

**PROYECTO INTEGRADOR**

**“Diseño de una planta de obtención de ácido carnósico a partir de hojas de romero (*Rosmarinus officinalis*)”**

**Alumno:**Benelli, Federico Ezequiel

Dirección: Ing. Severini, Hernán

Bioq. Turco, Mauricio Daniel

Marzo de 2019

**Índice General**

[1 INTRODUCCIÓN 4](#_Toc535446884)

[2 OBJETIVOS 5](#_Toc535446885)

[2.1 Objetivo general 5](#_Toc535446886)

[2.2 Objetivos específicos 5](#_Toc535446887)

[3 MARCO TEÓRICO 5](#_Toc535446888)

[3.1 Ácido Carnósico 5](#_Toc535446889)

[3.1.1 Generalidades 5](#_Toc535446890)

[3.1.2 Rol Antioxidante 6](#_Toc535446891)

[3.1.3 Roles medicinales 7](#_Toc535446892)

[3.2 Materias Primas 9](#_Toc535446893)

[3.2.1 Cultivo 10](#_Toc535446894)

[3.2.2 Cosecha 11](#_Toc535446895)

[3.2.3 Postcosecha 11](#_Toc535446896)

[3.3 Métodos extractivos 12](#_Toc535446897)

[3.3.1 Operaciones en batch 12](#_Toc535446898)

[3.3.2 Procesos continuos 12](#_Toc535446899)

[3.3.3 Enfoques para el modelado de extracciones de plantas 15](#_Toc535446900)

[3.4 Métodos de purificación 17](#_Toc535446901)

[3.4.1 Extracción Líquido-Líquido 17](#_Toc535446902)

[3.5 Transferencia de masa: Generalidades 18](#_Toc535446903)

[4 CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA 18](#_Toc535446904)

[4.1 Humedad 18](#_Toc535446905)

[4.2 Densidad 18](#_Toc535446906)

[4.3 Contenido de Ácido Carnósico 18](#_Toc535446907)

[5 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN 18](#_Toc535446908)

[5.1 Selección de solvente 18](#_Toc535446909)

[5.2 Cinética de extracción 18](#_Toc535446910)

[6 DISEÑO DE EQUIPO EXTRACTOR 18](#_Toc535446911)

[6.1 Modelado matemático 18](#_Toc535446912)

[6.2 Selección de equipo 18](#_Toc535446913)

[6.3 Diseño de partes complementarias al equipo 18](#_Toc535446914)

[7 DISEÑO DE PROCESO DE PURIFICACIÓN 18](#_Toc535446915)

[7.1 Determinación de etapas de purificación 18](#_Toc535446916)

[7.2 Selección de equipos 18](#_Toc535446917)

[7.3 Diseño de condiciones de operación de equipos 18](#_Toc535446918)

[8 ANÁLISIS DE COSTOS 18](#_Toc535446919)

[8.1 Costos de inversión 18](#_Toc535446920)

[8.2 Costos operativos 18](#_Toc535446921)

[9 CONCLUSIONES 18](#_Toc535446922)

[10 Bibliografía 18](#_Toc535446923)

# INTRODUCCIÓN

El romero (Rosmarinusofficinalis) es una planta aromática perteneciente a la familia de las Lamiaceae, usada desde hace miles de años con propósitos tanto culinarios como médicos. Su actividad biológica está relacionada principalmente con los compuestos fenólicos y volátiles presentes respectivamente en el extracto de romero y su aceite esencial,. Los principales compuestos fenólicos del extracto de romero son carnosol, ácido rosmarínico y ácido carnósico.

El ácido carnósico es un metabolito secundario fenólico diterpeno que se encuentra en las hojas de romero y la salvia común (Salvia officinalis), siendo la primera la especie que en la actualidad se conoce como la fuente más abundante de ácido carnósico. Este presenta propiedades antioxidantes y antimicrobianas que lo vuelven un producto de interés para las industrias de la salud, nutrición, cosmética y alimenticia. Sus propiedades antioxidantes son de sumo interés en la industria alimenticia debido a que presenta mayor actividad que algunos de los antioxidantes sintéticos más utilizados como butil hidroxitolueno (BHT) y butil hidroxianisol (BHA) y mayor resistencia a altas temperaturas que otros compuestos fenólicos diterpénicos, por lo que la Unión Europea, Japón y China ya han catalogado a los extractos de romero como aditivos tecnológicos en función de su contenido de ácido carnósico y carnosol. Dichas propiedades antioxidantes actúan como propiedades fotoprotectoras ante oxidación asistida por UV en fibroblastos dérmicos humanos y resultan de interés en la industria de la salud, junto con propiedades anticarcinogénicas, antitumorales, antiadipogénicas, antiinflamatorias, entre otras.

Actualmente la mayor parte de los extractos utilizados se obtienen mediante extracción con solventes, posterior filtración y evaporación hasta la obtención de un polvo seco.

Este proyecto integrador se centrará en proponer el diseño de una planta de obtención de un extracto rico en ácido carnósico a partir de hojas de romero libres de aceites esenciales (extraídos previamente mediante destilación por arrastre de vapor). Se evaluará una extracción con solvente y luego posteriores operaciones con el objeto de obtener un extracto sólido de una pureza mayor a la obtenida mediante los métodos convencionales que se utilizan en la actualidad.

Estas actividades se realizarán en el Centro de Excelencia de Productos y Procesos (CEPROCOR), como continuación de las Prácticas Profesionales Supervisadas realizadas en la institución bajo un acuerdo de confidencialidad y ajustada a los requisitos de un cliente específico del mismo, el cual es un productor de romero que exporta su cosecha como hojas secas. Este diseño tendrá en cuenta los condicionantes principales como por ejemplo el volumen de producción y las condiciones iniciales de la materia prima. Además, con el fin de evaluar la factibilidad económica, se realizará una estimación de los costos del proyecto.

# OBJETIVOS

## Objetivo general

Diseñar proceso y equipos para la obtención de un extracto de romero con un contenido elevado de ácido carnósico como herramienta de incremento de valor agregado y de minimización de costos de transporte de la producción de un productor local.

## Objetivos específicos

1. Caracterizar la materia prima a utilizar.
2. Diseñar un proceso de obtención de un extracto de romero a partir de hojas.
3. Determinar las características de los equipos que realizarán las operaciones del proceso diseñado.
4. Diseñar el extractor a utilizar en el proceso de extracción planteado.
5. Evaluar los costos de inversión y operativos.

# MARCO TEÓRICO

## Ácido carnósico

### Generalidades

El ácido carnósico (Fig. -X-) es un metabolito secundario fenólico diterpeno que se encuentra en ciertas plantas mediterráneas, también suele ser clasificado como un polifenol debido a que posee grupos fenólicos aunque, según su distribución en células, ruta de biosíntesis, solubilidad y roles biológicos, difieren sustancialmente de la mayoría de los polifenoles y se asemeja más a los tocoferoles y carotenoides. (1)

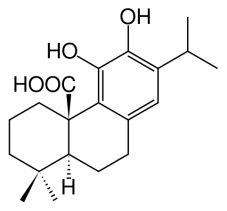


Figura 1 Ácido carnósico

Las plantas mediterráneas se encuentran expuestas a combinaciones de diversas condiciones de estrés ambiental, como baja disponibilidad de agua, elevada iluminación solar, fluctuaciones de temperatura y privación de nutrientes. Esto resulta en un desbalance entre compuestos oxidativos ¿oxidantes? y antioxidantes, resultando en estrés oxidativo. Además de otros compuestos conocidos por sus propiedades de protección de cloroplastos ante el estrés oxidativo, como los carotenoides, tocoferoles, ascorbato y glutatión, algunas de estas plantas evolucionaron sintetizando ácido carnósico, el cual presenta altas propiedades antioxidantes en estudios *in vitrio* (1).

