extracción (Oreopoulou *et al.*, 2020).

Estudiar el comportamiento cinético y el modelamiento de la extracción de compuestos bioactivos de plantas con el fin de obtener un mayor aprovechamiento del material vegetal y optimizar el proceso es conveniente antes de implementar esta técnica convencional, que resulta atractiva por su fácil implementación (Chan *et al.*, 2013). La extracción inicia cuando el solvente entra en contacto con la matriz vegetal y la superficie de la partícula queda expuesta directamente al líquido. Esta fase se considera como etapa de lavado, la cual presenta una velocidad de extracción constante y rápida. En el perfil cinético de la ESL es descrita por medio de una línea recta inclinada (véase **Figura 1**). La fase subsecuente es la de difusión. Esta etapa es lenta debido a que los compuestos deben difundirse desde el interior del sustrato hasta el solvente. Esta representa la transición hacia

la etapa de equilibrio entre el sólido y el líquido. El equilibrio es la última etapa del proceso extractivo, donde la interacción de la matriz prácticamente no permite un mayor despojo de los compuestos por el solvente. Es decir, la concentración de extracto en el solvente no varía con el tiempo y presenta el comportamiento de una línea horizontal en el perfil cinético (asíntota).

### Figura 1.

*Perfil típico que describe la cinética de extracción sólido-líquido de sustratos vegetales*



*Nota.* Adaptado de Chan *et al.* (2014)

La cinética extractiva se ve influenciada por la reducción del tamaño de las partículas que componen la matriz vegetal (Crossley & Aguilera, 2001; So & McDonald, 1986) porque incrementa el área de contacto entre el sólido y el líquido. La reducción del tamaño de partícula mejora la penetración del solvente en la estructura de la matriz y acelera el mecanismo de difusión y, por ende, la extracción (Tsibranska *et al.*, 2011; Gujar *et al.*, 2010).

Existen algunos modelos que describen datos experimentales de la cinética extractiva aplicables a la ESL por lotes para matrices vegetales, los cuales nos interesa abordar. Uno de los modelos más implementados es la teoría de película, que cuenta con tres parámetros y se basa en el fenómeno de transferencia de masa a través de las partículas de las plantas y las superficies externas del sólido hacia el seno de la fase líquida; lo cual corresponde a la observación experimental de las

etapas difusiva y de lavado, respectivamente. Este modelo fue usado por Velickovic *et al.* (2016) para describir la ESL de dos especies de salvia, obteniendo un  $R > 0,94$ .

Otros modelos encontrados en la literatura son la difusión parabólica, la ley de velocidad y el modelo de Peleg. Los tres emplean dos parámetros ajustables a los datos experimentales y son de carácter semiempírico. El modelo de difusión parabólica presenta un parámetro referente al lavado del material suelto, es decir, aquellas sustancias que se encuentran en las superficies del sólido, y un parámetro relacionado con la liberación de los compuestos inducida por la difusión que ocurre dentro de las partículas. Kitanovic *et al.* (2008) reportaron el ajuste de esos dos parámetros a la ESL de *Hypericum perforatum* con valores de desviación cuadrática media menores que 5%. La ley de velocidad y el modelo de Peleg son descritos como modelos hiperbólicos o modelos de segundo orden que se ajustaron a los datos de la ESL de corteza de *Pinus contorta* (Douglas, 2015) y de semillas de *Persea* (Segovia *et al.*, 2015), respectivamente, con precisiones de  $R^2$  superiores a 0,95. Ambos presentan un parámetro correspondiente a la velocidad de extracción constante al inicio del proceso extractivo y otro parámetro que es relativo a la concentración máxima en la operación. En particular, se observó que el modelo de Peleg realmente es una reescritura del modelo de ley de velocidad. El **Apéndice A** muestra el tratamiento matemático que lo demuestra. Los autores en estudios por separado reportaron que los cuatro modelos predicen una fase inicial rápida y constante de extracción, seguida de una fase lenta de difusión hasta alcanzar el equilibrio. Por lo tanto, los modelos se consideran útiles para describir la cinética de la ESL de matrices vegetales y son coherentes con el comportamiento de la transferencia de masa y las observaciones experimentales.

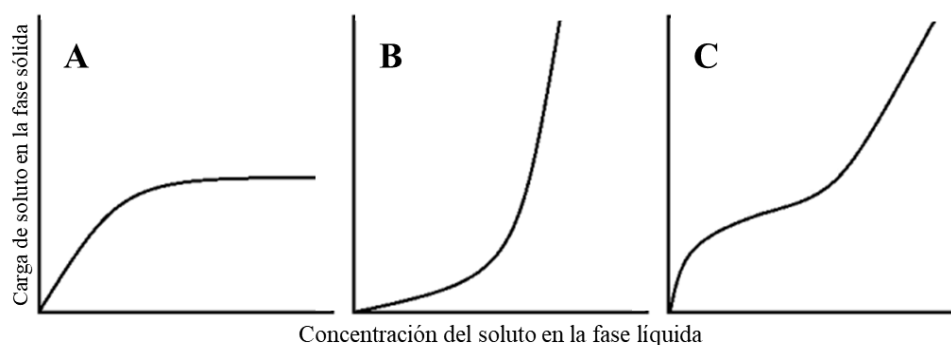
La ESL de una matriz vegetal es mejor entendida si, además de la cinética extractiva, se estudia la partición en el equilibrio de los compuestos extraíbles entre la matriz sólida y el agente extractor.

Para esto suelen construirse isoterms de sorción (curvas de retención), a partir de los datos cinéticos que describen la estabilidad o el equilibrio de la extracción a diferentes relaciones sólido-líquido para cada temperatura. Las isoterms de sorción sirven de guía para el dimensionamiento de equipos que trabajen con flujos continuos de solvente y de sólido, y son de utilidad para cuantificar el número de etapas necesarias para obtener los rendimientos de operación deseados (Treybal, 1990).

Entre otros modelos que describen el equilibrio de sorción, se encuentran el de Langmuir, el anti-Langmuir y el de Brunauer-Emmett-Teller (BET). El primero y el segundo asumen únicamente la adsorción en la capa superficial del sólido. Langmuir simula la saturación de la matriz y del líquido, y anti-Langmuir simula el imparable incremento gradual de la concentración de la partícula y del agente extractor (véase **Figura 2**). BET, en cambio, presenta un punto de inflexión, separando los comportamientos de los anteriores modelos y, además, asume la adsorción en múltiples capas del sólido (Douglas, 2015).

### Figura 2.

*Isoterms de sorción descritas por el equilibrio de partición del soluto entre el solvente y el sustrato en la extracción sólido-líquido de sustratos vegetales. Donde (A) Langmuir, (B) Anti-Langmuir y (C) BET*



*Nota.* Adaptado de Douglas (2015)

Estos tres modelos fueron ajustados a datos experimentales de la sorción de compuestos bioactivos de la corteza de *Pinus contorta* (Douglas, 2015). Los datos experimentales de la sorción modelada por Douglas se calcularon a partir de la concentración de equilibrio ( $c_{\infty}$ ) descrita por la cinética extractiva (véase **Figura 1**). Con lo cual varias curvas cinéticas realizadas a la misma temperatura condujeron a generar los datos experimentales para construir las isotermas de equilibrio de sorción. El procedimiento realizado por Douglas es práctico en términos experimentales y resulta aplicable para cualquier matriz vegetal en general, y a los residuos de destilación de la *L. origanoides* en particular.

Respecto a los polifenoles de interés comercial presentes en el extracto de los residuos de destilación de *L. origanoides*, algunos investigadores en sus estudios han optado por cuantificar este tipo de compuestos por el método de *Folin-Ciocalteu* (Marina *et al.*, 2008; Carmona *et al.*, 2021). Este método consiste en hacer reaccionar en un medio alcalino cualquier fenol presente en la muestra con una mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico, denominada reactivo de Folin. En el medio, los fenoles se oxidan y el reactivo de Folin se reduce cambiando su coloración de amarillo a azul. La intensidad del color es proporcional a la cantidad de grupos hidroxilos presentes en la muestra de extracto y es cuantificable por medio de espectrofotometría a partir de una sustancia o patrón de referencia, usualmente ácido gálico.

La especie de orégano estudiada en este trabajo, hasta la fecha, ha sido utilizada para la obtención de AE y para estudios de actividad biológica de sus compuestos volátiles (Stashenko *et al.*, 2008; Stashenko *et al.*, 2013). También, ha sido evaluado el extracto del residuo de su destilación obtenido por extracción supercrítica (Arias *et al.*, 2020b; Arias *et al.*, 2022). En el presente estudio se explora la ESL, con el propósito de determinar el efecto de las condiciones de operación sobre parámetros cinéticos y de equilibrio que rigen el proceso. Con los resultados de este proyecto se

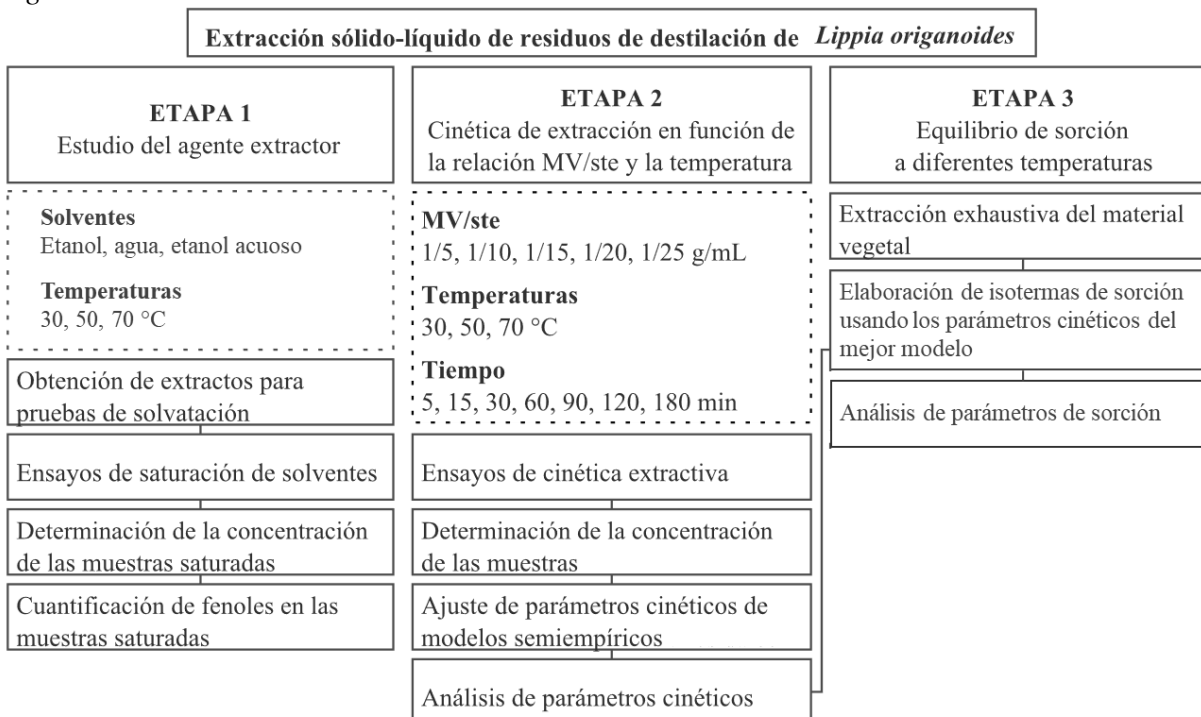
busca avanzar en el entendimiento y el desarrollo de la ESL para así comparar entre técnicas y contribuir con esto al mejor aprovechamiento industrial de la *L. origanoides*.

### 3. Descripción metodológica

Para el estudio de la ESL de los residuos de destilación de *L. origanoides*, se cumplieron tres etapas metodológicas (véase **Figura 3**).

#### Figura 3.

*Etapas metodológicas para la extracción con etanol acuoso de residuos de destilación de L. origanoides*



#### 3.1 Estudio del agente extractor

En esta etapa del trabajo se determinó la solubilidad del extracto ( $S_{EXT}$ ) y la concentración de sus fenoles totales en etanol, agua y sus mezclas a condiciones de temperatura de 30, 50 y 70 °C. Inicialmente se obtuvo extracto hidroetanólico a partir de los residuos de destilación de *L. origanoides* para ser usado en las pruebas de solvatación. Los agentes extractores llevados a saturación con el extracto obtenido fueron cinco: agua y cuatro diferentes concentraciones de etanol acuoso al 25, 50, 75 y 96 %v/v de etanol bajo temperaturas de 30, 50 y 70 °C. La determinación de la solubilidad se realizó a partir de curvas de calibración que relacionaron

concentraciones de extracto con sus absorbancias. Además, a cada uno de los solventes saturados se les cuantificaron los fenoles totales por medio del método de *Folin-Ciocalteu*.

### **3.1.1 Obtención de extracto hidroetanólico**

#### **3.1.1.1 Pretratamiento de los residuos**

El material vegetal fue suministrado por el estado colombiano, a través del contrato de acceso a recursos genéticos y productos derivados con fines de bioprospección N° 270, suscrito entre el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible y la Universidad Industrial de Santander. Luego de la obtención del aceite esencial de *L. origanoides*, la matriz destilada fue secada y despojada de sus tallos. Posteriormente, se molieron sus hojas y ramas mediante un molino de corte paralelo, *RETSCH SM100* (Haan, Alemania), para reducir el tamaño de partícula entre 0,25 y 20 mm.

