



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
DEPTO. DE INGENIERÍA QUÍMICA

**Profesor patrocinante:**  
Katherina F. Fernández Elgueta

**Comisión Interna:**  
Miguel A. Pereira Soto

**Comisión Externa:**  
William A. Gacitúa Escobar

**ESTUDIO DEL EQUILIBRIO DE  
EXTRACCIÓN HIDROFÍLICO DE LA  
CORTEZA DE *Eucalyptus nitens* Y *Eucalyptus***

*globulus*

**POR**

**MARÍA SOLEDAD PARADA ARROYO**

**Tesis presentada a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de  
Concepción para optar al grado académico de:**

Magíster en ciencias de la ingeniería con mención en Ingeniería Química

Diciembre de 2017  
Concepción, Chile.

© 2017 María Soledad Parada Arroyo

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

## SUMARIO

Las especies de eucaliptos conforman la principal fuente de madera para la producción de pulpa y papel a nivel mundial. Sin embargo, su uso lleva consigo la producción de altas cantidades de corteza como residuo, la cual es normalmente quemada para la producción de energía, proceso de baja eficiencia. Especies de eucaliptos han demostrado poseer polifenoles con actividad antioxidante comprobada, sin embargo, la obtención de estos compuestos activos implica un estudio de aspectos básicos del proceso extractivo, lo que incluye un estudio fenomenológico, en donde coexisten tanto una parte cinética como una termodinámica.

En este trabajo se llevó a cabo el estudio del proceso de adsorción de fenoles sobre corteza de *Eucalyptus nitens* y *Eucalyptus globulus* para, en específico, obtener información sobre las interacciones soluto/sólido del sistema compuestos fenólicos/corteza (expresadas como isotermas de adsorción), las cuales, corresponden a un equilibrio de adsorción/desorción en la superficie de la matriz sólida vegetal.

Se produjo corteza molida de ambas especies de eucaliptos, cuyo proceso extractivo fue optimizado mediante un diseño experimental Box-Benhken, el cual permitió estudiar el efecto de las variables: razón sólido/líquido, temperatura y concentración de metanol/agua como solvente, en las respuestas rendimiento de extracción, cantidad de fenoles y capacidad antioxidante. Se realizó una caracterización morfológica del polvillo de corteza utilizado pre y post-extracción de fenoles, mediante visualización por microscopía electrónica de barrido (SEM), y una caracterización física mediante adsorción BET de N<sub>2</sub> a 77 K. Finalmente, las interacciones soluto/sólido de los sistemas fenoles/corteza de *E. nitens* y *E. globulus* fueron dilucidadas, mediante la multiextracción previa de los compuestos fenólicos a partir de las cortezas de eucaliptos, y el posterior contacto del sólido obtenido “totalmente” extraído con soluciones a diferentes concentraciones de compuestos fenólicos, a 3 temperaturas distintas. Las isotermas obtenidas fueron modeladas mediante regresión lineal y no lineal,

permitiendo, posteriormente, modelar las extracciones multietapa de compuestos fenólicos desde partículas de corteza de ambas especies de eucaliptos. Adicionalmente, los parámetros termodinámicos asociados al proceso adsorptivo fueron calculados.

Los resultados mostraron que valores de razón sólido/líquido de 1/60 g/mL, % metanol/agua de 46.8% (v/v) y una temperatura de 51.7°C maximizaron las respuestas para la especie *E. globulus*. Para la especie *E. nitens*, las condiciones óptimas resultaron ser 1/60 g/mL, 53.0% (v/v) y 51.4°C. Por otro lado, las respuestas fenoles totales y capacidad antioxidante se correlacionaron linealmente. La caracterización de la corteza molida mostró una superficie porosa y cambios superficiales evidentes al someterla al proceso extractivo. Las áreas BET de ambas especies resultaron similares y cercanas a 55 m<sup>2</sup>/g. Las isothermas obtenidas para ambas especies presentaron una tendencia semi-lineal (representada por el modelo de Freundlich) y exotérmica. La validación del modelo de isoterma presentó resultados concordantes con los datos experimentales obtenidos, mediante una multiextracción de 5 etapas para ambas especies de eucaliptos. El cálculo de los parámetros termodinámicos  $\Delta H^o$ ,  $\Delta G^o$  y  $\Delta S^o$  indicó la existencia de un proceso exotérmico y espontáneo con un movimiento restringido de las moléculas de adsorbato durante la adsorción. Adicionalmente, los bajos valores de  $\Delta G^o$  y de la energía libre de adsorción, E, indicaron una adsorción de tipo física para ambos tipos de eucaliptos.

En conclusión, ambas especies de eucaliptos presentaron una relación basada en el modelo de Freundlich de las concentraciones de fenoles en el equilibrio, indicando un tipo de modelación simple, el cual puede ser utilizado para estudios globales del proceso extractivo a gran escala para la modelación de multiextracciones de fenoles. Por otro lado, la corteza puede seguir siendo utilizada en su uso habitual para la generación de energía, posterior al proceso de extracción, y además, los altos valores de área superficial indican que puede ser utilizada también, como un posible biosorbente para la adsorción de, por ejemplo, contaminantes desde efluentes industriales.

## TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. HIPÓTESIS .....	4
3. OBJETIVOS .....	5
3.1. Objetivo Principal.....	5
3.2. Objetivos Específicos .....	5
4. ANTECEDENTES GENERALES .....	6
4.1. Eucaliptos .....	6
4.2. Corteza: contexto actual y usos alternativos .....	8
4.2.1. Composición de la corteza .....	9
4.3. Composición química de los extractos de corteza de eucaliptos.....	10
4.3.1. Compuestos hidrofílicos de corteza de eucaliptos .....	11
4.3.2. Compuestos lipofílicos de corteza de eucalipto .....	13
4.4. Usos potenciales de los extractos .....	15
4.4.1. Extracto hidrofílico .....	15
4.4.2. Extracto lipofílico.....	16
4.5. Proceso extractivo sólido-líquido .....	17
4.6. Adsorción .....	18
4.6.1. Adsorbente: sólidos de gran área superficial .....	19
4.6.2. Isoterma de adsorción .....	20
4.6.3. Adsorción sólido-líquido.....	31
4.7. Termodinámica del proceso de adsorción .....	35
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
5.1. Obtención de muestras .....	37
5.2. Pretratamiento de las muestras .....	37
5.2.1. Descortezado .....	37
5.2.2. Secado de la corteza .....	38
5.2.3. Molienda de la corteza .....	38
5.2.4. Tamizaje.....	38

5.3.	Caracterización de partículas de corteza .....	39
5.3.1.	Caracterización física de poros .....	39
5.3.2.	Caracterización morfológica .....	39
5.4.	Extracción hidrofílica .....	39
5.5.	Cuantificación de fenoles totales.....	40
5.6.	Cuantificación de capacidad antioxidante .....	41
5.7.	Diseño de Experimentos.....	41
5.8.	Estudio de las interacciones soluto/sólido.....	42
5.8.1.	Suposiciones.....	42
5.8.2.	Obtención de corteza totalmente extraída .....	44
5.8.3.	Extracción de 1 etapa: obtención de soluciones de extracto .....	45
5.8.4.	Determinación de las isothermas de adsorción .....	45
5.8.5.	Validación de isothermas de adsorción.....	46
5.9.	Parámetros termodinámicos .....	47
5.10.	Cinética de adsorción.....	47
5.11.	Análisis Estadístico.....	48
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	48
6.1.	Pretratamiento de las muestras .....	48
6.1.1.	Secado de corteza.....	48
6.1.2.	Tamizaje de la corteza molida.....	49
6.2.	Caracterización de las partículas de corteza.....	49
6.2.1.	Caracterización física de los poros de la corteza .....	49
6.2.2.	Caracterización morfológica .....	51
6.3.	Ensayos cinéticos preliminares: influencia del tamaño de partícula en la cinética de extracción .....	55
6.4.	Diseño de experimentos .....	59
6.4.1.	Superficies de respuesta y análisis de influencias de factores .....	62
6.4.2.	Validación del modelo obtenido .....	67
6.5.	Identificación del tiempo para alcanzar el equilibrio .....	67
6.6.	Estudio de las interacciones soluto/sólido.....	68
6.6.1.	Obtención de corteza totalmente extraída.....	68

6.6.2.	Extracción de una etapa: obtención de soluciones de extracto .....	68
6.6.3.	Determinación de las isothermas de adsorción .....	69
6.6.4.	Modelación de isothermas de adsorción .....	71
6.6.5.	Validación de isothermas de adsorción.....	77
6.7.	Parámetros termodinámicos .....	79
6.8.	Cinética de adsorción .....	81
7.	CONCLUSIONES .....	83
	BIBLIOGRAFÍA .....	85
	ANEXOS .....	92
	Anexo 1: Muestreo de árboles.....	92
	A1.1. Protocolo de muestreo.....	92
	A1.2. Hojas de muestreo.....	92
	Anexo 2: Cuantificación de fenoles totales .....	95
	Anexo 3: Cuantificación de capacidad antioxidante .....	97
	Anexo 4. Caracterización física de poros .....	98
	Anexo 5: Valores experimentales obtenidos para diseño Box-Behnken.....	100
	Anexo 6: Ajustes de modelos de isoterma a datos de equilibrio para ambas especies de eucalipto .....	102
	A6.1. Ajuste modelo de Freundlich linealizado a datos experimentales. 50°C .....	102
	A6.2. Suma de errores normalizados para isothermas de Freundlich, Langmuir y D-R para <i>E. globulus</i> y <i>E. nitens</i> , a 30, 50 y 60°C.....	103

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición de la corteza de <i>E. globulus</i> .....	10
<b>Tabla 2.</b> Funciones de error comúnmente utilizadas en ajustes no lineales de modelos de isoterma .....	32
<b>Tabla 3.</b> Formas linealizada de las isotermas de Langmuir y Freundlich .....	32
<b>Tabla 4.</b> Niveles de los factores a utilizar en el diseño Box-Behnken .....	41
<b>Tabla 5.</b> Porcentajes máxicos obtenidos para tamizaje de corteza molida de <i>E. globulus</i> y <i>E. nitens</i> .....	49
<b>Tabla 6.</b> Área BET y concentración de fenoles totales obtenida en el equilibrio de extracción (normalizada por área BET) para ambas especies de eucalipto. ....	51
<b>Tabla 7.</b> Análisis de varianza de rendimientos obtenidos a 24 h de extracción, utilizando distintos tamaños de partícula. ....	58
<b>Tabla 8.</b> Modelos cuadráticos y parámetros estadísticos obtenidos a partir de diseño experimental para ambas especies de eucalipto. ....	61
<b>Tabla 9.</b> Condiciones y respuestas obtenidas mediante optimización múltiple para especies de eucalipto en estudio.....	64
<b>Tabla 10.</b> Valores predichos y experimentales de las respuestas óptimas obtenidas. ....	67
<b>Tabla 11.</b> Concentraciones de soluciones conteniendo extracto hidrosoluble, obtenidas a partir de extracciones de 1 etapa. ....	69
<b>Tabla 12.</b> Parámetros de isoterma y valores de los índices $R^2$ y MSC de los modelos para especie <i>E. globulus</i> .....	75
<b>Tabla 13.</b> Parámetros de isoterma y valores de los índices $R^2$ y MSC de los modelos para especie <i>E. nitens</i> . ....	76
<b>Tabla 14.</b> Parámetros termodinámicos y valores de $K_c$ y $E$ para ambas especies de eucalipto. ....	79
<b>Tabla 15.</b> Especificaciones de árbol n°1 utilizado en este estudio. ....	93
<b>Tabla 16.</b> Especificaciones de árbol n°2 utilizado en este estudio. ....	93
<b>Tabla 17.</b> Especificaciones de árbol n°3 utilizado en este estudio. ....	94
<b>Tabla 18.</b> Coeficientes de ajustes lineales y no lineales para modelo de isoterma de adsorción de Freudlich .....	103

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Datos estadísticos del total de plantaciones forestales en Chile.....	7
<b>Figura 2.</b> Fotografías de especies de eucaliptos.....	8
<b>Figura 3.</b> Estructura de compuestos fenólicos identificados en extractos de corteza de <i>E. globulus</i> .....	12
<b>Figura 4.</b> Estructura química de compuestos lipofílicos identificados en extractos de corteza de <i>E. globulus</i> .....	14
<b>Figura 5.</b> Descripción del proceso de desorción de un soluto de interés desde una partícula de material sólido.....	18
<b>Figura 6.</b> Esquema de los fenómenos de adsorción y desorción en sistemas sólido-líquido.....	22
<b>Figura 7.</b> Los 4 principales tipos de isotermas.....	23
<b>Figura 8.</b> Esquemización de isotermas de (A) Langmuir (B) BET.....	26
<b>Figura 9.</b> Visualización mediante SEM de corteza molida (0.08-0.59 mm) (A) y (B) <i>E. globulus</i> no extraída (C) y (D) <i>E. globulus</i> luego de un proceso multiextractivo.....	53
<b>Figura 10.</b> Visualización mediante SEM de corteza molida (0.08-0.59 mm) (A) y (B) <i>E. nitens</i> no extraída (C) y (D) <i>E. nitens</i> luego de un proceso multiextractivo.....	54
<b>Figura 11.</b> Comportamiento cinético de la extracción de compuestos fenólicos para distintos diámetros de partícula de la matriz sólida.....	57
<b>Figura 12.</b> Ilustración de los diferentes casos envueltos en la extracción de solutos a partir de una matriz sólida.....	59
<b>Figura 13.</b> Relación entre fenoles totales y capacidad antioxidante obtenida para ambas especies de árbol.....	62
<b>Figura 14.</b> Función de deshabilidad global ante variaciones de la temperatura y la razón sólido/líquido. Especie <i>E. globulus</i> .....	64
<b>Figura 15.</b> Superficies de respuesta de (A) rendimiento <i>E. globulus</i> , %m/w fijo (B) rendimiento <i>E. nitens</i> %m/w fijo (C) fenoles totales <i>E. globulus</i> , RS/L fija (D) fenoles totales <i>E. nitens</i> , R S/L fija (E) fenoles totales <i>E. nitens</i> , %m/w fijo.....	65
<b>Figura 16.</b> Curvas cinéticas para cada especie de eucalipto.....	68
<b>Figura 17.</b> Isotermas de adsorción de compuestos fenólicos sobre corteza de eucalipto (extraída) a 30, 50 y 60 °C.....	71
<b>Figura 18.</b> Comparación datos experimentales y obtenidos por modelo de isoterma de adsorción para multiextracción de 5 etapas. 50°C. Isoterma de tipo lineal.....	78
<b>Figura 19.</b> Cinética de adsorción de compuestos fenólicos en corteza de <i>E. globulus</i> y <i>nitens</i> . 50°C, RS/L 1/60.....	82
<b>Figura 20.</b> Curva de calibración para la determinación de fenoles totales.....	96
<b>Figura 21.</b> Estándares para comparación de isotermas para indagación de distribución de micro y mesoporos.....	98



<b>Figura 22.</b> Gráficos-t para el análisis de distribución de macroporos obtenidos. ....	99
<b>Figura 23.</b> Formas gráficas de isotermas para la adecuación a la forma linealizada de la isoterma de Freundlich.....	102

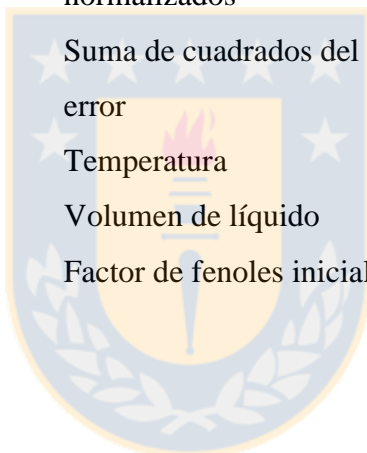


## NOMENCLATURA Y ABREVIACIONES

$\alpha$	Número de parámetros ajustables	adim
$\varepsilon$	Potencial Polanyi	J/mol
%m/w	Porcentaje de metanol en agua	%
$\Delta G^{\circ}$	Cambio de la energía libre de Gibbs	kJ/mol
$\Delta H^{\circ}$	Cambio de entalpía de adsorción	kJ/mol
$\Delta S^{\circ}$	Cambio en la entropía	kJ/mol
1/n	Factor de heterogeneidad de la superficie	adim
AA	Ácido ascórbico	
ANOVA	Análisis de varianza	
ARE	Error promedio relativo	
BET	Brunauer-Emmett-Teller	
$C_0$	Concentración inicial de fenoles en la fase líquida	g/mL
$C_e$	Concentración de soluto en la fase líquida en el equilibrio	g GAE/L
CA	Capacidad antioxidante	%
d	Nº de datos experimentales	
E	Energía media de adsorción	kJ/mol
EABS	Suma de errores absolutos	
F	Fenoles	

FT	Fenoles totales	
GAE	Equivalentes de ácido gálico	
GC-MS	Cromatografía de gases-espectrometría de masas	
HPLC	Cromatografía de líquido de alto rendimiento	
HYBRID	Función de error fraccional híbrida	
K	Constante de equilibrio o coeficiente de distribución	L/g
K <sub>ad</sub>	Constante de Dubinin-Radushkevich	(mol/J) <sup>2</sup>
K <sub>F</sub>	Constante de la isoterma de Freundlich	$\left(\frac{g}{g}\right) \left(\frac{mL}{g}\right)^n$
K <sub>s</sub>	Constante de la isoterma de Langmuir	L/mg
m <sub>e</sub>	Masa de extracto	g
m <sub>i</sub>	Masa de corteza húmeda	g
m <sub>s</sub>	Masa decorteza seca	g
MPSD	Desviación estándar porcentual de Marquardt	
MSC	Criterio de selección del modelo	
q <sub>e</sub>	Concentración de soluto en la fase sólida en el equilibrio	g/g
q <sub>s</sub>	Máxima capacidad de cubrimiento de la	mg/g

	monocapa, Langmuir	
$Q_s$	Capacidad de saturación teórica de Dubinin- Radushkevich	Mg/g
$R$	Constante de los gases ideales	J/mol·K
$R^2$	Coefficiente de regresión	
R S/L	Razón sólido/líquido	g/mL
SNE	Suma de errores normalizados	
SSE	Suma de cuadrados del error	
$T$	Temperatura	K
$V$	Volumen de líquido	mL
$w_{F,0}$	Factor de fenoles iniciales	adim



## 1. INTRODUCCIÓN

Las especies de eucaliptos conforman la principal fuente de madera para la producción de pulpa y papel a nivel mundial, debido a su rápido crecimiento y su comportamiento favorable en el proceso de pulpaje y blanqueado. Se estima que el área cubierta actualmente por plantaciones de especies de eucaliptos corresponde a 19 millones de hectáreas a nivel mundial (S. Santos y *col.*, 2012).

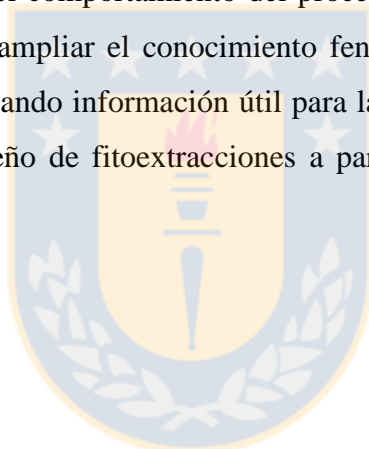
Actualmente, las industrias de pulpa y papel producen altas cantidades de biomasa residual, de la cual, la corteza representa la mayor cantidad (S. Santos, Freire, Domingues, Silvestre, y Pascoal Neto, 2011). Este residuo es normalmente quemado para la producción de energía, la cual es utilizada en la misma planta. Sin embargo, este proceso es de baja eficiencia, debido al alto contenido de resinas que la corteza posee, siendo dañino para los equipos utilizados en su combustión (González, 2015). Las razones anteriores justifican la búsqueda de nuevos usos de la corteza, como es la generación de subproductos valorizados, de una forma más eficiente.

En la actualidad, el interés del reemplazo de compuestos activos de origen sintético, por aquellos obtenidos a partir de productos naturales, está ganando más y más importancia en la industria farmacéutica, alimenticia y de cosmética, debido a la creciente demanda de la sociedad moderna (Dreisewerd, Merz, y Schembecker, 2015). Un ejemplo de ello, lo conforma la búsqueda de fuentes de antioxidantes de origen natural, especialmente en materiales derivados de plantas. Compuestos fenólicos obtenidos a partir de plantas, como flavonoides, han probado poseer propiedades terapéuticas, siendo conocidas por sus actividades anticancerígenas, antimutagénicas, y cardioprotectoras (Vázquez, Santos, Freire, Antorrena, y González-Álvarez, 2012). Específicamente, especies de eucaliptos han demostrado poseer polifenoles y terpenos con actividad antioxidante comprobada (Domingues y *col.*, 2011; González, 2015; Mota y *col.*, 2012; S. Santos y *col.*, 2011; Vázquez y *col.*, 2008). Sin embargo, un paso fundamental en los procesos productivos

para la obtención de sustancias activas, es la extracción desde el material de origen, llamado -en el campo de origen vegetal- fitoextracción. Esta consiste en someter a contacto al material que contiene la sustancia de interés (o soluto) con un solvente específico, ocurriendo una transferencia del compuesto activo desde una fase a otra, descrito por un proceso de desorción. Por ende, a pesar de que la corteza puede ser utilizada como materia prima para la obtención de extractos de alto valor, desde el punto de vista industrial, la sustentabilidad económica de la extracción reclama por el estudio del proceso, de manera de alcanzar su eficiencia. En este contexto, es necesario el estudio de las isothermas, curvas a temperatura constante, que describen la retención (o liberación) de sustancias desde un sólido a varias concentraciones. Esta es una herramienta de gran importancia para la predicción y descripción de la movilidad de la sustancia en el ambiente, cuando ésta alcanza su estado de equilibrio (Limousin y *col.*, 2007). Básicamente, las isothermas relacionan la cantidad de soluto adsorbido en la fase sólida contra la cantidad restante de este, presente en la fase fluida, en el contexto en que un equilibrio de desorción existe entre la superficie del material sólido de origen natural y el solvente contactando directamente a esta superficie (Dreisewerd y *col.*, 2015). Este equilibrio determina una interacción soluto/sólido, cuya información cualitativa acerca de su naturaleza, es expuesta mediante las isothermas de adsorción, así como las relaciones específicas entre la concentración de adsorbato y su grado de acumulación sobre la superficie adsorbente (Muhammad, Choong, Chuah, Yunus, y Yap, 2010). El estudio de estas interacciones soluto/sólido es importante en el diseño de una extracción (por ejemplo, en la selección de un solvente), debido a que éstas influyen directamente al estado de equilibrio de un sistema (Limousin y *col.*, 2007). Más aún, existen modelos matemáticos para el diseño de la extracción en donde las interacciones soluto/sólido son incluidas como parámetros. Por tanto, una determinación adecuada de la isoterma es inevitable para garantizar resultados adecuados en el diseño del proceso de extracción.

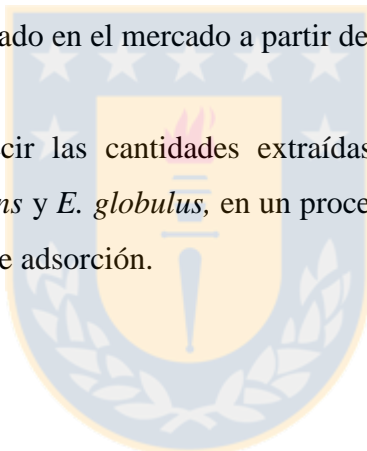
Con el objeto de generar un producto valorado en el mercado a partir de corteza de eucalipto, y de aportar información con respecto al proceso fundamental de retención de

los compuestos polifenólicos en la matriz sólida, se propuso estudiar el fenómeno de desorción/adsorción de este sistema. Para esto, se utilizaron dos especies de eucalipto, protagonistas en el conjunto de materias primas para las industrias forestales del país: *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus nitens*. Se construyeron las distintas isotermas de adsorción de fenoles contenidos en la corteza de cada especie, las cuales resultan ser herramientas primordiales para la descripción de las interacciones soluto/sólido, conformando estudios críticos para la expresión de las propiedades de superficie y capacidades de los adsorbentes, y el diseño efectivo de los sistemas adsorptivos, elementos a estudiar en este trabajo junto con el estudio de la posibilidad de modelar con las isotermas anteriores el comportamiento del proceso multiextractivo (desorción). De esta forma, se pretende ampliar el conocimiento fenomenológico con respecto a estas especies en Chile, entregando información útil para la utilización integral de la corteza, facilitando el futuro diseño de fitoextracciones a partir de este subproducto del rubro forestal.