### Rol Antioxidante

El ácido carnósico y el carnosol (primer producto de oxidación del ácido carnósico) han sido sugeridos como los responsables del 90% de la actividad antioxidante de los extractos de romero (2), aunque aún no ha sido verificado sistemáticamente.

En condiciones oxidativas, el ácido carnósico y α-tocoferol presentaron distintas capacidades antioxidantes dependiendo de la composición de la matriz y más aún de las condiciones provistas; en emulsiones a 37 ºC el α-tocoferol preservó mejor los lípidos ante oxidación que el ácido carnósico pero a mayores temperaturas (60 ºC) el α-tocoferol no fue tan eficiente como el ácido carnósico al proteger a los lípidos de la oxidación(3). Esta mayor resistencia al calor implica una habilidad superior para proteger de oxidación. Se han reportado actividades antioxidantes mayores a las de los compuestos sintéticos ampliamente usados Butilhidroxianisol (BHA) y Butilhidroxitolueno (BHQ) en aceites de girasol y de soja(4), (5), (6), (7). Además, mayor actividad que tocoferoles en aceite de maíz (4).

Los extractos de romero son utilizados como antioxidantes en la industria alimenticia desde hace más de 20 años, la identificación del ácido carnósico como el posible contribuidor principal de la actividad antioxidante de estos extractos lo volvió el indicador a utilizar para la estandarización de estos extractos (1). En reconocimiento de su eficiencia fueron clasificados como aditivos alimentarios por la Comisión Europea bajo el número E392, donde se especifican los límites de adición en función de la cantidad de ácido carnósico y carnosol según la matriz alimenticia (8). Las principales matrices alimenticias en que se utiliza son aceites, grasas animales, salsas, productos de panificación, carnes, pescado, entre otros.

### Potenciales roles medicinales

#### Efectos anticáncer

Diversos estudios evidencian la actividad anticarcinogénica y anticancerosa del ácido carnósico, entre las más notorias se encuentran:

* Inhibición *in vitrio* de células originadas por cáncer de colon: estudios so*bre célul*as de cáncer colorectal revelaron una reducción dosis-dependiente en la viabilidad de estas células al ser tratadas con ácido carnósico. La muerte celular fue seguida de la inducción de apoptosis (método utilizado por los organismos para deshacerse de células innecesarias o anormales, normalmente inhibido en el caso de células tumorales) (9)
* Actividad anticáncer en células originadas por cáncer de hígado:
  + Inducción de autofagia (formación de vesículas que digieren distintas partes de la célula, desde agregados proteicos hasta orgánulos dañados) en células de hepatoma humanas, dependiente del tiempo y dosis de ácido carnósico. (10)
  + Reducción de viabilidad de células de hepatoma por inducción de apoptosis, dependiendo de la dosis de ácido carnósico. (11)
  + Protección y contrarresto de agentes carcinogénicos. Evidenciando también un rol preventivo de esta molécula. (12)
  + Efecto de protección ante leucemia: inhibición de la proliferación de células humanas de leucemia por detención de estas en el primer punto de control del ciclo celular (los puntos de control son mecanismos moleculares que verifican el cumplimiento de las condiciones necesarias para permitir el paso de una fase del ciclo celular a otra) (13)
* Otras propiedades:
  + El ácido carnósico presenta otras virtudes terapéuticas al eliminar o reducir el crecimiento de varias líneas celulares de cáncer y por el tratamiento de malignidades relacionadas a la angiogénesis (crecimiento de vasos sanguíneos nuevos que los tumores requieren para crecer), proceso que aparenta ser importante en el crecimiento de crecimiento de tumores malignos y metástasis. (14)
  + Prevención de adhesión y migración de células de melanoma(15)

#### Tratamiento de desórdenes

* Daños de hígado: el ácido carnósico ha sido estudiado en modelos de hepatotoxicidad en ratas inducida por lipopolisacáridos (16), etanol (17) y acetominofen (18). Este normalizó la mayoría de los signos patológicos, incluyendo daño histológico, metabolismo de lípidos y estrés oxidativo/nitrosativo.
* Arterioesclerosis: la Arterioesclerosis a menudo viene acompañada de la deposición de lípidos en la pared interna de arterias. En el tiempo, estos depósitos se ven impregnados progresivamente por fibrinógeno, plaquetas, células sanguíneas y calcio, luego se solidifican causando el bloqueo de arterias(19). Estudios mostraron que el ácido carnósico suprime la expresión de moléculas causantes de la adhesión de células en el endotelio (20)
* Daños cerebrales:
  + Enfermedad de Parkinson: ante diversos modelos de Parkinson inducido el ácido carnósico presentó un efecto neuroprotectivo dependiente de la dosis. (19)
  + Enfermedad de Alzheimer: el Alzheimer es una enferemdad degenerativa que causa la disminución de la capacidad cognitiva y memoria que emerge debido a la excesiva producción y acumulación de proteínas beta-amiloideas en algunas áreas del cerebro. El mecanismo patológico de esta enfermedad implica además el estrés oxidativo e inflamación, estudios demostraron que el ácido carnósico previno la neurodegeneración inducida por beta-amiloide. (19)
* Obesidad: la obesidad es un desorden de la salud causado por la acumulación excesiva de grasas que puede incrementar el riesgo de otras enfermedades como la diabetes, artritis, problemas cardíacos y cáncer. Tratamientos que limitan el progreso de la adipogénesis pueden ser una buena estrategia para curar enfermedades relacionadas a la obesidad. La mayoría de los estudios experimentales han demostrado que el ácido carnósico es un prometedor agente para atenuar desórdenes metabólicos mediante la regulación del metabolismo de ácidos grasos, acumulación de grasa hepática y tolerancia a la glucosa. (19)

## Materias Primas

Hasta el momento solo se ha reportado presencia de ácido carnósico en ocho géneros distintos de plantas, *Salvia, Rosmarinus, Lepechinia, Oreganum, Thymus, Hyssopus, Melissa y Ocimum*; todas pertenecientes a la familia de las *Lamiaceae*. Dentro de estas, las dos primeras se destacan sobre el resto debido a su mayor contenido de ácido carnósico, rondando los 3 a 50 mg g-1 en la especie *Rosmarinus officinalis* y de 0,1 a 21,8 mg g-1 en el caso de *Salvia* y se encuentra principalmente en las hojas de estas plantas (1).