#### **3.1.1.2 Extracción hidroetanólica a escala piloto**

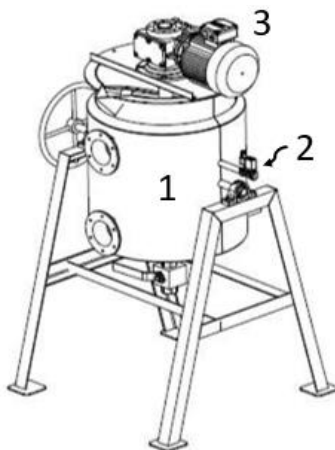
La extracción de la oleorresina del MV destilado y seco se llevó a cabo en una marmita de 100 L de acero inoxidable tipo AISI 304 C 16, rodeado por una chaqueta hecha con lámina de acero inoxidable tipo AISI 304 C 12. La chaqueta retuvo el vapor generado por una caldera y condicionó la temperatura de operación. Este recipiente (véase **Figura 4**) cuenta con un agitador de doble cinta helicoidal, la cual permitió la agitación constante durante el proceso. El equipo extractivo presentó un sistema de control que ajustó la temperatura por medio de la entrada de vapor a la chaqueta con una electroválvula *TPC Neumatics* de dos vías tipo Pilot (Seúl, Corea del sur).

A la marmita se cargaron 2,5 kg de MV y 25 L de etanol acuoso al 25 % v/v de etanol (*i.e.*, relación *MV/ste* de 1/10 kg/L). La temperatura de extracción se mantuvo constante a 70 °C y se empleó agitación de 45 RPM durante cuatro horas de operación. Terminada la extracción, se separó el material sólido en dos etapas de filtración. En la primera se usó papel absorbente y en la segunda se implementó un embudo Büchner asistida por succión mediante un compresor *Vacuubrand*

*GMBH* (Wertheim, Alemania). Luego, de la mezcla líquida se recuperó el etanol por medio de un rotavapor (50 °C, reducción progresiva de presión desde 400 mbar hasta 200 mbar) y se le retiró el agua por medio de un liofilizador de bandejas (*VirTis Advantages Plus*, New York, EE. UU.).

#### **Figura 4.**

*Marmita usada para la extracción sólido-líquido con etanol acuoso de residuos de destilación de L. origanoides. Donde (1) tanque con chaqueta, (2) entrada de vapor y (3) motor*



### **3.1.2 Solubilidad del extracto para diferentes concentraciones de etanol acuoso y temperaturas**

En esta etapa se determinó la capacidad máxima de solubilización del extracto del residuo de destilación de *L. origanoides* para cada uno de los cinco agentes extractores a temperaturas de 30, 50 y 70 °C.

#### **3.1.2.1 Curva de calibración**

Para medir la solubilidad del extracto se realizaron tres curvas de calibración externa con etanol acuoso al 25, 50 y 75 %v/v para observar si había diferencias entre sus predicciones. Las curvas de calibración realizadas relacionaron la concentración del extracto en el solvente con su valor máximo registrado en su espectro de absorbancia. El espectro está comprendido en un rango de longitud de onda desde el ultravioleta hasta el visible (UV-Vis).

Se disolvieron 15 mg de extracto seco en 15 mL del solvente para obtener una solución *stock* con una concentración de 1 mg/mL. La solución se agitó manualmente durante 30 segundos, se sonicó por 15 minutos con una frecuencia de 37 kHz por medio de un baño de ultrasonido *Elmasonic E30H* (Elma, Alemania), se centrifugó cinco minutos a 6000 RPM con una centrifuga *Hettich Universal 320R* (Brookfield, WI) y luego se decantó. Este proceso se realizó para las mezclas de etanol acuoso.

En un balón de 5 mL, se aforaron con solvente las alícuotas tomadas de la solución *stock* para generar las concentraciones a las cuales serían medidos los espectros de absorbancia UV-Vis. Las concentraciones utilizadas para las curvas de calibración fueron 10, 30, 50, 100 y 120 mg/L.

A cada una de las muestras diluidas se les midieron las absorbancias de radiación en un rango de longitudes de onda entre 170 y 780 nm por medio de un espectrofotómetro en miniatura FLAME-S-UV-VIS-ES *Ocean optics* (Dunedin, FL). Para las tres curvas de calibración, se realizó un triplicado de medición y se tomó el promedio del valor máximo de absorbancia en el espectro, el cual se registraba a una misma longitud de onda para todas las concentraciones.

### **3.1.2.2 Saturación de solventes**

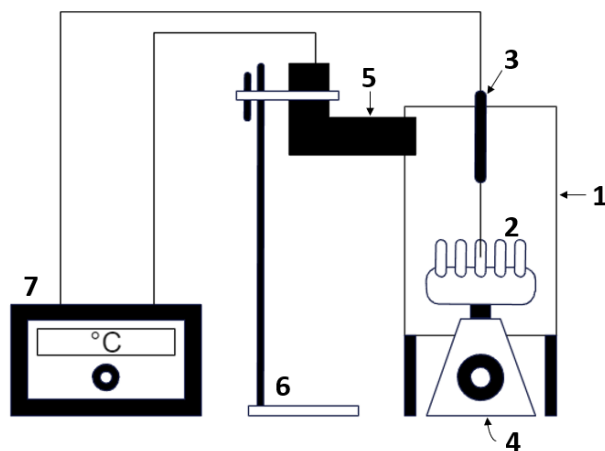
La saturación de los solventes se realizó dentro de una cámara de calentamiento, en la cual la temperatura se mantuvo constante por medio de una pistola de calor conectada a un regulador *Cole Parmer Digi-Sense 2186-20A* (Vernon Hills, IL). Dentro de la cámara de calentamiento se agitaron los solventes cargados con el extracto seco en tubos *ependorf*, las cuales estaban sobre un agitador *DLAB MX-S, Orbital 4mm* (Beijing, China) ubicado bajo el contenedor (véase **Figura 5**).

Se vertieron 1,5 mL de solvente en tubos tipo *ependorf* de 2 mL y se acondicionaron a la temperatura de la prueba. El controlador registró la temperatura de una misma cantidad de

solvente, dispuesta dentro de otro *ependorf*, por medio de un termopar. La punta del termopar entró por un orificio hecho en la tapa del tubo. Cuando el solvente registró la temperatura correspondiente, se añadieron entre 100 y 130 mg de extracto en cada tubo. Consecuentemente, las muestras se agitaron en presencia de calor durante cuatro horas, tiempo suficiente para garantizar el equilibrio. Después de saturarse los solventes, se les retiraron los sólidos suspendidos, es decir, el extracto que no se disolvió, por medio de cuatro minutos de centrifugación y posterior decantación. Luego, las mezclas líquidas se guardaron en tubos *ependorf* de 2 mL y se refrigeraron. Los ensayos de saturación se realizaron por triplicado.

### Figura 5.

*Montaje experimental usado para los ensayos de saturación de etanol acuoso (0, 25, 50, 75 y 96 %v/v de etanol) con extracto hidroetanólico de residuos de destilación de L. origanoides a 30, 50 y 70 °C. Donde (1) cámara de calentamiento, (2) tubos eppendorf, (3) termopar, (4) agitador, (5) pistola de calor, (6) soporte y (7) controlador de temperatura.*



Para tomar las mediciones de absorbancia UV-Vis, cada muestra filtrada se calentó en un baño de agua hasta alcanzar la temperatura a la cual fue obtenida. Después, se diluyó una alícuota en un balón aforado de 5 mL y se midió su absorbancia por triplicado, de la misma manera en que se realizó para cada punto de las curvas de calibración. La dilución se realizó con el fin de que la absorbancia permaneciera en el rango lineal de concentración, establecida por la ley de Lambert-

Beer (Rouessac *et al.*, 2003). Las alícuotas tomadas para las mediciones se especifican en el **Apéndice B**.

### 3.1.3 Cuantificación de fenoles totales

La determinación de la cantidad de fenoles totales se realizó por el método de *Folin-Ciocalteu* y se expresó en términos de concentración del ácido gálico. Las mediciones se llevaron a cabo con un lector de multiplacas *Turner Biosystems Modulus<sup>TM</sup>, Microplate Multimode Reader* (Sunnyvale, CA) en microplacas multipozo de 96 pocillos de 200  $\mu$ L, repartidos en 12 filas y ocho columnas.

Para llevar a cabo la oxidación de los compuestos fenólicos, inicialmente se prepararon el reactivo de *Folin-Ciocalteu* (RFC), la solución básica y las diluciones de las muestras saturadas. Del reactivo de Folin (2N) se midieron 5 mL y se aforaron en un balón de 25 mL con agua tipo I. Se pesaron 0,70 g de NaOH en un balón de 50 mL, el cual se aforó con agua tipo I para obtener una solución 0,35 M. Alícuotas de cada uno de los solventes saturados se diluyeron en los pozos de la microplaca con agua tipo I, y se midieron a una concentración de 150 mg/L. Esa concentración fue elegida a partir de los resultados de una prueba preliminar cuyo objetivo fue reducir la cantidad de mediciones para cada uno de los solventes saturados. Las alícuotas correspondientes a cada saturación se especifican en el **Apéndice C**.

Para la prueba preliminar, el solvente saturado escogido fue el sometido a 50 °C con etanol al 50 % v/v, debido a que se encontraba en un punto central de los experimentos. Con este se preparó una solución *stock* de 1 mg/mL con etanol al 50 % v/v. Consecuentemente, por medio de una pipeta multicanal *Transferpette electronic Band* (Wertheim, Alemania), se tomaron muestras para generar cinco diluciones (50, 100, 200, 300 y 400 mg/L) con agua tipo I dentro de cada uno de los pozos de la microplaca. Se usó una fila de la microplaca para cada concentración, es decir, se

hicieron siete réplicas. La cantidad de alícuota para cada concentración se especifica en el **Apéndice C**.

Se tomaron 50  $\mu\text{L}$  de cada uno de los pozos y se transfirieron a otra microplaca para reacción. Posteriormente, se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de solución RFC y, luego, se completaron 200  $\mu\text{L}$  con solución básica. Esta última adición se realizó rápidamente debido a que, al añadirse el NaOH, la oxidoreducción iniciaba. Finalmente, se introdujo la placa en el lector para medir la absorbancia de cada uno de los pozos a una longitud de onda de 750 nm, bajo una temperatura de 25°C.

El mismo método de Folin se aplicó a sustancia patrón de ácido gálico *Merck* (Darmstadt, Alemania) para generar una curva de equivalencias. Esta correlación fue hecha con concentraciones desde 5 hasta 70 mg/L a partir de una solución *stock* en etanol absoluto de 2 mg/mL.

### **3.2 Cinética de extracción para diferentes concentraciones de etanol acuoso y temperaturas**

Conocidos los límites de solubilización del extracto y de sus fenoles en los solventes, se realizaron extracciones con diferentes relaciones sólido-líquido (1/5, 1/10, 1/15, 1/20 y 1/25 g/mL) bajo distintas temperaturas de extracción (30, 50 y 70 °C) para estudiar el comportamiento de extracción en función del tiempo. Se ajustó la cinética extractiva de los compuestos presentes en el residuo de destilación de *L. origanoides* por medio de diferentes modelos semiempíricos. En esta parte del trabajo, se usó etanol acuoso al 25 % v/v de etanol, en vista de sus resultados en las pruebas de solubilidad, (*cf.* sección 4.1.3.3).

### 3.2.1 Extracción sólido-líquido en función del tiempo

La extracción se realizó en frascos ámbar sellados dentro de un recipiente contenedor de agua, para la cual se mantuvo constante la temperatura por medio de una plancha de calentamiento con controlador de temperatura *Daihan, MaXtir™ MSH500* (Daejeon, Corea del sur).

Las extracciones se hicieron fijando 10 mL de solvente y cambiando la masa de material vegetal (*i.e.*, 2; 1; 0,67; 0,50 y 0,40 g) para generar las relaciones *MV/ste* 1/5, 1/10, 1/15, 1/20 y 1/25 g/mL, respectivamente. Inicialmente se pesaron las cantidades de sustrato en frascos ámbar de 25 mL.

Una vez que el solvente adquirió la temperatura de extracción, se adicionaron los 10 mL a cada uno de los frascos para posteriormente introducirlos en el baño de calentamiento. Cada frasco fue retirado del recipiente a un tiempo específico. En cada caso el solvente fue separado por filtración, el filtrado fue sometido a cuatro minutos de centrifugación y su posterior decantación. Las muestras obtenidas en el tiempo se guardaron en tubos *ependorf* de 2 mL y se refrigeraron hasta la de medición de su absorbancia. Los tiempos de extracción que se tuvieron en cuenta para modelar la cinética extractiva fueron 5, 15, 30, 60, 90, 120 y 180 min.

### 3.2.2 Absorbancia UV-Vis de muestras

Cada muestra de los experimentos de cinética se calentó en un baño de agua hasta alcanzar la temperatura de su ensayo de extracción. Luego, se diluyó y se midió su absorbancia de la misma manera en que se realizó con los solventes saturados. Las alícuotas usadas para las diluciones se especifican en el **Apéndice D**.

### 3.2.3 Ajuste a modelos cinéticos

Los datos de las concentraciones del extracto para cada uno de los solventes se ajustaron a tres modelos encontrados en la literatura para describir cinética extractiva, (*i.e.*, difusión parabólica, teoría de película y ley de velocidad de segundo orden). Para realizar el ajuste de parámetros de

los modelos a partir de los datos experimentales, se implementó una hoja de cálculo en Excel, donde se minimizó la suma de los cuadrados de la diferencia entre los valores predichos y los valores experimentales, usando el método de solución *GRG nonlinear* (gradiente reducido generalizado). Lo anterior se hizo para los modelos de difusión parabólica y teoría de película. Los parámetros de ley de velocidad se determinaron mediante la reescritura de la ecuación, encontrada en la literatura como modelo de Peleg; este último fue ajustado mediante la hoja de cálculo con *GRG nonlinear*. En la **Tabla 1** se muestran las ecuaciones y significado físico de los parámetros de cada uno de los modelos.