## 2. HIPÓTESIS

- Es posible obtener información cualitativa acerca de las interacciones soluto/sólido del sistema compuestos fenólicos/corteza de *E. nitens* y *E. globulus*, a partir de la construcción de sus isothermas de adsorción en el equilibrio. Lo anterior, con el objeto de aportar información con respecto al proceso fundamental de retención de los compuestos polifenólicos en la matriz sólida, facilitando el futuro diseño de sus fitoextracciones, buscando así generar un producto valorado en el mercado a partir de estos tipos de corteza.
- Es posible predecir las cantidades extraídas de compuestos fenólicos desde corteza de *E. nitens* y *E. globulus*, en un proceso multiextractivo mediante el uso de las isothermas de adsorción.





### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Principal

Evaluar las interacciones superficiales soluto/sólido de los componentes fenólicos con la corteza de *Eucalyptus nitens* y *Eucalyptus globulus* mediante el uso de isotermas de adsorción, estimando su posterior uso para la modelación del proceso multiextractivo.

#### 3.2. Objetivos Específicos

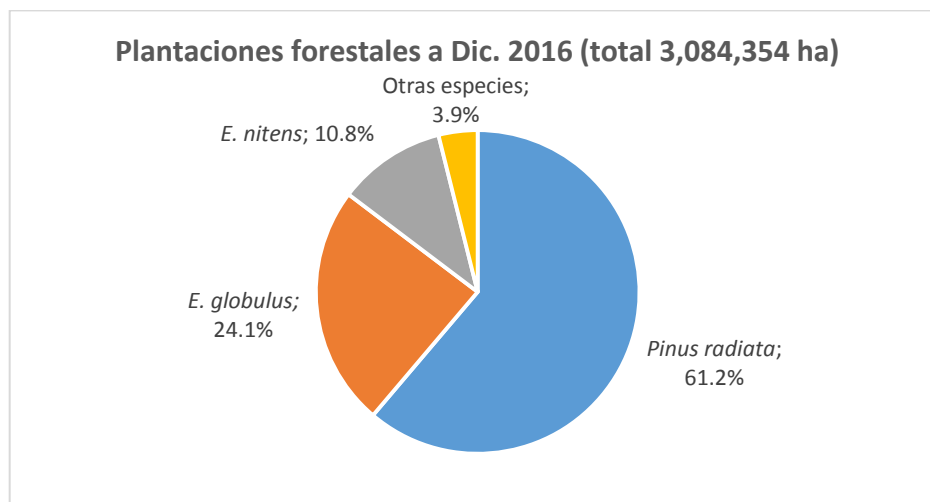
- Caracterizar físicamente las cortezas molidas de ambas especies de eucaliptos, mediante el cálculo del tamaño de poros, área BET y una visualización morfológica.
- Definir el efecto de las variables: razón sólido/líquido, temperatura y concentración de metanol en las respuestas rendimiento de extracción, fenoles totales y capacidad antioxidante, mediante un diseño experimental Box Benhken, optimizando luego las respuestas en busca de obtener el máximo rendimiento de extracción, cantidad de fenoles totales y capacidad antioxidante.
- Determinar las interacciones soluto/sólido del sistema compuestos fenólicos/corteza de *Eucalyptus nitens* y *Eucalyptus globulus*, y modelar las extracciones multietapa mediante el uso de isotermas de adsorción de compuestos fenólicos en la corteza “totalmente” extraída.
- Revelar información acerca del mecanismo de adsorción mediante el cálculo de los parámetros termodinámicos asociados al proceso adsortivo.

## 4. ANTECEDENTES GENERALES

### 4.1. Eucaliptos

Las especies de eucaliptos corresponden a la más importante fuente de fibra para la producción de pulpa y papel en el suroeste de Europa (Portugal y España), en el sur de África, Japón y en Sudamérica (Brasil y Chile). El alto interés en el uso de esta especie en esta área industrial, se relaciona con su rápido crecimiento y su comportamiento durante la fabricación de pulpa y blanqueado y las excelentes propiedades de las pulpas obtenidas (Domingues y col., 2011). Según CONAF (2017), al año 2016 en Chile existían 3.08 millones de ha de plantaciones forestales, y son dos las especies que concentraron el 94.4% de la superficie: *Pinus radiata* y especies de *Eucalyptus* (*camaldulensis*, *delegatensis*, *globulus* y *nitens*), siendo las especies *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus nitens* las más abundantes dentro de las especies de eucaliptos (24.1% y 10.8% de las plantaciones totales, respectivamente) (Ver **Figura 1**). La región del Biobío concentra el 40.7% de la superficie nacional plantada y al mismo tiempo, es la región que lidera en cada una de las dos especies señaladas. Además, INFOR (2017) indicó que en el año 2016 fueron consumidos 13,018.9 miles de m<sup>3</sup> de eucalipto ssc en el país, lo que representa la alta demanda de esta especie a nivel nacional. La popularidad de esta especie se liga, principalmente, a su fibra corta de gran calidad.

El *Eucalyptus globulus* (Ver **Figura 2A**) es una especie nativa de Australia, que alcanza alturas de hasta 40 m. En la actualidad, se encuentra en Chile desde la IV hasta la X región, siendo la especie exótica más plantada a lo largo del país. Su corteza es lisa y se desprende en largas tiras longitudinales (Witte y Hall, 2004). Esta especie crece favorablemente en climas cálidos (Battaglia, Beadle, y Loughhead, 1996). Sus limitaciones térmicas estivales le obligan a una distribución más bien costera, en la que además, disfruta de mejor humedad relativa en el aire. En Chile se encuentra principalmente en la zona centro-sur de la Región del Bío Bío (Forest, 2012).



**Figura 1.** Datos estadísticos del total de plantaciones forestales en Chile  
(Fuente: INFOR (2017))

El *Eucalyptus nitens* (Ver **Figura 2B**) es una especie de color café amarillento claro, que a pesar de ser introducida recientemente (1967) hoy ocupa el segundo lugar en importancia de especies de eucaliptos, después del *Eucalyptus globulus* (Forest, 2012). Posee un rápido crecimiento y presenta gran resistencia al frío. Según indicaron Battaglia y col. (1996), esta especie es la preferida para plantaciones en ambientes helados. Las plantaciones de eucaliptos proveen gran parte de los ingresos de la industria para el país. Las dos principales empresas forestales de Chile son Arauco y Empresas CMPC, las cuales están posicionadas entre las más grandes del mundo, y utilizan, entre otras, a las especies *E. globulus* y *E. nitens* como dos de las principales materias primas para sus procesos productivos. La madera obtenida a partir de las plantaciones de las empresas forestales es transformada, principalmente, en madera pulpable (astillas y trozos de árboles), trozos de madera para su uso comercial, tableros y paneles, y celulosa de madera, pero como producto secundario, generan altas cantidades de biomasa forestal, específicamente, corteza de árbol (Forestal, 2010).



**Figura 2.** Fotografías de especies de eucaliptos (A) Especie *E. globulus* (B) Especie *E. nitens*  
(Fuente: Forestal (2010))

#### **4.2. Corteza: contexto actual y usos alternativos**

Las industrias forestales generan grandes cantidades de biomasa residual, en donde destaca la presencia de corteza, cuyo contenido es alto en relación al contenido total del árbol: Domingues, Sousa, Freire, Silvestre, y Neto (2010) indicaron que el contenido promedio de corteza en la especie *E. globulus* es de un 11% del peso seco de su tallo y que, por tanto, una planta de celulosa con una capacidad de producción de  $5.0 \times 10^5$  ton/año de pulpa blanqueada puede generar cerca de  $1.0 \times 10^5$  ton/año de corteza, demostrando el enorme potencial de este recurso renovable sin explotar.

El uso que actualmente las empresas forestales confieren a la corteza es su quemado para la generación de energía. Sin embargo, el renovado interés en la actualidad por la explotación integrada de biomasa como fuente de materiales, químicos, combustibles y energía, dentro del concepto de biorefinería, ha llamado también la atención de las industrias de celulosa y forestales, enfocándose en su ya antes mencionada alta producción de residuos, como la corteza. El concepto de biorefinería consiste,

básicamente, en generar productos valiosos, minimizando las corrientes residuales, sin afectar la producción más importante de la industria en cuestión (Domingues y *col.*, 2011).

Se ha reportado que la corteza de especies de eucaliptos posee compuestos de alto valor agregado en su composición química, los cuales pueden ser explotados. Tal es el caso de las considerables cantidades identificadas de material polifenólico (Mota y *col.*, 2012; S. Santos y *col.*, 2012; Vázquez y *col.*, 2012) y de compuestos lipofílicos, como triterpenoides, esteroides y ácidos grasos (Domingues y *col.*, 2010; Domingues y *col.*, 2011; Freire, Silvestre, Neto, y Cavaleiro, 2002). Lo anterior es de gran importancia desde el punto de vista industrial, debido a que los extractos de corteza encuentran crecientes aplicaciones como sustancias activas para cosméticos, aditivos alimenticios y en productos farmacéuticos.

#### **4.2.1. Composición de la corteza**

La corteza posee la mayoría de los componentes de la madera, aunque en distintas proporciones. Típicamente, la corteza de un árbol está constituida por lignina, carbohidratos (celulosa y pentosanos) y extraíbles (Ver **Tabla 1**). En general, la corteza de un árbol posee mayor contenido de constituyentes extractivos y minerales que la madera (Sjöström, 1993).

La composición de la corteza varía dependiendo de varios factores, entre ellos: la especie, la edad y el sitio de plantación del árbol (Geldres, Gerding, y Schlatter, 2006; Martínez, 2014; Pereira, 1988; Rodríguez y Torres, 1994). A su vez, cada árbol posee un fenotipo único que lo hace diferenciarse de otros de su misma especie, por lo que árboles de una misma especie nunca poseerán composición idéntica. Para análisis rigurosos del estudio de una cierta especie de árbol, varios autores utilizan cortezas de árboles provenientes de una plantación de clones y de características geográficas y de crecimiento similares para minimizar la variabilidad intraespecífica (Domingues y *col.*, 2010; S. Santos y *col.*, 2011). A su vez, la composición de la corteza de un árbol varía dependiendo de la procedencia de ésta, ya sea, ramas, tronco o pelaje (Domingues y *col.*,

2010; Pereira, 1988). Así, estudios recientes, han demostrado que la composición de la corteza del tronco del árbol en cuanto a compuestos extractivos, varía significativamente con la altura del árbol (González, 2015). Una forma de enfrentar la variabilidad en la composición de la corteza con la altura del árbol, es obtener corteza a una altura específica y trabajar con ella. Otra opción es obtener cortezas a distintas alturas y mezclarlas en proporciones iguales, que será el enfoque adoptado en este trabajo.

**Tabla 1.** Composición de la corteza de *E. globulus*.

Componente	% m/m (peso seco)	
	Pereira (1988)	(Mota y col., 2012)
<b>Lignina</b>	18.6 – 23.0	19.3
<b>Carbohidratos</b>	62.8 – 74,5	62.5
<b>Extraíbles</b>	6.30 – 8.50	5.71

(Fuente: Pereira (1988); Mota y col. (2012))

#### 4.3. Composición química de los extractos de corteza de eucaliptos

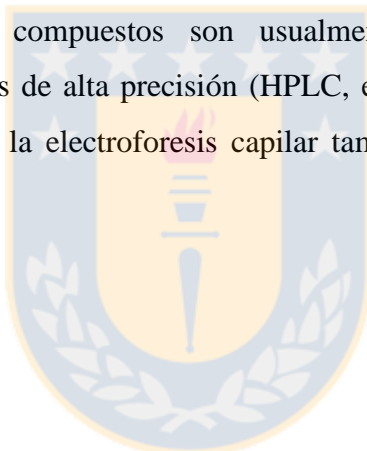
Algunos autores han desarrollado estudios sobre la composición química de los extractos obtenidos a partir de las cortezas de eucaliptos, principalmente de *E. globulus* (Domingues y col., 2011; Freire y col., 2002; S. Santos y col., 2011; S. Santos y col., 2012; Vázquez, González-Alvarez, Santos, Freire, y Antorrena, 2009). Sin embargo, existe escasa información con respecto a extractos obtenidos a partir de corteza de *E. nitens*. Lo anterior, debido principalmente a que esta especie es utilizada mayoritariamente en dos países a nivel mundial: Chile y Australia, por lo que su uso y extensión de plantaciones forestales es menor a la alcanzada por la especie *E. globulus* en el mundo (Muñoz, 2005).

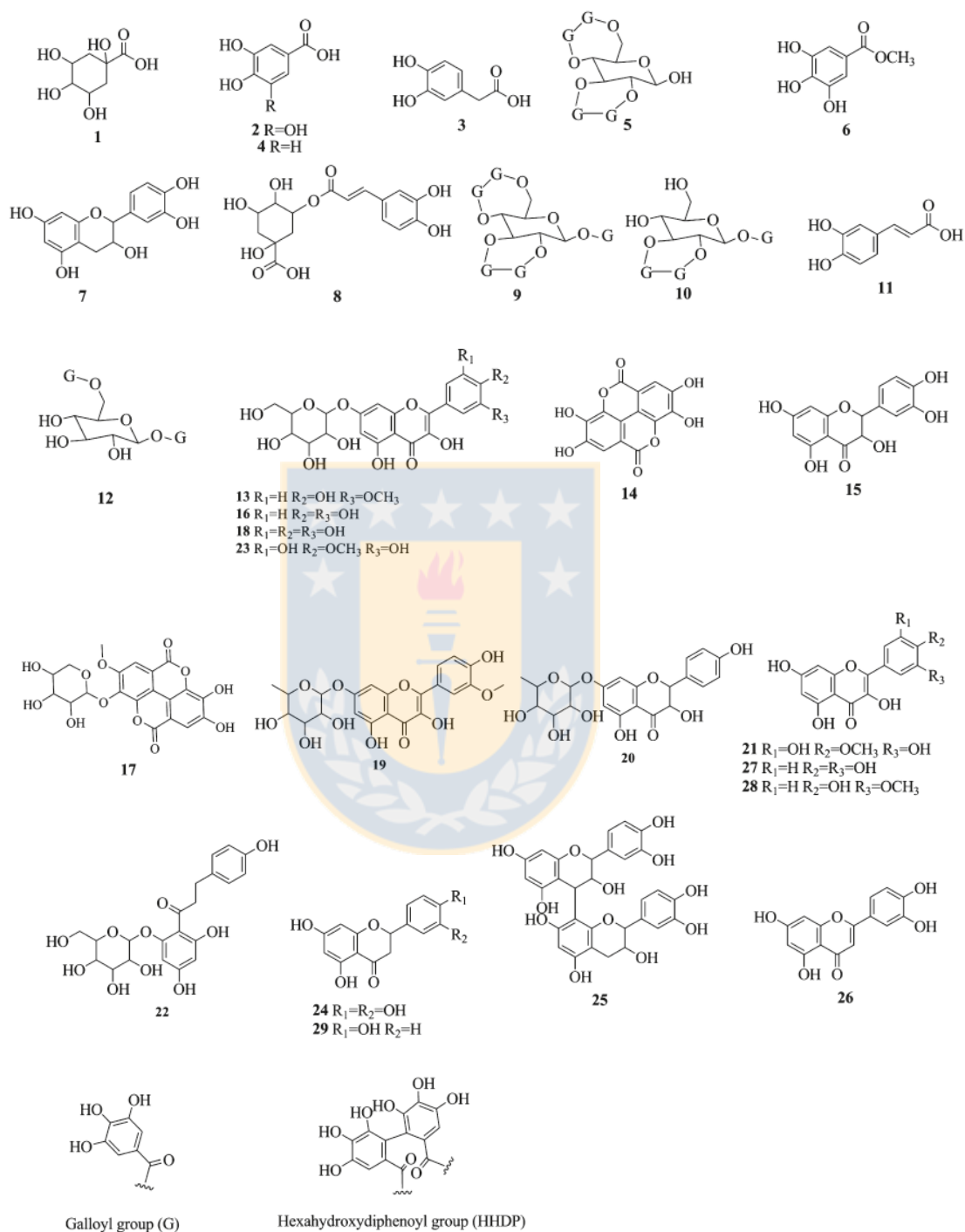
Básicamente, los extractos obtenidos a partir de las cortezas de eucaliptos están constituidos de dos tipos de compuestos: hidrofílicos y lipofílicos.

#### 4.3.1. Compuestos hidrofílicos de corteza de eucaliptos

Los compuestos hidrofílicos de corteza de eucalipto son, principalmente, compuestos polifenólicos, y cantidades menores de compuestos solubles de carbohidratos, proteínas y vitaminas (González, 2015). S. Santos y *col.* (2011) realizaron un completo estudio de los extractos hidrofílicos de la corteza de *E. globulus*. En la **Figura 3** se especifican los tipos de compuestos fenólicos identificados, constituidos por: ácidos fenólicos, ésteres, flavonoides (flavanoles, flavonoles, flavonas y flavanonas), glucósidos flavonoides, ácido elágico y derivados, y elagitaninos. Los compuestos en mayor cantidad identificados fueron digalailglucosa y catequina.

Los análisis de estos compuestos son usualmente llevados a cabo utilizando cromatografía de líquidos de alta precisión (HPLC, en sus siglas en inglés), aunque la cromatografía gaseosa y la electroforesis capilar también son métodos empleados (S. Santos y *col.*, 2011).





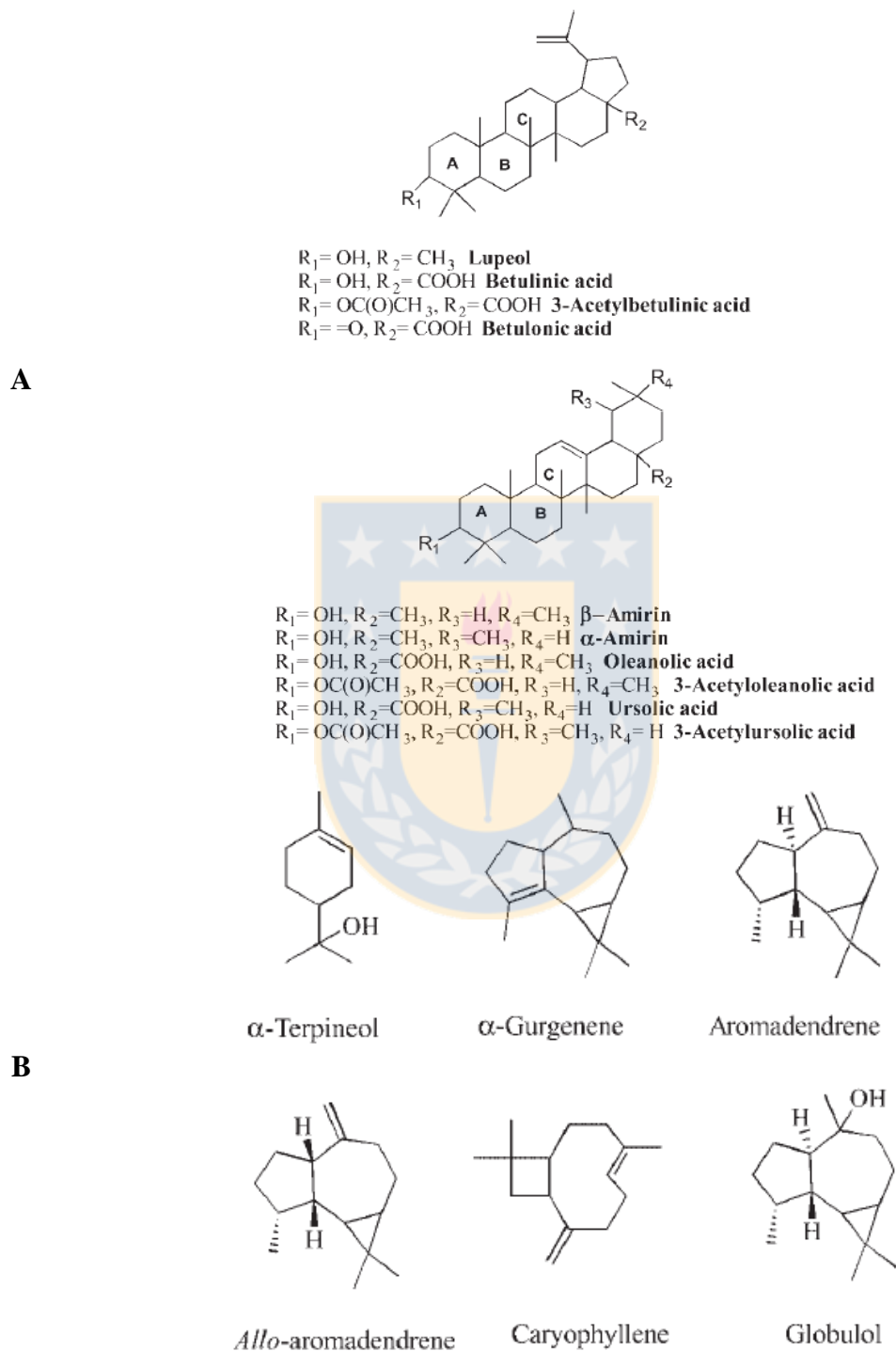
**Figura 3.** Estructura de compuestos fenólicos identificados en extractos de corteza de *E. globulus*.  
 (Fuente: S. Santos y col. (2011))



#### 4.3.2. Compuestos lipofílicos de corteza de eucalipto

Los compuestos lipofílicos del eucalipto se encuentran en la corteza, y en menor cantidad en la madera. Se ha reportado que éstos podrían afectar la eficiencia del procesamiento de la madera para la producción de pulpa y papel, siendo responsable de la formación y deposición de pitch sobre la pulpa y los equipos (Freire y *col.*, 2002). Lo anterior, junto con los posibles usos alternativos de la corteza, ha motivado el estudio de la composición de sus extractos lipofílicos. Los compuestos encontrados en extractos de corteza de *E. globulus* son, principalmente, compuestos triterpénicos (especialmente triterpenoides), esteroides, ácidos grasos, alcoholes grasos y algunos compuestos aromáticos (Domingues y *col.*, 2010). En la **Figura 4A** se presentan estructuras químicas de triterpenoides, y en la **Figura 4B**, las estructuras de mono y sesquiterpenos, todos ellos encontrados en la corteza de *E. globulus* por Freire y *col.* (2002). Domingues y *col.* (2010) también realizaron una caracterización de los extractos lipofílicos de corteza de *E. globulus*, identificando como compuestos principales a los ácidos triterpénicos betulónico, betulínico, ursólico, oleanólico, 3-acetilursólico y 3-acetiloleanólico. Así mismo, Domingues y *col.* (2011) encontraron que los ácidos ursólico, betulínico y oleanólico fueron particularmente abundantes en las cortezas externas de *E. urograndis*, *E. grandis* y *E. maidenii*.

La identificación de compuestos lipofílicos es usualmente llevada a cabo mediante análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS en sus siglas en inglés). Algunos estudios llevan a cabo una hidrólisis alcalina de los extractos, previo al análisis mediante GC-MS para así reconocer componentes como compuestos aromáticos (Domingues y *col.*, 2010).



**Figura 4.** Estructura química de compuestos lipofílicos identificados en extractos de corteza de *E. globulus* (A) triterpenoides (B) mono y sesquiterpenos.  
 (Fuente: Freire y col. (2002))

#### 4.4. Usos potenciales de los extractos

Como se mencionó anteriormente, actualmente en la mayoría de las industrias forestales la corteza es aprovechada para la generación de energía utilizándola como combustible, proceso que no resulta del todo eficiente energéticamente.

La explotación de compuestos de bajo peso molecular y alto valor económico, que pueden ser extraídos desde la corteza de eucaliptos, es una estrategia que podría generar diferentes opciones de negocio (Van der Hoeven, 2015). En la literatura, dos tipos de extractos han sido estudiados: hidrofílicos y lipofílicos.

##### 4.4.1. Extracto hidrofílico

Se ha demostrado que el extracto hidrofílico de la corteza de las especies de eucaliptos *E. globulus*, *E. grandis*, *E. urograndis* y *E. maidenii* poseen un alto contenido fenólico (S. Santos y col., 2011; S. Santos y col., 2012). Además, muchos autores han afirmado que la cantidad de fenoles en este tipo de extracto es proporcional a su capacidad antioxidante para corteza de pino y eucalipto (Aspé y Fernández, 2011; Vázquez y col., 2008).