El *Rosmarinus Officinalis* (Fig. -X-)*,* conocido normalmente como romero, es un arbusto aromático, leñoso, de hojas perennes muy ramificado y ocasionalmente achaparrado. Sus hojas, pequeñas y muy abundantes, presentan forma lineal. Si bien es originario de la región del Mediterráneo, se cría en todo tipo de suelos, preferiblemente los secos y algo arenosos permeables, adaptándose muy bien a los suelos pobres; crece en zonas litorales y de montañas bañas ¿bajas?; es una planta de fácil cultivo ya que no necesita de grandes cantidades de agua y requiere un bajo tratamiento con químicos y abono. (9)



Figura 2Rosmarinusofficinalis en Köhler's Medicinal Plants

### Cultivo

Los cultivos de romero pueden realizarse por semillas o por estacas, siendo el segundo el más recomendable para realizar a grandes escalas. El cultivo por estacas consiste en cortar ramas de 0,2 m de largo las cuales se colocan en vivero en épocas entre otoño y primavera, se colocan en hileras distanciadas 0,2 m y se deja un espacio de 0,15 m entre plantas. La densidad de la plantación es de unas 10 a 15 mil plantas por hectárea. Una vez que las plantas emitan raíces se realiza su trasplante al campo. (10)

Los cuidados consisten básicamente en la eliminación de malezas y, de ser necesario, recubrir con tierra. Como es una planta resistente a las sequías, los riegos deben realizarse solo en casos necesarios y en el momento del trasplante, de todas formas, estudios sugieren que el estrés por incremento del ingreso de agua a causa de precipitaciones podría promover la producción de ácido carnósico en la planta. (11)



Figura 3 Plantación de romero

### Cosecha

La cosecha se realiza a partir del segundo o tercer año, al comenzar la floración. Se cortan los tallos con tijeras, favoreciendo el posterior rebrote de matas con tallos jóvenes de poca madera y abundantes hojas. La cosecha puede realizarse anualmente, aunque es preferible realizarla cada año y medio para evitar perjudicar el crecimiento de la planta.

### Postcosecha

Una vez cosechadas las plantas, se realiza una operación de secado, lo normal es que se realice en bandejas, permitiendo el flujo transversal del aire por las hojas. Posteriormente se separan las hojas de los tallos, se limpian, clasifican, seleccionan y embalan. El rendimiento de producción es de entre 1200 a 1600 Kg/ha de hojas secas (10). Actualmente la producción de romero en el país se centra principalmente en las provincias de Córdoba y Mendoza, ocupando entre ambas 45 hectáreas de cultivos de romero (12), esto resultaría en la producción anual de entre 36000 y 48000 Kg de hojas secas de romero.

## Métodos extractivos

La extracción de productos naturales probablemente ha existido desde antes de la conformación de las primeras civilizaciones. egipcios, eenicios, judíos, árabes, indios, chinos, griegos, romanos, mayas y aztecas, todos poseían procesos innovativos de extracción, como la maceración y la destilación en alambiques, utilizados para elaboración de perfumes, medicinas o alimentos (13). La maceración es una extracción sólido-líquido donde la materia prima sólida se trata con un solvente que extrae los compuestos solubles presentes en la misma, mientras que las destilaciones en alambiques consisten en tratar a la materia prima con vapor de agua, el cual arrastra los compuestos volátiles (comúnmente llamados aceites esenciales en el caso de los productos vegetales), separándolos del sólido inicial.

### Factores que influyen en la extracción

* Propiedades de la materia prima

Las propiedades propias de la materia prima (humedad, porosidad, tamaño de partícula, etc.) influyen en la velocidad de extracción. Normalmente se parte del material molido y deshidratado para incrementar el área de contacto entre la materia vegetal y el solvente, y evitando la formación de emulsiones entre el agua presente y el solvente. Mientras más pequeñas sean las partículas de la materia prima, mayor será el rendimiento de extracción debido a la mayor disponibilidad de los solutos gracias al fácil acceso del solvente al centro de la partícula, además, al incrementar el área de contacto entre el material y el solvente se incrementa la velocidad de extracción.

* Naturaleza del solvente

La selección del solvente es fundamental en el proceso extractivo ya que de este dependerá en primera medida el rendimiento de la extracción, en función de la afinidad que tenga con el soluto a extraer. Las principales características a tener en cuenta al momento de seleccionar el solvente son: un alto límite de saturación y selectividad con respecto al compuesto a extraer, bajo costo, fácil de manipular y recuperar, de mínimos riesgos ante una posible contaminación ambiental y seguro de utilizar.

* Agitación

La agitación es de importancia ya que favorece la velocidad de transferencia de masa desde la capa límite entre la materia vegetal y el solvente al mismo al incrementar el valor del número de Sherwood, número adimensional que describe la relación entre la transferencia de masa de manera convectiva y la transferencia de masa de manera difusiva (Ec. -X-).

Ecuación 1 Número de Sherwood

donde Ks es el coeficiente de transferencia de masa entre la materia sólida y el solvente, D el coeficiente de difusión en la capa límite de solvente y Lc la longitud característica de las partículas, definida como el volumen de la partícula sobre el área de intercambio de la misma.

Ecuación 2 Número de Reynolds

donde es la densidad del solvente, la velocidad relativa entre el solvente y las partículas, Lc la longitud característica de las partículas y µ la viscosidad del solvente.

* Temperatura

La temperatura es de suma importancia en los procesos extractivos ya que, en la mayoría de los casos, incrementos de la misma causan un aumento tanto del rendimiento de extracción como de la velocidad de la misma. En el caso de las extracciones de productos naturales es necesario tener los cuidados necesarios según el compuesto que se desea extraer, ya que estos suelen degradarse a temperaturas elevadas.

### Operaciones en batch

Los equipamientos más comunes para las extracciones con solventes en plantas son maceradores, los cuales consisten en tanques agitados con sistemas de control de temperatura. La maceración normalmente finaliza tras un tiempo determinado normalmente dependiente de coeficientes de partición, difusión y transferencia de masa, por lo que típicamente se realizan en etapas múltiples con el fin de alcanzar el máximo rendimiento posible, normalmente los maceradores están equipados con un doble fondo y un filtro para separar el líquido de los sólidos. (14)

Otro método es el de percolación, el cual consiste en el flujo del solvente de extracción a través de un lecho fijo de la matriz sólida, normalmente favorecido por la gravedad. Presenta la ventaja de mantener siempre un alto gradiente de concentración debido al constante ingreso de solvente, lo cual permite un alto rendimiento de extracción.

La extracción de material botánico utilizando fluidos supercríticos es una temática de creciente interés, ya que permite el procesamiento del material a bajas temperaturas y, por lo tanto, disminuyendo la degradación térmica. La extracción utilizando gases comprimidos en condiciones críticas y cercanas a las críticas se basa en propiedades físicas, mientras sus densidades son similares a la de los líquidos, presentan viscosidades bajas y coeficientes de difusión altos como los gases. (14)

### Procesos continuos

Los procesos continuos son utilizados principalmente para producción a gran escala de productos individuales. Los extractores continuos presentan dimensiones relativamente pequeñas y diseños compactos. El diseño del proceso puede diferir según el sentido del flujo de los materiales, si tanto el solvente como el material a extraer se transportan en el mismo sentido, el proceso es cocorriente, en el caso contrario se denominan contracorriente. (14)

La extracción contracorriente permite obtener productos de altas concentraciones y rendimientos gracias a que siempre mantiene un gradiente de concentración elevado entre la materia prima y el solvente, esto permite menores tiempos de extracción y productos finales de mayor calidad a comparación de los procesos batch. En la actualidad son pocas las empresas que manufacturan extractores continuos a contracorriente y la mayoría apunta a la extracción de aceite de oliva, en la tabla –X- se pueden observar los distintos tipos de extractores realizados por estas empresas. (14)