**Tabla 1.**

*Modelos semiempíricos aplicados para describir la cinética de extracción sólido-líquido de sustratos vegetales*

Modelo	Ecuación		Notación
Difusión parabólica	$c = A_0 + A_1 t^{1/2}$	Ec. 1	$c$ - concentración del solvente en función del tiempo, mg/mL; $A_0$ - coeficiente relacionado con la etapa de lavado, mg/mL; $A_1$ - constante de velocidad de difusión, mg/mL.min <sup>1/2</sup> ; $t$ - tiempo, min;
Teoría de película	$c = c_s(1 - (1 - b)e^{-k^t})$	Ec. 2	$c_s$ - concentración de equilibrio, mg/mL; $b$ - coeficiente relacionado con la etapa de lavado, $k^$ - constante relacionada con la etapa lenta de la extracción, min <sup>-1</sup> ;
Ley de velocidad de segundo orden	$c = \frac{c_\infty^2 kt}{1 + c_\infty kt}$	Ec. 3	$c_\infty$ - concentración de equilibrio, mg/mL; $k$ - constante de velocidad de extracción, mL/mg.min;
Peleg	$c = \frac{t}{k_1 + k_2 t}$	Ec. 4	$k_1$ - constante de velocidad de extracción, mL.min/mg; $k_2$ - constante relacionada con la concentración máxima, mL/mg.

### 3.2.4 Análisis factorial multinivel de los parámetros cinéticos

Los experimentos se realizaron siguiendo un diseño experimental de dos factores con diferentes niveles y dos réplicas en los puntos extremos y el punto medio de cada combinación. Se midieron cinco niveles para la relación *MV/ste* y tres para la temperatura. Estos factores y su combinación

se estudiaron para determinar los efectos sobre los parámetros cinéticos de los modelos que mejor se ajustan a los datos experimentales. El análisis se realizó por medio del software *STATGRAPHICS Centurion* (Madrid, España).

### 3.3 Sorción en el equilibrio

Para la realización de las curvas de equilibrio de sorción se relacionaron la concentración de equilibrio del soluto en el solvente ( $c_{\infty}$ ) y la concentración del soluto en la fase sólida ( $q_s$ ) en función de diferentes relaciones MV/ste. Esto se hizo para las tres temperaturas empleadas en la sección anterior. Las concentraciones en el solvente se obtuvieron del parámetro  $c_{\infty}$  ajustado a partir del modelo cinético de ley de velocidad de segundo orden.

Para determinar la concentración de soluto en la matriz vegetal, se realizó un triplicado de extracción exhaustiva a una temperatura de referencia de 80 °C, con el fin de conocer la cantidad máxima extraíble del residuo. Se llevó a cabo la extracción de tres gramos de residuo en varias etapas de una hora, usando frascos ámbar de 250 mL e implementando el mismo control de calentamiento de los experimentos de cinética. En las tres primeras se usaron 200 mL de agua, en las dos siguientes se usaron 200 mL de etanol al 96 % v/v, y en las últimas cinco se usaron 200 mL de etanol acuoso al 50 % v/v. El criterio para detener este experimento consistió en inspección visual del solvente al final del lavado. El experimento se detuvo cuando el líquido resultó incoloro. Esto ocurrió entre la octava y la novena etapa. Sin embargo, se realizó una más para completar diez extracciones. Finalmente, se realizó la separación de solventes de la misma manera que en la obtención del extracto hidroalcohólico a escala piloto en la marmita, *cf.* sección 3.1.1.2.

### 3.3.2 Ajuste a modelos de sorción

Se usaron los modelos presentados en la **Tabla 2** para ajustar los datos experimentales y generar las isotermas de sorción. El ajuste realizado con cada uno de los modelos se hizo al minimizar la suma de las diferencias entre las cargas de equilibrio experimentales y las predichas con cada modelo. El ajuste de los parámetros se realizó por medio del algoritmo de optimización incluido en la hoja de cálculo de Excel, *GRG nonlinear*.

**Tabla 2.**

*Modelos de sorción para describir el equilibrio de partición del soluto entre el solvente y el sustrato en la extracción sólido-líquido de sustratos vegetales*

<b>Modelo</b>	<b>Ecuación</b>	
Langmuir	$q_{\text{eq}} = \frac{q_s K_L c_\infty}{(1 + K_L c_\infty)}$	<i>Ec. 5</i>
Anti-Langmuir	$q_{\text{eq}} = \frac{q_s K_L c_\infty}{(1 - K_L c_\infty)}$	<i>Ec. 6</i>
Brunauer-Emmett-Teller (BET)	$q_{\text{eq}} = \frac{q_s K_L^a c_\infty}{(1 - K_L^b c_\infty)(1 - K_L^b c_\infty + K_L^a c_\infty)}$	<i>Ec. 7</i>

Donde  $q_s$  es la carga del sólido en la saturación,  $g_{\text{ext}}/g_{\text{inext}}$ ;  $K_L$  representa la constante de equilibrio de adsorción, L/g;  $K_L^a$  es denominada la constante de equilibrio de adsorción para la superficie de la fase sólida, L/g; y  $K_L^b$  para las capas subsecuentes del sólido, L/g.

Las concentraciones del solvente en el equilibrio ( $c_\infty$ ) se tomaron del modelo de ley de velocidad.

La carga de equilibrio ( $q_{\text{eq}}$ ) de material extraíble por unidad de material inextraíble se determinó

por medio de balances de masa que se representan en las siguientes ecuaciones:

$$q_{\text{eq}} = \frac{m_{\text{ext}}}{m_{\text{inext}}} \quad \text{Ec. 8}$$

$$m_{\text{ext}} = \frac{g_{\text{inic}}}{g_{\text{MV}}} - \frac{g_{\text{eq}}}{g_{\text{MV}}} \quad \text{Ec. 9}$$

$$m_{\text{inext}} = 1 - \frac{g_{\text{inic}}}{g_{\text{MV}}} \quad \text{Ec. 10}$$

Donde  $m_{\text{ext}}$  es la masa extraíble del residuo vegetal por unidad de masa de residuo;  $m_{\text{inext}}$  es la masa que no puede ser extraída del material vegetal, sin importar a cuantas extracciones sea sometido ni la relación sólido-líquido usada, por unidad de masa de residuo;  $g_{\text{inic}}/g_{\text{MV}}$  son los gramos de extracto disponibles en el material por gramo de residuo antes de realizarse la extracción, y  $g_{\text{eq}}/g_{\text{MV}}$  son los gramos de extracto en el equilibrio disueltos en el solvente.

## 4. Resultados y discusión

### 4.1 Estudio del agente extractor

#### 4.1.1 Obtención de extracto hidroalcohólico a escala piloto

Se obtuvieron 274,2 g de extracto seco a partir de la ESL de 2,5 kg de residuos de destilación de *L. origanoides*, i.e., 0,11 g<sub>extracto</sub>/g<sub>MV</sub>. El extracto se usó en los ensayos de solubilidad.

Un rendimiento similar obtuvo Córdoba (2019) en su estudio de extracción de *L. origanoides* quimiotipo carvacrol. El rendimiento de extracción reportado fue de 0,12 g<sub>extracto</sub>/g<sub>MV</sub>, aunque las diferencias de ese trabajo con nuestra metodología fueron la concentración de etanol (70 % v/v), la asistencia de ultrasonido y el uso de material no destilado; los valores de rendimiento se encontraron en el mismo orden de magnitud.

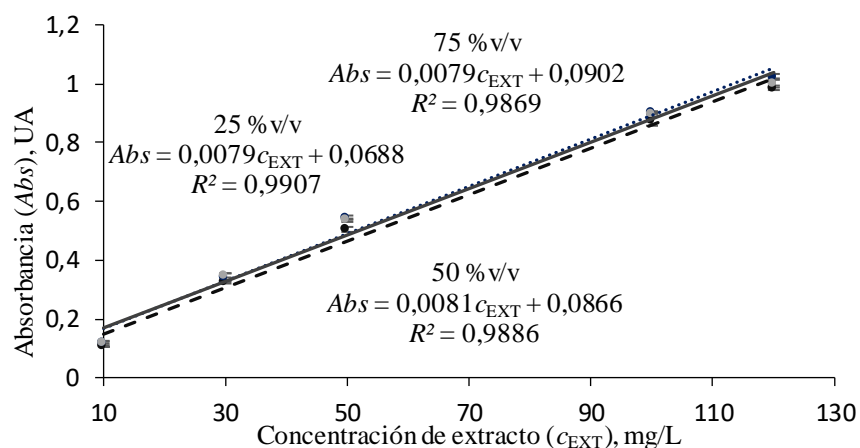
#### 4.1.2 Solubilidad del extracto en diferentes temperaturas y concentraciones de etanol acuoso

##### 4.1.2.1 Curva de calibración

En la **Figura 6** se observa la relación entre la concentración del extracto del residuo de *L. origanoides* y la absorbancia máxima de su espectro UV-Vis, registrada para los 250 nm. El espectro para cada concentración presentó la misma forma, con la diferencia de que a medida que la cantidad de extracto en el solvente era mayor, la absorbancia a 250 nm era más alta (véase **Apéndice B**). Por consiguiente, para la elaboración de la curva, se monitoreó el valor máximo de absorbancia ( $\lambda_{\text{máx}} = 250 \text{ nm}$ ) por ser característico del extracto hidroalcohólico de *L. origanoides*.

**Figura 6.**

Curvas de calibración de extracto de residuos de destilación de *L. origanoides* disuelto en etanol acuoso con composiciones de etanol de 25 %v/v (---), 50 %v/v (—) y 75 %v/v (···), analizados mediante espectroscopia UV-Vis a  $\lambda_{m\acute{a}x} = 250 \text{ nm}$ .



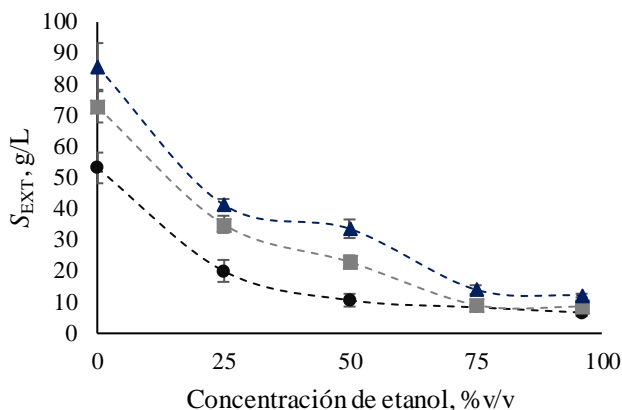
En la **Figura 6** se presentan tres curvas de calibración, correspondientes a solventes con distintas concentraciones de etanol. La desviación estándar para las pendientes de estas curvas fue de 0,12%. Este valor es considerablemente bajo y puede deberse a que las muestras se midieron muy diluidas. Por esa razón, para la determinación de la concentración de extracto sería posible usar las tres correlaciones, pero para este trabajo los cálculos se hicieron con la curva para 25 %v/v de etanol por mostrar el mayor coeficiente de determinación ( $R^2 = 0,99$ ).

**4.1.2.2 Solubilidades**

En la **Figura 7** se muestran isotermas de solubilidad del extracto en función de la concentración de etanol. El aumento de temperatura solubilizó más el extracto. Estudios como el de Zhang *et al.* (2020) también mostraron que la solubilidad de la naringina, una especie de flavanona, en mezclas etanol-agua se incrementa con el aumento de la temperatura; esta, según los investigadores, tiene una relación directa con la entalpía del etanol acuoso y favorece el proceso de disolución.

**Figura 7.**

*Solubilidad de extracto de residuos de destilación de L. origanoides en función de la concentración de etanol acuoso a 30 °C (●), 50 °C (■) y 70 °C (▲).*



El incremento de la concentración de etanol redujo la cantidad de extracto que se disuelve en el agente extractor. Esto es debido a la polaridad o constante dieléctrica, propiedad que ha sido usada para cuantificar la capacidad que tiene un solvente para solvatar y estabilizar cargas (Vasquez, 2003). La constante dieléctrica del etanol ( $\epsilon_r=24$ ) es menor que la del agua ( $\epsilon_r=80$ ). Cuanto más etanol se añade al agua, menor será la polaridad de la mezcla (Griffiths & Pugh, 1978). Consecuentemente, el extracto del residuo de destilación de *L. origanoides* que se obtuvo en la sección 4.1.1 está compuesto por sustancias mayormente afines al agua.

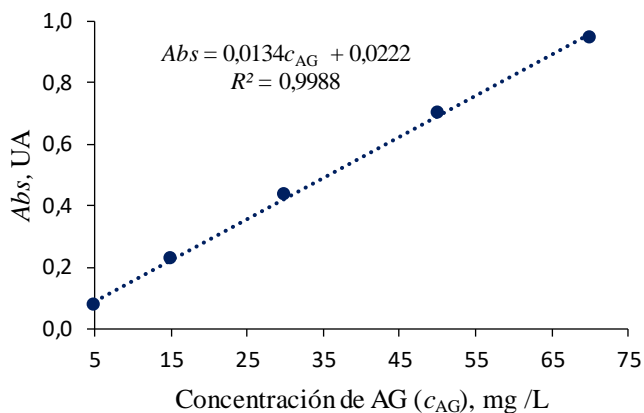
#### 4.1.3 Cuantificación de fenoles totales por el método de *Folin-Ciocalteu*

##### 4.1.3.1 Curva de calibración

La **Figura 8** muestra la correlación generada a partir de ácido gálico (AG). De esta se observa un comportamiento lineal y tiene el rango de absorbancia útil para realizar la cuantificación de fenoles totales presentes en cada solvente saturado con el extracto del residuo de *L. origanoides*. En el **Apéndice C** se encuentra la tabla con las mediciones realizadas.

**Figura 8.**

Curva de calibración para el ácido gálico empleada para cuantificar fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

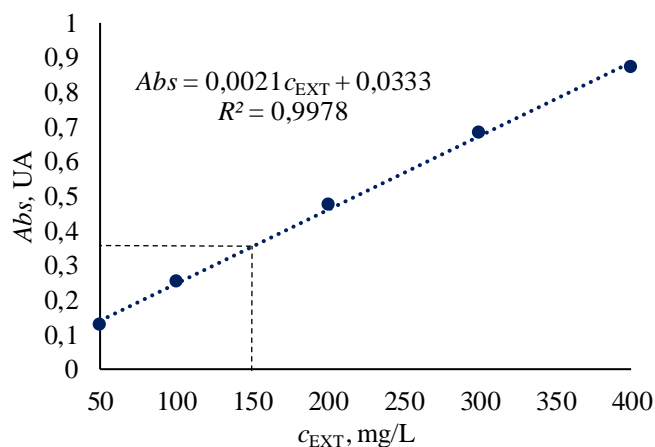
**4.1.3.2 Determinación del rango de concentración para cuantificar fenoles totales**

En la **Figura 9** se observa el comportamiento lineal de la absorbancia de la muestra sometida a la prueba de *Folin-Ciocalteu* en función de su concentración de extracto, calculada a partir de la **Figura 6**. Se realizó esta prueba preliminar con etanol al 50 %v/v saturado a 50 °C por ser un punto central del conjunto de experimentos. El motivo fue determinar un rango de concentración en el que las mediciones de las muestras saturadas estuvieran dentro del rango de aplicabilidad de la curva de calibración con ácido gálico. De esta manera, se evitaría realizar una curva semejante para cada muestra saturada y se reduciría la cantidad de mediciones.