El interés en estos compuestos fenólicos es debido a sus diversas propiedades bioactivas: antiinflamatorias, antimicrobianas, antibacterianas y antioxidantes, entre otras (Hou, Liu, Yang, Lin, y Sun, 2000; Vázquez y col., 2008). Se ha evaluado el efecto anti-proliferativo del extracto hidrofílico de *E. globulus* sobre la viabilidad de células de cáncer de mama exhibiendo un potencial anti-proliferativo significativo, revelando actividades con IC<sub>50</sub> de 92 µg/mL (Mota y col., 2012). Así también, Yi y col. (2016) probaron el extracto hidrofílico de *Pinus Radiata*, constituido principalmente de catequina y taxifolina, sobre células cancerígenas de colon humano, estudio en el cual comprobaron un decrecimiento de la viabilidad celular, evidenciando así su efecto antitumoral. Esto lo reafirma Rogovskiĭ y col. (2010), encontrando una fuerte correlación ( $r^2=0.93$ ) entre los efectos anti-proliferativos de la taxifolina sobre el número de células de cáncer de mamas. Diouf, Stevanovic, y Cloutier (2009) atribuye el gran

potencial antioxidante y anti-inflamatorio del extracto de corteza de *Piceamariana* a la taxifolina y proantocianidinas oligoméricas del mismo. Además, se ha reportado que la taxifolina y la catequina poseen un alto poder antifúngico sobre las especies *Trichoderma viride* (soft root, en inglés) y *Sporotrichum pulverulentum* (white root, en inglés), respectivamente (Malterud y col., 1985).

La epicatequina también posee un alto poder antioxidante, el cual ha demostrado generar mejoras en la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina II (ECA). A su vez, compuestos galoilados de algunas proantocianidinas también generan efectos inhibidores sobre la ECA, aunque a mayores porcentajes de galoilación el efecto es inverso (Godoy, Roeckel, y Fernández, 2012).

#### **4.4.2. Extracto lipofílico**

Se ha reportado que los extractos lipofílicos de las cortezas de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus nitens* poseen un alto porcentaje en masa de ácidos triterpénicos (>90 %) (Domingues y col., 2011). Estos compuestos poseen efectos biológicos antimicrobianos, antihiper glucémicos, anti-inflamatorios y antitumorales, entre otros, que los hacen potencialmente utilizables en las industrias de alimentación, cosmética y farmacológica (Braga, Ayres-Saraiva, Gattass, y Capella, 2007; Horiuchi y col., 2007; Marquez-Martin, De La Puerta, Fernandez-Arche, Ruiz-Gutierrez, y Yaqoob, 2006; Sato y col., 2007).

Los ácidos ursólico y oleanólico poseen efectos beneficiosos sobre el sistema cardiovascular, la interacción con el citocromo P450, la protección contra la excitotoxicidad inducida por kainato en neuronas del hipocampo de rata, efectos inmunomoduladores, en el equilibrio redox intracelular y en la formación de osteoclastos (Liu, 2005).

El ácido betulínico posee una alta actividad anticancerígena, demostrando ser inhibidor del crecimiento de glioblastomas, meduloblastomas, melanomas, entre otras líneas celulares. Además se ha comprobado su acción antiviral, antibacteriana, antiinflamatoria y analgésica (Tolstikova, Sorokina, Tolstikov, Tolstikov, y Flekhter, 2006). Al igual que el

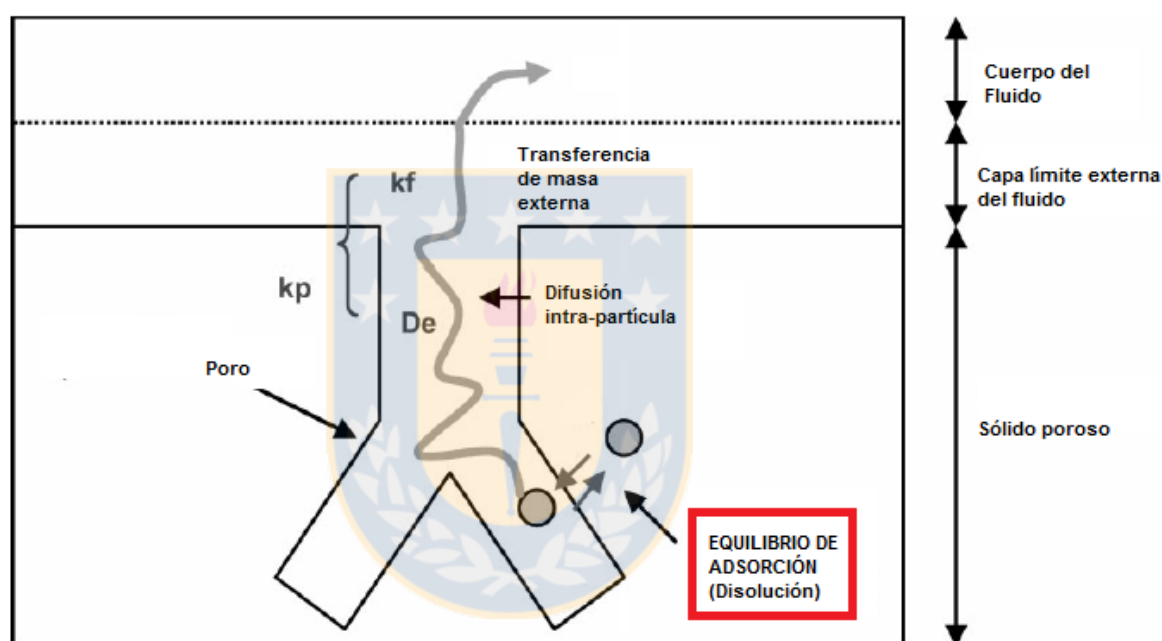
ácido betulínico, desde hace más de dos décadas, se ha demostrado que el ácido betulínico produce una alta inhibición de células cancerígenas de varias líneas de células tumorales (A549, SK-OV-3, HCT15, entre otras) (Ryu y *col.*, 1994).

Los efectos farmacológicos de los ácidos triterpénicos son demasiados para ser mencionados en detalle en este trabajo, pero sin duda, refleja el creciente interés por este tipo de compuestos naturales.

#### **4.5. Proceso extractivo sólido-líquido**

La extracción de compuestos específicos desde materiales sólidos es un proceso de interés comercial, principalmente ligado a la obtención de compuestos activos a partir de elementos, en su mayoría naturales. La fase sólida es comúnmente llamada “alimentación” y de allí se obtiene la sustancia de interés, la cual finalmente es transportada a la fase líquida extractora, también llamada solvente (Cussler, 1997). Así, la extracción es un proceso común de separación a condiciones de operación determinadas, que puede ser llevado a cabo en distintos equipos y configuraciones, diseñados para poner en contacto la fase sólida con la fase líquida. Un ejemplo lo constituyen las extracciones con solventes supercríticos, en donde la fase sólida forma un lecho fijo a través del cual el fluido supercrítico extractor fluye y extrae el soluto hasta el agotamiento total de éste, lo que conforma un tipo de extracción continua (Cocero y García, 2001). Por otro lado, también las extracciones de tipo batch son utilizadas, en donde básicamente, la fase sólida y la líquida son dispuestas en un recipiente agitado durante un tiempo determinado (Dreisewerd, Merz, y Schembecker, 2016; Kassing, Jenelten, Schenk, Hänsch, y Strube, 2012). Así, cuando se requiere diseñar un proceso extractivo a escala industrial se deben estudiar diversos aspectos básicos para la determinación tanto de las condiciones óptimas de operación, como de la configuración óptima de los equipos a emplear, de modo de alcanzar una máxima eficiencia en la sustentabilidad económica del proceso.

Un estudio fenomenológico del proceso extractivo se sostiene en dos pilares básicos: una parte cinética y otra termodinámica. Ambas partes, si bien pueden ser estudiadas por separado, se complementan y conforman la base más rudimentaria del diseño de procesos. En este trabajo se llevará a cabo el estudio de la parte termodinámica, que implica la comprensión del equilibrio soluto/sólido del sistema en estudio, también llamado equilibrio de adsorción (Ver **Figura 5**, en rojo).



**Figura 5.** Descripción del proceso de desorción de un soluto de interés desde una partícula de material sólido. En rojo el equilibrio de adsorción, proceso a estudiar en este trabajo experimental.  
(Fuente: Adaptación de Hostettmann, Chen, Marston, y Stuppner (2014))

#### 4.6. Adsorción

La adsorción consiste en un fenómeno de superficie mediante el cual uno (o varios) soluto(s) contenido(s) en un fluido multi-componente (gas o líquido) es(son) atraído(s) a la superficie de un sólido adsorbente formando uniones vía enlaces físicos o químicos (Foo y Hameed, 2010). La adsorción de los componentes de una solución sobre la superficie de adsorbentes sólidos es un fenómeno de gran interés e importancia práctica.

Por ejemplo, los adsorbentes como la tierra de diatomeas se emplean en el refinado de aceites vegetales. Así también, el análisis por adsorción cromatográfica se ha transformado en uno de los métodos más importantes para separar productos naturales, como aminoácidos, péptidos y pigmentos vegetales (Moore, 1950).

La adsorción implica la participación de dos sustancias fundamentales. El adsorbente, correspondiente al compuesto sobre el cual tiene lugar la adsorción, y el adsorbato, referente a la sustancia que se adsorbe.

Existen dos tipos de adsorción, física y química. La primera, se debe a la acción de fuerzas no específicas entre la superficie sólida y las moléculas de adsorbato, semejantes a las fuerzas de Van der Waals. Las energías de adsorciones físicas son del orden de unos cientos a unos pocos miles de calorías por mol. Generalmente, la adsorción física es muy reversible, exceptuando el caso en que el adsorbente contiene muchos poros finos o capilares. La adsorción química, por su parte, es el resultado de fuerzas de unión mucho más intensas (uniones intramoleculares), comparables con las que conducen a la formación de compuestos químicos, siendo por tanto un proceso que depende del área superficial del adsorbente. Las energías de adsorción, para estos casos, van desde unas  $10^4$  hasta  $10^5$  calorías por mol. Este tipo de adsorción acostumbra a ser irreversible debido a que incluye fuertes enlaces (Moore, 1950), sin embargo, en quimisorciones débiles, como algunos casos de intercambio iónico, este proceso puede ser reversible (Tran, You, y Chao, 2016).

#### **4.6.1. Adsorbente: sólidos de gran área superficial**

El adsorbente consiste de una fase sólida de gran área superficial, proporcionada principalmente por las paredes de los poros que ésta posee (Gregg y Sing, 1967). Los sistemas porosos de los sólidos son variados, referidos a diferencias en tamaños y formas. Esta variación se presenta dentro de un sólido particular y entre un sólido y otro. Así, por ejemplo, de acuerdo a los distintos rangos de diámetros de poros, existen microporos ( $d < 2$  nm), mesoporos (entre 2 y 50 nm) y macroporos ( $d > 50$  nm). Cada rango de tamaño de poro se encuentra asociado con un comportamiento de adsorción

característico, introduciendo un tipo particular de problema en estudios de adsorción/desorción.

#### 4.6.2. Isoterma de adsorción

En forma general, una isoterma de adsorción consiste en una curva que describe el fenómeno que gobierna la retención (o liberación) o movilidad de una sustancia desde una fase fluida hacia una fase sólida, a temperatura y pH constante. Para el caso de interés, en sistemas sólido-líquido, cuando la retención de un soluto sobre partículas sólidas es investigada, la concentración de soluto restante del compuesto (en la fase líquida),  $C_e$  (mol/L o kg/L) puede ser comparada con la concentración de este compuesto retenido en las partículas sólidas,  $q_e$  (mol/kg o kg/kg). La relación  $q_e=f(C_e)$  es llamada isoterma de adsorción. La palabra “isoterma” fue específicamente elegida debido a la influencia de la temperatura en el proceso de adsorción, lo que indica que la temperatura debe ser fijada y especificada para cada isoterma estudiada (Limousin y *col.*, 2007).

Los distintos equilibrios de adsorción y desorción descritos por las isotermas, son establecidos cuando la fase fluida se pone en contacto con un medio adsorbente por un tiempo suficiente, hasta que no se presentan variaciones en la concentración de adsorbato en la fase fluida en el tiempo (Foo y Hameed, 2010). Se estudia el proceso de retención (o adsorción) cuando la fase fluida contiene inicialmente al adsorbato; similarmente, el proceso de liberación (o desorción) es estudiando cuando es la fase sólida la que contiene inicialmente al adsorbato (Ver **Figura 6**).

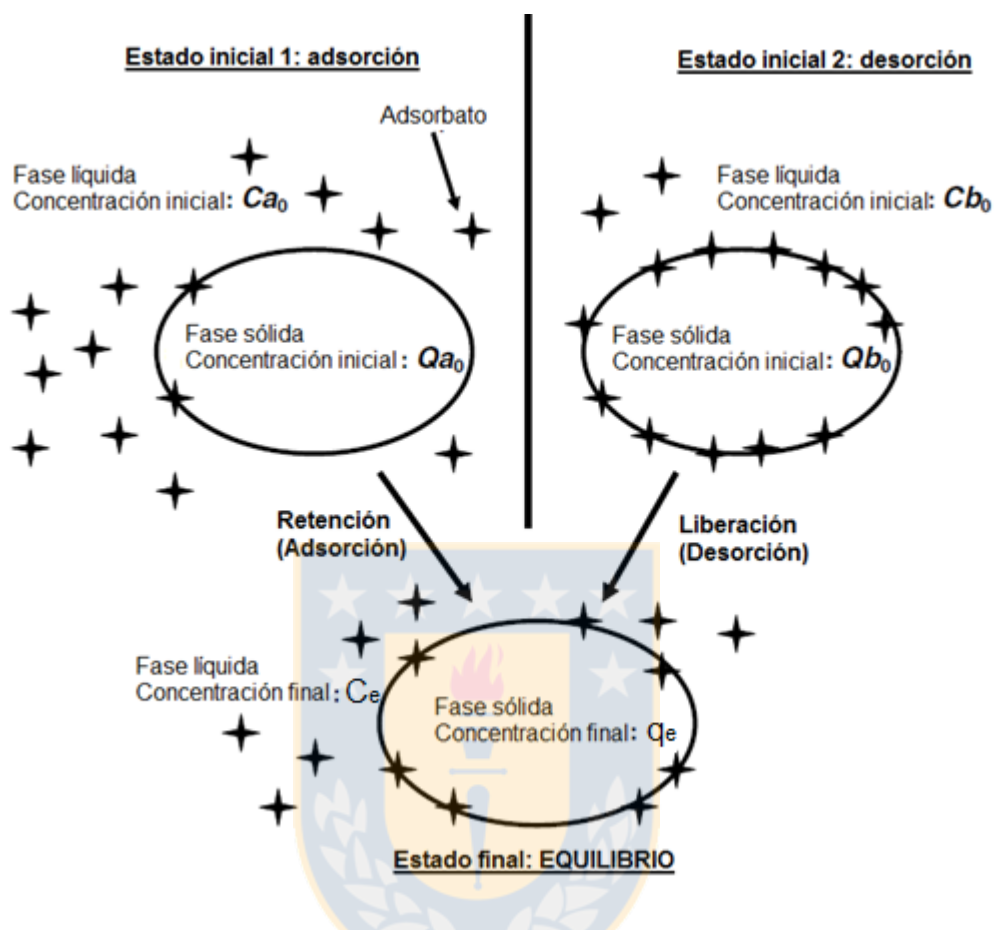
Cuando la adsorción es estudiada en la fase experimental, la concentración del componente retenido en la fase sólida es calculada por diferencia entre la concentración inicial de soluto en la fase líquida ( $C_{a_0}$ ) y la final,  $C_e$  (Ver **Figura 6**). Luego, la concentración de adsorbato en la fase sólida,  $q_e$ , puede ser determinada mediante la relación:



$$q_e = \frac{V}{m}(Ca_o - C_e) + Qa_o \quad (1)$$

En la **Ecuación 1**, V es el volumen de la solución, m es la masa de la fase sólida y  $Qa_o$  es la concentración del compuesto inicialmente retenido por el sólido (despreciable). Para el caso del estudio de desorción, la cantidad de adsorbato inicialmente retenido  $Qb_o$  debe ser medido previamente. La concentración de adsorbato en la fase sólida puede ser calculada, por tanto, mediante la **Ecuación 1**, reemplazando  $Ca_o$  por  $Cb_o$  y  $Qa_o$  por  $Qb_o$ . Por lo anterior, algunos autores proponen denominar a las isothermas “curvas de desaparición del soluto”, debido al cálculo de la retención mediante la diferencia entre la concentración de soluto inicial y la final en la solución (Limousin y *col.*, 2007).





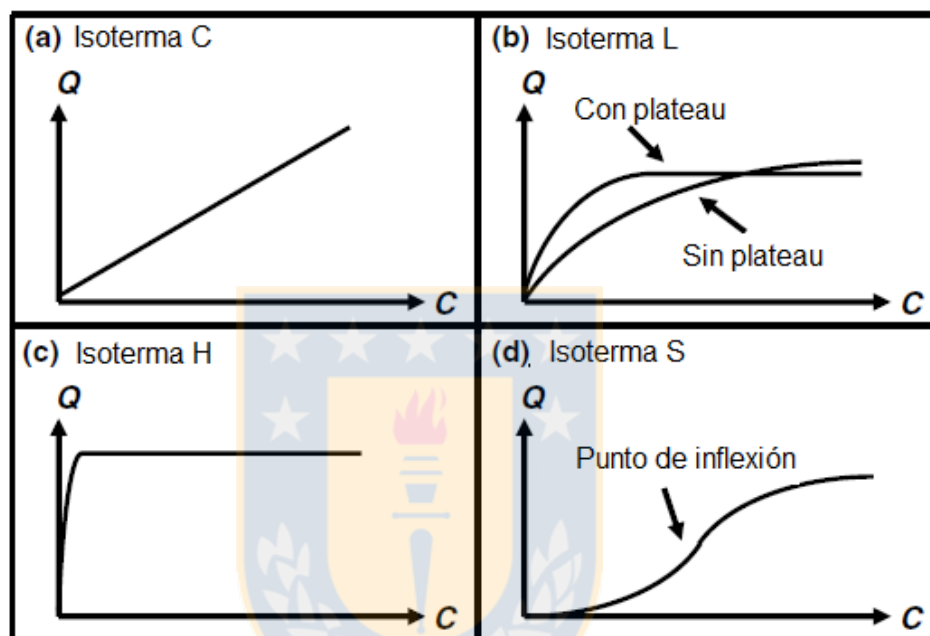
**Figura 6.** Esquema de los fenómenos de adsorción y desorción en sistemas sólido-líquido.  
(Fuente: Adaptación de Limousin y col. (2007))

Los parámetros fisicoquímicos asociados a las isothermas, en conjunto con las suposiciones termodinámicas subyacentes, proveen una noción del mecanismo de adsorción, propiedades de superficie, así como el grado de afinidad adsorbato/adsorbente.

#### 4.6.2.1. Modelos de Isotherma de adsorción

La descripción del equilibrio de adsorción debe ser llevada a cabo mediante el establecimiento de correlaciones de equilibrio de adsorción apropiadas. Esto es indispensable para la predicción confiable de los parámetros de adsorción y para comparaciones cuantitativas de variadas condiciones experimentales (Foo y Hameed,

2010). A lo largo de los años, se han desarrollado una gran variedad de modelos de isoterma. Giles, Smith, y Huitson (1974) propusieron una generalización de los tipos de isoterma, en donde se distinguen 4 casos particulares, correspondientes a las 4 principales formas de isothermas utilizadas (Ver **Figura 7**).



**Figura 7.** Los 4 principales tipos de isothermas  
(Fuente: Giles y col. (1974))

#### 4.6.2.1.1. Isoterma tipo C

Este tipo de isoterma es mostrado en la **Figura 7A**. Consiste en una línea de origen (0,0). Esto significa que la razón entre la concentración de adsorbato en la fase fluida y la adsorbida en la fase sólida es constante en todo el rango de concentración. Esta razón es usualmente nominada “coeficiente de distribución” o “coeficiente de partición” (Limousin y col., 2007).

Una isoterma lineal es consistente con condiciones en las que el número de sitios (no necesariamente de igual energía) permanece constante a través del completo rango de concentraciones de soluto, hasta la saturación de la fase adsorbente. Esto significa que la

superficie disponible para la adsorción se “expande” proporcionalmente con la cantidad de soluto adsorbido (Giles y *col.*, 1974).

La simplicidad de este tipo de isoterma no debería justificar su uso sin verificación, pues de otra forma, esta podría conducir a conclusiones erróneas. Por ejemplo, si la fase sólida posee una cantidad limitada de sitios de adsorción, la isoterma podría no ser lineal y, por el contrario, poseer un plateau de saturación (Limousin y *col.*, 2007).

#### **4.6.2.1.2. Isoterma tipo L**

En este tipo de isoterma, la pendiente disminuye continuamente con el aumento de la concentración. Esto genera una curva cóncava. Lo anterior, sugiere que los sitios vacantes se vuelven más difíciles de encontrar con el avance del cubrimiento de la superficie (Giles y *col.*, 1974), y por tanto, se genera una saturación progresiva del sólido.

Como se muestra en la **Figura 7B**, este tipo de isoterma usualmente es dividido en dos subgrupos: (i) Curva que alcanza un estricto plateau asintótico, indicando que el sólido posee una capacidad de adsorción limitada (ii) Curva no alcanza un plateau (el sólido no muestra claramente una capacidad de adsorción limitada). A pesar de esta subdivisión, a menudo es de alta dificultad distinguir si una isoterma pertenece al primer o al segundo subgrupo (Limousin y *col.*, 2007).

#### **4.6.2.1.3. Isoterma tipo H**

Este corresponde a un caso particular de la isoterma tipo L, en donde el valor de la pendiente inicial es muy alto (Ver **Figura 7C**). Este caso es distinguido de los otros debido a que el adsorbato manifiesta una afinidad tal con la fase adsorbente, que la pendiente inicial de la curva es cercana al valor infinito, incluso cuando esto no tiene sentido práctico desde un punto de vista termodinámico (Tóth, 1994).

#### 4.6.2.1.4. Isoterma tipo S

Este tipo de isoterma posee una curva con forma sigmoideal (Ver **Figura 7D**), y por tanto, posee un punto de inflexión. Este tipo de isoterma es siempre el resultado de al menos dos mecanismos opuestos. Un ejemplo de este comportamiento lo manifiestan compuestos orgánicos no polares, las cuales poseen una baja afinidad con las arcillas. Sin embargo, una vez que la superficie de la arcilla se cubre con este tipo de adsorbato, otras moléculas orgánicas son adsorbidas más fácilmente (Limousin y *col.*, 2007). Este fenómeno es denominado “adsorción cooperativa”. El punto de inflexión de la curva sigmoideal representa la concentración a la cual se genera este cambio de mecanismo. Eventualmente, en todos los casos, la pendiente de la curva finalmente “cae” y se vuelve nula en el punto de saturación, indicando la ausencia de sitios vacantes (Giles y *col.*, 1974).

#### 4.6.2.1.5. Isoterma de Langmuir:

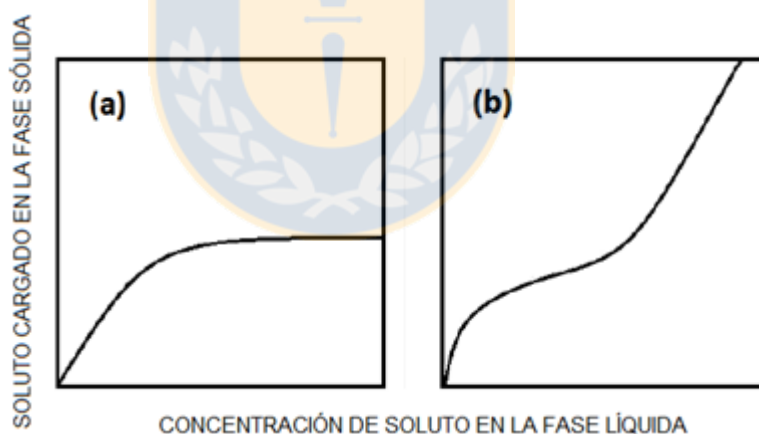
Isoterma de tipo cóncava (tipo L o H), originalmente propuesta por Langmuir en el año 1916 para la descripción de la adsorción de gases en carbón activado, supone que la superficie adsorbente es uniforme y capaz de mantener unida una capa de espesor monomolecular de la sustancia adsorbida (Duffey, 1965), la cual, luego de completarse, da fin al proceso de adsorción, es decir, asume que existe un número finito de sitios de adsorción. Esta teoría supone, además, la no existencia de interacciones laterales entre las moléculas adsorbidas, y se refiere a la adsorción como un proceso homogéneo, en donde todos los sitios poseen igual afinidad por el adsorbato, y donde este último no transmigra en el plano de la superficie (Foo y Hameed, 2010).