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Extractor** | | | **Capacidad (tpd) ¿toneladas por día? ¿de aceituna molida? ¿de masa total? …** | **Rendimiento** | **Relación volumétrica sólido/líquido** | **Tiempo de residencia (min)** | **Tamaño de partícula (mm)** |
| BMA, Alemania | BMA torre de extracción |  | 4000-17000 | 90 | 3-5 | 90-150 | 5-100 |
| CrowmIron Works, EUA | Model IIITM Percolador |  | Hasta 12000 | 80-99 | 0,8-8 | 30-180 | 1-20 |
| Model IVTM Percolador |  | Hasta 800 | 80-99 | 0,8-8 | 30-300 | 1-20 |
| De Smet, Bélgica | Extractor LMTM |  | 500-5000 | 99 | 1 | 60-120 | 5-10 |
| Extractor ReflexTM |  | 500-12000 | 99 | 1 | 60-120 | 0,3-15 |
| GEA Niro, Dinamarca | Extractor ContexTM |  | 12-24 | >90 | 6 | 30-120 | 0,9-50 |
| Harburg-Freudenberger, Alemania | Extractor de carruselTM |  | 50-5000 | 92-98 | 0,85-1 | 30-90 | - |
| Lurgi, Alemania | Extractor de celda deslizanteTM |  | 100-5000 | 98-99 | - | - | 0,5-20 |

Tabla 1 Extractores sólido-líquido contracorriente - Fuente: “A New Approach for Process Development of Plant-Based Extraction Processes”

### Enfoques para el modelado de extracciones de plantas

#### Modelos estadísticos mediante superficie de respuesta

Estos modelos se utilizan especialmente para procesos de optimización de combinaciones multifactoriales, ayudando a identificar los parámetros significativos en los procesos y poder visualizar sus interacciones mutuas. En el caso de extracciones de plantas, las superficies de respuesta se utilizan para encontrar un valor óptimo de rendimiento de extracción en función de distintas variables, como temperatura, presión, relaciones masa/solvente, entre otras. Estos modelos estadísticos son capaces de describir el proceso solo en un rango predefinido de parámetros mediante el ajuste de datos experimentales y no evidencian información sobre los mecanismos de extracción del material por lo que aportan una base muy restringida pero que permite desarrollar un mejor entendimiento del proceso.

#### Modelos rigurosos

A diferencia de los anteriores, los modelos rigurosos son modelos matemáticos que se basan en las propiedades fisicoquímicas intrínsecas de los componentes que participan del proceso y ecuaciones diferenciales que describen el mismo, se pueden dividir en aquellos que analizan solo al nivel macroscópico (por ejemplo, al nivel del equipamiento) o aquellos que analizan al nivel microscópico (por ejemplo, al nivel de una partícula).

El equipamiento puede ser caracterizado por sus dimensiones geométricas y parámetros de proceso. Por ejemplo, para el caso de una columna, considerando dispersión axial:

Ecuación 3

donde CL, t, Dax, x, , y CS son respectivamente la concentración en la solución, la variable tiempo, el coeficiente de dispersión axial, el caudal volumétrico de solvente, la variable del espacio, el coeficiente de transferencia de masa efectivo y la concentración en el sólido,.

Para un reactor agitado continuamente, el modelo básico sería:

Ecuación 4

En el caso de los modelos a nivel microscópico, los más comunes pueden ser divididos en tres tipos distintos:

* Núcleo decreciente:

El modelo del núcleo decreciente describe la cinética de extracción asumiendo partículas esféricas de las cuales el soluto se separa comenzando por las moléculas presentes en la superficie de la partícula y el resto que se encuentra dentro de la partícula difunde hacia el exterior a medida que el solvente avanza hacia el centro, por lo que el frente de moléculas de soluto disminuye en sentido al centro de la partícula, donde este se asemeja a un núcleo disminuyendo su tamaño. El proceso se considera finalizado cuando el radio del núcleo es igual a cero y puede describirse mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 5

donde q es la masa de soluto no extraída, r el radio del núcleo y kf una constante de transferencia de masa.

* Células rotas e intactas:

Debido a pretratamientos mecánicos como la molienda algunas de las células que contienen en soluto de interés son destruidas, lo que lleva al modelo de las células rotas e intactas. Este modelo asume que el soluto de las células rotas está más accesible que el de las células intactas donde debe atravesar la pared celular, por lo tanto, las curvas de extracción pueden dividirse en tres secciones:

* + - Velocidad de extracción constante: Las partículas están cubiertas con el soluto libre y la mayor resistencia a la transferencia de masa se encuentra en la fase del solvente.
    - Velocidad de extracción nula: El soluto libre se disuelve inmediatamente en el solvente de extracción al entrar al extractor y el soluto ligado comienza a difundir al solvente.
    - Velocidad limitada por difusión: El soluto se encuentra totalmente libre y la velocidad de extracción es limitada por la difusión dentro de la partícula.
* Equilibrio Adsorción/Desorción:

Este modelo consiste en asumir que las partículas de sólidos tienen poros a los cuales se encuentra adsorbido el soluto de interés. Para la extracción sólido-líquido el solvente debe difundir a través de la capa externa de la partícula y a través del poro, extrayendo el compuesto y luego retornando a la fase líquida. Este proceso puede ser descripto mediante distintas ecuaciones, donde algunas de ellas son:

Ecuación 6 Isoterma de Henry

Ecuación 7 Isoterma de Freundlich

Ecuación 8 Isoterma de Langmuir

Ecuación 9 Isoterma de BET

## Métodos de purificación

Una vez obtenido el extracto, es importante separarlo lo más posible de aquellas impurezas que no presentan valor económico. En el caso de los productos naturales, las operaciones de purificación más comunes son la extracción líquido-líquido, precipitaciones, cristalizaciones y cromatografía líquida:

La extracción líquido-líquido se fundamenta esencialmente en la diferencia de solubilidades entre dos solventes que presenta el producto de interés con respecto a las impurezas y esta consiste en la mezcla íntima entre el solvente extractor y el solvente original hasta llegar a una concentración de equilibrio, la cual se ve identificada por la constante de reparto K­D de la siguiente manera:

Ecuación 10

donde es la concentración de equilibrio del soluto “a” en el solvente extractor y es su concentración de equilibrio en el solvente original.

Las cristalizaciones son procedimientos de purificación donde se obtiene un sólido cristalino a partir de una disolución. En esta operación los iones y/o moléculas forman una red cristalina en la cual se forman enlaces hasta llegar a formar cristales, de esta forma puede separarse un compuesto de interés del resto de los compuestos presentes en la disolución. Las cristalizaciones se realizan partiendo de una solución concentrada del compuesto de interés a la cual se le pueden realizar distintos tratamientos:

* Someterla a bajas temperaturas para disminuir la solubilidad del compuesto de interés en el solvente, causando su cristalización.
* Agregado de un solvente miscible con el original en el cual el compuesto de interés sea insoluble, causando la cristalización del mismo.
* Evaporación parcial del disolvente, causando la concentración del soluto y su posterior cristalización al superar la concentración de saturación.