Debido a que la solubilidad del extracto en esta mezcla es menor que la mitad de la registrada con agua pura, se escogió convenientemente el valor de 150 mg/L como la concentración para la medición de las demás muestras saturadas, ya que su absorbancia es de alrededor de 0,35 UA. Consecuentemente, las absorbancias de los demás solventes, al someterse a la cuantificación, estuvieron entre 0,076 y 0,946, valores extremos de la correlación hecha a partir de ácido gálico.

**Figura 9.**

Cuantificación por el método de Folin-Ciocalteu de los fenoles totales presentes en etanol acuoso al 50 %v/v saturado con extracto de residuos de destilación de *L. origanoides* a 50 °C

**4.1.3.3 Concentración de fenoles totales**

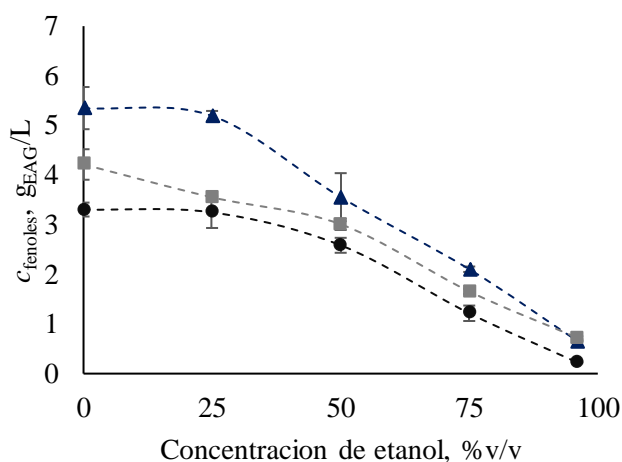
En la **Figura 10** se observa la cantidad de fenoles totales presentes en cada solvente saturado a las tres condiciones de temperatura. Estos valores están expresados en términos de equivalentes de ácido gálico (EAG) debido a que fueron calculados con la curva de calibración hecha con el patrón y por el método de *Folin-Ciocalteu* (ecuación de la **Figura 8**). Todas las muestras fueron cuantificadas con la misma concentración de extracto (150 mg/L) y entraron dentro del rango lineal de absorbancia de la curva de calibración. En el **Apéndice C** se presenta detalladamente la tabla con los valores de la cuantificación.

Como se observó con los resultados de solubilidad del extracto (véase **Figura 7**), los solventes con menor porcentaje de etanol tuvieron mayor poder de solvatación. Sin embargo, para este caso no hay una relación directa con la temperatura. Los solventes saturados a 50 °C tienen concentraciones de fenoles más altas que los saturados a 30 °C y 70 °C. A pesar de que la solubilidad del extracto en todas las mezclas a 70 °C era mayor, la temperatura más alta pudo

promover la solvatación de otros compuestos distintos a los fenoles, lo que generó una nueva distribución de la mezcla que repercutió en una concentración menor de fenoles totales.

### Figura 10.

Concentración de fenoles totales para las mezclas de etanol acuoso saturadas con extracto del residuo de destilación de *L. origanoides* a 30 °C (●), 50 °C (▲) y 70 °C (■).



El solvente que presentó mayor concentración de fenoles fue el agua a 50 °C con  $5,4 \pm 0,4 \text{ g}_{\text{EAG}}/\text{L}$ , seguido del etanol al 25 %v/v a 50 °C con  $5,2 \pm 0,1 \text{ g}_{\text{EAG}}/\text{L}$ . En cuanto a la selectividad hacia los compuestos fenólicos, el etanol acuoso al 25 %v/v tuvo un valor mayor con  $0,17 \text{ g}_{\text{fenoles}}/\text{g}_{\text{no-fenoles}}$ . La selectividad hacia los fenoles con el agua fue de  $0,08 \text{ g}_{\text{fenoles}}/\text{g}_{\text{no-fenoles}}$ , es decir, la mitad de lo que se logró con el etanol acuoso al 25 %v/v. En el **Apéndice C** se muestran con mayor precisión los valores de fenoles totales solvatados y sus selectividades para todas las condiciones estudiadas.

En la obtención de compuestos fenólicos por medio de ESL, no solo son deseables rendimientos altos, sino que también los procesos requieran menos consumo de insumos y energía. Por eso, debido a las diferencias entre la solubilidad de extracto y la selectividad hacia los fenoles, se considera que etanol acuoso al 25 %v/v a 50 °C representa la mejor relación para obtener los mejores extractos del residuo de destilación de *L. origanoides*.

## 4.2 Cinética de extracción en función de las relaciones material-vegetal/solvente y temperaturas

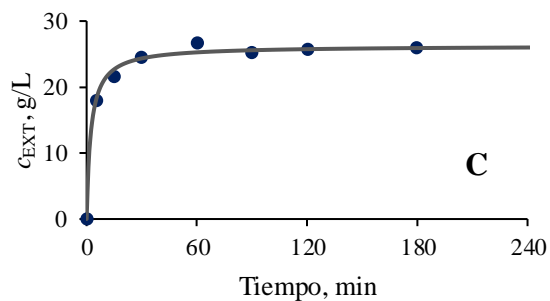
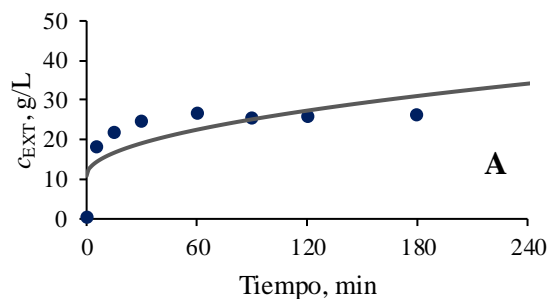
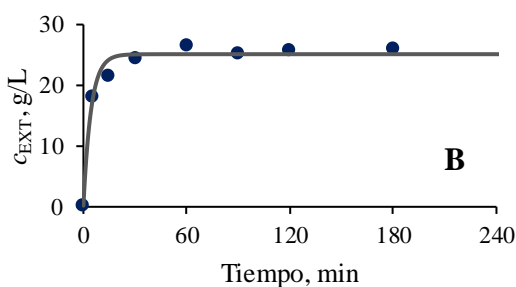
Se determinaron experimentalmente curvas de extracción para describir la concentración del extracto en el etanol acuoso al 25% v/v en función del tiempo para cada combinación de relación material-vegetal/solvente y temperatura.

### 4.2.1 Ajuste de parámetros cinéticos de los modelos a los datos experimentales

En la **Figura 11** se muestra el ajuste a los datos experimentales, realizado para tres modelos que describen la extracción de matrices vegetales. Los datos corresponden a la extracción con una relación MV/Ste de 1/5 g/mL a 50 °C. En el **Apéndice D** se muestran los valores de cada cinética calculados por medio de la curva de calibración del extracto y absorbancia UV-Vis.

#### Figura 11.

Curvas cinéticas de extracción con etanol acuoso al 25 %v/v de residuos de destilación de *L. origanoides* correspondientes a 1/5 g/mL a 50 °C, descritas por los modelos: difusión parabólica,  $R^2=0,58$  (A); teoría de película,  $R^2=0,96$  (B); ley de velocidad de segundo orden,  $R^2=0,98$  (C)



Las curvas experimentales tienen un comportamiento esperado para la extracción con solvente por lotes, el cual fue descrito por Chan *et al.* (2014) en su estudio de modelamientos cinéticos de extracción. La transferencia de masa al inicio del proceso es rápida debido a dos razones. La

primera es que la capa superficial del residuo ha sido molida y el soluto disponible de esta parte del material es retirado por el solvente de forma rápida debido a que no se encuentra con mayores obstáculos. A esta fase de la extracción se le denomina como etapa de lavado. La segunda razón es el gradiente de concentración entre el sustrato y el agente extractor. El solvente usado no contenía extracto disuelto y, entre más grande sea la diferencia de concentración, mayor será la fuerza impulsora del proceso de transferencia de masa (Treybal, 1990). Luego de la parte inicial, la extracción se ralentiza debido a la difusión del soluto a través de los poros del sustrato. Esta fase se considera como la etapa difusiva y es más lenta porque el soluto debe atravesar primero la matriz vegetal antes de llegar al seno del fluido. En tercer lugar, el proceso presenta una etapa de equilibrio donde la concentración no varía significativamente con el tiempo (estado estacionario).

En la **Tabla 3** se presentan los parámetros de cada modelo y los valores respectivos de coeficiente de determinación ( $R^2$ ) que ajustan los datos experimentales para todas las condiciones de extracción.

Los parámetros del modelo de ley de velocidad de segundo orden fueron calculados a partir del ajuste del modelo de Peleg. Este último es la reescritura del primero (véase **Tabla 1**) y presenta los mismos coeficientes de determinación para cada combinación experimental. En el **Apéndice A** se muestran detalladamente las ecuaciones usadas para el cálculo de los parámetros del modelo de Peleg y del de ley de velocidad.

Según lo mostrado en la **Tabla 3**, el modelo de difusión parabólica debería descartarse porque, aunque fue adecuado en los estudios de Kitanovic *et al* en 2008 para la extracción hidroalcohólica de partes aéreas de hipérico (*Hypericum perforatum* L.) en donde su  $R^2$ -promedio fue superior a 0,93, cuando fue aplicado a la extracción de partes aéreas destiladas de *L. origanoides*, el valor del

$R^2$ -promedio fue inferior a 0,63. El modelo no resulta ser preciso para la extracción de esta matriz vegetal ni describe adecuadamente ninguna de las etapas.

**Tabla 3.**

*Parámetros y coeficientes de determinación de los modelos cinéticos de extracción de residuos de destilación de L. origanoides con etanol acuoso al 25 %v/v de etanol.*

<i>T</i>	<i>MV/ste</i>	Difusión parabólica			Teoría de película				Ley de velocidad (2do orden)			
		$A_0$	$A_1$	$R^2$	$c_s$	$b \times 10^2$	$k \times 10$	$R^2$	$k \times 10^2$	$c_\infty$	$R^2$	
°C	g/mL	g/L	gL <sup>-1</sup> min <sup>-1/2</sup>		g/L	-	min <sup>-1</sup>		Lg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	g/L		
30	1/5 <sup>a</sup>	11,1 ± 0,23	1,739 ± 0,002	0,64	27,7 ± 0,24	0,5 ± 0,23	1,8 ± 0,1	0,98	1,0 ± 0,0	29,3 ± 0,24	0,99	
	1/10	6,824	0,878	0,58	14,949	0,17	3,1	0,99	3,736	15,539	0,99	
	1/15 <sup>a</sup>	4,2 ± 0,12	0,66 ± 0,030	0,65	10,4 ± 0,25	1,5 ± 0,96	2,0 ± 0,3	0,95	3,0 ± 0,5	11,0 ± 0,31	0,98	
	1/20	3,391	0,458	0,60	7,608	0,29	3,0	0,97	6,615	7,950	0,99	
	1/25 <sup>a</sup>	2,2 ± 0,13	0,44 ± 0,031	0,83	6,4 ± 0,35	2 ± 2,04	1,7 ± 0,9	0,98	4 ± 2,6	6,8 ± 0,47	0,98	
50	1/5 <sup>a</sup>	10,9 ± 0,89	1,5 ± 0,191	0,58	25,2 ± 0,76	1 ± 1,12	2,2 ± 0,5	0,96	1,6 ± 0,6	26 ± 1,2	0,98	
	1/10	8,01	1,00	0,56	17,25	0,13	3,2	0,99	3,54	17,88	0,99	
	1/15 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,16	0,660 ± 0,009	0,58	11,2 ± 0,16	0,2 ± 0,21	3,1 ± 0,6	0,97	5 ± 1,2	11,6 ± 0,16	0,98	
	1/20	3,32	0,55	0,68	8,39	1,31	2,1	0,94	3,75	8,90	0,97	
	1/25 <sup>a</sup>	2,87 ± 0,07	0,509 ± 0,004	0,71	7,6 ± 0,17	1,8 ± 0,65	1,8 ± 0,3	0,94	3,5 ± 0,4	8,1 ± 0,17	0,98	
70	1/5 <sup>a</sup>	21 ± 1,35	2,2 ± 0,130	0,45	41,5 ± 0,86	0,0 ± 0,00	3,3 ± 0,2	0,97	2,0 ± 0,4	42,5 ± 0,69	0,96	
	1/10	10,25	1,33	0,58	22,66	0,21	2,9	0,98	2,34	23,55	0,99	
	1/15 <sup>a</sup>	6,6 ± 0,20	0,91 ± 0,010	0,59	15,3 ± 0,13	0,44 ± 0,03	2,2 ± 0,1	0,99	2,5 ± 0,2	16,04 ± 0,08	1,00	
	1/20	5,17	0,66	0,56	11,30	0,17	2,8	0,98	4,64	11,75	0,99	
	1/25 <sup>a</sup>	4,04 ± 0,06	0,591 ± 0,004	0,63	9,53 ± 0,05	0,5 ± 0,13	2,5 ± 0,1	0,96	4,1 ± 0,2	10,03 ± 0,04	0,99	
$R^2$ promedio				0,62					0,97			

<sup>a</sup>  $\bar{x} \pm s$ , (n=3)

Los modelos con una aparente mejor precisión de ajuste a los datos experimentales son la teoría de película y la ley de velocidad. Ambos presentaron un  $R^2$ -promedio mayor que 0,97. Sin embargo, el primero presenta una desviación considerable en el minuto 15 (fase difusiva de la extracción) en comparación con el de la ley de velocidad (véase **Figura 11**). El modelo de teoría de película impone una transición abrupta al finalizar la etapa de lavado, sin describir apropiadamente la etapa difusiva (5-30 min). Su  $R^2$  alto es debido a que la subestimación del minuto 15 es compensada con los demás puntos experimentales. Se observa que no sería pertinente el uso del modelo de teoría de película ya que no es preciso describiendo la etapa de transferencia de masa difusiva.