La expresión matemática del modelo de isoterma de Langmuir es presentada en la **Ecuación 2** (Foo y Hameed, 2010), en donde se identifica que este modelo empírico contiene dos parámetros:  $K_s$ , la constante de la isoterma de Langmuir, la cual representa la afinidad del adsorbato por la fase sólida, y  $q_s$ , la cual corresponde a la capacidad de cubrimiento máximo de la monocapa (Li, Ma, y Yao, 2015; Limousin y *col.*, 2007).

$$q_e = \frac{q_s K_s C_e}{1 + K_s C_e} \quad (2)$$

En la **Ecuación 2**,  $q_e$  representa a la cantidad de adsorbato adsorbido en la fase sólida en el equilibrio y  $C_e$  corresponde a la concentración de adsorbato en la fase fluida en el equilibrio.

Gráficamente, esta isoterma es caracterizada por un *plateau*, correspondiente a una condición de saturación del equilibrio, la cual se debe a que una vez que una molécula ocupa un sitio, no puede adsorberse otra allí, llegándose en un momento y a una condición operacional dada, a este punto de saturación (Ver **Figura 8A**). La constante  $q_s k_s$  corresponde a la pendiente inicial de la isoterma y es a menudo usada como un coeficiente de distribución cuando la concentración es lo suficientemente baja para justificar esta aproximación.



**Figura 8.** Esquematación de isotermas de (A) Langmuir (B) BET.  
(Fuente: Adaptación de Limousin y col. (2007))

#### 4.6.2.1.6. Isoterma de Freundlich

Esta isoterma fue propuesta por Freundlich en 1909 (Moore, 1950). Este modelo corresponde a la primera relación para la descripción de la adsorción no ideal y reversible, no restringida a la formación de una monocapa. Puede ser aplicado, por tanto,

a una adsorción en multicapa, con una distribución no uniforme del calor de adsorción y de la afinidad con el adsorbato, sobre la superficie heterogénea. La cantidad adsorbida sobre la superficie adsorbente, corresponde a la suma de lo adsorbido en todos los sitios (cada uno teniendo una energía de enlace determinada), con los sitios de unión más fuertes siendo ocupados primero. La adsorción transcurre hasta que la energía de adsorción es exponencialmente disminuida hasta completar el proceso (Foo y Hameed, 2010). El hecho de que las energías de adsorción de los sitios disponibles no sean iguales, puede atribuirse a diferencias en tamaños y formas de poros, y a interacciones adsorbente-adsorbato (Muhammad *y col.*, 2011).

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (3)$$

La expresión matemática representativa de la isoterma de Freundlich es presentada en la **Ecuación 3**. Allí,  $q_e$  y  $C_e$  representan lo mismo definido anteriormente para la isoterma de Langmuir (Ver **Sección 4.6.2.1.5**).  $K_F$ , por su parte, es llamada constante de la isoterma de Freundlich, y se encuentra relacionada con la capacidad de adsorción de la fase adsorbente, y  $1/n$  es una constante empírica relacionada a la magnitud de la fuerza impulsora de adsorción (Li *y col.*, 2015). Esta constante adimensional es a menudo llamada “factor de heterogeneidad de la superficie” o “factor de intensidad de adsorción”. Mientras más heterogénea sea la superficie, el valor de  $1/n$  más se acercará a cero (Muhammad *y col.*, 2011). El valor de  $n$  es corrientemente mayor a la unidad (Moore, 1950), lo que indica una adsorción favorable, por tanto, el valor de  $1/n$  se encuentra en el rango de 0.1-1 (Muhammad *y col.*, 2010). De acuerdo a la forma matemática de la isoterma de Freundlich, ésta no alcanza un *plateau* con el incremento de  $C_e$ , a diferencia de la isoterma de Langmuir.

En la actualidad, la isoterma de Freundlich es ampliamente utilizada en sistemas heterogéneos, especialmente para compuestos orgánicos o especies altamente interactivas, sobre carbón activado (Foo y Hameed, 2010), sin embargo, es criticada por

su limitación asociada a la falta de una base termodinámica, alejándose de la ley de Henry a concentraciones pequeñas.

#### 4.6.2.1.7. Isoterma de Dubinin-Radushkevich (D-R)

El modelo de isoterma de Dubinin-Radushkevich es representado mediante la **Ecuación 4**. Este modelo es generalmente aplicado para la expresión de mecanismos de adsorción con una distribución de energía Gaussiana sobre la superficie heterogénea de la fase adsorbente (Dada, Olalekan, y Olantuya, 2012). En la expresión que representa al modelo, la constante  $K_{ad}$  se encuentra relacionada con la energía de adsorción, y  $Q_s$  es la capacidad de saturación teórica. Por su parte, el parámetro  $\varepsilon$  es llamado potencial Polanyi, y se calcula desde la **Ecuación 5**, donde  $R$  es la constante universal de los gases,  $8.314 \text{ J/mol}\cdot\text{K}$ . Adicionalmente, la energía media de adsorción,  $E$ , puede ser calculada utilizando  $K_{ad}$  (**Ecuación 6**).

$$q_e = Q_s \cdot \exp(-K_{ad} \cdot \varepsilon^2) \quad (4)$$

$$\varepsilon = R \cdot T \cdot \ln\left(1 + 1/C_e\right) \quad (5)$$

$$E = 1/\sqrt{2 \cdot K_{ad}} \quad (6)$$

De acuerdo a la magnitud de  $E$ , se puede tener una noción del mecanismo de adsorción, siendo física para valores de  $E$  menores a  $8 \text{ kJ/mol}$ , o química para  $E > 16 \text{ kJ/mol}$  (Tran y col., 2016).

#### 4.6.2.2. Determinación de los parámetros de los modelos de isoterma

El método lineal de mínimos cuadrados es una aproximación tradicional llevada a la linealidad, ampliamente utilizada para la determinación de los parámetros incluidos en los modelos de isoterma de adsorción, y ha sido empleado para decidir cuál modelo de isoterma ajusta de mejor manera los datos experimentales, de acuerdo a la cercanía del



valor del coeficiente de regresión ( $r^2$ ) a la unidad. Si bien, el valor de  $r^2$  demuestra ser un indicador eficiente en la determinación del mejor modelo de isoterma para un caso particular en estudio, su limitación se asocia a su uso único en modelos lineales de isoterma (Wong, Szeto, Cheung, y McKay, 2004).

Si bien el utilizar una ecuación lineal para el ajuste de los datos experimentales es mucho más sencillo que ajustar una ecuación no lineal con una forma compleja, recientemente se han identificado desventajas en el uso de expresiones lineales de los modelos de isoterma, como la alteración en la estructura del error y la violación de los supuestos de normalidad del método estándar de mínimos cuadrados, conduciendo al sesgo de los datos de adsorción (Foo y Hameed, 2010). Lo anterior, ha conducido al uso de modelos no linealizados, en conjunto con un número de técnicas de análisis del error no lineales, con el fin de descubrir el modelo más adecuado para la representación de los datos experimentales. Paralelo a esto, el desarrollo de tecnología computacional adecuada desde la década de 1980 ha facilitado y motivado el uso de modelos de isoterma no lineales. En la **Tabla 2** se presentan cinco tipos de funciones de error comúnmente utilizadas en el ajuste no lineal de los datos experimentales a los modelos de isoterma.

La función “suma de cuadrados del error” o SSE es la función de error más ampliamente utilizada (Piccin, Dotto, y Pinto, 2011; Wong y *col.*, 2004). Sin embargo, posee la desventaja de que los parámetros de la isoterma que son derivados de esta función, entregan un mejor ajuste de los datos en la porción final de la isoterma. Esto es debido a la magnitud de los errores, los cuales se incrementan (y por tanto, se incrementa el valor de SSE) cuando la concentración de adsorbato en la fase líquida aumenta, sesgando el ajuste hacia los datos de alta concentración de soluto (Piccin y *col.*, 2011)

La función de error fraccional híbrida (HYBRID) fue desarrollada para mejorar el ajuste de la función SSE a bajas concentraciones de adsorbato en la fase líquida (Foo y Hameed, 2010). Para lograr esto, cada valor de la función SSE es dividido por el valor experimental de la concentración en la fase sólida (Wong y *col.*, 2004).

La función de desviación estándar porcentual de Marquardt (MPSD) ha sido previamente utilizada por un número de investigadores en los estudios de isoterma (Ekka, Nayak, Dash, y Patel, 2016; Mall, Srivastava, Agarwal, y Mishra, 2005; Ng, Cheung, y McKay, 2003). De acuerdo al número de grados de libertad en el sistema, esta función es similar en algunos aspectos a una distribución geométrica del error medio, pero modificada (Piccin y col., 2011).

La función de error promedio relativo (ARE) indica una tendencia a sub o sobre estimar los datos experimentales, con el fin de minimizar la distribución de error fraccional a través del rango completo de concentración estudiado (Wong y col., 2004).

La función suma de errores absolutos (EABS) es similar a la función SSE en cierto aspecto. Los parámetros determinados utilizando esta función de error podrían entregar un mejor ajuste en la medida que la magnitud del error se incrementa, sesgando el ajuste hacia los datos de mayor concentración (Piccin y col., 2011; Wong y col., 2004).

Ya que el uso de diferentes funciones de error probablemente entregue diferentes conjuntos de parámetros de isoterma, se lleva a cabo un procedimiento estándar para normalizar y combinar varios errores (suma de errores normalizados, SNE), de manera de lograr una mejor y más significativa comparación entre el conjunto de parámetros (Piccin y col., 2011):

- Se selecciona un modelo de isoterma y una función de error. Con esto, se calculan los parámetros (ajustables) que minimizan la función de error.
- Se determinan todas las otras funciones de error para el set de parámetros anteriormente calculado.
- Se calculan los otros sets de parámetros, asociados a la minimización de las demás funciones de error.
- Se selecciona el máximo error de cada función de error. Se dividen luego los errores determinados previamente para una función de error dada, por este máximo. Con esto, se obtienen los errores normalizados para cada conjunto de parámetros.

- Se suman los errores normalizados para cada conjunto de parámetros.

El conjunto de parámetros que posea el menor valor de SNE será el óptimo (Crini y Badot, 2010).

Para el caso del tratamiento lineal, se debe trabajar con las isothermas linealizadas, lo que puede realizarse solo para isothermas con dos parámetros. Las ecuaciones que representan a la isoterma de Langmuir, Freundlich y D-R son fácilmente linealizables (Ver **Tabla 3**).

En este estudio, la técnica de mínimos cuadrados no lineal y la presentación linealizada de las ecuaciones de isothermas serán utilizadas para la evaluación del equilibrio de adsorción. Se presentará así, una comparación de las constantes de equilibrio calculadas desde las ecuaciones de las isothermas linealizadas, y en su forma original (no lineal).

#### **4.6.3. Adsorción sólido-líquido**

El estudio de la adsorción sólido-líquido se ha priorizado en el campo del tratamiento de aguas residuales industriales, para la remoción de sustancias contaminantes en su composición mediante el uso de sólidos adsorbentes (Crini y Badot, 2010). Sin embargo, una parte escasa en la literatura hace estudio del fenómeno de adsorción/desorción en extracciones (o maceraciones, en el caso de alimentos, flores y hierbas) de compuestos, principalmente compuestos activos, a partir de una fase sólida, mediante el uso de un solvente líquido como fase extractora (Kassing y *col.*, 2012; Li y *col.*, 2015; Muhammad y *col.*, 2010; Muhammad y *col.*, 2011). En extracciones sólido-líquido, luego del proceso, son producidos una solución con extracto y una fase sólida llamada refinado. La solución con extracto consiste de solvente y el soluto extraído, mientras que el refinado es una mezcla heterogénea, consistente del material sólido y una fase líquida adherida a la matriz sólida. Esta fase líquida adherida es llamada humedad remanente y consiste, al igual que la solución con extracto, de solvente y el soluto extraído (Dreisewerd y *col.*, 2015).

**Tabla 2.** Funciones de error comúnmente utilizadas en ajustes no lineales de modelos de isoterma.

Función de error	Abreviación	Expresión	Observaciones
Suma de cuadrados del error	SSE	$\sum_{i=1}^n (q_c - q_e)_i^2$	-
Función de error fraccional híbrida	HYBRID	$\frac{100}{n-p} \sum_{i=1}^n \left( \frac{q_e - q_c}{q_e} \right)_i$	p es el número de parámetros de la ecuación de la isoterma
Desviación estándar porcentual de Marquardt	MPSD	$100 \sqrt{\frac{1}{n-p} \sum_{i=1}^n \left( \frac{q_e - q_c}{q_e} \right)_i^2}$	-
Error promedio relativo	ARE	$\frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \left  \frac{q_e - q_c}{q_e} \right _i$	-
Suma de errores absolutos	EABS	$\sum_{i=1}^n  q_e - q_c $	-

**Nota:**  $q_c$  representa la cantidad calculada por el modelo y  $q_e$  representa el valor experimental. n es el número de datos totales.

(Fuente: Adaptación de Foo y Hameed (2010))

**Tabla 3.** Formas linealizadas de las isotermas de Langmuir y Freundlich.

Isoterma	Parámetros	Forma linealizada	Graficar
Langmuir	$K_s, q_s$	$\frac{q_e}{C_e} = q_s K_s - q_e K_s$	$\frac{q_e}{C_e}$ versus $q_e$
Freundlich	$K_F, 1/n$	$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e$	$\log q_e$ versus $\log C_e$
D-R	$Q_s, K_{ad}$	$\ln q_e = \ln Q_s - K_{ad} \cdot \varepsilon^2$	$\ln q_e$ versus $\varepsilon^2$

(Fuente: Adaptación de Foo y Hameed (2010))

#### 4.6.3.1. Obtención de información de equilibrio: interacción soluto/sólido

En un proceso extractivo sólido/líquido, luego de contactar el adsorbato con el adsorbente durante un tiempo suficiente, se establece un equilibrio de adsorción/desorción entre la superficie de la matriz sólida y el solvente que contacta directamente la superficie, a menudo llamada interacción soluto/sólido (Araus, Uquiche, y del Valle, 2009). El estudio de esta interacción es importante para el diseño de la extracción; más aún, ciertos modelos matemáticos contienen a estas interacciones como parámetro, por ejemplo, el modelo de células rotas e intactas de Sovová (2005), y, por supuesto, corresponde a uno de los pasos de la secuencia de transferencia de masa durante la extracción (equilibrio **superficial**), por lo que puede ser usado en modelos matemáticos que describen la cinética global de extracción, para un diseño de procesos adecuado.

En extracciones sólido/líquido, la obtención de los datos de equilibrio superficial (interacción soluto/sólido) a menudo es llevada a cabo a partir de mediciones dinámicas (Sovová, 2005), mediante las llamadas “curvas de extracción”. En el caso especial en el que el sólido posee naturalmente al soluto de interés, es decir, una fitoextracción, la compleja estructura del material vegetal puede generar diversos pasos en el proceso de transferencia de masa y de equilibrio, por ejemplo, difusión a través del propio material sólido (que podría provocar efectos de retardo en alcanzar el equilibrio), indicando que pueden existir efectos superpuestos durante la fitoextracción que impiden una medición directa de las interacciones soluto/sólido. Además, obtener isothermas a partir del proceso propio de extracción puede llevar a consumo de tiempo innecesario. Lo anterior se justifica considerando que la máxima cantidad de soluto que puede ser solubilizada en la fase líquida durante la extracción corresponde a la concentración de saturación,  $C_{sat}$ , del soluto en el solvente (o solubilidad termodinámica). Sin embargo, bajo las condiciones de extracción, son diversos los factores que pueden afectar a la solubilidad: interacciones soluto/matriz, contenido inicial de soluto en el sustrato, interacciones soluto/soluto. Desconociendo a priori estas interacciones y la cantidad inicial de soluto en la matriz sólida, como en todo estudio inicial de procesos de extracción de sustancias vegetales, se

desconocerá, así también, si en cada etapa de extracción el solvente se saturará en soluto (luego, la concentración de soluto en la fase líquida será definida por la solubilidad del soluto en el solvente **bajo las condiciones de extracción**) y por tanto, se requerirá de muchas etapas de desorción para formar la curva de isoterma.

En este contexto, Dreisewerd y *col.* (2016) y Araus y *col.* (2009) propusieron la medición de las interacciones soluto/sólido de forma independiente de la cinética de extracción, en donde el material sólido es, primeramente, “totalmente” extraído, y luego, las interacciones son medidas mediante el proceso opuesto de adsorción. Lo anterior, permite un control del experimentador sobre las concentraciones de soluto a cargar sobre la fase adsorbente, además de una eliminación de la etapa de lavado o “washing” (en inglés) del sustrato vegetal durante el proceso de extracción (etapa que podría provocar saturaciones anticipadas del solvente utilizado en la(s) primera(s) etapa(s) de la extracción del soluto, y por tanto, un recorrido sobre la construcción de la isoterma menos eficiente); es decir, permite eliminar las interferencias causadas por el fenómeno de extracción. Además, el uso del proceso inverso de adsorción permite una medición independiente de la cinética de adsorción.

Este enfoque será utilizado en este trabajo experimental para la identificación de las interacciones soluto/sólido del sistema compuestos fenólicos/corteza de *E. globulus* y *E. nitens*.

#### **4.6.3.2. Extracciones multietapa**

El modo de extracción batch, también llamado maceración (cuando se trata de sólidos de origen natural) es el modo de operación más ampliamente utilizado para llevar a cabo la extracción de solutos desde materiales sólidos (Dreisewerd y *col.*, 2016). Sin embargo, una desventaja importante de este modo de operación es el grado limitado de extracción, planteado por el cuasi-equilibrio de extracción, el cual corresponde al estado de una concentración de extracto constante en ambas fases participantes en el proceso extractivo. Por tanto, extracciones de una etapa son, en su mayoría, insuficientes para lograr rendimientos aceptables, por lo que el desarrollo de multiextracciones es un

enfoque a menudo utilizado. Las extracciones multietapa son principalmente diseñadas de forma gráfica, así, el uso de diagramas como el triangular de ángulo recto, el de Ponchon-Savarit, el triangular equilátero, o el de Mc-Thiele pueden ser utilizados (Sattler y Feindt, 1995).

#### 4.7. Termodinámica del proceso de adsorción

En los estudios de adsorción, es esencial establecer la naturaleza del mecanismo de adsorción, es decir, si ésta es química o física. Tanto la adsorción de tipo física, como aquella de tipo química, pueden ser reconocidas a través del estudio de los parámetros termodinámicos, incluyendo el cambio de energía libre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ), el cambio de entalpía ( $\Delta H^\circ$ ), y el cambio de entropía ( $\Delta S^\circ$ ) (Tran y col., 2016). Éstos, pueden ser calculados de acuerdo a las leyes termodinámicas: la espontaneidad de un sistema es definido mediante la evaluación de  $\Delta G^\circ$ , y en el equilibrio éste parámetro es definido por la **Ecuación 7**, donde  $K_c$  corresponde a la constante del equilibrio termodinámico, la cual es adimensional y  $R$  representa a la constante universal de los gases (8.314 J/mol·K).

$$\Delta G^\circ = -R \cdot T \cdot \ln K_c \quad (7)$$

Si la **Ecuación 7** es sustituida en la ecuación de Gibbs Helmholtz (**Ecuación 8**), la ecuación de van't Hoff es obtenida (**Ecuación 9**). Si, a su vez, esta última es integrada a presión constante, resulta la **Ecuación 10**, en donde  $Y$  corresponde a la constante de integración.

$$\left(\frac{\partial (\Delta G^{\circ}/T)}{\partial T}\right)_p = -\frac{\Delta H^{\circ}}{T^2} \quad (8)$$

$$\left(\frac{\partial \ln K_c}{\partial T}\right)_p = \frac{\Delta H^{\circ}}{R \cdot T^2} \quad (9)$$

$$-R \cdot T \cdot \ln K_c = \Delta H^{\circ} - T \cdot R \cdot Y \quad (10)$$

Por otra parte, la relación fundamental entre  $\Delta G^{\circ}$ ,  $\Delta H^{\circ}$  y  $\Delta S^{\circ}$  es:

$$\Delta G^{\circ} = \Delta H^{\circ} - T \cdot \Delta S^{\circ} \quad (11)$$

Por lo tanto, de las **Ecuaciones 7, 10 y 11**, resulta la siguiente:

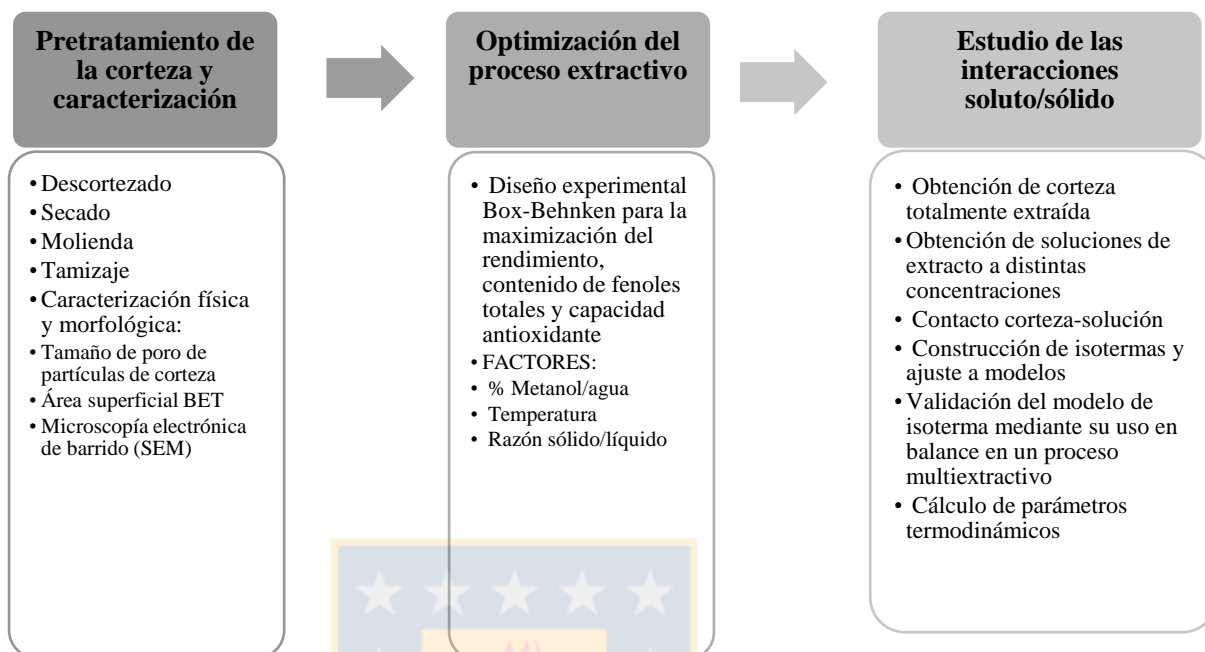
$$\ln K_c = -\frac{\Delta H^{\circ}}{R \cdot T} + \frac{\Delta S^{\circ}}{R} \quad (12)$$

Luego, graficando  $\ln K_c$  versus  $1/T$  (denominado gráfico de van't Hoff), los parámetros termodinámicos  $\Delta H^{\circ}$  y  $\Delta S^{\circ}$  pueden ser obtenidos (Ghosal y Gupta, 2015).

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

El procedimiento experimental consta de varias etapas, las cuales, para un entendimiento global, son resumidas como sigue:





## 5.1. Obtención de muestras

Las muestras de corteza que se utilizaron en este trabajo fueron suministradas por Forestal Comaco S.A (Concepción, Chile), las cuales fueron colectadas el 17 de Diciembre de 2015 desde Los Castaños, Región del Biobío, Chile. Éstas, constaron de tres árboles por especie (*E. nitens* y *E. globulus*), de alturas similares y edades entre 10-12 años.

Para cada especie, las cortezas de los tres árboles fueron mezcladas y almacenadas en bolsas selladas. El detalle del muestreo de los árboles es indicado en el **Anexo 1**.

## 5.2. Pretratamiento de las muestras

### 5.2.1. Descortezado

El desprendimiento de la corteza de los árboles se realizó manualmente en un tiempo máximo de 3 días (posterior a una semana aproximadamente, la corteza se seca y es

difícil llevar a cabo su retiro). La madera separada de la corteza fue almacenada en una cámara fría a 4°C para futuros estudios.