En los tres casos descriptos, para que la separación sea efectiva es necesario que los cambios realizados afecten en mayor manera al compuesto de interés con respecto a las impurezas. Nótese que la separación también es efectiva si los cambios realizados afectan a las impurezas en lugar de al soluto de interés, a diferencia de que este quedaría en solución en lugar de cristalizar.

Las precipitaciones son similares a las cristalizaciones, a diferencia de que se realizan mediante el agregado de otro compuesto, el cual al interaccionar con el soluto causa su precipitación como un sólido que puede o no ser de estructura cristalina.

La cromatografía líquida es un método de separación de mezclas complejas basado en el principio de retención selectiva entre dos fases de los distintos compuestos presentes, una de estas fases se mantiene estática y es denominada fase estacionaria mientras la otra, denominada fase móvil, fluye a través de la fase estacionaria arrastrando los compuestos los cuales son retenidos diferencialmente a la fase estacionaria en función de sus coeficientes de reparto entre ambas fases. Los compuestos con mayor afinidad a la fase estacionaria son retenidos a la misma por tiempos mayores que aquellos que tienen menor afinidad, dando como resultado una separación en bandas de los distintos compuestos presentes en la mezcla inicial. Los distintos tipos de cromatografía líquida pueden clasificarse de diversas formas, la más habitual es en base a la naturaleza de la fase estacionaria, ya que esta es impone fundamentalmente el mecanismo de separación, pueden enumerarse cuatro tipos distintos:

* Cromatografía de adsorción:

La fase estacionaria es un adsorbente y la separación se basa en repetidas etapas de adsorción-desorción.

* Cromatografía de reparto:

La separación se basa en un reparto del soluto entre la fase móvil y la fase estacionaria según las distintas solubilidades del mismo.

* Cromatografía de intercambio iónico:

En este caso la fase estacionaria presenta en su superficie grupos ionizados capaces de retener selectivamente a iones de carga opuesta presentes en la fase móvil.

* Cromatografía de exclusión molecular:

La fase estacionaria es un material poroso de tamaño de poro controlado, esto permite que ciertas moléculas entren a los poros de manera selectiva en función del tamaño, reteniendo a las moléculas más pequeñas por más tiempo mientras las más grandes son arrastradas por la fase móvil.

# CARACTERIZACIÓN DE MATERIA PRIMA

## Humedad

La humedad de la materia prima se determinó en las instalaciones de CEPROCOR utilizando el equipo Sartorius MA 45 (Fig -X-) en el cual se colocan aproximadamente 2 gramos de muestra que son pesados exactamente por el equipo, el cual aumenta gradualmente la temperatura, evaporando el agua presente hasta peso constante y posteriormente pesa la masa del material secado. El ensayo se realizó por duplicado y los porcentajes se calcularon según la siguiente ecuación:

Ecuación 11

donde %H es porcentaje de humedad, M0 es masa inicial y Mf es masa final de la muestra. Se obtuvo un valor de humedad de 8,4 ± 0,3 % p/p



Figura 4 Sartorius MA 45

## Densidad

### Densidad real

La densidad real se determinó mediante la medición del volumen ocupado por una masa compactada de hojas molidas a polvo utilizando un molino de martillos (-X- molino del ICTA) con una malla de 0,012 mm en una probeta calibrada de 10 mL. El ensayo se realizó por cuadriplicado variando aleatoriamente la masa de hojas y se calculó mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 12

El valor obtenido de densidad fue de 557,8±34,9 kg/m3



Figura 5Determinación de densidad real

### Densidad aparente

La densidad aparente se determinó mediante la medición del volumen ocupado por una masa de hojas enteras en una probeta de 500 mL. Se midieron los volúmenes ocupados por las hojas simplemente depositadas, depositadas y asentadas por golpear ¿lateralmente, desde la base? reiteradas veces la probeta y tras compactar manualmente las hojas dentro de la misma. Los tres ensayos fueron realizados por triplicado y las densidades aparentes se calcularon con la ecuación -X- ya señalada para la densidad real.

Los valores obtenidos fueron de 134,4 ± 20,4 Kg/m3, 161,4 ± 4,2 Kg/m3 y 193,3 ± 10,1 Kg/m3 para las hojas depositadas, tras golpear la probeta y compactadas manualmente, respectivamente.



Figura 6 Determinación de densidad aparente

## Contenido de ácido carnósico

Las muestras de hojas secas de romero fueron molidas a polvo utilizando una picadora de alimentos marca Moulinex®, posteriormente se pesaron 100 mg del polvo a los cuales se les realizó una extracción asistida por ultrasonido utilizando un equipo Cole-Parmer® Ultrasonic Cleaner Model 08892-06; como solvente de extracción se usaron 100 mL de una mezcla etanol/eetanol/iso-propanol 90/5/5 y el proceso de extracción fue de una hora y media.

El contenido de ácido carnósico fue determinado mediante cromatografía líquida de alta performance (HPLC), en un equipo SHIMADZU® con dos bombas LC-10AS, detector UV-Visible SPD-10AV operando a 230 nm y controlador bus a computadora CBM-20A con una columna Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4,6 x 250 mm, 5µm), las inyecciones fueron de 20 µL y la fase móvil fue una mezcla de acetonitrilo y agua en una relación 7:3 respectivamente más 1,2 mL de H3PO4 por litro de solución a un flujo de 0,8 mL/min de manera isocrática durante 20 minutos. El ensayo fue realizado por triplicado.



Figura 7 Soluciones tras la extracción de ácido carnósico



Figura 8 Equipo HPLC Shimadzu

Para cuantificar el ácido carnósico extraído se realizó una curva de calibración con soluciones de concentración conocida preparadas a partir de un estándar comercial Extrasynthese® de ácido carnósico con pureza > 90%. Se obtuvo una relación lineal entre el área medida de cada solución de estándar con respecto a su concentración con un R2 aceptable.

Figura 9 Curva de calibración de soluciones de estándar

El valor de contenido de ácido carnósico fue de 6,06 ± 0,04 % en base húmeda.

## Distribución de tamaños de partícula

Debido a que las hojas de romero presentan una forma irregular se optó por realizar un análisis mediante la utilización de un software de procesamiento de imágenes el cual, a partir de una fotografía, ajusta los elementos a una forma elíptica, describiendo valores de longitud de los ejes de la misma.

Se utilizó el software ImageJ debido a que es un software de dominio público y de versátil uso, este calcula con gran facilidad valores de distancias en píxeles, así como áreas específicas y ángulos, previa detección de contornos. Además, si se tiene una referencia en la imagen se puede convertir la escala en píxeles a escala en unidades de longitud.

Se tomó una muestra de la materia prima mediante cuarteo hasta llegar a un volumen posible de medir, posteriormente se tomaron fotografías en fondo blanco utilizando una cámara en un ángulo de 90° con respecto a la superficie a fotografiar, sostenida por un soporte.

Las fotografías se procesaron utilizando el software mencionado, en primera medida se convierten en imágenes de 8-bits a blanco y negro (Fig. -X-), posteriormente se aplica un umbral en función de la intensidad del color (Fig -X-) y finalmente se realiza la detección de contornos con inmediato reporte de los valores de longitud de los ejes de las elipses (Fig –X-).