El modelo de ley de velocidad y el modelo de Peleg, para los cuales se demostró que corresponden al mismo planteamiento matemático (véase **Apéndice A**), se ajustaron con precisión a la extracción del residuo. Estas ecuaciones también han sido útiles para el modelamiento de extracción de otros materiales vegetales. Douglas en 2015 empleó la ley de velocidad para la extracción de la corteza de *Pinus contorta* obteniendo una desviación promedio menor que 8%. Por su parte, Jokic *et al.* en 2010 usaron el modelo de Peleg para soya molida ( $R > 0,985$ ). En perspectiva, parece que los modelos son versátiles y podrían ser usados para diferentes géneros y partes de las plantas.

Por otra parte, como se observó con las solubilidades, la cantidad de soluto disuelto en el equilibrio ( $c_{\infty}$ , valor de la asíntota) es mayor a temperaturas más altas. Este efecto ha sido atribuido a la reducción de la viscosidad del solvente que permite un mayor humedecimiento de los poros del sólido y la consecuente extracción. Además, la adición de calor aumenta la energía cinética de las moléculas y facilita su desprendimiento de las capas de la matriz y su solvatación (Treybal, 1990).

Otra justificación acerca de la observación experimental del aumento del parámetro  $c_{\infty}$  del modelo de la ley de velocidad, a temperaturas más altas es la influencia del potencial químico. El potencial químico es una propiedad intensiva de la materia que se define como el incremento de la capacidad de una sustancia en una fase para hacer trabajo, con base en una mol de sustancia añadida. Esta propiedad gobierna la transferencia de masa de cualquier componente entre fases; representa la tendencia que tiene una sustancia para pasar de una fase a otra. El potencial químico se puede calcular utilizando, entre varias funciones termodinámicas, la de la energía libre de Gibbs ( $G$ ), debido a que es más fácil medir variables como la temperatura y la presión en los procesos. Usar la ecuación termodinámica de  $G$  es conveniente desde el punto de vista práctico y, además, se ajusta a la definición de propiedades parciales, importante para cálculos con reglas de mezcla (Centeno, 1992).

En la extracción de los residuos de destilación de *L. origanoides*, a presión (*ca.*, 1 atm) y temperaturas (30, 50 y 70 °C) constantes, el proceso llega al equilibrio, etapa en la que se considera que los potenciales químicos de las sustancias en ambas fases son iguales y no es perceptible un cambio de concentración en el sistema. En relación con el aumento de la temperatura, el cambio en la energía libre de Gibbs debe aumentar, ya que existe un potencial químico más alto que influye en la transferencia de masa.

#### 4.2.2 Análisis factorial multinivel

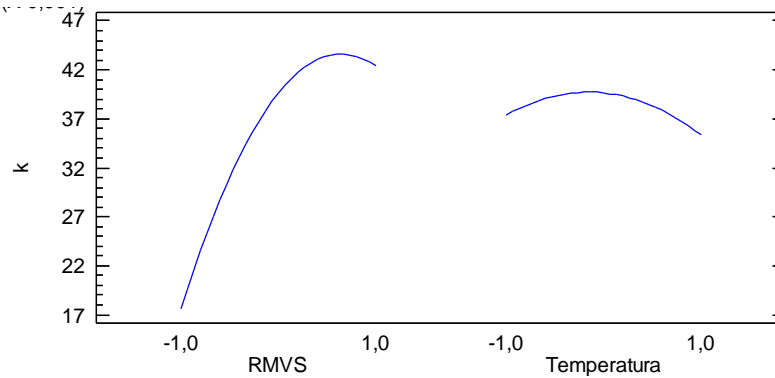
Con base en los criterios anteriores, para continuar con el estudio, se analizaron los parámetros  $k$  y  $c_{\infty}$  del modelo de ley de velocidad de segundo orden como función de la relación  $MV/ste$  y la temperatura. En el análisis factorial multinivel, se determinó que la relación sólido-líquido tiene una influencia estadísticamente significativa sobre el parámetro  $k$ , el cual representa la constante de velocidad de extracción. Por el contrario, la temperatura y la combinación de los dos factores ( $MV/ste$  y  $T$ ) no influyen significativamente sobre ese parámetro. En el **Apéndice E** se muestran con detalle los valores  $P$  del análisis.

En la **Figura 12** se muestra el comportamiento del parámetro  $k$  con la relación  $MV/ste$  (RMVS) y la temperatura. El primer factor está normalizado, siendo “-1” el valor de 1/5 g/mL y “1” el de 1/25 g/mL. El segundo factor también lo está. “-1” corresponde al valor de 30 °C y “1” a 70 °C.

La constante de velocidad, según la figura, es mayor para valores altos de RMVS. Esto se debe a que la fuerza impulsora de la transferencia de masa es la diferencia de concentración entre el sólido y el líquido. A mayor cantidad de solvente, el incremento en la concentración del extracto será menor. Cambios infinitesimales o más pequeños, aumentan la energía libre de Gibbs, la cual describe el potencial químico que gobierna la transferencia de masa desde una fase a otra. En nuestro caso, desde la matriz vegetal hasta el solvente.

**Figura 12.**

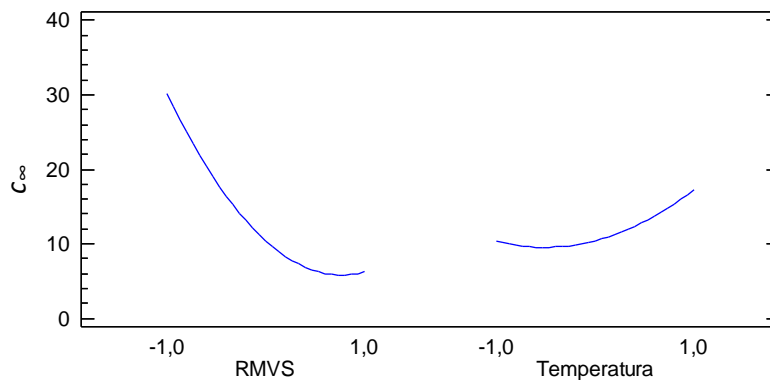
*Efecto de la relación material-vegetal/solvente y la temperatura sobre la constante de velocidad de extracción ( $k$ ) del modelo de ley de velocidad de segundo orden*



En la **Figura 13** se muestra el comportamiento del otro parámetro del modelo, la concentración de equilibrio ( $c_{\infty}$ ). Los factores están normalizados de la misma manera. Con el análisis factorial se determinó que los dos factores y su combinación tienen una influencia estadísticamente significativa sobre el parámetro  $c_{\infty}$ . En el **Apéndice E** se muestran detalladamente los valores  $P$  correspondientes.

**Figura 13.**

*Efecto de la relación material-vegetal/solvente y la temperatura sobre la concentración de equilibrio ( $c_{\infty}$ ) ajustada del modelo de ley de velocidad de segundo orden*



La concentración de equilibrio, según la figura, disminuye con el aumento de la RMVS. Al usar mayor cantidad de agente extractor para la misma masa de MV, los compuestos estarán más

diluidos. Por parte del otro factor, *i.e.*, la temperatura, su incremento permite una mayor extracción de los compuestos del sustrato. La aplicación de calor reduce la viscosidad del líquido y permite una mayor penetración en la matriz vegetal. Además, aumenta la energía de las moléculas para generar una mayor difusión (Treybal, 1990). Debido a esto, la concentración de equilibrio tiene una dependencia directa con la temperatura.

### **4.3 Sorción en el equilibrio**

#### **4.3.1 Extracción exhaustiva**

Se obtuvieron  $0,75 \pm 0,03$  g de extracto seco a partir de la extracción exhaustiva de tres gramos de residuos de destilación de *L. origanoides* a la temperatura de referencia ( $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). A esa condición de temperatura es extraíble de manera rigurosa aproximadamente el 25% del MV destilado, es decir, en cada gramo de material seco hay aproximadamente 0,25 g de compuestos extraíbles. Este valor relativo representa la carga inicial del sólido soluble en el proceso de extracción y a partir de este se calculó la cantidad de compuestos retenidos en el material vegetal para cada punto experimental de la sorción.

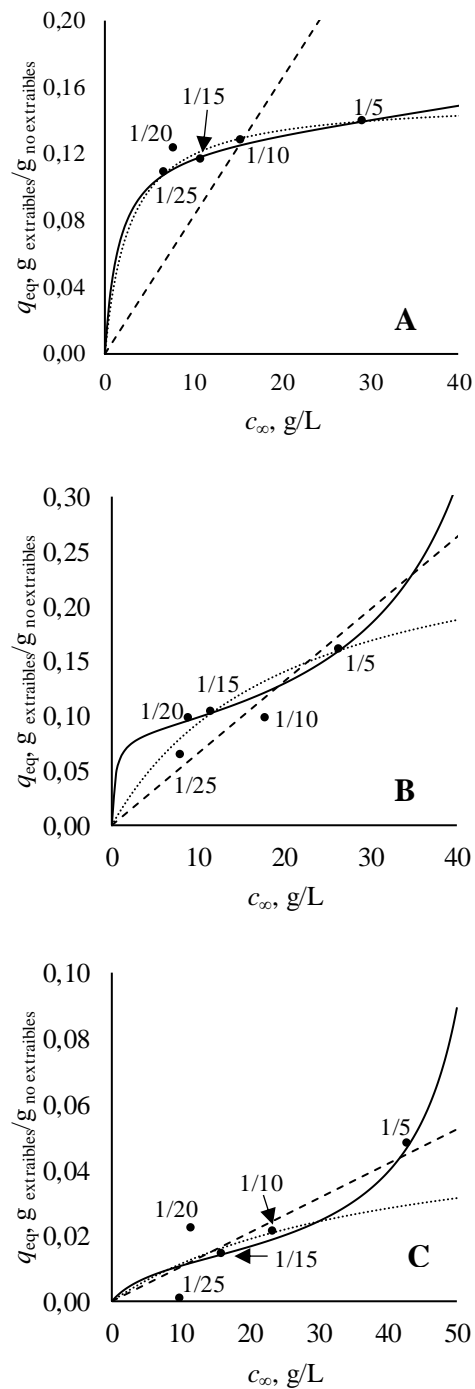
#### **4.3.2 Isotermas de sorción**

Las concentraciones de equilibrio de extracción ( $c_{\infty}$ ), determinadas por el modelo de la ley de velocidad para cada relación  $MV/ste$  y temperatura, fueron usadas para los cálculos de los puntos experimentales de sorción con las ecuaciones **8-10**. Cada punto relaciona la concentración de soluto en la fase líquida ( $c_{\infty}$ ) y en la fase sólida ( $q_{eq}$ ) en condición de equilibrio y representa un límite de partición de los compuestos extraíbles de la matriz destilada de *L. origanoides* para una ESL por lotes. Estos puntos fueron modelados por medio de modelos de isotermas Langmuir, anti-Langmuir y BET con las ecuaciones **5-7** y describen la sorción de los compuestos a  $30$ ,  $50$  y  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  (véase

**Figura 14).** Los ajustes fueron realizados en hojas de Excel usando el algoritmo de optimización GRG *Nonlinear*.

**Figura 14.**

*Isotermas de sorción ajustadas a los datos experimentales obtenidos a 30 °C (A), 50 °C (B) y 70 °C (C) por medio de los modelos BET (—), Langmuir (···) y anti-Langmuir (---)*



Los cinco puntos experimentales en cada condición describen una curva con un punto de inflexión y muestran indicios de comportamiento semejante al de las isothermas tipo BET. En efecto, para las tres temperaturas, este modelo presentó el mejor ajuste ( $R^2 = 0,82$ ), en comparación con Langmuir ( $R^2 = 0,77$ ) y anti-Langmuir ( $R^2 = 0,79$ ) (véase **Tabla 4**). A bajas concentraciones de soluto, la sorción se comporta como una isoterma tipo Langmuir, pero después de cierto punto, cuando aumenta la concentración en el líquido, se comporta como una de tipo anti-Langmuir.

**Tabla 4.**

*Parámetros ajustados para los modelos de sorción del residuo de destilación de L. origanoides*

Temperatura, °C	BET				Langmuir			Anti-Langmuir		
	$q_{eq}$	$K_L^a$	$K_L^b$	$R^2$	$q_{eq}$	$K_L$	$R^2$	$q_{eq}$	$K_L$	$R^2$
	$g_{ext}/g_{inext}$	L/g	L/g	-	$g_{ext}/g_{inext}$	L/g	-	$g_{ext}/g_{inext}$	L/g	-
30	0,129	0,631	0,004	0,8137	0,153	0,358	0,7862	54,801	0,000	0,7955
50	0,083	2,613	0,018	0,8109	0,283	0,049	0,7297	220,425	0,000	0,7752
70	0,013	0,190	0,017	0,8225	0,056	0,026	0,8023	61,494	0,000	0,8270
<b><math>R^2</math> global</b>	0,8157				0,7727			0,7992		

La aproximación termodinámica, que permite obtener las fórmulas de las tres isothermas de equilibrio sólido-líquido, limita precisamente a que los modelos sean usados para soluciones diluidas (véase **Apéndice F**). Cuando las concentraciones son altas, el líquido se comporta como una solución no ideal debido a que los coeficientes de actividad de las especies en solución son dependientes de la concentración (Guiochon *et al.*, 2006). Esto nos hace cuestionarnos si la razón por la que los  $R^2$  de las isothermas ajustadas no superaron el valor de 0,82 sea debido a que se obtuvieron de la extracción del residuo de destilación de *L. origanoides* los valores altos de concentración.