### 5.2.2. Secado de la corteza

Las muestras de corteza se secaron a temperatura ambiente hasta que no se detectó cambio en sus pesos con el tiempo, llegando así a la humedad de equilibrio con el ambiente. Para esto, se dejaron secar muestras en placas Petri y se registró la masa de éstas diariamente hasta que ésta no varió significativamente (<1% de disminución en su peso).

En cuanto a la humedad de equilibrio, se dispuso 1 g de la muestra seca de cada especie de eucalipto en una placa Petri (previamente masada en una balanza) a un horno de 105°C, durante 4 h. Posteriormente, fueron introducidas en un desecador por 20 min y se masaron nuevamente. Las mediciones se realizaron en triplicado para cada especie de corteza. El porcentaje de humedad que poseyó cada muestra en base seca se calculó a través de la **Ecuación 13**, donde  $m_i$  y  $m_s$  corresponden a la masa inicial y final de la muestra, respectivamente.

$$H_u = \frac{(m_i - m_s)}{m_s} * 100 \quad (13)$$

### 5.2.3. Molienda de la corteza

Las muestras de corteza fueron cortadas en trozos pequeños y se introdujeron en un molino con tamiz de 2 mm.

Las muestras de corteza molidas fueron almacenadas en bolsas selladas y codificadas por especie de eucalipto.

### 5.2.4. Tamizaje

Para la caracterización de las muestras, la corteza molida se tamizó en un tamizador con agitación orbital. Los tamices a utilizar fueron de: 2.0 mm, 1 mm, 0.85 mm, 0.59 mm, 0.35 mm y 0.08 mm. Las muestras fueron tamizadas durante 15 min, para luego masar

las cantidades retenidas en cada uno de ellos. Posteriormente, se procedió a calcular el porcentaje en masa retenido en cada tamiz (indicando un cierto diámetro de partícula) por medio de la **Ecuación 14**.

$$D_i = \frac{P_i}{P_T} * 100 \quad (14)$$

Donde,  $P_i$  y  $P_T$  son la masa retenida en un cierto tamiz y la masa total introducida al tamizador, respectivamente.

### **5.3. Caracterización de partículas de corteza**

#### **5.3.1. Caracterización física de poros**

La caracterización en cuanto a tamaño, distribución de poros y área BET fue estudiada mediante adsorción de  $N_2$  a 77 K (Sample Degas System, Micromeritics, Flowprep 060), previa multiextracción, secado y limpieza de la corteza mediante vacío. El análisis semicuantitativo basado en el gráfico-t fue utilizado para el estudio de la distribución de microporos. El área BET fue medida para partículas con un diámetro en el rango de 0.08-0.59 mm (para ambas especies).

#### **5.3.2. Caracterización morfológica**

La fracción granulométrica correspondiente a un diámetro en el rango 0.08-0.59 mm fue visualizada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) (JSM-6380LV, JEOL), previo y posterior a un proceso multiextractivo a 50°C.

### **5.4. Extracción hidrofílica**

La extracción hidrofílica de las muestras de corteza se realizó en un agitador orbital Bench Top Incubator NBL-205 en matraces Erlenmeyer de 80 mL de capacidad sellados con tapón y papel Parafilm, en donde se generó el contacto corteza-solvente (metanol/agua). Los matraces además, fueron protegidos de la luz mediante el

cubrimiento de su superficie con papel aluminio, de manera de minimizar la oxidación de los compuestos flavonoides. En cuanto a los parámetros razón sólido/líquido, concentración de metanol, temperatura y tiempo de extracción, éstos fueron definidos en los experimentos descritos en las secciones posteriores. Para generar una mezcla homogénea dentro del matraz, la velocidad de agitación fue de 200 rpm.

Luego del tiempo determinado, los matraces fueron retirados del agitador y sumergidos en un baño de hielo para detener la extracción. Las suspensiones fueron filtradas al vacío, para luego rotaevaporar las muestras a 30°C y 6.5 rpm. Posteriormente el extracto solubilizado se congeló durante 12 h a -4°C para finalmente liofilizar la muestra congelada (Heto Drywinner, Denmark). Los extractos obtenidos desde el liofilizador fueron almacenados en frascos ámbar en una sala de refrigeración oscura a -4°C.

Para el cálculo del rendimiento de extracción se utilizó la **Ecuación 15**.

$$\text{Rendimiento de extracción (\%)} = \frac{m_e}{m_s} \cdot 100 = \frac{m_e}{m_i} * (100 + H_u) \quad (15)$$

En la ecuación anterior,  $m_e$  corresponde a la masa de extracto obtenida, y la relación de  $m_i$  con  $m_s$  mediante  $H_u$  se obtiene de la **Ecuación 13**.

### 5.5. Cuantificación de fenoles totales

La concentración de fenoles totales para todas las pruebas descritas en las secciones posteriores, en donde fue necesario, fue obtenida mediante el método Folin-Ciocalteu, el cual detecta todos los grupos fenólicos encontrados en extractos (fenoles totales) (Ver **Anexo 2**). Las masas de fenoles obtenidas en cada caso fueron expresadas como equivalentes de ácido gálico (GAE).

## 5.6. Cuantificación de capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de los extractos fue medida mediante el método DPPH (Ver **Anexo 3**). Basado en esto, se calculó la actividad antiradical de las muestras correspondientes, la cual fue expresada en equivalentes de ácido ascórbico (AA).

## 5.7. Diseño de Experimentos

Se llevó a cabo un diseño de experimentos para ambas especies de eucaliptos con el fin de encontrar las condiciones de extracción óptimas para la producción de una corteza completamente extraída, ya que para esto, fue necesario llevar a cabo una multiextracción a un valor de temperatura, porcentaje de metanol en agua y razón sólido/líquido adecuada, con el fin de obtener un rendimiento de extracción, una cantidad de fenoles totales y capacidad antioxidante apropiadas. Por tanto, se realizó un diseño de experimentos Box-Behnken, el cual requiere de 3 o menos factores controlables. En este caso, estos fueron: razón sólido/líquido, temperatura y concentración de metanol en agua. Las respuestas estudiadas fueron el rendimiento de extracción (Ver **Ecuación 15**), los fenoles totales de los extractos y su capacidad antioxidante. Al diseño Box-Behnken se le agregaron tres puntos centrales y una réplica. Los niveles superior, inferior y medio son especificados en la **Tabla 4**.

**Tabla 4.** Niveles de los factores a utilizar en el diseño Box-Behnken.

Factor	Nivel		
	<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
<b>Razón sólido/líquido (g de corteza seca/mL de solvente)</b>	1:10	1:35	1:60
<b>Temperatura (°C)</b>	30	45	60
<b>Concentración de metanol en agua (%)</b>	33.3	50	66.6

(Fuente: Elaboración propia)

Los resultados experimentales fueron modelados de acuerdo al polinomio de segundo grado descrito por la **Ecuación 16**. Allí,  $Y_n$  representa a la variable dependiente,  $\beta_o$  es la constante del modelo,  $\beta_i$ ,  $\beta_{ij}$  y  $\beta_{ii}$  son los coeficientes del modelo para la interacción lineal y los efectos cuadráticos de las variables independientes, respectivamente.  $x_i$  y  $x_j$  son las variables independientes codificadas entre -1 y 1, y  $\varepsilon$  es el error experimental.

$$Y_n = \beta_o + \sum_{i=1}^3 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} x_i^2 + \varepsilon \quad (16)$$

Junto con el análisis obtenido a partir de las superficies de respuesta, la metodología basada en la función de deseabilidad fue utilizada. Para cada respuesta, la función de deseabilidad asigna números entre 0 y 1 a los posibles valores que ésta puede adquirir, siendo 0 para un valor completamente no deseado y 1 un valor deseable o ideal de la respuesta. La función global de deseabilidad fue construida combinando las funciones individuales a través de la media geométrica.

## 5.8. Estudio de las interacciones soluto/sólido

### 5.8.1. Suposiciones

Las suposiciones usualmente adoptadas para estudios de equilibrio en extracción (**Geankoplis, 2003**) y que fueron también adoptadas en este trabajo, son:

- Se asume que el sólido libre de soluto es insoluble en el solvente.
- Se asume que no existe adsorción de soluto en el sólido durante el proceso de extracción (esto implica que la fase líquida producto de una etapa de extracción es la misma que la que queda adherida a la matriz sólida en el refinado y así, poseen la misma concentración de soluto).
- La estructura del sustrato vegetal sólido corresponde a una red de poros interconectados que contienen **todo** el soluto originalmente atrapado en las células, debido a que las paredes de éstas son completamente “eliminadas” por medio del

secado de la materia prima y los esfuerzos de corte durante la molienda. No existe evidencia en la literatura acerca de la ubicación de los compuestos flavonoides en la corteza de eucalipto, pero en este trabajo el supuesto anterior es respaldado por la localización principalmente exterior de compuestos polifenólicos que ha sido observada en diferentes especies vegetales. Un ejemplo lo constituyen los compuestos fenólicos localizados en el exterior de la epidermis de la especie vegetal *Brassica napus* (Zobel, Kuraš, y Tykarska, 1989); o el caso de los taninos y antocianidinas de las flores de cacao, encontrándose ambos compuestos en la epidermis de las diferentes zonas florales (Alemanno, Ramos, Gargadenec, Andary, y Ferriere, 2003). Salatino, Kraus, y Salatino (1993) también estudiaron la localización de taninos en la planta *Struthanthus vulgaris*, descubriendo que estaban presentes en el pericarpio de la fruta y en la corteza de la raíz y el tallo. Esta ubicación exterior de los flavonoides es explicada por su producción como metabolito secundario: las células vegetales los producen y depositan durante su pérdida gradual de actividad vital, sugiriendo una función protectora basada en una barrera química de compuestos fenólicos contra factores ambientales dañinos (Alemanno y col., 2003).

- Variados componentes están generalmente involucrados en el proceso de extracción. Sin embargo, se supone que el extracto (fenoles totales, en este caso) puede ser tratado como un compuesto único llamado “soluto”, lo que implica la suposición de que los comportamientos de los distintos extraíbles con respecto al fenómeno de desorción/adsorción son lo suficientemente similares para ser descritos como un pseudo-componente, el cual representa el comportamiento global (Del Valle & Urrego, 2011; Cocero & García, 2001; Perrut y col., 1997).
- Las isotermas son medidas luego de un tiempo, correspondiente al tiempo para alcanzar el cuasi-equilibrio de extracción. Se asume que en este estado, no existe diferencia entre la concentración de soluto en el seno de la fase líquida y aquella en el líquido presente en los poros de la matriz sólida. Luego, mediante medición de la concentración de soluto en el seno de la fase líquida transcurrido un tiempo

suficiente, también se conocerá la concentración de líquido contactando la superficie del sólido.

## **5.8.2. Obtención de corteza totalmente extraída**

### **5.8.2.1. Ensayo Preliminar**

Con la selección de las condiciones óptimas de extracción en base al diseño de experimentos previo, se llevó a cabo una extracción de una etapa para determinar el tiempo requerido para alcanzar el cuasi-equilibrio de cada sistema. Se llevaron a cabo extracciones destructivas a tiempos de 1, 5, 15, 90, 720, 900 y 1440 min, analizando posteriormente la concentración de fenoles en la fase líquida, previa rotaevaporación y normalización de volumen a 200 mL. Se determinó el tiempo en el cual se llegó al cuasi-equilibrio, como aquel cuando ya no se percibió variación significativa entre concentraciones de fenoles de muestras tomadas sucesivamente. De esta forma, se obtuvo el tiempo/etapa a utilizar en la siguiente etapa experimental. El ensayo se llevó a cabo por triplicado.

### **5.8.2.2. Multiextracción: obtención de corteza totalmente extraída**

Para la obtención de un material sólido “totalmente” extraído, la corteza molida fue sometida a un proceso multiextractivo, a las condiciones operacionales obtenidas a partir del diseño experimental, hasta la no detección de fenoles totales en la fase líquida.

La extracción se llevó a cabo mediante una configuración batch, descrita en la **Sección 5.3**, en donde 4 g de corteza triturada fueron añadidos a un matraz junto con el solvente. La extracción se llevó a cabo hasta que el cuasi-equilibrio fue alcanzado (tiempo/etapa determinado de acuerdo a la **Sección 5.8.2.1**). Luego de cada etapa, el refinado y la fase líquida fueron separados: la fase líquida fue sometida a rotaevaporación y a normalización de volumen utilizando agua milli-Q (100 mL), y la fase sólida –o refinado- fue llevada a un horno a 140°C durante 24 h para eliminar el agua remanente. La fase líquida fue almacenada para su análisis de fenoles totales. Por otro lado, solvente fresco fue añadido al material sólido ya seco de la etapa anterior y se llevó a cabo la



extracción nuevamente. Esto se repitió hasta que la etapa final fue alcanzada, es decir, hasta que el soluto no fue detectado en la correspondiente solución líquida. El refinado de la última etapa, consistente en la corteza totalmente extraída, fue almacenado en un refrigerador hasta su uso posterior para la determinación de las isothermas de adsorción. Con los datos obtenidos a partir de estos experimentos, fue posible el cálculo del factor de fenoles iniciales, descrito en la **Ecuación 17**, como propiedad de la materia prima en estudio. En esta ecuación,  $m_{F,i}$  corresponde a la masa de fenoles extraídos en la  $i$ ésima etapa,  $m_s$  nuevamente corresponde a la masa de corteza seca alimentada en la etapa 1 de la multiextracción y  $n$  es el número total de etapas.

$$w_{F,o} = \frac{\sum_{i=1}^n m_{F,i}}{m_s} \quad (17)$$

### 5.8.3. Extracción de 1 etapa: obtención de soluciones de extracto

Para llevar a cabo el experimento de adsorción, además de la corteza totalmente extraída, fue necesario un conjunto de soluciones de solvente con extracto a distintas concentraciones de fenoles totales, para lograr obtener los distintos puntos que conformaron a la isoterma de adsorción. Para obtenerlas, se realizaron 6 extracciones de 1 etapa con diferentes razones sólido/líquido: 1/7, 1/10, 1/15, 1/20, 1/30, y 1/60 g/mL, utilizando para todos los casos 70 mL de solvente. Antes de cada extracción, el solvente fresco fue sometido a medición de fenoles totales (blanco). Una vez obtenida la solución líquida post-extracción, se midió la concentración de fenoles totales de ésta, previa rotaevaporación del metanol y normalización de los volúmenes de todas las soluciones a 100 mL.

### 5.8.4. Determinación de las isothermas de adsorción

Matraces cónicos fueron llenados con 1 g de la antes producida corteza totalmente extraída. Luego, 10 mL de cada solución de extracto obtenida previamente (Ver **Sección 5.8.3**, 6 en total) fueron añadidos a cada matraz, junto con metanol fresco. Para asegurar

una suspensión adecuada del material sólido en las soluciones con extracto, los matraces fueron mezclados con un vórtex. Luego, los matraces se introdujeron en un agitador orbital, bajo agitación constante de 200 rpm, para asegurar una mezcla homogénea de la corteza en el solvente. El tiempo de cada etapa de adsorción fue el determinado en la **Sección 5.8.2.1**. Este procedimiento fue llevado a cabo en triplicado para cada una de las tres temperaturas que fueron estudiadas: 30, 50 y 60 °C.

Las fases líquidas resultantes fueron analizadas para cuantificación de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu (Ver **Anexo 2**). La masa de soluto adsorbido en la fase sólida por masa de sólido adsorbente,  $q_e$ , fue obtenida mediante un balance de masa (**Ecuación 18**). Allí,  $C_o$  corresponde a la concentración inicial de fenoles en la fase líquida y  $C_e$  es la concentración en el equilibrio.  $V$  es el volumen de líquido y  $m_s$  es la masa de corteza seca alimentada.

$$q_{F,e,ads} = \frac{V(C_o - C_e)}{m_s} \quad (18)$$

### 5.8.5. Validación de isotermas de adsorción

Mediante la comparación de los datos experimentales obtenidos a partir de una multiextracción realizada a 50, 30 y 60°C con las concentraciones en el equilibrio y las masas acumuladas de fenoles totales desde un balance de materia correspondiente, fue posible validar las isotermas de adsorción para ambas especies de eucalipto.

Las ecuaciones del balance de masa para el componente “fenoles totales” (F) en la multiextracción se muestran a continuación:

Etapa $j=1$
$q_{e,F,ads} \cdot m_{s,j} = w_{F,o} \cdot m_{s,j} - C_{F,e,j} \cdot V_{L,j}$
$q_{e,F,ads} = m_{e,F,ads} / m_s$
Etapa $j>1$
$q_{e,F,ads,j} \cdot m_{s,j} = m_{F,R,j-1} - C_{F,e,j} \cdot V_{L,j}$

$$m_{F,R,j-1} = q_{e,F,ads,j-1} \cdot m_{s,j-1}$$

Suponiendo que los fenoles que quedan producto de la humedad del refinado son despreciables

**Isoterma de adsorción:**  $q_{e,F,ads,j} = f(C_{F,e,j})$

- $m_{F,R,j-1}$ : masa de fenoles totales en refinado (g GAE)
- $m_{s,j}$ : masa de corteza seca (matriz sólida) (g corteza seca)
- $q_{e,F,ads}$ : fracción de fenoles adsorbidos sobre matriz sólida en el equilibrio (g GAE/g corteza seca)
- $V_{L,j}$ : volumen de fase líquida (L)
- $C_{F,e,j}$ : concentración de fenoles en solvente en el equilibrio (g GAE/L)

### 5.9. Parámetros termodinámicos

Con los datos de equilibrio del proceso a las tres temperaturas estudiadas, se llevó a cabo el cálculo de los parámetros termodinámicos  $\Delta G^o$ ,  $\Delta H^o$  y  $\Delta S^o$  a través de la relación fundamental de equilibrio, **Ecuación 7** y un ajuste al gráfico de van't Hoff (**Ecuación 12**).

### 5.10. Cinética de adsorción

Para el estudio de la cinética de adsorción, se contactó corteza totalmente extraída de ambas especies de eucalipto con la solución obtenida a partir del paso indicado en la **Sección 5.8.3**, para una razón sólido/líquido de 1/60, de concentración de fenoles totales conocida. La mezcla de refinado y solución de fenoles fue puesta en un matraz, el cual se llevó a agitación en ambiente termoregurable (agitador orbital Bench Top Incubator NBL-205) a 50°C a una velocidad de agitación de 200 rpm. Se realizaron ensayos destructivos a 5, 10, 15, 20, 30, 60, 120 y 180 minutos. Las fases sólida y líquida fueron separadas mediante filtración al vacío, y la fase líquida fue sometida a análisis de fenoles

totales, previa rotaevaporación y normalización de volumen a 100 mL utilizando agua milli-Q. Los experimentos fueron conducidos en triplicado.

### 5.11. Análisis Estadístico

Los análisis fueron realizados en triplicado, y los resultados expresados como promedio  $\pm$  desviación estándar. Los análisis estadísticos fueron realizados mediante análisis de varianza (ANOVA), el cual, junto con las superficies de respuesta, fue realizado en el software Statgraphics Plus 4.1. Los gráficos fueron elaborados mediante el programa GraphPad Prism 6 y en Microsoft Office Excel, 2013.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Pretratamiento de las muestras

#### 6.1.1. Secado de corteza

El secado de corteza de *E. globulus* y *E. nitens* resultó en valores de humedades finales de  $8.81 \pm 0.125 \%$  y  $10.2 \pm 0.205 \%$ , respectivamente. Los valores de rendimiento de extracto y de fenoles totales calculados posteriormente, fueron referidos a una base de corteza seca. Bown y Lasserre (2015) midieron la humedad contenida en corteza de *E. globulus*, obteniendo como resultado un 18.8%; sin embargo, la cantidad de humedad remanente en la corteza depende de diversos factores externos, como la localización del árbol y la estación en la que se realiza la cosecha (Bown y Lasserre, 2015). F. A. Santos, Alban, Frankenberg, y Pires (2016) midieron la humedad de corteza de eucalipto (especie sin identificar) obteniendo un valor de un 11%, valor más cercano a los obtenidos en este estudio.

### 6.1.2. Tamizaje de la corteza molida

El tamizaje de la corteza molida para ambas especies, presentó un porcentaje de corteza molida cercano a un 40% para fracciones menores a 0.59 mm para el caso de *E. globulus* y de 30% para el caso de *E. nitens* (Tabla 5).

**Tabla 5.** Porcentajes máxicos obtenidos para tamizaje de corteza molida de *E. globulus* y *E. nitens*.

<i>E. globulus</i>	Tamaño (mm)	Porcentaje en masa (%)
	<0.08	11.6
	0.08-0.35	12.6
	0.35-0.59	16.4
	0.59-0.85	28.5
	0.85-1	20.7
	>1	10.2
	<i>E. nitens</i>	Tamaño (mm)
<0.08	5.0	
0.08-0.35	8.7	
0.35-0.59	17.0	
0.59-0.85	1.9	
0.85-1	50.1	
>1	17.3	

(Fuente: Elaboración propia)

## 6.2. Caracterización de las partículas de corteza

### 6.2.1. Caracterización física de los poros de la corteza

El tamaño de poros de la corteza extraída fue calculado mediante el método de Barrett, Joyner and Halenda (1951) (BJH). Para la especie *E. globulus*, el tamaño de poros obtenido fue de  $5.0122 \pm 0.12154$  nm y para *E. nitens*,  $7.0604 \pm 0.11215$  nm, encontrándose ambas especies en el rango de los mesoporos. Además, la distribución de microporosidades fue estudiada mediante el método empírico de análisis semicuantitativo basado en el gráfico-t (Ver detalles en Anexo 4). De acuerdo a los resultados obtenidos, el volumen de los microporos resultó en valores negativos, indicando la ausencia de este tipo de porosidad para ambas especies.

Kumar, Man, y Woo (2014) estudiaron la efectividad del uso de polvo de corteza de pino como biosorbente. Su caracterización indicó un tamaño de poro de 4.47 nm (para partículas de tamaño de 0.55-0.75 mm), similar a los valores obtenidos en este estudio para especies de eucalipto. Estos autores también indicaron un poder biosorbente alto para la remoción de fenoles desde una solución acuosa, indicando que esto podría también extrapolarse a la corteza en estudio. F. A. Santos y *col.* (2016) caracterizaron corteza de eucalipto molida de un tamaño de partícula  $<0.25$  mm para su potencial uso como biosorbente, obteniendo un tamaño de poro de 5.27 nm, resultado acorde con los obtenidos en este estudio para *E. globulus* y *nitens*.

La medición de las áreas superficiales de ambos tipos de especie de eucalipto es mostrada en la **Tabla 6**. Allí puede verificarse que las concentraciones de fenoles totales obtenidas en el equilibrio de extracción (normalizadas por el área BET), a iguales condiciones de operación para ambas especies, resultaron ser semejantes, sugiriendo que el comportamiento de ellas se asimila al momento de efectuar una extracción de sus compuestos hidrosolubles. Más aún, el área obtenida para cada especie resulta ser muy cercana. Pragnesh, Satindar, y Ekta (2011) midieron el área BET para corteza molida de *E. citriodora*, obteniendo un valor de  $20.47 \text{ m}^2/\text{g}$ , sin embargo, el tamaño de partícula utilizado fue  $<0.5$  mm y, además, el material no fue sometido a extracción previa de compuestos hidrosolubles adsorbidos. En efecto, Lima y *col.* (2013) indicaron que un 60% de los compuestos extraíbles logran ser removidos desde corteza de eucalipto, utilizando solo agua a  $80^\circ\text{C}$ , principalmente, compuestos fenólicos y azúcares (glucosa, xilosa) y lignina, sugiriendo que la falta de tratamiento extractivo previo puede afectar el área total superficial medida.

**Tabla 6.** Área BET y concentración de fenoles totales obtenida en el equilibrio de extracción (normalizada por área BET) para ambas especies de eucalipto.