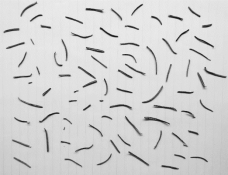


Figura 10 Imagen de 8 bits de hojas



Figura 11 Imagen tras aplicar umbral



Figura 12 Detección de contornos

Los valores obtenidos se analizaron utilizando el software InfoStat y presentaron factores de asimetría de –0,38 y -0,40 para el eje menor y mayor, respectivamente, por los que se consideró una distribución de Weibull sesgada a la izquierda en ambos (Fig -X- y -X-), esto puede ser explicado al hecho de que las hojas presentan una distribución normal de tamaños la cual se ve sesgada debido a roturas debido a las distintas manipulaciones desde su momento de recolección, aumentando la proporción de hojas de menor tamaño.

Los valores obtenidos fueron de 1,4± 0,3 mm para el ancho y 10,5 ± 3,4 mm para el largo.

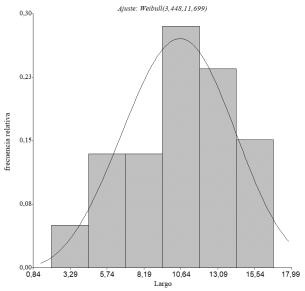


Figura 13 Distribución de largo de hojas

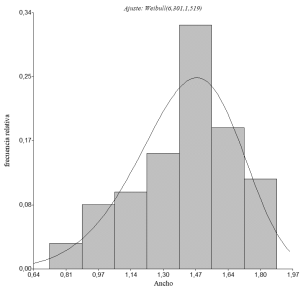


Figura 14 Distribución de ancho de hojas

# DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN

## Selección de solvente

Para la selección del solvente se realizó una comparación entre dos solventes reportados como utilizables en la extracción, uno compuesto por una mezcla n-hexano:diclorometano 9:1 (27) y el otro una mezcla etanol:agua 7:3 (28), para la relación masa/volumen de materia prima y solvente se utilizó la reportada en (28) como la de mayor eficiencia de extracción con respecto al ácido carnósico, 20 mL por gramo de materia prima. Además, se realizó una comparación entre rendimiento de extracción entre hojas molidas y sin moler.

Se pesaron aproximadamente 5 gramos de muestra en balones de 100 mL, se agregaron 100 mL del solvente correspondiente y se dejaron en maceración durante 48 horas con el fin de llegar a la concentración de equilibrio (Fig. -X-). Posteriormente se tomaron muestras de 2 mL de extracto, de las cuales el contenido de ácido carnósico se cuantificó por HPLC de igual manera que en 4.3, finalmente se midió la densidad de los extractos obtenidos con la misma fórmula que se utilizó para los sólidos en 4.1.1



Figura 15 Extractos obtenidos, de izquierda a derecha: Etanólico con hojas molidas, Solvente orgánico con hojas molidas, Etanólico con hojas enteras, Solvente orgánico con hojas enteras

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla a continuación:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Extracto | Concentración (g/L) | Rendimiento (g /100 g de hoja b.h.) | Densidad (kg/m3) |
| Etanol:Agua 7:3 hojas enteras | 1,55 ± 0,02c | 3,08 ± 0,01c | 883 ± 42 |
| Etanol:Agua 7:3 hojas molidas | 1,46 ± 0,04b | 2,84 ± 0,05b | 842 ± 37 |
| n-Hexano:DCM 9:1 hojas enteras | 1,120 ± 0,003a | 2,29 ± 0,03a | 719 ± 16 |
| n-Hexano:DCM 9:1 hojas molidas | 1,151± 0,006a | 2,31 ± 0,03a | 696 ± 21 |

Tabla 2 Concentraciones, rendimientos y densidades obtenidas de distintos extractos, valores con letras iguales no presentaron diferencias significativas (Test LSD Fisher p < 0,05)

Se puede observar que la mezcla Etanol:Agua 7:3 presentó un mayor rendimiento por sobre las demás, el menor rendimiento en comparación al extracto hecho a partir de hojas molidas puede verse explicado debido a que al tratarse de un compuesto que puede verse afectado por los tratamientos térmicos, la cantidad con respecto a la hoja al molerla. El hecho de que esto no se vea evidenciado en el caso de la utilización de n-Hexano:DCM 9:1 al no presentar diferencias significativas entre sí puede ser debido a que la cantidad remanente de ácido carnósico sea superior a la necesaria para llegar a la concentración de equilibrio en ese solvente.

## Concentraciones de equilibrio

Para la determinación de las concentraciones de equilibrio se realizaron extracciones con el solvente seleccionado en 5.1, en primera medida se realizaron extracciones utilizando 1 gramo de romero y variando el volumen de solvente extractor; el mínimo solvente utilizado se definió como la mínima cantidad necesaria para que toda la materia prima se encuentre en contacto con este. Se realizaron cuatro ensayos por duplicado, con volúmenes de solvente de 10, 15, 25 y 30 mL (Fig. -X-). Posteriormente se realizaron múltiples extracciones en serie reutilizando la fase líquida y con materia prima nueva, con el objeto de obtener valores de equilibrio a concentraciones mayores que las obtenidas en una simple extracción en batch y, a su vez, la máxima concentración posible de alcanzar en el proceso de extracción.

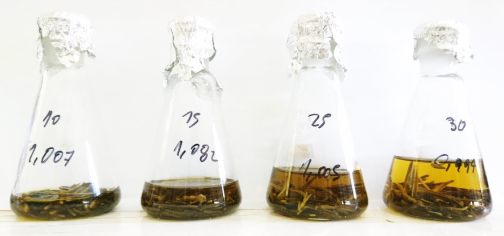


Figura 16 Extracciones para determinar concentraciones de equilibrio

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |

Figura 17 Extracciones en serie

Las concentraciones de ácido carnósico remanente en el sólido presentaron un comportamiento similar al de una isoterma de Langmuir para el caso de concentraciones bajas y un comportamiento anti-Langmuir al acercarse el líquido a la concentración máxima alcanzable, por lo que los datos se ajustaron a una ecuación resultante de la combinación de una isoterma de Langmuir y una isoterma anti-Langmuir desplazada horizontalmente (Ec. -X-) bajo el criterio del mínimo error cuadrado. El ajuste realizado tuvo un coeficiente de correlación de 0,965.

Ecuación 13 Isoterma de equilibrio combinada

Figura 18 Concentración de equilibrio en fase sólida (normalizado) en función de concentración en equilibrio en fase líquida

Figura 19 Correlación entre datos experimentales y regresión realizada

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |
| 0,4823 | 17,4017 | 0,1061 | 0,0599 | 1,9721 |

Tabla 3 Parámetros de equilibrio

## Cinética de extracción

Al nivel microscópico, las extracciones sólido-líquido de materiales vegetales pueden dividirse en dos secciones; un proceso difusivo donde el soluto a extraer difunde desde el interior de las partículas al solvente de extracción, y un proceso de transferencia de masa convectivo desde la superficie de las partículas a la fase del solvente extractor. El primero puede describirse mediante las leyes de Fick (Ec. -X- y -X-) y depende del soluto y el material sólido, el segundo es dependiente de las condiciones de trabajo y puede ser descripto por el número de Sherwood (Ec -X-, nombrada en marco teórico).