Por otra parte, la **Figura 14** también muestra que, a menor RMVS y mayores temperaturas en la extracción, el residuo vegetal es mejor despojado. Esto se debe a la diferencia de concentración de soluto entre el sólido y el líquido que impulsa la transferencia de masa y al aumento de la energía cinética de las moléculas que les permite desorberse de las capas de la matriz vegetal para solubilizarse en el solvente.

## 5. Conclusiones

Se determinaron las solubilidades del extracto del residuo de destilación de *L. origanoides* para diferentes condiciones de temperatura y composición de etanol acuoso. Se evidenció aumento en la solvatación de los compuestos retenidos en el material destilado con la disminución del porcentaje de etanol en la mezcla con agua y con el incremento de la temperatura de extracción. Sin embargo, aunque las temperaturas altas y la ausencia de etanol solubilizó mayor masa de extracto global, la concentración de fenoles totales (compuestos objetivo) fue similar para los ensayos que emplearon etanol al 25 % v/v y agua pura a 50 °C ( $5,2 \pm 0,1$  g<sub>EAG</sub>/L y  $5,4 \pm 0,4$  g<sub>EAG</sub>/L, respectivamente), pero fue mayor que a 70 °C ( $3,6 \pm 0,03$  g<sub>EAG</sub>/L y  $4,2 \pm 0,3$  g<sub>EAG</sub>/L, respectivamente). El etanol acuoso al 25 % v/v de etanol fue el mejor solvente empleado a una condición de 50 °C. Bajo esas condiciones no solo se solubilizó la mayor cantidad de fenoles, sino que también presentó mayor selectividad hacia estos compuestos objetivo en comparación con el agua ( $0,17$  g<sub>fenoles</sub>/g<sub>no-fenoles</sub> y  $0,08$  g<sub>fenoles</sub>/g<sub>no-fenoles</sub>, respectivamente).

El modelo de ley de velocidad de segundo orden se ajustó con precisión ( $R^2 > 0,98$ ) para la cinética extractiva, empleando etanol acuoso al 25 % v/v de etanol, de los residuos de destilación de *L. origanoides* a diferentes condiciones de relación MV/ste (1/5, 1/10, 1/15, 1/20 y 1/25, g/mL) y temperatura (30, 50 y 70 °C). Las magnitudes de los dos parámetros del modelo (*i.e.*,  $k$  y  $c_\infty$ ) son dependientes de las condiciones de operación. La constante de velocidad de extracción ( $k$ ) aumentó con la relación sólido-líquido y está asociada principalmente a la etapa de lavado. La concentración en el equilibrio de extracción ( $c_\infty$ ) depende de la relación MV/ste y la temperatura. El modelo con los parámetros predice apropiadamente la cinética de extracción a diferentes condiciones y representa una herramienta semiempírica útil para estimar los insumos, energía y tiempo en los procesos de extracción necesarios para alcanzar el aprovechamiento integral de la *L. origanoides*.

Los límites de partición del soluto en la fase sólida y en la fase líquida determinados por los modelos presentaron una mayor tendencia al comportamiento hacia una isoterma BET ( $R^2 > 0,81$ ). Para que haya un mejor ajuste, se requiere la consideración de una solución no ideal y realizar los cálculos de los coeficientes de actividad del extracto y del solvente. Los valores aportan al estudio de la técnica y, junto con el modelo cinético, contribuyen con información relevante para simular, escalar y diseñar equipos y procesos que permitan extraer al máximo los fenoles presentes en el residuo de destilación de la *L. organoides*.

### Referencias bibliográficas

- Adouni, K., Bendif, H., Zouaoui, O., Kraujalis, P., Flamini, G., Venskutonis, P. R., y Achour, L. (2022). Antioxidant activity of extracts obtained by high-pressure extraction procedures from *Asparagus stipularis* Forssk. *South African Journal of Botany*, *146*, 789–793. doi:10.1016/J.SAJB.2021.12.027
- Aguilera, J. M. (2003). Solid-Liquid Extraction. En Tzia, C. & Liadakis, G. (Eds.), *Extraction optimization in food engineering* (pp. 52 - 72). Marcel Dekker.
- Arias, A. J., Casas, D., Cáceres, A., Martínez, J. R., Stashenko, E. E., y Villa, A. (2020a). Dynamic modeling and experimental validation of essential oils fractionation: Application for the production of phenylpropanoids. *Computers & Chemical Engineering*, *135*, 106738. doi:10.1016/j.compchemeng.2020.106738
- Arias, A. J., Mejía, J., Córdoba, Y., Martínez, J. R., Stashenko, E. E., y del Valle, J. M. (2020b). Optimization of flavonoids extraction from *Lippia graveolens* and *Lippia origanoides* chemotypes with ethanol-modified supercritical CO<sub>2</sub> after steam distillation. *Industrial Crops and Products*, *146*, 112170. doi:10.1016/j.indcrop.2020.112170
- Arias, J., Martínez, J., Stashenko, E., del Valle, J. M., y de la Fuente, J. C. (2022). Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of pinocembrin from *Lippia origanoides* distillation residues. 1. Multicomponent solubility and equilibrium partition. *The Journal of Supercritical Fluids*, *180*, 105426. doi:10.1016/J.SUPFLU.2021.105426
- Carmona-Hernandez, J. C., Taborda-Ocampo, G., y González-Correa, C. H. (2021). Folin-Ciocalteu Reaction Alternatives for Higher Polyphenol Quantitation in Colombian Passion Fruits. *International Journal of Food Science*. doi:10.1155/2021/8871301

- Centeno, A. (1992). Bases de termodinámica para ingeniería química. Publicaciones Universidad Industrial de Santander (Eds.). Bucaramanga, Colombia.
- Chan, C.-H., Yusoff, R., y Ngoh, G.-C. (2014). Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction. *Chemical Engineering Research and Design*, 92(6), 1169–1186. doi:10.1016/j.cherd.2013.10.001
- Córdoba, Y. (2019). Estudio de la composición química y las actividades antioxidante y fotoprotectora de los extractos de damiana y orégano de monte, cultivadas de Santander. [Tesis de doctorado, Universidad Industrial de Santander, Colombia]
- Crossley, J. I., y Aguilera, J. M. (2001). Modeling the effect of microstructure on food extraction. *Journal of Food Process Engineering*, 24(3), 161–177. doi:10.1111/j.1745-4530.2001.tb00538.x
- del Valle, J. M., Martín, Á., Cocero, M. J., de la Fuente, J. C., y de la Cruz - Quiroz, R. (2019). Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of solids using aqueous ethanol as static modifier is a two-step mass transfer process. *Journal of Supercritical Fluids*, 143, 179–190. doi:10.1016/j.supflu.2018.08.011
- Douglas, G. (2015). *Mathematical Modeling of the Solid-Liquid Extraction of Phenolic-Rich Compounds from Pinus contorta Bark*. [Tesis de maestría, University of Toronto, Canadá]. [https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/70714/1/Wright\\_Gregory\\_D\\_201511\\_MAS\\_thesis.pdf](https://tspace.library.utoronto.ca/bitstream/1807/70714/1/Wright_Gregory_D_201511_MAS_thesis.pdf)
- Fuentes, J. L., García, A., Quintero, N., Prada, C. A., Rey, N., Franco, D. A., Contreras, D. A., Córdoba, Y., y Stashenko, E. E. (2017). The SOS Chromotest applied for screening plant

antigenotoxic agents against ultraviolet radiation. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 16(9), 1424–1434. doi:10.1039/c7pp00024c

Fuentes-Gandara, F., Torres, A., Fernández-Ponce, M. T., Casas, L., Mantell, C., Varela, R., Martínez de la Ossa-Fernández, E. J., y Macías, F. A. (2019). Selective fractionation and isolation of allelopathic compounds from *Helianthus annuus* L. leaves by means of high-pressure techniques. *The Journal of Supercritical Fluids*, 143, 32–41.

doi:10.1016/j.supflu.2018.08.004

García, B. H. (1992). Flora medicinal de Colombia: Botánica médica. Tomo II. (pp. 537) Bogotá D.C.: Editorial Tercer mundo.

Griffiths, T. R., y Pugh, D. C. (1979). Correlations among solvent polarity scales, dielectric constant and dipole moment, and a means to reliable predictions of polarity scale values from current data. *Coordination Chemistry Reviews*, 29(2-3), 129–211.

doi:10.1016/s0010-8545(00)82109-8

Guiochon, G., Felinger, A., Katti, A. M., y Shirazi, D. G. (2006). Single-Component Equilibrium Isotherms, *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography* (2<sup>nd</sup> edition, pp.

78-89). Elsevier. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=E-](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=E-mGAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=G.+Guiochon,+A.+Felinger,+A.+M.+Katti,+D.+G.+Shirazi,+Fundamentals+of+Preparative+and+Nonlinear+Chromatography,+Elsevier,+Amsterdam+2006.&ots=rK93kjXbgj&sig=evP-_iybyrIbq49KcZczO8Ur5pE#v=onepage&q&f=true)

[mGAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=G.+Guiochon,+A.+Felinger,+A.+M.+Katti,+D.+](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=E-mGAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=G.+Guiochon,+A.+Felinger,+A.+M.+Katti,+D.+G.+Shirazi,+Fundamentals+of+Preparative+and+Nonlinear+Chromatography,+Elsevier,+Amsterdam+2006.&ots=rK93kjXbgj&sig=evP-_iybyrIbq49KcZczO8Ur5pE#v=onepage&q&f=true)

[G.+Shirazi,+Fundamentals+of+Preparative+and+Nonlinear+Chromatography,+Elsevier,+](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=E-mGAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=G.+Guiochon,+A.+Felinger,+A.+M.+Katti,+D.+G.+Shirazi,+Fundamentals+of+Preparative+and+Nonlinear+Chromatography,+Elsevier,+Amsterdam+2006.&ots=rK93kjXbgj&sig=evP-_iybyrIbq49KcZczO8Ur5pE#v=onepage&q&f=true)

[Amsterdam+2006.&ots=rK93kjXbgj&sig=evP-](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=E-mGAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=G.+Guiochon,+A.+Felinger,+A.+M.+Katti,+D.+G.+Shirazi,+Fundamentals+of+Preparative+and+Nonlinear+Chromatography,+Elsevier,+Amsterdam+2006.&ots=rK93kjXbgj&sig=evP-_iybyrIbq49KcZczO8Ur5pE#v=onepage&q&f=true)

[\\_iybyrIbq49KcZczO8Ur5pE#v=onepage&q&f=true](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=E-mGAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=G.+Guiochon,+A.+Felinger,+A.+M.+Katti,+D.+G.+Shirazi,+Fundamentals+of+Preparative+and+Nonlinear+Chromatography,+Elsevier,+Amsterdam+2006.&ots=rK93kjXbgj&sig=evP-_iybyrIbq49KcZczO8Ur5pE#v=onepage&q&f=true)

Gujar, J. G., Wagh, S. J., y Gaikar, V. G. (2010). Experimental and modeling studies on microwave-assisted extraction of thymol from seeds of *Trachyspermum ammi* (TA).

*Separation and Purification Technology*, 70(3), 257–264.

doi:10.1016/j.seppur.2009.08.005

Jokic, S., Velic, D., Bilic, M., Bucic-Kojic, A., Planinic, M., y Tomas, S. (2010). Modelling of solid-liquid extraction process of total polyphenols from soybeans. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(3), 206–212. doi:10.17221/200/2009-cjfs

Kitanovic, S., Milenovic, D., y Veljkovic, V. B. (2008). Empirical kinetic models for the resinoid extraction from aerial parts of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.). *Biochemical Engineering Journal*, 41(1), 1–11. doi:10.1016/j.bej.2008.02.010

Marina, D., Avella, G., Alberto, C., García, O., y Cisneros, A. M. (22-24 de octubre de 2008). *Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal*. Simposio de Metrología, Santiago de Querétaro, México.

Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., Nuñez, M. J., y Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145 - 171. doi:10.1016/s0308-8146(00)00223-5

Oreopoulou, A., Goussias, G., Tsimogiannis, D., y Oreopoulou, V. (2020). Hydro-alcoholic extraction kinetics of phenolics from oregano: Optimization of the extraction parameters. *I(23)*, 378 – 389. *Food and Bioproducts Processing*. doi:10.1016/j.fbp.2020.07.017

Rouessac, F., Rouessac, F., Ourisson, G., y Cuadros Rodríguez, L. (2003). Análisis químico: métodos y técnicas instrumentales modernas. McGraw-Hill

Sarrazin, S., da Silva, L., de Assunção, A., Oliveira, R., Calao, V., da Silva, R., Stashenko, E.E., Maia, J. G., y Mourão, R. (2015). Antimicrobial and seasonal evaluation of the carvacrol-

chemotype oil from *Lippia origanoides* Kunth. *Molecules*, 20(2), 1860–1871.

doi:10.3390/molecules20021860

Segovia, F. J., Corral, J. J., y Almajano, M. P. (2016). Avocado seed: Modeling extraction of bioactive compounds. *Industrial Crops and Products*, 85, 213–220.

doi:10.1016/j.indcrop.2016.03.005

So, F. V., Guthrie, N., Chambers, A. F., Moussa, M., y Carroll, K. K. (1996). Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonoids and citrus juices. *Nutrition and Cancer*, 26(2), 167–181. doi:10.1080/01635589609514473

So, G. C., y Macdonald, D. G. (1986). Kinetics of oil extraction from canola (rapeseed). *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 64(1), 80–86. doi:10.1002/cjce.5450640112

Soares, B. V., Cardoso, A. C. F., Campos, R. R., Gonçalves, B. B., Santos, G. G., Chaves, F. C. M., Chagas, E. y Tavares-Dias, M. (2017). Antiparasitic, physiological and histological effects of the essential oil of *Lippia origanoides* (Verbenaceae) in native freshwater fish *Colossoma macropomum*. *Aquaculture*, 469, 72–78.

doi:10.1016/j.aquaculture.2016.12.001

Stashenko, E. E. (2009). Aceites esenciales. (1ª ed.)

Stashenko, E. E., Martínez, J. R., Cala, M. P., Durán, D. C., y Caballero, D. (2013).