Espece	Área BET (m <sup>2</sup> /g corteza seca)	Concentración de equilibrio normalizada por área (mg GAE/m <sup>2</sup> )*
<i>E. globulus</i>	52.25 ± 0.2584	0.734 ± 0.017
<i>E. nitens</i>	53.17 ± 0.2952	0.698 ± 0.011

\* Obtenida a partir de extracción utilizando una razón sólido líquido de 1/60 g/mL, 50°C y 50% (v/v) metanol/agua (Fuente: Elaboración propia)

Los resultados anteriores, igualmente demuestran el potencial de la corteza de eucalipto como biosorbente de bajo costo, como ya se mencionó previamente, para la remoción de sustancias contaminantes. Pragnesh y col. (2011) estudiaron el potencial de la corteza de *E. citriodora* para la remoción desde agua de negro de eriocromo-T, un tipo de tintura utilizada para telas altamente contaminante, demostrando ser eficiente al lograr una remoción de un 77.33% de la solución contaminante. Así mismo, Mishra, Balomajumder, y Agarwal (2010) estudiaron el posible uso de distintos biosorbentes para la remoción del ión Zn (II) desde solución acuosa. Entre ellos, la corteza de *E. globulus* resultó ser la más eficiente, con una remoción de 1.68 mg de Zn/g de corteza para un tamaño de partícula de 0.5 mm. F. A. Santos y col. (2016), por su parte, demostraron la capacidad de la corteza de eucalipto molida en la adsorción de cromo desde aguas residuales.

### 6.2.2. Caracterización morfológica

En las Figuras 9 y 10 se muestran las imágenes obtenidas desde análisis por SEM de la corteza extraída y no extraída. El aspecto fibroso de ambos tipos de especies, observados en ambas figuras, puede ser explicado porque el floema de la corteza de eucalipto es uniforme y caracterizado por capas tangenciales de células parenquimáticas axiales, que se encuentran intercaladas por regiones fibrosas, representando un 50 y un 27.9% de la composición del floema secundario (Quilhó, Pereira, y Richter, 1999). Es por tanto esperable que la fractura producto de la molienda ocurra en las regiones parenquimáticas, las cuales son delgadas y frágiles. En general, esto es posible pues las especies de eucalipto “descartan” las capas peridérmicas más antiguas (o ritidomas), y

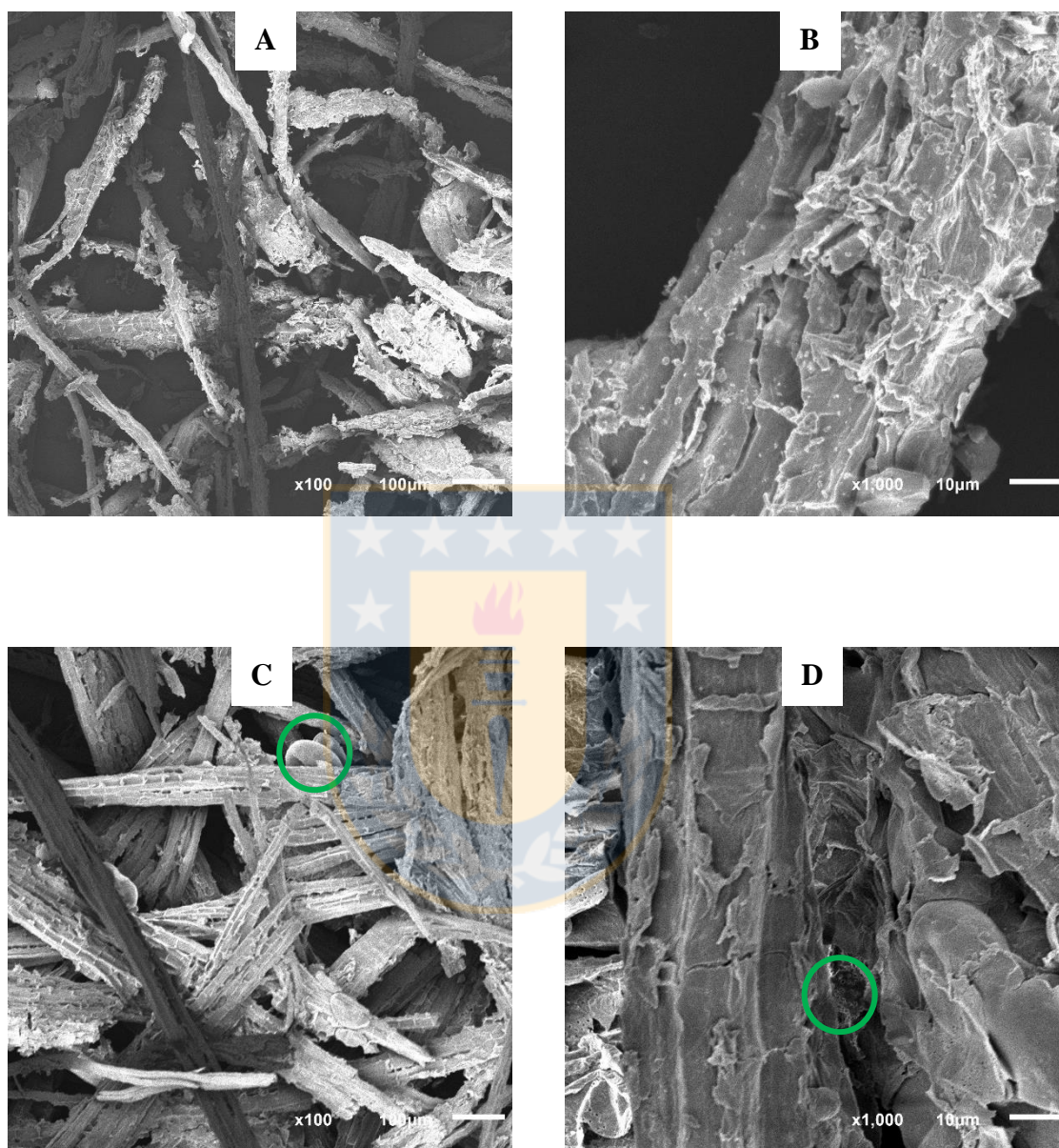
solo mantienen un delgado recubrimiento peridérmico sobre el floema secundario (Quilhó, Pereira, y Richter, 2000).

Para ambas especies, pueden identificarse modificaciones superficiales de la corteza al ser ésta sometida a multiextracción de sus compuestos hidrofílicos, utilizando como solvente una mezcla de metanol/agua (50% v/v). Las cortezas no extraídas revelan un tejido formado por células rotas, cubiertas con residuos (debidos al proceso de molienda) (Ver **Figuras 9 y 10, A y B**). Por su parte, las cortezas extraídas demuestran cantidades menores de residuos en su superficie, especialmente para el caso de la especie *E. nitens* (Ver **Figura 10, C y D**).

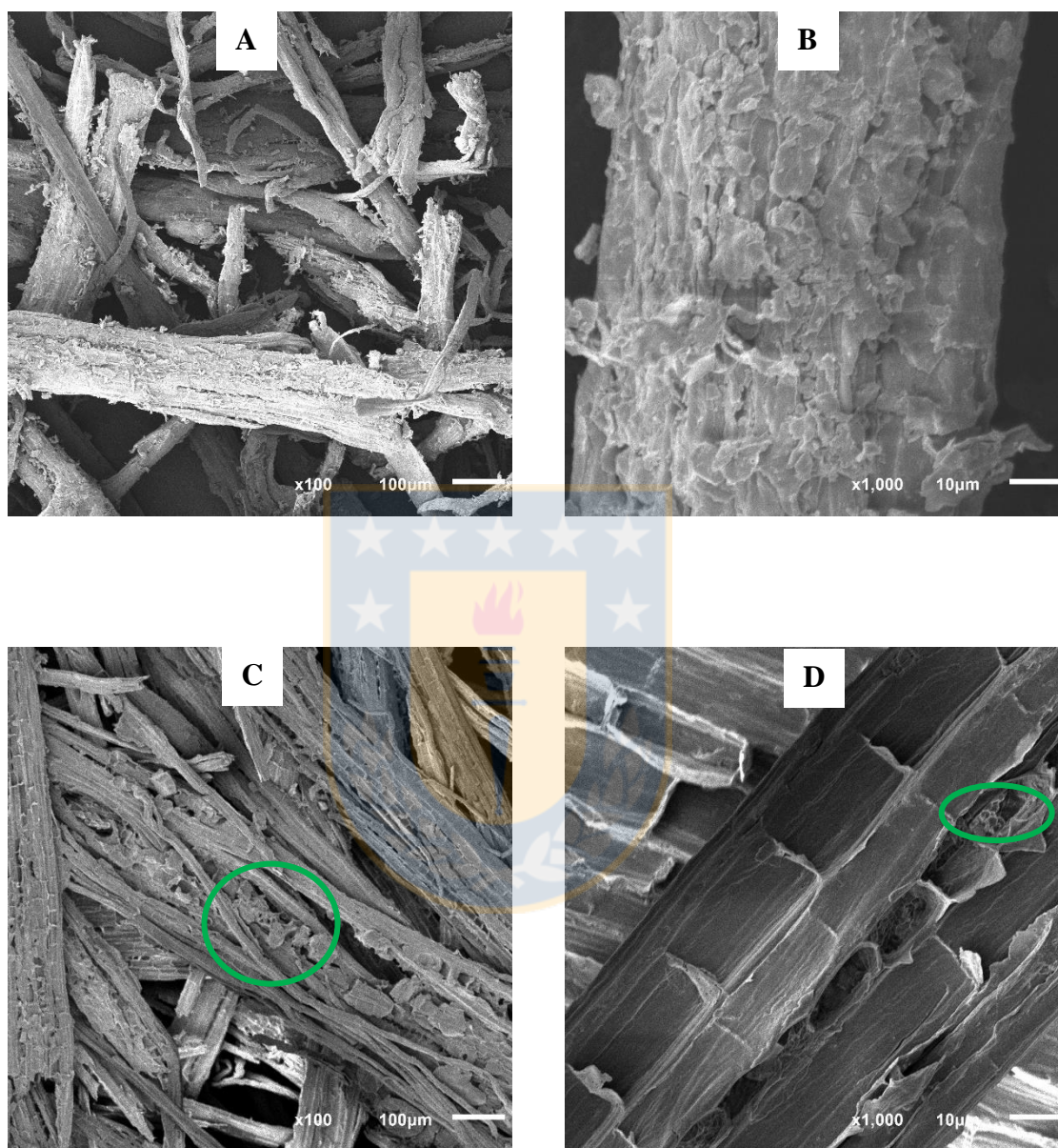
Se identificaron además estructuras globulares sobre la superficie de la corteza de ambas especies, posterior al proceso multiextractivo, asociadas a la condensación de lignina (Ver **Figura 9, D y Figura 10, C y D**). Estudios han mostrado que este fenómeno se encuentra relacionado con la severidad de las condiciones de extracción. A altas temperaturas, las moléculas de lignina se vuelven más fluidas, y luego se unen, formando gotas dentro de la matriz de la pared celular. Una fracción de esta lignina es forzada a migrar a la superficie externa, debido a las presiones hidrostáticas dentro de las capas de la pared celular. Luego de contactarse con el solvente, éstas pueden volver a depositarse sobre la superficie de la biomasa cuando se produce el enfriamiento (Selig y col., 2007).

Otros cambios morfológicos significativos no fueron observados.





**Figura 9.** Visualización mediante SEM de corteza molida (0.08-0.59 mm) (A) y (B) *E. globulus* no extraída (C) y (D) *E. globulus* luego de un proceso multiextractivo (5 etapas). Se especifican en verde estructuras globulares identificadas.  
(Fuente: Elaboración propia)



**Figura 10.** Visualización mediante SEM de corteza molida (0.08-0.59 mm) (A) y (B) *E. nitens* no extraída (C) y (D) *E. nitens* luego de un proceso multiextractivo (5 etapas). Se especifican en verde estructuras globulares identificadas. (Fuente: Elaboración propia)

### **6.3. Ensayos cinéticos preliminares: influencia del tamaño de partícula en la cinética de extracción**

En procesos batch, investigaciones del mezclado físico revelan que éste es acompañado de los fenómenos de convección y difusión. El proceso convectivo resulta de la agitación de la fase fluida. En otras palabras, este procedimiento es sobrepuesto sobre el sistema y su magnitud puede ser fácilmente controlada. La difusión, por su parte, es un proceso inherente, sobre el cual el experimentador normalmente tiene poco control (Karlberg & Pacey, 1989). Sin embargo, una forma de mejorar y controlar las cinéticas de extracción, consiste en reducir el tamaño de las partículas sólidas sometidas al proceso extractivo, lo que provoca una reducción de su resistencia interna a la transferencia de masa, debido a un acortamiento de las distancias de las vías difusivas de las moléculas de adsorbato. Así mismo, la molienda del material sólido para la producción de partículas más pequeñas, causa incrementos en su área superficial específica, así como una ruptura de las paredes celulares y otro tipo de barreras internas que aportan resistencia a la transferencia de masa, logrando por tanto una mayor accesibilidad del solvente al compuesto a extraer (Araus y col., 2009).

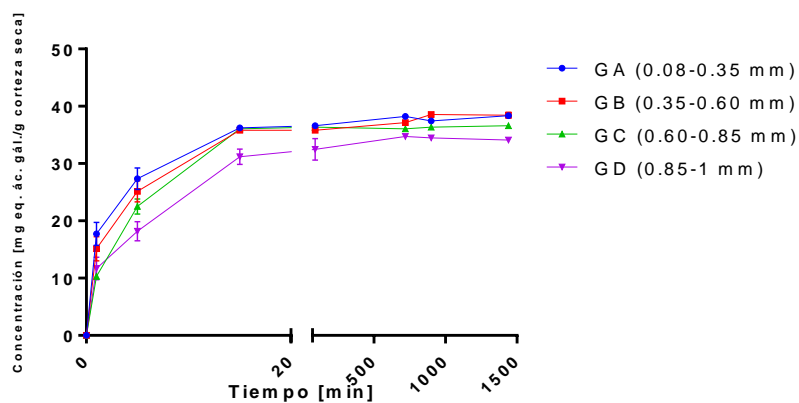
Es por esto que, previo al trabajo de extracción de fenoles a partir de corteza molida de eucalipto, se realizó un estudio referente al efecto del tamaño de partícula, en la cinética de extracción. Esto, principalmente, con el fin de descartar una posible localización del adsorbato dentro de la matriz sólida, y por tanto, el incumplimiento del supuesto que infiere que los compuestos fenólicos se encuentran adsorbidos sólo en la superficie de la matriz.

Para estudiar el fenómeno cinético descrito, se realizaron extracciones utilizando 4 distintos rangos de tamaños de partícula: 0.08-0.35 mm, 0.35-0.59 mm, 0.59-0.85 mm y 0.85-1 mm. Las extracciones fueron llevadas a cabo a 30°C, con una razón sólido/líquido de 1/50 g/mL y utilizando como solvente una mezcla metanol/agua (50 % v/v). Se realizaron ensayos destructivos a distintos tiempos de extracción: 0, 1 min, 5 min, 15

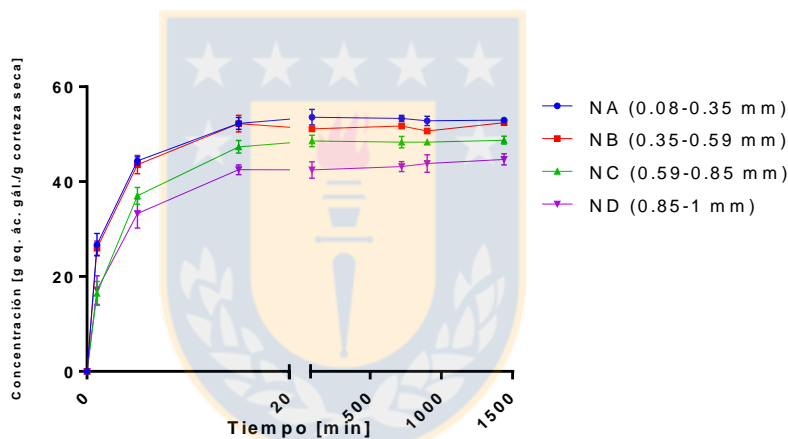
min, 90 min, 12 h, 15 h y 24 h. Luego de cada extracción, se realizaron análisis de concentración de fenoles totales mediante la metodología de Folin-Ciocalteu a las soluciones resultantes. Los ensayos se realizaron para ambas especies de eucalipto en triplicado.

Los resultados obtenidos son mostrados en la **Figura 11** para ambas especies. Para los dos casos, las curvas de concentración *vs.* tiempo demuestran que a medida que el diámetro de partícula aumenta, la curva es desplazada a menores concentraciones de fenoles extraídas, demostrando que la velocidad de extracción aumenta al disminuir el tamaño de las partículas, siendo un resultado esperado, debido a la reducción del largo de las vías difusivas, y por tanto, el soluto tarda menos tiempo en alcanzar la superficie (Cacace y Mazza, 2003; Franco, Pinelo M Fau - Sineiro, Sineiro J Fau - Nunez, y Nunez, 2007; Wongkittipong, Prat, Damronglerd, y Gourdon, 2004).





Influencia del tamaño de partícula en la concentración de FT obtenida (*E. Globulus*)



Influencia del tamaño de partícula en la concentración de FT obtenida (*E. Nitens*)

**Figura 11.** Comportamiento cinético de la extracción de compuestos fenólicos para distintos diámetros de partícula de la matriz sólida (A) *E. globulus* (B) *E. nitens*.  
(Fuente: Elaboración propia)

Los rendimientos de extracción obtenidos, cumplidas las 24 h de extracción, son tabulados en la **Tabla 7**. Se llevó a cabo un análisis de varianza para identificar diferencias significativas para cada caso. Para ambas especies se ve que los tamaños más pequeños de partículas utilizados (0.08-0.35 y 0.35-0.59 mm) resultaron en los mayores rendimientos de extracción, siendo además, estadísticamente iguales. Franco y col.

(2007) estudiaron el efecto del tamaño de partícula en la extracción batch de compuestos fenólicos a partir de rosa mosqueta, mediante el uso de etanol. Los resultados indicaron que a menor tamaño de partícula (<0.6 mm), los rendimientos de extracción obtenidos fueron 3 veces mayores a los obtenidos para tamaños de partículas de 1-2 mm.

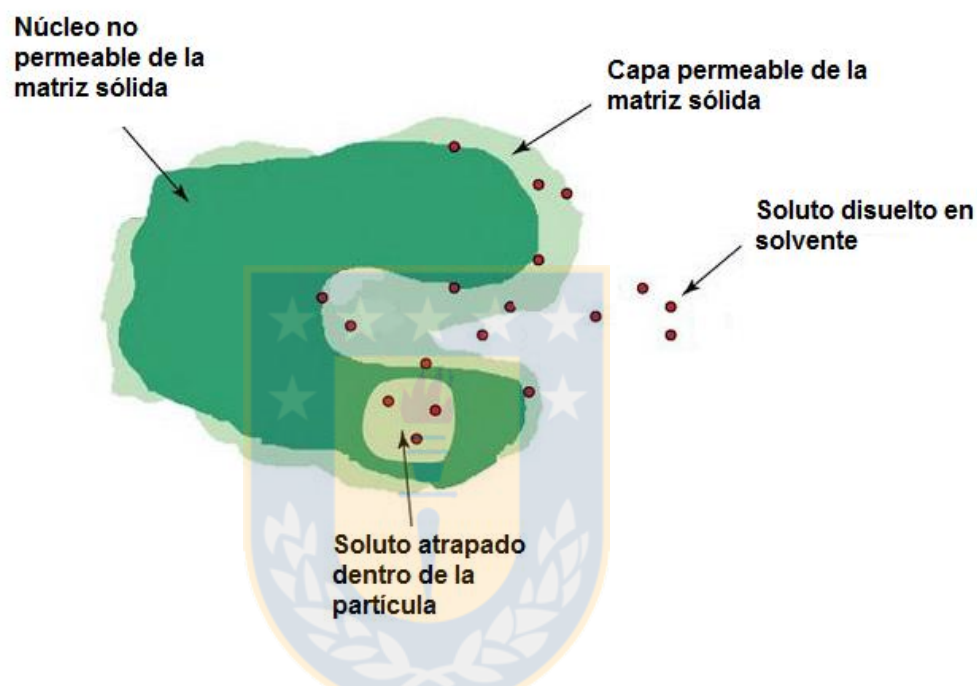
**Tabla 7.** Análisis de varianza de rendimientos obtenidos a 24 h de extracción, utilizando distintos tamaños de partícula. Valor  $p < 0.05$ . Método LSD

<i>E. globulus</i>		
Rango diámetro (mm)	Rendimiento promedio (mg GAE/g corteza seca)	Grupos Homogéneos
0.85-1	34.084	X
0.60-0.85	36.624	X
0.35-0.59	38.455	X
0.08-0.35	38.366	X
<i>E. nitens</i>		
Rango diámetro (mm)	Rendimiento promedio (mg GAE/g corteza seca)	Grupos Homogéneos
0.85-1	44.695	X
0.60-0.85	48.745	X
0.35-0.59	52.405	X
0.08-0.35	52.980	X

(Fuente: Elaboración propia)

En el contexto de la validación de la suposición que indica la presencia de fenoles solo de tipo superficial en las partículas de corteza de eucalipto, los resultados anteriores indicaron que a partir de un cierto tamaño de partícula (<0.59 mm) la variación en el rendimiento de extracción no fue significativa. La existencia de compuestos fenólicos al interior de la matriz sólida generaría un gradiente de concentración dentro del material (Hostettmann y *col.*, 2014), el cual a su vez, provocaría variaciones en el rendimiento de extracción con variaciones del tamaño de sólido. Como la variación en el rendimiento es provocada hasta un cierto tamaño de material, esto puede atribuirse a vías difusivas más extensas y/o a material atrapado al interior de paredes sólidas (Ver **Figura 12**).

Teniendo en cuenta los resultados anteriores, se decidió mezclar la corteza perteneciente a los dos rangos de tamaño de partículas menores, y llevar a cabo los estudios posteriores utilizando este tamaño de material sólido (0.08-0.59 mm).



**Figura 12.** Ilustración de los diferentes casos envueltos en la extracción de solutos a partir de una matriz sólida. Se especifican las distintas posiciones en las que puede encontrarse el soluto, al momento del contacto con la fase líquida extractora.

(Fuente: Adaptación de Hostettmann y col. (2014))

#### 6.4. Diseño de experimentos

Con el fin de obtener parámetros de proceso que permitan un proceso multiextractivo óptimo, se realizó un diseño experimental utilizando el método de superficie de respuesta basado en un diseño Box-Behnken, con 3 puntos centrales añadidos y una réplica experimental.

El efecto de la razón sólido/líquido (R S/L), la temperatura y la concentración de metanol en agua (%m/w) sobre el rendimiento total de extracto (R), los fenoles totales

(FT) y la capacidad antioxidante (CA), fue investigado para ambos tipos de corteza. Luego, el objetivo de la optimización fue encontrar un conjunto de condiciones que maximizaran las tres respuestas en estudio, dentro del intervalo de condiciones definido para los factores.

Los resultados experimentales son mostrados en el **Anexo 5**. El análisis de regresión múltiple realizado para cada respuesta predicha, generó las ecuaciones polinomiales de segundo orden mostradas en la **Tabla 8**. Asimismo, en esta tabla también se muestra el parámetro estadístico  $R^2$  para cada regresión obtenida. Para todos los casos, se obtuvieron valores de  $R^2$  mayores a 80%, indicando un buen ajuste del modelo cuadrático a los datos experimentales (los modelos explican un alto porcentaje de la variabilidad de cada respuesta).

En la **Tabla 8** también se muestran los valores  $p$  obtenidos para la prueba de falta de ajuste para la determinación de la adecuación del modelo para la descripción de los datos experimentales. Luego, se puede asegurar que los modelos obtenidos son adecuados para los datos observados, con un 95% de confianza.

Estudios previos han mostrado una correlación lineal entre el contenido total de fenoles y la capacidad antioxidante de ciertos compuestos (Cai, Luo Q Fau - Sun, Sun M Fau - Corke, y Corke, 2004; Dudonne, Fau, Fau, Fau, y Merillon, 2009; Vázquez y col., 2008; Vázquez y col., 2012). Es así como estas dos variables fueron graficadas y correlacionadas linealmente (**Figura 13**) para verificar la existencia de una relación lineal, obteniéndose un coeficiente  $R^2$  de 94.4% para *E. globulus* y de 96.8 % para *E. nitens*.



**Tabla 8.** Modelos cuadráticos y parámetros estadísticos obtenidos a partir de diseño experimental para ambas especies de eucalipto.