Ecuación 14 Primera ley de Fick en una dimensión

Ecuación 15 Segunda ley de Fick en una dimensión

donde J es el flujo de compuesto que difunde, D es la constante de difusión, x la variable espacial y t la variable temporal.

En el caso de las extracciones sólido-líquido los fenómenos de transporte que ocurren pueden dividirse en una serie de etapas:

* + **Difusión** del solvente desde la capa límite a la superficie de la matriz.
  + **Difusión** del solvente a través de los poros de la matriz.
  + **Disolución** del compuesto de interés.
  + **Difusión** del compuesto disuelto a través de los poros.
  + **Difusión** del compuesto desde la superficie hacia el final de la capa límite.

Debido a la gran complejidad al momento de medir estas etapas se considera un coeficiente de difusividad efectiva (Deff) el cual engloba todos los fenómenos.

La variación de concentración en la fase sólida por difusión para extracciones en estado no estacionario en sólidos simétricos puede ser descripta por la ecuación:

Ecuación 16 Segunda ley de Fick modificada

donde es un factor dependiente de la forma de las partículas estudiadas y Deff es el coeficiente de difusividad efectiva dentro de la fase sólida. Las condiciones iniciales y de borde para la resolución de esta ecuación son:

* para 0 < x <Lc
* =

Aquí es un factor de extracción, el volumen de solvente y el volumen de material a extraer y y las concentraciones al llegar al equilibrio en la fase sólida y líquida, respectivamente.

En general, soluciones a la ecuación -X- (segunda ley de Fick modificada) dependen de las concentraciones iniciales en la fase sólida y la fase líquida. En el caso de una extracción en batch, la solución de esta ecuación es:

Ecuación 17 Solución analítica de la segunda ley de Fick

donde E es la fracción remanente de soluto extraíble, es la concentración promedio en la fase sólida y la concentración en el solvente extractor

Para > 0,1 la ecuación -X- puede simplificarse a su primer término (29), obteniéndose:

Ecuación 18

*El valor de*  puede obtenerse en función del número de Sherwood a infinito, como es demostrado en (29):

Ecuación 19

donde Bi es el número de Biot, definido por la ecuación:

Ecuación 20

siendo h el coeficiente de transferencia de masa por convección, D la difusividad dentro del sólido y Lc la longitud característica. Como en el sistema estudiado se mantuvo una agitación vigorosa durante todo el tiempo de extracción, se puede asumir que el coeficiente de transferencia de masa por convección es mucho mayor a la difusividad, por lo que Bi 🡪∞, en este caso 🡪1(29).

El factor de forma , puede ser estimado para geometrías no convencionales, aproximando la geometría de las partículas a elipsoides:

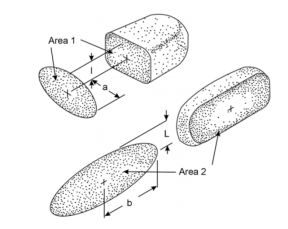


Figura 20 Modelo elipsoidal (30)

Puede observarse que este modelo es una generalización de las tres formas clásicas, ya que si los semiejes “a” y “b” tienden a infinito se obtiene una placa plata de espesor L, si la dimensión “a” se hace igual a “L” y “b” tiende a infinito se obtiene un cilindro y, finalmente, si las tres dimensiones son iguales se obtiene una esfera.

Como las partículas estudiadas en este trabajo ya han sido aproximadas a una geometría elíptica al determinar la distribución de tamaños de partícula (4.4) se consideró que las mismas presentan una forma de elipsoide prolato siendo los valores de b y L la mitad de los del ancho y del largo obtenidos en 4.4. El factor de forma para elipsoides prolatos se calcula mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 21 Factor de forma para elipsoide prolato

En el caso estudiado se obtuvo un valor de igual a 2,018; muy similar al valor de 2 correspondiente a un cilindro infinito, por lo que se consideró aceptable la suposición de que las partículas se asemejen a un cilindro de longitud infinita.

Los datos experimentales pueden ajustarse a una ecuación del tipo ). Reemplazando del ajuste a los datos experimentales en la ecuación -X- (solución analítica ley de Fick) se puede obtener una expresión para E(t) y considerando el parámetro “A” del ajuste como la concentración a tiempo infinito en el líquido. Obteniéndose la ecuación:

Ecuación 22

Comparando esta ecuación con el primer término de la solución analítica de la ley de Fick se puede determinar que y .

Para la determinación de la cinética de extracción se agregaron dos muestras de 10 gramos de hojas de romero a dos Erlenmeyers de 250 mL, posteriormente se les adicionaron 200 mL de solvente de extracción y se mantuvieron en agitación intensa con el fin de minimizar la resistencia a la extracción por convección. El momento de adición de solvente se consideró como tiempo cero (t=0) y a partir de ese momento se tomaron muestras de 100 µL a distintos tiempos. Los datos obtenidos se muestran a continuación.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| |  |  |  | | --- | --- | --- | |  | Muestra 1 | Muestra 2 | | t (min) | Concentración (Kg/m3) | Concentración (Kg/m3) | | 1 | 0,109 | 0,114 | | 5 | 0,205 | 0,205 | | 10 | 0,294 | 0,298 | | 15 | 0,462 | 0,455 | | 30 | 0,762 | 0,679 | | 40 | 0,990 | 0,869 | | 80 | 1,255 | 1,341 | | 108 | 1,350 | 1,397 | | 142 | 1,509 | 1,678 | | 166 | 1,579 | 1,666 | | 192 | 1,594 | 1,567 | | 1263 | 1,498 | 1,780 | | 1608 | 1,688 | 1,827 |   Tabla 4 Datos de cinética de extracción | Figura 21 Datos de cinética de extracción |

Los datos se ajustaron mediante regresión no lineal a una ecuación del tipo , siendo A, B y H parámetros que fueron ajustados bajo el criterio del mínimo error cuadrado, previamente descartando los valores de 1263 y 1608 min debido a que no presentaban diferencias significativas y podrían inducir error debido a descomposición del ácido carnósico. En la tabla -X- se muestran los parámetros obtenidos.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| A (Kg/m3) | B (Kg/m3) | H (1/min) |
| 1,688215399 | 2,613370136 | 0,016885083 |

Tabla 5 Parámetros de ajuste

Figura 22 Correlación entre datos experimentales y regresión realizada

Los parámetros , y fueron calculados como se describió previamente, donde el valor del número de Sherwood infinito se calculó utilizando la aproximación para objetos cilíndricos (aplicable para valores de 0,1 <<∞):

Ecuación 23 Correlación de número de Sherwood

Los valores obtenidos se presentan en la siguiente tabla:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |
| 1,28196 | 4,73335 | 8,50166 | 1,75707.10-10 |

La ecuación -X- (Ley de Fick modificada) fue valuada con los parámetros obtenidos utilizando el software matemático MathCAD® con el objetivo de estimar el valor de la concentración en la fase sólida en la superficie de las partículas. Este valor fue estimado igualando el rendimiento de extracción a t = 200 min calculado utilizando la ecuación de ajuste de los datos cinéticos a la ecuación -X- mediante un método de dicotomía.