Chromatographic and mass spectrometric characterization of essential oils and extracts from *Lippia* (Verbenaceae) aromatic plants. *Journal of Separation Science*, 36(1), 192–202. doi:10.1002/jssc.201200877

Stashenko, E. E., Martínez, J. R., Ruíz, C. A., Arias, G., Durán, C., Salgar, W., y Cala, M.

(2010). *Lippia origanoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and

principal component analysis. *Journal of Separation Science*, 33(1), 93–103.

doi:10.1002/jssc.200900452

Stashenko, E. E., Ruiz, C., Muñoz, A., Castañeda, M., y Martínez, J. R. (2008). Composition and antioxidant activity of essential oils of *Lippia origanoides* H.B.K. grown in Colombia. *Natural Product Communications*, 3(4), 1934578X0800300.

doi:10.1177/1934578x0800300417

Treybal, R.E. (1990). Lixiviación. En *Operaciones de transferencia de masa*. (2ª ed., pp 792-845). McGraw-Hill.

Tsibranska, I., Tylkowski, B., Kochanov, R., y Alipieva, K. (2011). Extraction of biologically active compounds from *Sideritis* ssp. L. *Food and Bioproducts Processing*, 89(4), 273–280. doi:10.1016/j.fbp.2010.10.004

Valadez, L., Ortiz, A., Ceballos, G., Mendiola, J. A., y Ibáñez, E. (2018). Valorization of cacao pod husk through supercritical fluid extraction of phenolic compounds. *The Journal of Supercritical Fluids*, 131, 99–105. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2017.09.011>

Velickovic, D., Milenovic, D., Ristic, M., y Veljkovic, V. (2006). Kinetics of ultrasonic extraction of extractive substances from garden (*Salvia officinalis* L.) and glutinous (*Salvia glutinosa* L.) sage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13(2), 150–156.

doi:10.1016/j.ultsonch.2005.02.00

Vicuña, G. C., Stashenko, E. E., y Fuentes, J. L. (2010). Chemical composition of the *Lippia origanoides* essential oils and their antigenotoxicity against bleomycin-induced DNA damage. *Fitoterapia*, 81(5), 343–349. doi:10.1016/j.fitote.2009.10.008

Zhang, J., Zhang, P., Liu, T., Zhou, L., Zhang, L., Lin, R., Yang, G., Wang, W. y Li, Y. (2015).

Solubility of naringin in ethanol and water mixtures from 283.15 to 318.15 K. *Journal of Molecular Liquids*, 203, 98–103. doi:10.1016/j.molliq.2014.12.039

## Apéndices

### Apéndice A. Demostración matemática de la reescritura del modelo de ley de velocidad con el modelo de Peleg

A continuación, se demuestra el planteamiento matemático que demuestra la reescritura del modelo de ley de velocidad con el modelo de Peleg. Además, se muestran las ecuaciones para calcular los parámetros de Ley de velocidad.

#### Modelo de ley de velocidad

El modelo de ley de velocidad parte de la ecuación diferencial que describe el cambio de la concentración en el tiempo con una proporción de factor  $k$

$$\frac{dc}{dt} = k(c - c_{\infty})^2$$

su solución es

$$c = \frac{c_{\infty}^2 kt}{1 + c_{\infty} kt}$$

Multiplicándolo por  $\frac{c_{\infty}^2 k}{c_{\infty}^2 k}$

$$c = \frac{\frac{c_{\infty}^2 k}{c_{\infty}^2 k} t}{\frac{1}{c_{\infty}^2 k} + \frac{c_{\infty} k}{c_{\infty}^2 k} t}$$

$$c = \frac{t}{\frac{1}{c_{\infty}^2 k} + \frac{1}{c_{\infty}} t}$$

Comparando la ecuación con el modelo de Peleg

#### Ley de velocidad

$$c = \frac{t}{\frac{1}{c_{\infty}^2 k} + \frac{1}{c_{\infty}} t}$$

$$k = \frac{k_2^2}{k_1}$$

#### Peleg

$$c = \frac{t}{k_1 + k_2 t}$$

$$c_{\infty} = \frac{1}{k_2}$$

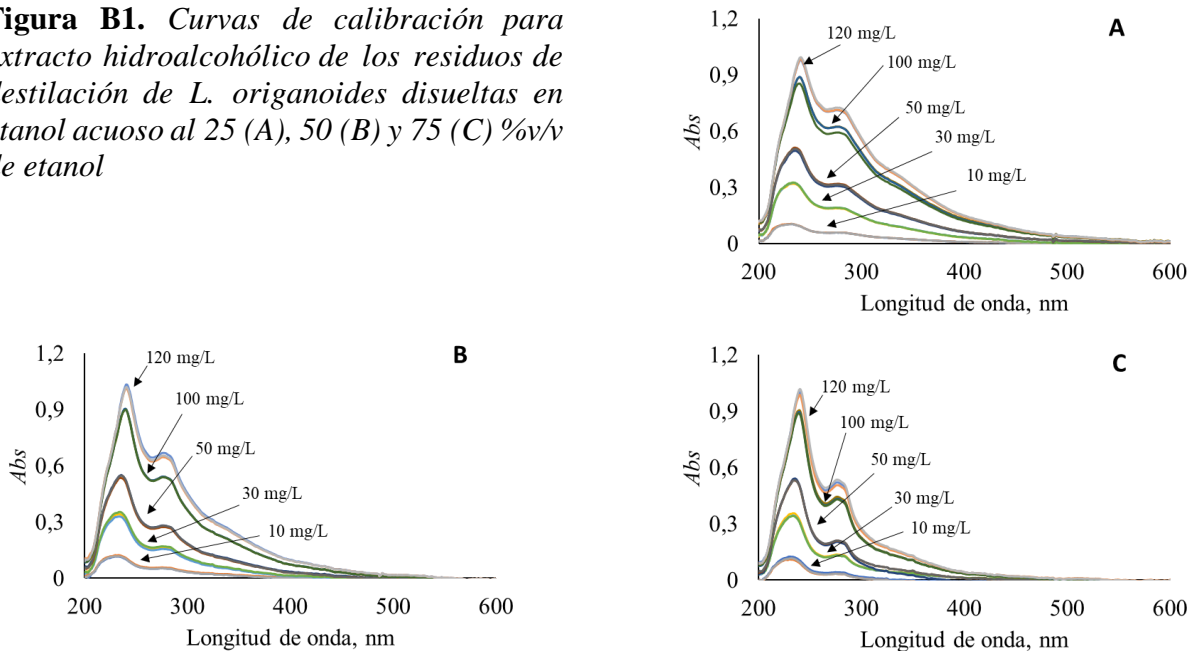
### Apéndice B. Solubilidades del extracto de residuos de destilación de *L. origanoides* en etanol acuoso al 0, 25, 50, 75 y 96 %v/v a temperaturas de 30, 50 y 70 °C

#### Espectros de absorbancia UV-Vis de las curvas de calibración

Las alícuotas tomadas de la solución *stock* (1mg/mL) para la medición de absorbancia UV-Vis de extracto del residuo de destilación de *L. origanoides* a las concentraciones de 10, 30, 50, 100 y 120 mg/L fueron 50, 150, 250, 500 y 600  $\mu$ L.

Las siguientes figuras muestran los espectros de absorbancia UV-Vis de las curvas de calibración de extracto de residuos de destilación de *L. origanoides*, hechas con etanol acuoso al 25, 50 y 75 %v/v de etanol. Las mediciones fueron realizadas por triplicado. La absorbancia de la muestra aumentó junto a la concentración del extracto.

**Figura B1.** Curvas de calibración para extracto hidroalcohólico de los residuos de destilación de *L. origanoides* disueltos en etanol acuoso al 25 (A), 50 (B) y 75 (C) %v/v de etanol



### Valores de absorbancia de las curvas de calibración

La siguiente tabla muestra los valores del máximo de absorbancia (a 250 nm) en el espectro UV-Vis de cada concentración de extracto diluido en los solventes. Se realizó triplicado de medición.

**Tabla B1.** Valores máximos de absorbancia en el espectro UV-Vis del extracto de los residuos de destilación de *L. origanoides*, correspondientes a las curvas de calibración hechas con etanol acuoso al 25, 50 y 75 %v/v

Concentración de etanol, %v/v	Concentración de extracto, mg/L	Réplicas			Promedio, -	Desviación, -
		1	2	3		
25	10	0.10	0.11	0.10	0.10	0.00
	30	0.32	0.33	0.33	0.32	0.00
	50	0.49	0.51	0.51	0.50	0.01
	100	0.89	0.89	0.85	0.88	0.02
	120	0.98	0.98	0.99	0.99	0.01
50	10	0.12	0.12	0.12	0.12	0.00
	30	0.34	0.33	0.35	0.34	0.01
	50	0.55	0.54	0.55	0.54	0.01
	100	0.90	0.90	0.90	0.90	0.00
	120	1.03	1.01	1.02	1.02	0.01
75	10	0.13	0.11	0.12	0.12	0.01
	30	0.36	0.34	0.34	0.35	0.01
	50	0.54	0.53	0.53	0.54	0.01
	100	0.91	0.90	0.89	0.90	0.01
	120	1.00	0.99	1.02	1.00	0.02

### Mediciones de absorbancia UV-Vis de los solventes saturados

En la siguiente tabla se encuentran los valores de las cantidades de alícuota tomadas de cada solvente saturado que fueron usadas para la medición de su absorbancia UV-Vis y los valores de las solubilidades de cada solvente saturado a las tres condiciones de temperatura.

**Tabla B2.** Solubilidades del extracto de residuos de destilación de *L. origanoides* en mezclas de etanol acuoso a 30, 50, 70 °C

Temperatura, °C	Concentración de etanol, %v/v	Cantidad de alícuota, µL	Absorbancia, -		S <sub>EXT</sub>	
			$\bar{x} \pm s$ (n=3)	CV, %	$\bar{x} \pm s$ , g/L (n=3)	CV, %
30	0	6	0,57 ± 0,050	8,19	53 ± 4,9	9,27
	25	7	0,29 ± 0,039	13,54	20 ± 3,5	17,58
	50	15	0,32 ± 0,049	15,22	11 ± 2,0	19,21
	75	25	0,40 ± 0,046	11,44	8 ± 1,2	13,73
	96	30	0,39 ± 0,054	14,14	7 ± 1,1	17,10
50	0	5	0,64 ± 0,040	6,17	73 ± 5,0	6,88
	25	7	0,46 ± 0,030	6,64	35 ± 2,7	7,77
	50	15	0,61 ± 0,050	8,19	23 ± 2,1	9,19
	75	25	0,43 ± 0,039	9,11	9,1 ± 0,98	10,78
	96	30	0,48 ± 0,027	5,72	8,6 ± 0,57	6,65
70	0	5	0,75 ± 0,060	7,97	86 ± 7,5	8,75
	25	7	0,53 ± 0,020	3,75	41 ± 1,8	4,30
	50	15	0,87 ± 0,071	8,21	34 ± 3,0	8,90
	75	25	0,63 ± 0,055	8,86	14 ± 1,4	9,92
	96	28	0,61 ± 0,026	4,26	12,2 ± 0,58	4,78

### Apéndice C. Cuantificación de fenoles totales en etanol acuoso al 0, 25, 50, 75 y 96 %v/v saturados con extracto de residuos de destilación de *L. origanoides*

#### Absorbancias de la curva de calibración con ácido gálico

En la siguiente tabla se muestran los valores de absorbancia de cada concentración de ácido gálico usada para la realización de la curva de calibración de fenoles totales.

**Tabla C1.** Absorbancias de la curva de calibración para el ácido gálico hecha por el método de Folin-Ciocalteu

Concentración de ácido gálico, mg/L	Cantidad de alícuota, $\mu$ L	Absorbancia, -			
		Réplica 1	Réplica 2	Promedio	Desviación
70	140	0.95	0.94	0.94	0.003
50	100	0.70	0.69	0.70	0.006
30	60	0.44	0.44	0.44	0.001
15	30	0.23	0.23	0.23	0.002
5	10	0.08	0.08	0.08	0.004

#### Prueba preliminar de Folin Ciocalteu con etanol acuoso al 50 %v/v saturado con extracto a 50 °C

La prueba preliminar de cuantificación de fenoles totales se hizo con etanol-agua al 50 %v/v saturado con el extracto a 50 °C. Se eligió este solvente saturado por ser el punto central de las condiciones experimentales. Inicialmente se preparó una solución *stock* a 1mg/mL para generar las diluciones. En la siguiente tabla se muestran los valores de absorbancia de las diferentes concentraciones de la saturación.

**Tabla C2.** Absorbancia de etanol acuoso al 50 %v/v saturado con diferentes concentraciones de extracto de los residuos de destilación de *L. origanoides*, medidos por el método de Folin-Ciocalteu

Concentración de extracto, mg/L	Cantidad de alícuota, $\mu$ L	Absorbancia, -
400	80	0.87
300	60	0.68
200	40	0.47
100	20	0.25
50	10	0.12

Se eligió el valor de 150 mg/L como la concentración para usarse con las demás mezclas saturadas y medir su contenido de fenoles. Este valor central permitió que, con los demás líquidos, el valor de absorbancia estuviera acotado al rango descrito por la curva de calibración.

### Concentración de fenoles totales en muestras saturadas

A partir de las solubilidades del extracto de los residuos en las diferentes mezclas, se calcularon las alícuotas necesarias para medir fenoles totales a una concentración de 150 mg/L. La tabla muestra los valores de absorbancia y se observa que estuvieron dentro del rango de la curva de calibración. Los valores resaltados son las mejores condiciones para la solvatación de los fenoles a partir del residuo. El etanol acuoso al 25 % v/v presenta mayor selectividad hacia los fenoles que el agua.