<i>E. globulus</i>			
<i>Respuesta</i>	<i>Modelo predictivo</i>	<i>R<sup>2</sup></i>	<i>Valor p (falta de ajuste)</i>
<i>Rendimiento (% g extracto/g corteza seca)</i>	$10.4686 + 0.06386*Y_1 + 2.2195* Y_2 - 0.6651* Y_1^2 - 0.9137* Y_2^2$	90.1%	0.1613
<i>Fenoles totales (mg GAE/g corteza seca)</i>	$35.7235 + 1.4416* Y_1 + 1.9714*Y_2 + 1.9097* Y_3 - 6.2715* Y_1^2 - 8.1420* Y_3^2$	82.4%	0.0501
<i>Capacidad antioxidante (mg AA/g corteza seca)</i>	$32.4764 + 1.2905* Y_1 + 1.7151* Y_2 + 1.7678* Y_3 - 5.7866* Y_1^2 - 7.29193* Y_3^2$	82.4%	0.2007
<i>E. nitens</i>			
<i>Rendimiento (% g extracto/g corteza seca)</i>	$10.8355 + 2.8874* Y_2 + 2.9950* Y_3 + 2.77064* Y_3^2$	87.1%	0.0768
<i>Fenoles totales (mg GAE/g corteza seca)</i>	$49.3569 + 1.2952* Y_1 + 4.8427* Y_2 + 2.2341* Y_3 - 9.2526* Y_1^2 - 3.6062* Y_2^2 - 13.1054* Y_3^2$	89.0%	0.0732
<i>Capacidad antioxidante (mg AA/g corteza seca)</i>	$44.791 + 1.72691*Y_1 + 4.18802* Y_2 + 1.94785* Y_3 - 8.95713* Y_1^2 - 2.8891* Y_2^2 - 11.6913* Y_3^2$	88.3%	0.1999

Y<sub>1</sub>: % m/w

Y<sub>2</sub>: R S/L

Y<sub>3</sub>: Temperatura

Los valores de las variables están especificados en sus unidades codificadas

(Fuente: Elaboración propia)

A

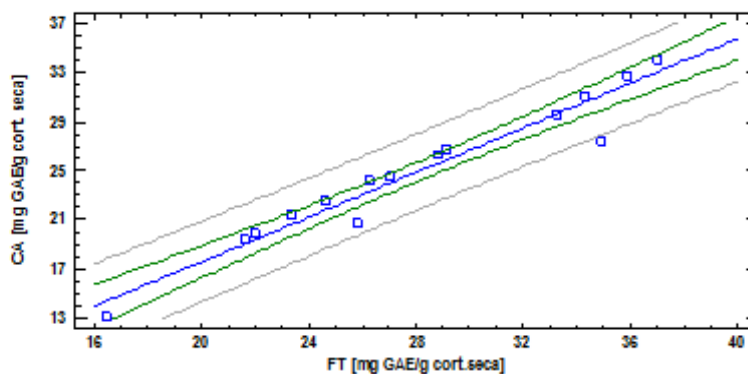


Gráfico del Modelo Ajustado  
 $CA [mg GAE/g cort. seca] = -0,418108 + 0,903089 \cdot FT [mg GAE/g cort. seca]$

B

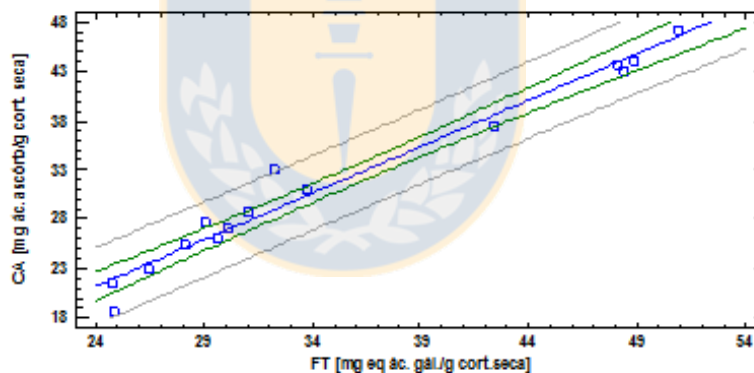


Gráfico del Modelo Ajustado  
 $CA [mg GAE/g cort. seca] = -1,32932 + 0,3411 \cdot FT [mg GAE/g cort. seca]$

**Figura 13.** Relación entre fenoles totales y capacidad antioxidante obtenida para ambas especies de árbol (A) *E. globulus* (B) *E. nitens*.  
 (Fuente: Elaboración propia)

#### 6.4.1. Superficies de respuesta y análisis de influencias de factores

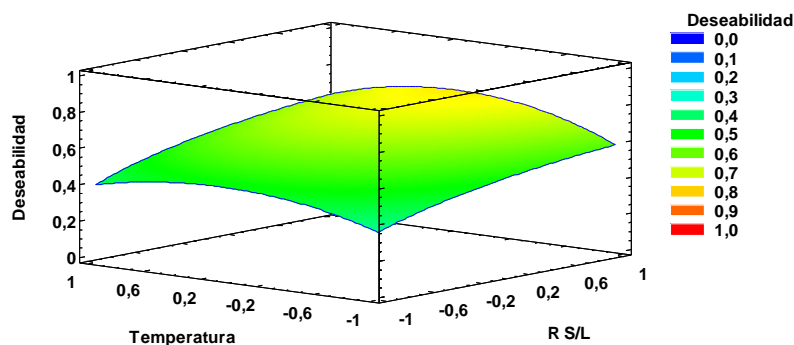
La superficie de respuesta para la función de deseabilidad para la especie *E. globulus* es mostrada en la **Figura 14**. Se observa que para valores intermedios de temperatura y

para altos valores de razón sólido líquido, la función global fue maximizada. El mismo comportamiento fue obtenido para la especie *E. nitens*. Lo anterior puede ser explicado de acuerdo a la influencia de los factores en cada respuesta. En el caso del rendimiento, para *E. globulus* la R S/L tuvo la mayor influencia sobre su valor. Para el caso de *E. nitens*, la R S/L y la temperatura tuvieron similar influencia sobre su valor. En las **Figuras 15 A y B** se muestran las superficies de respuesta para el rendimiento de *E. globulus* y *nitens*, respectivamente, en donde el %m/w fue mantenido constante (nivel 0, 50%). Allí se observa que para el caso de *E. globulus*, existió una única y clara influencia positiva de la R S/L sobre la respuesta rendimiento. Por otro lado, para *E. nitens*, valores altos de R S/L y temperatura, generaron rendimientos altos del extracto obtenido.

Para la respuesta fenoles totales (y capacidad antioxidante), por otro lado, el caso de la especie *E. globulus* resultó con una fuerte influencia cuadrática de la temperatura y del %m/w. Esto puede ser visualizado más claramente en la **Figura 15 C**, en donde para una R S/L fija (1/33.3), valores intermedios de %m/w y de temperatura resultaron en un valor máximo de fenoles totales. Similar comportamiento de la respuesta fenoles totales fue obtenida para la especie *E. nitens* (Ver **Figura 15 D**), sin embargo, ésta poseyó además una influencia considerable del factor R S/L. En la **Figura 15 E** puede verse que para mayores valores de R S/L se obtuvo un mayor contenido de fenoles totales para la especie *E. nitens*.

El hecho de que valores intermedios de temperatura generen valores óptimos de fenoles totales extraídos es una tendencia que ha sido observada en estudios previos (I. Mota et al., 2013; Inês Mota et al., 2012). Esto ha sido atribuido a aceleraciones en la degradación de compuestos fenólicos, causada por altas temperaturas utilizadas durante el proceso extractivo. El hecho, sin embargo, de que el rendimiento de extracción se vea favorecido por altas temperaturas es asociado a una mayor obtención de carbohidratos a estas condiciones. Lo anterior, debido a que a altas temperaturas, la difusión del solvente

en la matriz sólida y la solubilidad de compuestos (además de fenólicos) se ve mejorada (Spigno, Tramelli, & De Faveri, 2007).



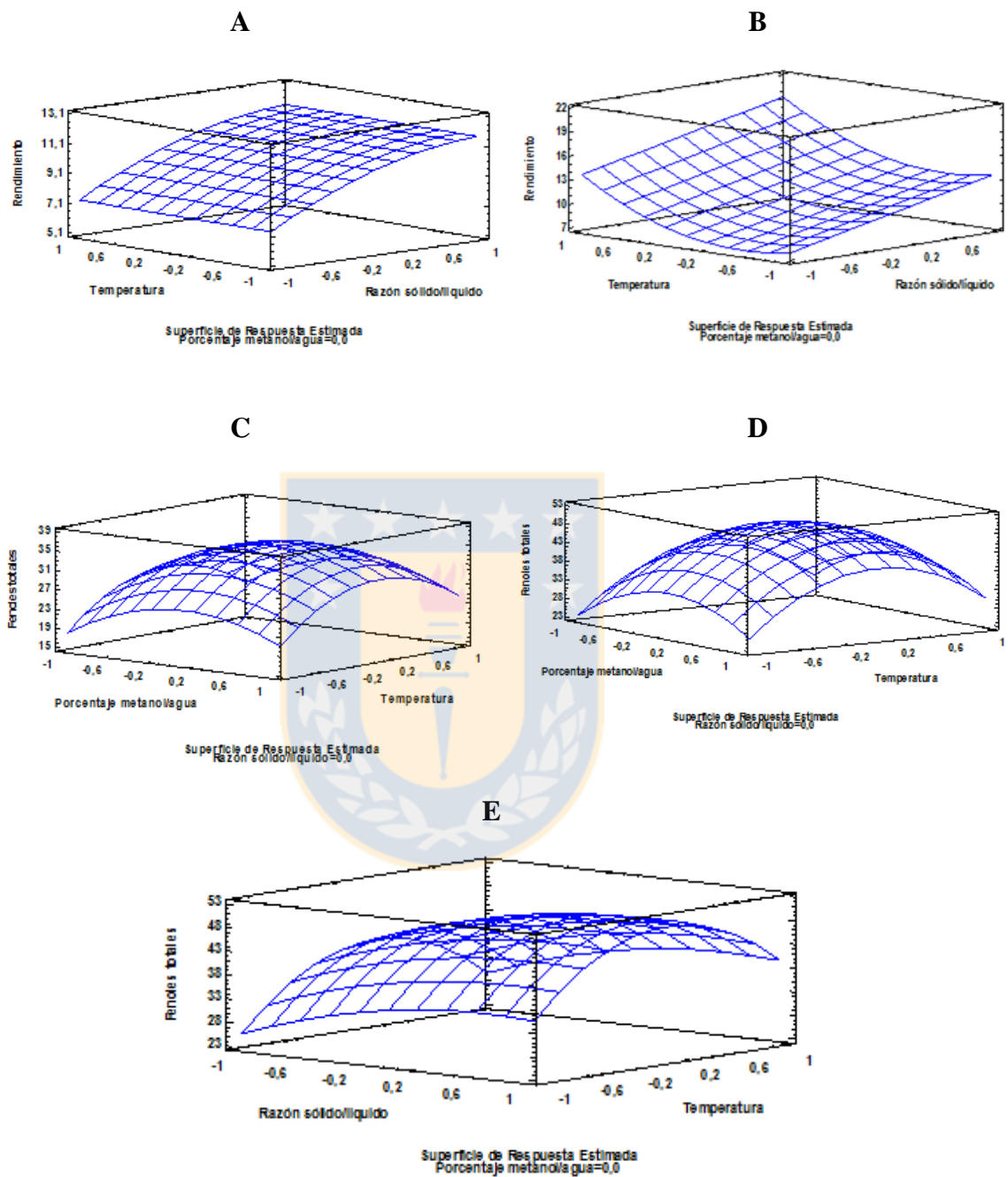
**Figura 14.** Función de deseabilidad global ante variaciones de la temperatura y la razón sólido/líquido. Especie *E. globulus*.  
(Fuente: Elaboración propia)

Los valores óptimos obtenidos de las condiciones de operación para cada especie de árbol son resumidos en la **Tabla 9**. Para ambos casos, la maximización de respuestas apunta al uso de la mayor razón sólido/líquido (1/60 g/mL). La posibilidad de obtener mejores resultados utilizando mayores razones sólido/líquido se ve opacada por lo perjudicial, desde el punto de vista económico, que se torna el utilizar altas cantidades de solvente.

**Tabla 9.** Condiciones y respuestas obtenidas mediante optimización múltiple para especies de eucalipto en estudio.

Especie	%m/w	R S/L (g/mL)	T (°C)	Rendimiento (% g extracto/g cort. seca)	Fenoles totales (mg GAE/g cort. seca)	Capacidad antioxidante (mg ác. ascórbico/g corteza seca)
<i>E. globulus</i>	51.7	1/60	46.8	11.774	37.888	34.370
<i>E. nitens</i>	51.4	1/60	53.0	16.126	48.065	43.853
* <i>E. globulus</i> (Mota y col., 2012)	(etanol/agua) 52 %	-	82.5	5.2	17	-

(Fuente: Elaboración propia; en \*: Mota y col. (2012))



**Figura 15.** Superficies de respuesta de (A) rendimiento *E. globulus*, %m/w fijo (B) rendimiento *E. nitens* %m/w fijo (C) fenoles totales *E. globulus*, RS/L fija (D) fenoles totales *E. nitens*, RS/L fija (E) fenoles totales *E. nitens*, %m/w fijo  
(Fuente: Elaboración propia)

Una comparación entre las respuestas maximizadas para ambas especies demuestra que la especie *E. nitens* obtuvo mayores valores de rendimiento y contenido fenólico (y por tanto, capacidad antioxidante) que *E. globulus*. Además, los valores de estas respuestas para ambas especies fueron mayores a otros encontrados en la literatura. Vázquez y col. (2008) estudiaron la extracción batch de corteza de *E. globulus* utilizando diferentes solventes, obteniendo un rendimiento de 5.19% cuando una mezcla metanol/agua 50% v/v fue utilizada como solvente, (la mitad del valor obtenido en este trabajo para la misma especie), y un contenido fenólico total de 10.4 mg GAE/g corteza seca, valor 3.5 veces menor al obtenido aquí. Resultados similares fueron obtenidos por Mota y col. (2012) para la extracción de corteza de *E. globulus* utilizando una mezcla etanol/agua (50% v/v) (Ver **Tabla 9**). Cadahía, Conde, de Simón, y García-Vallejo (1997), a su vez, extrajeron corteza de *E. globulus* con una mezcla de metanol/agua (80% v/v), obteniendo un contenido fenólico total de 22.8 mg GA/g corteza seca, valor cercano al alcanzado en este trabajo, pero aún menor. No existe información en la literatura sobre la extracción de corteza de *E. nitens*. Con respecto a la capacidad antioxidante, la especie *E. nitens* obtuvo un valor comparable con las frutas del cactus Pitaya, cuyos componentes hidrofílicos han reportado tener actividad antioxidante: la cereza, con una CA de 30.5 mg AA/g alimentados; la fruta amarilla, con 42.0 mg AA/g alimentados y la fruta blanca, con 43.4 mg AA/g alimentados (Beltrán, Oliva, Gallardo, y Osorio, 2009). Las capacidades antioxidantes obtenidas en este trabajo fueron también comparadas con antioxidantes comerciales, tales como el BHT, trolox y la taxifolina (Niokhor, Stevanovic, y Cloutier, 2009). A pesar de que las actividades antioxidantes de los dos últimos compuestos comerciales resultan ser mayores a la de los extractos de corteza de *E. globulus* y *E. nitens* (trolox: 1080 mg AA/g muestra, taxifolina: 1070 mg AA/g muestra versus 337.1 mg AA/g extracto seco para *E. globulus* y 285.3 mg AA/g extracto seco para *E. nitens*), estos excedieron la capacidad antioxidante del BHT (120 mg AA/g muestra).

Los resultados anteriores claramente confirman el alto potencial de estos tipos de corteza como una fuente de compuestos fenólicos, con propiedades antioxidantes asociadas.

### 6.4.2. Validación del modelo obtenido

El modelo obtenido a partir del diseño experimental requiere ser validado. Para esto, se llevaron a cabo las extracciones correspondientes a ambos tipos de corteza, a las condiciones óptimas obtenidas (**Tabla 10**). Fue posible una concordancia satisfactoria entre los parámetros predichos y medidos experimentalmente, ya que las diferencias estuvieron en el mismo rango de las desviaciones estándar de las determinaciones.

**Tabla 10.** Valores predichos y experimentales de las respuestas óptimas obtenidas.

Especie	<i>E. globulus</i>		<i>E. nitens</i>	
	Predicho	Experimental	Predicho	Experimental
<b>Rendimiento</b> (% g extracto/g cort. seca)	11.77	10.41 ± 1.21	16.13	15.11 ± 1.03
<b>Error relativo (%)</b>	13.06		6.750	
<b>Fenoles totales (mg GAE/g cort. seca)</b>	Predicho	Experimental	Predicho	Experimental
	37.89	36.90 ± 1.26	48.07	46.76 ± 2.01
<b>Error relativo (%)</b>	2.683		2.802	
<b>Capacidad antioxidante</b> (mg AA/g corteza seca)	Predicho	Experimental	Predicho	Experimental
	34.37	35.09 ± 1.51	43.85	43.11 ± 1.22
<b>Error relativo (%)</b>	2.052		1.717	

(Fuente: Elaboración propia)

### 6.5. Identificación del tiempo para alcanzar el equilibrio

Mediante una extracción en una etapa y utilizando las condiciones óptimas conseguidas a partir del diseño experimental (Ver **Sección 6.4**), se obtuvieron las curvas cinéticas de la **Figura 16**. De acuerdo a las pruebas estadísticas realizadas, solo aquellos puntos sobre 15 minutos resultaron ser iguales ( $p > 0.05$ ). Por lo tanto, para tener certeza del

equilibrio, se realizaron las pruebas de extracción durante 2 h/etapa, para así asegurar alcanzar el equilibrio, y al mismo tiempo, reducir los costos de operación.

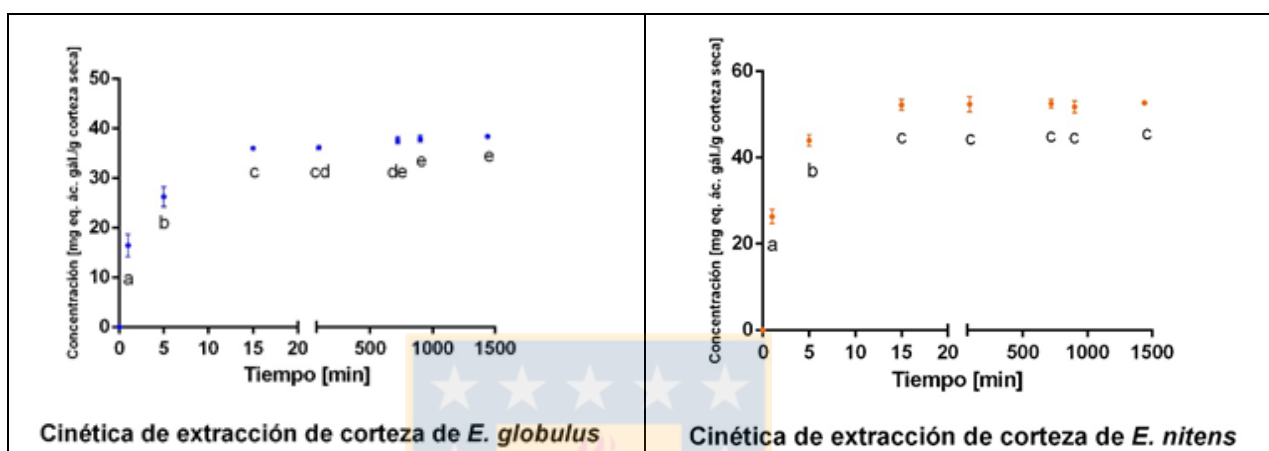


Figura 16. Curvas cinéticas para cada especie de eucalipto. Coincidencia de letras indica muestras estadísticamente iguales ( $p > 0.05$ )

(Fuente: Elaboración propia)

## 6.6. Estudio de las interacciones soluto/sólido

### 6.6.1. Obtención de corteza totalmente extraída

Mediante la multiextracción de corteza de ambas especies de eucalipto, fue posible el cálculo del factor de fenoles iniciales, como característica de la materia prima en estudio. Los valores obtenidos fueron  $0.0438 \pm 0.0012$  g GAE/g corteza seca para *E. globulus* y  $0.04526 \pm 0.0035$  g GAE/g corteza seca para *E. nitens*. Estos valores fueron necesarios para llevar a cabo los balances de masa subsecuentes para la multiextracción.

### 6.6.2. Extracción de una etapa: obtención de soluciones de extracto

Se llevó a cabo la extracción en una etapa para ambas especies de eucalipto, a las condiciones de operación óptimas obtenidas a partir del diseño experimental, para distintas razones sólido/líquido (Tabla 11), de forma de obtener soluciones de extracto a distintas concentraciones.



Puede visualizarse que a medida que se disminuyó la razón sólido/líquido, las cantidades de fenoles totales obtenidas fueron mayores. El mismo comportamiento fue obtenido por Dreisewerd y col. (2016) para la extracción de artemisinina desde la especie de planta *Artemisia annua* y por Wright (2015) para la extracción de compuestos fenólicos a partir de corteza de *Pinus contorta*. Lo anterior es causado por la saturación previa del solvente en los procesos con mayor razón sólido/líquido, debido a la mayor cantidad de sólido utilizado para un mismo volumen de solvente. Además, el resultado es consistente con los principios de la transferencia de masa, en donde la fuerza impulsora durante la transferencia dentro del sólido corresponde al gradiente de concentración, el cual es mayor cuando una menor razón sólido/líquido es usada, resultando en un incremento de la velocidad difusiva.

**Tabla 11.** Concentraciones de soluciones conteniendo extracto hidrosoluble, obtenidas a partir de extracciones de 1 etapa.

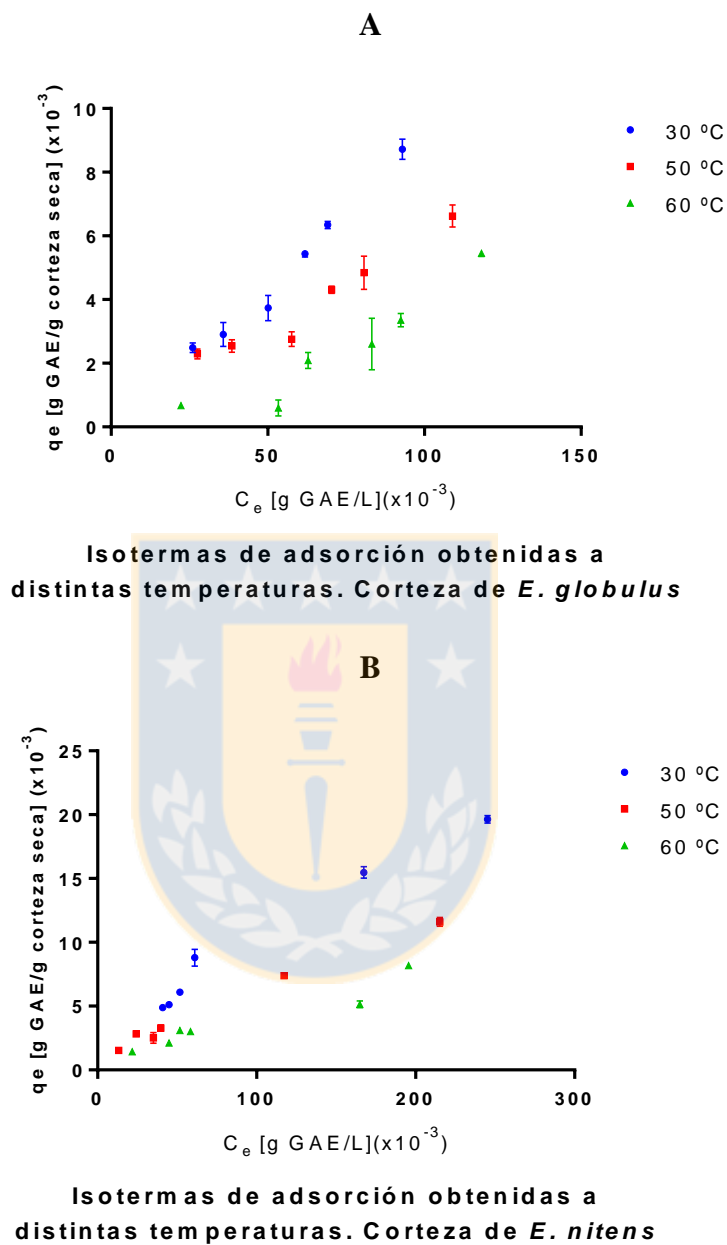
Razón sólido/líquido (g/mL)	Concentraciones (mg GAE/g corteza seca)	
	<i>E. globulus</i>	<i>E. nitens</i>
1/7	28.2 ± 0.593	26.0 ± 0.105
1/10	29.5 ± 0.545	30.0 ± 0.107
1/15	33.6 ± 0.274	39.8 ± 0.232
1/20	34.6 ± 0.198	43.0 ± 0.508
1/30	35.5 ± 0.415	45.1 ± 0.803
1/60	38.1 ± 0.192	46.9 ± 0.610

(Fuente: Elaboración propia)

### 6.6.3. Determinación de las isotermas de adsorción

Los resultados obtenidos de acuerdo a la adsorción de compuestos fenólicos sobre corteza (extraída previamente) de ambas especies de eucalipto son mostrados en la **Figura 17, A y B**. Para ambos casos, se observa un claro aumento de la capacidad adsorptiva de la corteza para mayores concentraciones de fenoles. Además, para el rango de temperatura estudiado, la adsorción fue favorecida con la disminución de la temperatura, indicando que el proceso fue exotérmico. Autores indican que la adsorción es usualmente un proceso exotérmico, debido a su espontaneidad (Dreisewerd y col. (2015); Li y col. (2015)). En efecto, Li et al. (2015) en su estudio sobre la adsorción de

compuestos flavonoides sobre resinas macroporosas, comprobaron un aumento de la afinidad del soluto por la fase sólida a menores temperaturas. La misma tendencia fue obtenida por Rani y Sud (2015), quienes estudiaron la adsorción del pesticida triazopo sobre partículas de suelo. Abdelwahab y Amin (2013), por su parte, estudiaron la remoción de fenol desde una solución acuosa, a partir del uso del biosorbente vegetal *luffa cylindrica*. Los resultados de su estudio indicaron que el porcentaje adsorbido de fenol aumentó para menores temperaturas, justificando este fenómeno por el debilitamiento de las fuerzas adsorptivas entre los sitios activos del adsorbente y las especies fenólicas, y también entre moléculas adyacentes de fenol sobre la fase adsorbida para altas temperaturas. A pesar de lo anterior, es sabido que para el caso de adsorciones de compuestos orgánicos desde soluciones acuosas, el comportamiento opuesto (endotérmico) puede ser observado (Fontecha, López, Álvarez, y Moreno, 2006; Terzyk, 2004). Lo anterior es causado porque el proceso adsorptivo no es solo influenciado por las interacciones soluto/sólido, sino que también por las interacciones soluto/solvente y solvente/sólido (Dreisewerd y col., 2015). Un ejemplo de esto, es el estudio llevado a cabo por Muhammad y col. (2010), quienes estudiaron la adsorción del compuesto orgánico  $\beta$ -caroteno sobre monolito recubierto de carbono, obteniendo incrementos de la adsorción con aumentos de la temperatura, indicando que se debería a un aumento de la velocidad difusiva en los poros, de las moléculas de adsorbato, debido a que la difusión es un proceso endotérmico. Quadri (1995) indicó que si bien aumentos de la temperatura generan aumentos de la velocidad de difusión molecular del adsorbato al interior de la partícula adsorbente; por otro lado, aumentos de temperatura del sistema también favorecen el efecto contrario aumentando la desorción de las moléculas. De hecho, el proceso regenerativo de carbones activados consiste en tratamientos térmicos a altas temperaturas. Este efecto se debe al hecho de que la solubilidad del adsorbato se encuentra en directa relación con el aumento de la temperatura, prefiriendo el adsorbato en este caso a permanecer en solución.