Ecuación 24 Rendimiento de extracción

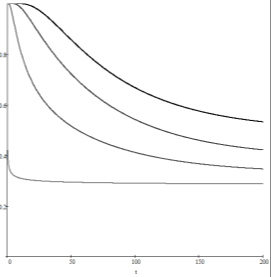


Figura 23 Concentración en la fase sólida en función del tiempo a distintas distancias del centro

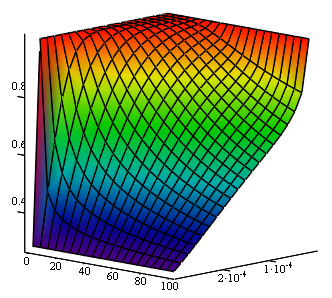


Figura 24 Perfil de concentraciones en la fase sólida en función del tiempo y distancia al centro

El valor obtenido de concentración para la superficie de la partícula fue de 0,253

# DISEÑO DE EQUIPO EXTRACTOR

## Modelado matemático

## Selección de equipo

## Diseño de partes complementarias al equipo

# DISEÑO DE PROCESO DE PURIFICACIÓN

## Determinación de etapas de purificación

## Selección de equipos

## Diseño de condiciones de operación de equipos

# ANÁLISIS DE COSTOS

## Costos de inversión

## Costos operativos

# CONCLUSIONES

# Bibliografía

1. *Carnosic acid.* **Birtić, Simona, y otros.**2015, Phytochemistry, Vol. 115, págs. 9-19.

2. *Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosic acid.* **Aruoma, O.I., y otros.** 22, 1992, Xenobiotica, págs. 257-268.

3. *Antioxidant activity of carnosic acid and methyl carnosate in bulk oils and oil-in-water emulsions.* **Huang, S.W., y otros.** 44, 1996, J. Agric. Food Chem., págs. 2951-2956.

4. *Antioxidant constituents in sage (Salvia officinalis).* **Cuvelier, M.E., Berset, C. y Richard, H.** 42, 1994, J. Agric. Food Chem, págs. 665-669.

5. *A kinetic study of oxidation development in sunflower oil under microwave heating: effect of natural antioxidants.* **Erkan, N., Ayranci, G. y Ayranci, E.** 42, 2009, Food Res. Int., págs. 1171-1177.

6. *Seasonal variations of rosmarinic and carnosic acids in rosemary extracts. Analysis of their in vitro antiradical activity.* **J.C. Luis, C.B y Johnson.** 3, 2005, Span. J. Agric. Res., págs. 106-112.

7. *Antioxidant activity of lipid-soluble phenolic diterpenes from rosemary.* **Richheimer, S.L., y otros.** 73, 1996, J. Am. Oil Chem. Soc., págs. 507-514.

8. **European Food Safety Authority.** The EFSA Journal. [En línea] 2008. https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2008.721.

9. *Carnosic acid inhibits the proliferation and migration capacity of human colorectal cancer cells.* **Barni, M. V., y otros.** 4, 2012, Oncology Reports, Vol. 27, págs. 1041-1048.

10. *Carnosic acid induces autophagic cell death through inhibition of the Akt/mTOR pathway in human hepatoma cells.* **Gao, Qilong, y otros.** 5, 2014, Journal of Applied Toxicology, Vol. 35.

11. *Carnosic acid induces apoptosis associated with mitochondrial dysfunction and Akt inactivation in HepG2 cells.* **Xiang, Qisen, y otros.** 1, 2015, International Journal of Food Sciences and Nutrition, Vol. 66.

12. *Carnosic acid from rosemary extracts: a potential chemoprotective agent against aflatoxin B1. An in vitro study.* **Costa, Stefano, y otros.** 2, 2006, Journal of Applied Toxicology, Vol. 27.

13. *Carnosic Acid Inhibits Proliferation and Augments Differentiation of Human Leukemic Cells Induced by 1,25-Dihydroxyvitamin Dsub3 and Retinoic Acid.* **Steiner, Michael, y otros.** 1, 2001, Nutrition and Cancer, Vol. 41.

14. *Anti-angiogenic properties of carnosol and carnosic acid, two major dietary compounds from rosemary.* **López-Jiménez, Auxiliadora, y otros.** 1, 2013, European Journal of Nutrition, Vol. 52, págs. 85-95.

15. *Carnosic Acid Inhibits the Epithelial-Mesenchymal Transition in B16F10 Melanoma Cells: A Possible Mechanism for the Inhibition of Cell Migration.* **Park, So Young, y otros.** 7, 2014, Vol. 15.

16. *Carnosic acid attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury in rats via fortifying cellular antioxidant defense system.* **Xiang, Qisen, y otros.** 2013, Food and Chemical Toxicology, Vol. 53.

17. *Carnosic acid attenuates acute ethanol-induced liver injury via a SIRT1/p66Shc-mediated mitochondrial pathway.* **X, Tian, y otros.** 2016, Canadian Journal of Physiology and Pharmacology.

18. *Highly sensitive simultaneous electrochemical detection of hydroquinone and catechol with three-dimensional N-doping carbon nanotube film electrode.* **Guo, Qiaohui, y otros.** 2016, Vol. 760.

19. *Relevance of carnosic acid to the treatment of several health disorders: Molecular targets and mechanisms.* **Bahri, Sana, Jameleddine, Saloua y Shlyonsky, Vadim.** 2016, Biomedicine & Pharmacotherapy, Vol. 84.

20. *Carnosic acid reduces cytokine-induced adhesion molecules expression and monocyte adhesion to endothelial cells.* **Yu, Ya-Mei, y otros.** 101, 2009, European Journal of Nutrition, Vol. 48.

21. **Rosmarinus officinalis. *Wikipedia.* [En línea] https://es.wikipedia.org/wiki/Rosmarinus\_officinalis.**

**22. Herbotecnia. *Herbotecnia.* [En línea] http://www.herbotecnia.com.ar/exo-romero.html.**

**23. *The formation of phenolic diterpenes in Rosmarinus officinalis L. under Mediterranean climate.* Munné-Bosch, S., Alegre, L. y Schwarz, K. 4, 2000, European Food Research and Technology, Vol. 210.**

**24. Paunero, Ignacio. *Situación actual del cultivo de plantas aromáticas y medicinales en Argentina .* San Pedro : s.n., 2017.**

**25. Chemat, Farid, y otros. Green Extraction: From Concepts to Research, Education, and Economical Opportunities. *Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles.* 2012.**

**26. *A New Approach for Process Development of Plant-Based Extraction Processes.* Kassing, Markus, y otros. 2009, Chemical Engineering & Technology, págs. 377-387.**

**27. Robert Aeschbach, Vevey y Georges Philippossian, Lausanne. *CARNOSIC ACID OBTENTION AND USES . 5,256,700* USA, 26 de Octubre de 1993 .**

**28. *Multiresponse optimization of an extraction procedure of carnosol and rosmarinic and carnosic acids from rosemary.* A, Oliveira Gde, y otros. 2016, Food Chemistry, págs. 465-473.**

**29. *Solute diffusion in fruit, vegetable and cereal processing I: Simplified solutions for diffusion in anomalous shapes.* Siripatana, Chairat. 1997, Songklanakarin Journal of Science and Technology.**

**30. *Mathematical Simulation of Solid-Liquid Diffusion in Continuous Countercurrent Extraction Process, Part I - Modeling Development.* Rittirut, Waigoon, Thongurai, Chakrit y Siripatan, Chairat. 2010, INTERNATIONAL JOURNAL OF CHEMICAL REACTOR ENGINEERING.**