**Tabla C3.** Concentración y selectividad de fenoles de las mezclas de etanol acuoso saturados con extracto de residuos de destilación de *L. origanoides*, medidas por el método de Folin-Ciocalteu

T, °C	Concentración de etanol, %v/v	Cantidad de alícuota, µL	Absorbancia, -		C <sub>fenoles</sub>		Selectividad g <sub>fenoles</sub> /g <sub>no-fenoles</sub>
			x ± s (n=3)	CV, %	x ± s, g/L (n=3)	CV, %	
30	0	94,2	0,15 ± 0,01	3,60	3,3 ± 0,14	4,24	0,07
	25	145,4	0,21 ± 0,02	8,65	3,3 ± 0,31	9,66	0,19
	50	267,4	0,30 ± 0,02	5,40	2,6 ± 0,15	5,83	0,32
	75	603,1	0,32 ± 0,01	3,55	1,2 ± 0,16	12,79	0,17
	96	755,8	0,09 ± 0,01	5,69	0,23 ± 0,017	7,53	0,04
50	0	68,6	0,17 ± 0,01	6,91	5,4 ± 0,42	7,95	0,08
	25	140,7	0,32 ± 0,01	1,81	5,2 ± 0,10	1,95	0,17
	50	230,4	0,35 ± 0,04	12,75	3,6 ± 0,48	13,61	0,18
	75	533,1	0,47 ± 0,01	2,49	2,10 ± 0,055	2,61	0,30
	96	599,6	0,181 ± 0,002	1,01	0,658 ± 0,0076	1,15	0,08
70	0	58,2	0,12 ± 0,01	5,95	4,2 ± 0,31	7,30	0,05
	25	121,2	0,195 ± 0,002	0,81	3,55 ± 0,032	0,91	0,09
	50	148,8	0,20 ± 0,01	2,67	3,0 ± 0,11	13,58	0,10
	75	355,6	0,26 ± 0,01	2,90	1,66 ± 0,053	3,17	0,13
	96	419,8	0,144 ± 0,005	3,25	0,72 ± 0,028	3,84	0,06

**Apéndice D. Cinética de extracción con etanol acuoso al 25 %v/v de los residuos de destilación de *L. origanoides* a diferentes condiciones de relación material-vegetal/solvente y temperatura**

La siguiente tabla muestra las cantidades de alícuota tomadas para las mediciones de absorbancia UV-Vis del extracto tomadas en el tiempo.

**Tabla D1.** *Microlitros de alícuota tomados de extracto en función del tiempo para diferentes relaciones MV/ste y temperaturas*

Temperatura, °C	MV/ste, g/mL	Tiempo, min						
		5	15	30	60	90	120	180
<b>30</b>	<b>1/5</b>	15	15	15	15	15	15	15
	<b>1/10</b>	30	30	30	30	30	30	30
	<b>1/15</b>	45	45	45	45	45	45	45
	<b>1/20</b>	60	60	60	60	60	60	60
	<b>1/25</b>	70	70	70	70	70	70	70
<b>50</b>	<b>1/5</b>	12	12	12	12	12	12	12
	<b>1/10</b>	26	26	26	26	26	26	26
	<b>1/15</b>	40	40	40	40	40	40	40
	<b>1/20</b>	55	55	55	55	55	55	55
	<b>1/25</b>	70	70	70	70	65	65	65
<b>70</b>	<b>1/5</b>	10	10	10	10	10	10	10
	<b>1/10</b>	22	22	22	22	22	22	22
	<b>1/15</b>	36	36	36	34	34	34	34
	<b>1/20</b>	48	48	48	48	48	48	48
	<b>1/25</b>	60	60	60	60	55	50	50

La siguiente tabla muestra las concentraciones de extracto correspondientes a cada combinación de MV/ste y T en cada tiempo; fueron calculadas por medio de la curva de calibración de extracto.

**Tabla D2.** Concentraciones de la fase líquida en la cinética de extracción de los residuos de destilación de *L. origanoides* a diferentes MV/ste y tiempos distintos

Temperatura, °C	Tiempo, min	Material vegetal/ solvente, g/mL							
		1/5*		1/10	1/15*		1/20	1/25*	
		x ± s (n=3), g/L	CV%	x, g/L	x ± s (n=3), g/L	CV%	x, g/L	x ± s (n=3), g/L	CV%
30	5	16,9 ± 0,33	1,9	11,9	7,1 ± 0,28	3,9	6,1	4,0 ± 0,57	14,5
	15	25,2 ± 0,75	3,0	13,5	8,5 ± 0,26	3,1	6,6	5,2 ± 0,12	2,4
	30	25,7 ± 0,68	2,6	14,1	9,7 ± 0,34	3,5	7,3	5,8 ± 0,08	1,3
	60	27 ± 1,6	5,8	14,8	10,7 ± 0,33	3,1	7,5	6,2 ± 0,52	8,5
	90	29,6 ± 0,47	1,6	15,5	10,6 ± 0,26	2,4	8,0	6,5 ± 0,40	6,1
	120	28 ± 1,0	3,7	15,3	10 ± 1,4	13,1	7,9	6,9 ± 0,51	7,4
	180	29,1 ± 0,48	1,7	16,1	11,3 ± 0,19	1,6	8,2	6,7 ± 0,61	9,0
50	5	17,9 ± 0,42	2,3	13,9	8,8 ± 0,53	6,0	6,0	5,1 ± 0,20	3,9
	15	21 ± 1,43	6,7	15,8	10,1 ± 0,66	6,5	6,7	6,2 ± 0,24	3,9
	30	24,3 ± 0,62	2,5	16,7	10,5 ± 0,61	5,8	8,0	6,9 ± 0,35	5,1
	60	26,5 ± 0,40	1,5	16,8	10,8 ± 0,52	4,8	8,3	7,7 ± 0,28	3,6
	90	25 ± 3,09	12,2	17,6	11,5 ± 0,43	3,7	7,9	7,4 ± 0,30	4,1
	120	25,6 ± 0,74	2,9	17,8	12,0 ± 0,42	3,5	9,5	8,2 ± 0,20	2,4
	180	26 ± 2,11	8,1	18,5	11,8 ± 0,37	3,2	9,2	8,5 ± 0,23	2,7
70	5	37 ± 5,6	15,1	17,6	10,6 ± 0,27	2,5	8,7	7,2 ± 0,37	5,2
	15	41 ± 3,4	8,2	20,6	13,9 ± 0,11	0,8	10,5	8,4 ± 0,20	2,3
	30	42 ± 1,8	4,3	22,2	14,8 ± 0,61	4,1	10,7	8,6 ± 0,28	3,3
	60	43 ± 2,7	6,2	22,5	15,1 ± 0,24	1,6	11,1	9,6 ± 0,33	3,4
	90	42 ± 2,0	4,7	22,3	15,5 ± 0,17	1,1	11,3	9,7 ± 0,28	2,9
	120	42 ± 3,0	7,3	22,6	15,8 ± 0,68	4,3	12,4	10,5 ± 0,46	4,3
	180	43 ± 2,6	6,0	25,2	15,9 ± 0,43	2,7	11,6	10,1 ± 0,19	1,9

\* n=3

En la siguiente tabla se muestran los parámetros ajustados de la ecuación de Peleg para modelar la cinética extractiva de los residuos de destilación de *L. origanoides* a diferentes relaciones  $MV/ste$  y temperatura. Con estos y con las ecuaciones mostradas anteriormente, se calcularon los parámetros del modelo de la ley de velocidad.

**Tabla D3.** Parámetros ajustados para el modelo de Peleg a partir de los datos cinéticos de la ESL de los residuos de destilación de *L. origanoides*

Temperatura, °C	$MV/ste,$ g/mL	Peleg		
		$k_1, L.min/g$	$k_2, L/g$	$R^2$
30	1/5	0,116 ± 0,0039	0,0341 ± 0,0003	0.9870
	1/10	0.111	0.064	0.9937
	1/15	0,28 ± 0,038	0,091 ± 0,003	0.9770
	1/20	0.239	0.126	0.9886
	1/25	0,6 ± 0,24	0,15 ± 0,01	0.9805
50	1/5	0,10 ± 0,028	0,038 ± 0,002	0.9802
	1/10	0.09	0.06	0.9944
	1/15	0,15 ± 0,032	0,086 ± 0,001	0.9816
	1/20	0.34	0.11	0.9676
	1/25	0,44 ± 0,038	0,123 ± 0,003	0.9772
70	1/5	0,028 ± 0,0054	0,0236 ± 0,0004	0.9643
	1/10	0.08	0.04	0.9892
	1/15	0,16 ± 0,012	0,0624 ± 0,0003	0.9962
	1/20	0.16	0.09	0.9912
	1/25	0,24 ± 0,014	0,0997 ± 0,0004	0.9857

**Apéndice E. Análisis de varianza de los parámetros cinéticos  
del modelo de ley de velocidad**

El análisis de varianza de los parámetros cinéticos  $k$  y  $c_{\infty}$  correspondientes al modelo de ley de velocidad se realizó por medio de *STATGRAPHICS Centurion*. En las siguientes tablas se presentan los valores  $P$  correspondientes a los factores relación material-vegetal/solvente (RMVS), temperatura y su combinación, que determinan la influencia estadísticamente significativa sobre los parámetros.

**Tabla E1.** Análisis de varianza de la constante de velocidad de extracción ( $k$ )

<b>Source</b>	<b>Sum of Squares</b>	<b>Df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F-Ratio</b>	<b>P-value</b>
A: RMVS + block	0,003003280	1	0,003003280	20,06	0,0001
B: Temperatura + block	0,000023011	1	0,000023011	0,15	0,6984
AA + block	0,000621166	1	0,000621166	4,15	0,0524
AB + block	0,000119109	1	0,000119109	0,8	0,3810
BB + block	0,000079640	1	0,000079640	0,53	0,4726
blocks	0,000132510	0	0,000066255	0,44	0,6474
Total error	0,003743420	25	0,000149737		
Total (corr.)	0,007784480	32			

Un valor  $P$  menor que 0,05 indica que el factor o la combinación influye significativamente sobre la respuesta del experimento. En este caso, solamente el valor  $P$  para la RMVS es menor que el del criterio. Es decir, la RMVS es la única que influye sobre la constante de velocidad de extracción,  $k$ . Por el contrario, la temperatura y la combinación de los factores no influyen significativamente porque presentan valores  $P$  superiores a 0,05.

**Tabla E2.** *Análisis de varianza de la concentración de extracto en el equilibrio ( $c_{\infty}$ )*

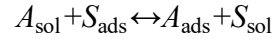
<b>Source</b>	<b>Sum of Squares</b>	<b>Df</b>	<b>Mean Square</b>	<b>F-Ratio</b>	<b>P-value</b>
A: RMVS + block	2803,8	1	2803,8	535,1	0,0000
B: Temperatura + block	262,476	1	262,476	50,09	0,0000
AA + block	405,109	1	405,109	77,31	0,0000
AB + block	78,008	1	78,008	14,89	0,0007
BB + block	85,7508	1	85,7508	16,37	0,0004
blocks	0,334048	0	0,167024	0,03	0,9687
Total error	130,993	25	5,23973		
Total (corr.)	3779,94	32			

Los valores  $P$  del análisis muestran que la RMVS, la  $T$  y su combinación presentan influencia significativa sobre la concentración de extracto en el equilibrio,  $c_{\infty}$ .

**Apéndice F. Aproximación termodinámica para la derivación de la isoterma de Langmuir**

Se considera un sistema de dos componentes con un solvente ( $S$ ) y un soluto ( $A$ ).

El equilibrio solido-liquido puede ser escrito:



El equilibrio corresponde a un intercambio de una molécula de soluto y una molécula de solvente absorbida en la superficie. En el equilibrio, tenemos

$$K = \frac{a_A^{\text{ads}} a_S^{\text{sol}}}{a_A^{\text{sol}} a_S^{\text{ads}}}$$

Asumiendo que ambas fases son ideales, podemos reemplazar las actividades  $a_i^p$  del componente  $i$  en la fase  $p$  por la concentración correspondiente, que puede ser reescrita como

$$\frac{x_A^{\text{ads}}}{x_A^{\text{sol}}} = \frac{K}{1 + (K-1)x_A^{\text{sol}}}$$

Considere ahora una solución que contiene  $n_0$  moles, con fracciones molares  $x_A^0$  y  $x_S^0$  de soluto y solvente, respectivamente. Después de que esta solución ha sido equilibrada con una masa  $m$  de adsorbente, hay  $n^{\text{ads}}$  y  $n^{\text{sol}}$  moléculas (ya sea de soluto o de solvente) en la capa adsorbida y en la solución, respectivamente. La cantidad de un componente adsorbido por un adsorbente sólido en un sistema cerrado corresponde al cambio en la concentración de la solución  $\Delta x_A = x_A^0 - x_A^{\text{sol}}$ . Dado que la solución contiene al menos dos componentes, el soluto y el solvente, la isoterma es una isoterma compuesta y, para un sistema de dos componentes, existe la siguiente relación entre  $\Delta x_A$  y el número de moles del componente A y solvente adsorbidos por unidad de masa de adsorbente,  $n_A^{\text{ads}}$  y  $n_S^{\text{ads}}$ , respectivamente:

$$n_0 \frac{\Delta x_A}{m} = n_A^{\text{ads}} (1 - x_A) - n_S^{\text{ads}} x_A,$$

Para incluir el resultado experimental (*i.e.*,  $n_0 \frac{\Delta x_A^{sol}}{m}$ ), Everett ha modificado

$$\frac{m}{n_0 \Delta x_A^{sol}} x_A^{sol} x_S^{sol} = \frac{m}{n^{ads}} \left( x_A^{sol} + \frac{1}{K-1} \right)$$

En el caso de una solución diluida,  $x_S^{sol} \approx 1$  y  $n_0 \frac{\Delta x_A}{m} \approx n_A^{ads}$ . De este modo, la ecuación se transforma

$$\frac{x_A^{sol}}{n_A^{ads}} = \frac{m}{n^{ads}} \left( x_A^{sol} + \frac{1}{K-1} \right) = \frac{m}{n^{ads}(k-1)} + \frac{m x_A^{sol}}{n^{ads}}$$

Si el soluto es fuertemente adsorbido ( $K \gg 1$ ), la anterior ecuación equivaldría a la isoterma de Langmuir, la cual es convencionalmente escrita así:

$$q = \frac{b q_s C}{1 + b C}$$