**Figura 17.** Isotermas de adsorción de compuestos fenólicos sobre corteza de eucalipto (extraída a 30, 50 y 60 °C. (A) *E. globulus* (B) *E. nitens*.  
(Fuente: Elaboración propia)

#### 6.6.4. Modelación de isotermas de adsorción

Se realizó la adecuación de las isotermas de adsorción obtenidas a 30, 50 y 60 °C para ambas especies de eucalipto. Un modelo lineal (ecuación de Henry) de la forma

mostrada en la **Ecuación 19** fue utilizado debido a la previa observación de los datos experimentales, en donde  $K$  representa al coeficiente de partición entre ambas fases en el equilibrio.

$$q_{F,e,ads} = K \cdot C_{F,e,L} \quad (19)$$

Se ajustaron, además, las isothermas experimentales al modelo de isoterma de Freundlich (Ver **Ecuación 3**). Para esto, se comprobó, primeramente, el ajuste a la forma linealizada del modelo (Ver **Tabla 3**). Para llevar a cabo lo anterior, se graficó  $\log(q_e)$  versus  $\log(C_e)$  para ambas especies, obteniendo los ajustes mostrados en la **Figura 23** del **Anexo 6.1** (para una temperatura de 50°C). Además, fue realizado un ajuste no lineal de la isoterma de Freundlich. Los datos también fueron modelados mediante el modelo de Langmuir (Ver **Ecuación 2**), utilizando su forma linealizada (Ver **Tabla 3**) y los ajustes no lineales mediante minimización de distintas funciones de error. Así mismo, se realizó un ajuste lineal y los correspondientes no lineales de los datos al modelo de isoterma de D-R (Ver **Ecuación 4** y **Tabla 3**). Tanto para el ajuste al modelo de D-R como para el de Freundlich y Langmuir no linealizados, se utilizaron 3 distribuciones de error a minimizar: SSE, EABS y MPSD. Las funciones de error son mostradas en la **Tabla 18** del **Anexo A.6.2** con sus correspondientes sumas de errores normalizados (SNE), y también se indican los valores de  $R^2$  de cada una de las isothermas linealizadas y no linealizadas. De allí, puede concluirse que el ajuste no lineal basado en la minimización de la distribución de error SSE permite un ajuste más eficiente de los datos experimentales para ambas especies de eucalipto, en todos los modelos de isoterma y para todas las temperaturas estudiadas. Lo anterior, en base a los menores valores de SNE y mayores valores de  $R^2$  obtenidos para este caso. Variados autores en estudios anteriores han demostrado la consistencia de la linealización y la no linealización de ajustes para la modelación de isothermas (Foo y Hameed, 2010), sin embargo, ya que en otros estudios también se ha descubierto la inconsistencia de la linealización, se

aconseja, en general, una interpretación de los datos de adsorción a través de un proceso de regresión lineal, y otro no lineal.

Finalmente, los parámetros de las isothermas ajustadas son mostrados en las **Tabla 12 y 13** para las 3 temperaturas estudiadas, para *E. globulus* y *E. nitens*, respectivamente. Allí también se muestran los valores de  $R^2$  de los ajustes, junto con los “índices de selección de modelo”, o MSC. Éste índice se encuentra en el contexto de la diversidad de fórmulas matemáticas que pueden ajustar los datos de una isoterma. La elección del modelo puede tener una gran influencia sobre la predicción de la transferencia del soluto (Brusseau, 1998; Hinz, Gaston, y Selim, 1994). Limousin y col. (2007) indican que un modelo ideal de isoterma verifica 4 propiedades fundamentales: debe ser efectivo, comprensivo, realístico y predictivo. Autores recomiendan un método de ajuste paso a paso (Hinz y col., 1994; Limousin y col., 2007), intentando primero ajustar los modelos más simples a los datos experimentales (como se hizo en este trabajo), y luego, eligiendo modelos más complejos, solo si es necesario. Debe tenerse en cuenta que el modelo elegido debe ser apropiado, basado en el conocimiento mecanístico del sistema. Así es como Saiers y Hornberger (1996) proponen aplicar este índice como “criterio de selección de modelo” (MSC, por sus siglas en inglés, ver **Ecuación 20**), en donde el modelo con el mayor valor de MSC debe ser considerado como el que mejor ajusta los datos. Este tipo de criterio cuantitativo tiene la ventaja de tomar en cuenta el número de parámetros ajustados, así como un cálculo clásico de mínimos cuadrados.

$$MSC = \ln \left( \frac{\sum_{i=1}^d (q_i - \bar{q})^2}{\sum_{i=1}^d (q_i - q_{mi})^2} \right) - \frac{2\alpha}{d} \quad (20)$$

En donde  $d$  es el número de datos experimentales,  $\alpha$  es el número de parámetros ajustados,  $q_i$  es la  $i$ ésima observación experimental,  $\bar{q}$  es el promedio de datos y  $q_{mi}$  es la  $i$ ésima concentración calculada.

De la **Tabla 12**, puede identificarse que para la especie *E. globulus* el modelo con el mayor valor de MSC fue el de Freundlich para todas las temperaturas evaluadas. Para *E.*

*nitens* (Ver **Tabla 13**), por su parte, el modelo de Freundlich alcanzó los mayores valores de MSC solo para las temperaturas 30 y 50 °C. A 60°C el modelo lineal fue el que cumplió esta condición, seguido por el modelo de Freundlich. Sin embargo, debe notarse que el modelo de Freundlich, en este caso, obtuvo el mayor valor de  $R^2$ . Más aún, el modelo lineal representa un caso especial del modelo de Freundlich para  $1/n=1$ , y si bien es efectivo en su predicción, este modelo perfectamente lineal es poco realista en la práctica. En cuanto al modelo de Langmuir, la descripción propuesta para los datos de equilibrio fue buena, pero no mejor que la obtenida por Freundlich. Lo anterior, basado en los índices  $R^2$  y MSC. Cabe destacar que los modelos de Langmuir y Freundlich son modelos empíricos basados en la adsorción de gas sobre la fase sólida (Foo y Hameed 2010), sin embargo el modelo de Freundlich ha sido más popular y efectivo para la predicción de sistemas líquido-sólido (Coulson y Richardson, 2013). Por lo anterior, el modelo de Freundlich fue el elegido para la descripción de los datos experimentales.

El ajuste eficiente obtenido para el modelo de Freundlich indica una noción del mecanismo de adsorción, el cual se encuentra relacionado con una adsorción de tipo no ideal, reversible, con una distribución de calores de adsorción y afinidades sobre la superficie heterogénea. Los valores del coeficiente del modelo de Freundlich  $1/n$ , o factor de heterogeneidad de la superficie, son cercanos a 1 para ambas especies de eucalipto, confirmando solo una mínima curvatura al modelo obtenido e indicando que la superficie es solo levemente heterogénea en cuanto al calor de adsorción y afinidad con el adsorbato. Otra forma de interpretación de la cercanía de  $1/n$  a 1 es que la distribución del adsorbato entre la fase líquida y sólida fue la misma, o ésta fue incrementando a la misma velocidad.

**Tabla 12.** Parámetros de isoterma y valores de los índices  $R^2$  y MSC de los modelos para especie *E. globulus*.

Especie	Temperatura (°C)	Modelo de isoterma	Parámetros ajustados	$R^2$ (%)	MSC
<i>E. globulus</i>	30	Lineal	$K=0.08940$ (L/g)	99.50	3.14
		Freundlich	$K_F=0.04886$ $1/n=1.143$	98.12	3.29
		Langmuir	$K_s=1.012 \times 10^{-5}$ (L/mg) $q_s=8946$ (mg/g)	96.98	2.80
		D-R	$K_{ad}=1.025 \times 10^{-4}$ (mol/J) <sup>2</sup> $Q_s=9.065$ (mg/g)	83.84	0.976
	50	Lineal	$K=0.05908$ (L/g)	99.67	3.39
		Freundlich	$K_F=0.03114$ $1/n=1.146$	99.49	4.60
		Langmuir	$K_s=1.001 \times 10^{-5}$ (L/mg) $q_s=5913$ (mg/g)	98.29	3.38
		D-R	$K_{ad}=2.829 \times 10^{-4}$ (mol/J) <sup>2</sup> $Q_s=7.092$ (mg/g)	91.21	1.67
	60	Lineal	$K=0.03389$ (L/g)	99.10	2.80
		Freundlich	$K_F=0.01592$ $1/n=1.168$	98.57	3.56
		Langmuir	$K_s=1.070 \times 10^{-5}$ (L/mg) $q_s=3392$ (mg/g)	95.82	2.46
		D-R	$K_{ad}=5.820 \times 10^{-4}$ (mol/J) <sup>2</sup> $Q_s=5.623$ (mg/g)	91.73	1.73

**Nota:** Valores de  $K_F$  poseen unidades de  $(\text{mg/g})(\text{L/mg})^{1/n}$   
(Fuente: Elaboración propia)

**Tabla 13.** Parámetros de isoterma y valores de los índices  $R^2$  y MSC de los modelos para especie *E. nitens*.

Especie	Temperatura (°C)	Modelo de isoterma	Parámetros ajustados	$R^2$ (%)	MSC
<i>E. nitens</i>	30	Lineal	$K=0.08904$ (L/g)	98.75	2.73
		Freundlich	$K_F=0.2672$ $1/n=0.7890$	99.89	6.16
		Langmuir	$K_s=2.272 \times 10^{-3}$ (L/mg) $q_s=42.90$ (mg/g)	99.84	6.08
		D-R	$K_{ad}=4.814 \times 10^{-4}$ (mol/J) <sup>2</sup> $Q_s=19.24$ (mg/g)	94.09	2.10
	50	Lineal	$K=0.05765$ (L/g)	97.72	4.85
		Freundlich	$K_F=0.2177$ $1/n=0.7396$	99.27	4.25
		Langmuir	$K_s=3.491 \times 10^{-4}$ (L/mg) $q_s=26.65$ (mg/g)	98.67	3.64
		D-R	$K_{ad}=4.893 \times 10^{-4}$ (mol/J) <sup>2</sup> $Q_s=11.51$ (mg/g)	80.29	0.62
	60	Lineal	$K=0.03337$ (L/g)	97.51	1.81
		Freundlich	$K_F=0.1597$ $1/n=0.6883$	99.44	4.51
		Langmuir	$K_s=4.697 \times 10^{-3}$ (L/mg) $q_s=12.46$ (mg/g)	98.75	3.70
		D-R	$K_{ad}=3.183 \times 10^{-4}$ (mol/J) <sup>2</sup> $Q_s=6.074$ (mg/g)	87.90	1.30

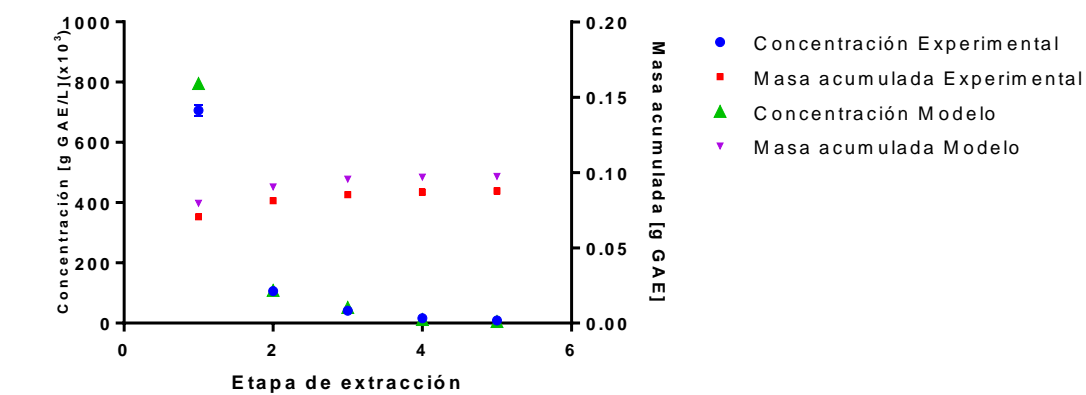
**Nota:** Valores de  $K_F$  poseen unidades de (mg/g)(L/mg)<sup>1/n</sup>  
(Fuente: Elaboración propia)



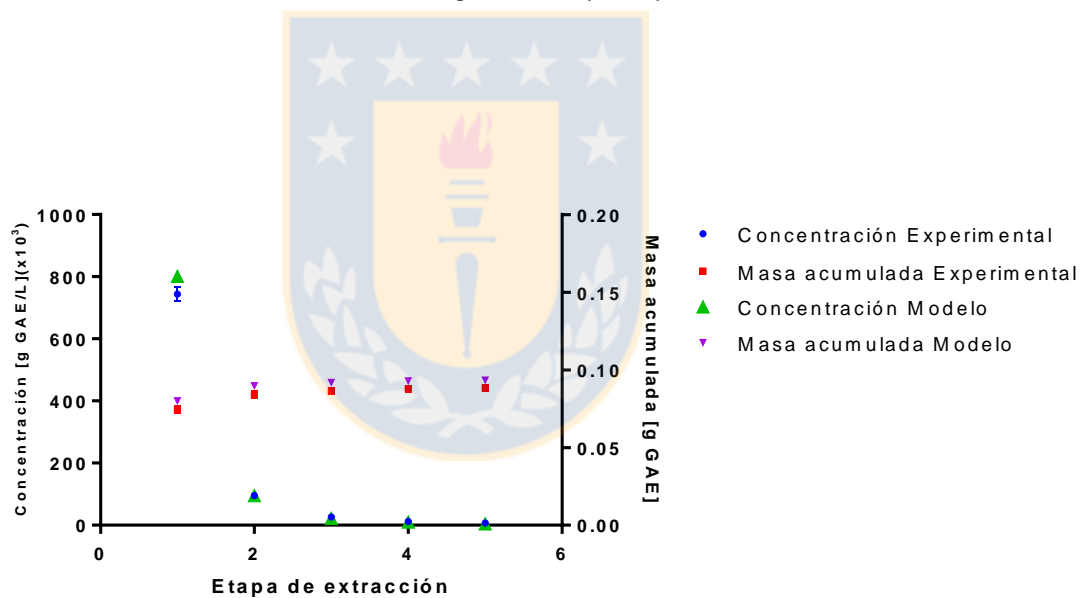
### 6.6.5. Validación de isothermas de adsorción

Basado en balances de materia del proceso multiextractivo y en el contenido inicial de fenoles de la corteza de ambas especies de eucalipto (factor de fenoles iniciales), conocido desde la multiextracción realizada (Ver **Sección 6.6.1**), las isothermas de adsorción fueron validadas mediante comparación con las concentraciones medidas y las masas acumuladas en cada etapa de la multiextracción.

De acuerdo al ajuste de los datos experimentales, el modelo de Freundlich fue el elegido como el más apropiado, dentro del rango de concentraciones estudiadas. En la **Figura 18** se muestran las concentraciones de fenoles totales y sus masas acumuladas en cada etapa, tanto para los datos experimentales, como para los obtenidos en base a las isothermas de adsorción anteriores, para ambas especies de eucaliptos a 50°C. En ella, puede visualizarse que existe una concordancia aceptable entre las concentraciones y masas acumuladas predichas y las experimentales, comprobando que el procedimiento experimental para la obtención de las isothermas de adsorción fue apropiado para el sistema compuestos fenólicos/corteza de eucalipto. Además, se puede identificar que para la especie *E. globulus*, la extracción finaliza luego de 4 etapas, sin embargo, para la especie *E. nitens*, esta resulta casi totalmente extraída ya en la tercera etapa. Lo anterior tiene sentido si se considera la pendiente levemente menor que posee la isoterma de adsorción de la especie *E. nitens*, indicando que los compuestos fenólicos poseen menor afinidad por la fase sólida, para iguales condiciones de extracción con la especie *E. globulus*, y por tanto, su extracción se facilita. Una concordancia aceptable de los datos fue también obtenida para las temperaturas 30 y 60°C.



**Validación de isoterma de adsorción:  
Multi-extracción de corteza de *E. globulus* (50°C)**



**Validación de isoterma de adsorción:  
Multi-extracción de corteza de *E. nitens* (50°C)**

**Figura 18.** Comparación datos experimentales y obtenidos por modelo de isoterma de adsorción para multiextracción de 5 etapas. 50°C. Isoterma de tipo lineal.  
(Fuente: Elaboración propia)

## 6.7. Parámetros termodinámicos

En la **Tabla 14** se muestran los parámetros termodinámicos obtenidos desde la constante de Freundlich,  $K_F$ . Esta constante fue previamente adimensionalizada mediante la **Ecuación 21** (Tran y *col.*, 2016), en donde  $\rho(T)$  corresponde a la densidad dependiente de la temperatura, de una mezcla 50% v/v de metanol/agua.

$$K_c = \frac{K_F}{1000} (1000 \cdot \rho(T))^{1/n} \quad (21)$$

**Tabla 14.** Parámetros termodinámicos y valores de  $K_c$  y  $E$  para ambas especies de eucalipto.

Especie	Temperatura (°C)	$K_c$	$\Delta G^o$ (kJ/mol)	$\Delta H^o$ (kJ/mol)	$\Delta S^o$ (J/mol)	$E$ (kJ/mol)
<i>E. globulus</i>	30	300.8	-14.37	-20.92	-21.39	0.06984
	50	199.2	-14.22			0.04204
	60	138.3	-13.65			0.02931
<i>E. nitens</i>	30	12.99	-6.46	-50.11	-143.4	0.03223
	50	5.383	-4.52			0.03197
	60	1.958	-1.86			0.03128

(Fuente: Elaboración propia)

El parámetro  $\Delta H^o$  provee información acerca de la naturaleza exotérmica ( $\Delta H^o < 0$ ) o endotérmica del proceso adsorptivo ( $\Delta H^o > 0$ ) (Jethave, Fegade, Attarde, y Ingle, 2017). Ambas especies de eucalipto obtuvieron valores negativos de  $\Delta H^o$ , confirmado la naturaleza exotérmica del proceso bajo estudio.

El cambio de energía libre de Gibbs es un factor crítico para la determinación del grado de espontaneidad de la adsorción. El proceso adsorptivo ocurrirá de forma favorable y de forma espontánea a una temperatura dada, si  $\Delta G^o$  exhibe un valor negativo (Tran y *col.*, 2016). Los valores negativos de  $\Delta G^o$  a todas las temperaturas sugieren que el proceso de adsorción ocurrió favorable y espontáneamente. Adicionalmente, el valor absoluto de  $\Delta G^o$  fue disminuyendo con el aumento de la temperatura. Se postula que un valor “más

negativo” de  $\Delta G^o$  se encuentra asociado con una adsorción energéticamente más favorable, por lo tanto, los valores obtenidos para ambas especies confirmaron que el fenómeno en estudio fue más favorable a una temperatura menor.

Por su parte, la magnitud y signo de  $\Delta S^o$  juegan un rol importante al dilucidar si la organización de las moléculas de adsorbato sobre la superficie adsorbato/adsorbente durante la adsorción, se vuelve menos aleatoria ( $\Delta S^o < 0$ ) o más aleatoria ( $\Delta S^o > 0$ ). Todos los valores de  $\Delta S^o$  obtenidos fueron negativos, indicando que el movimiento de las moléculas de compuestos polifenólicos durante el proceso de adsorción, fue de una forma más ordenada (Li y col., 2015).

Tran y col. (2016) indicaron que la magnitud de la entalpía de adsorción (o calor de adsorción) puede dar una noción del tipo de adsorción, siendo física para  $\Delta H^o < 40$  kJ/mol, o química para valores mayores a 40 kJ/mol. Los bajos valores de entalpía de adsorción obtenidos para ambas especies indicaron que la adsorción fue de tipo física. Estos autores, también indicaron que las energías de adsorción, E, calculadas desde el modelo de isoterma de D-R, pueden proveer información útil sobre el tipo de adsorción:  $E < 8$  kJ/mol para adsorciones físicas y  $E > 16$  kJ/mol para adsorciones químicas. Todos los valores de E obtenidos fueron menores a 8 kJ/mol (**Tabla 14**), confirmando el mecanismo de adsorción de tipo física.

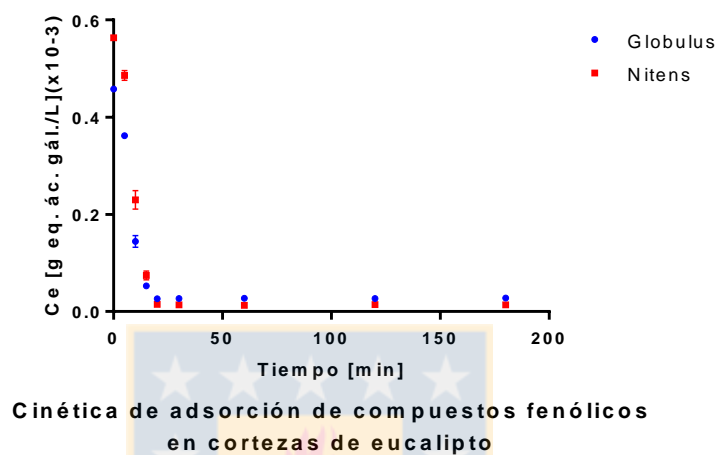
Otros parámetros, además de  $\Delta H^o$ , que pueden proveer información acerca de la naturaleza exotérmica o endotérmica de la adsorción son  $K_F$ ,  $Q_s$  y E. Una inspección de los valores de  $K_F$  (**Tabla 12 y 13**) –y por tanto,  $K_c$  (**Tabla 14**)–, constante caracterizada como la fuerza de adsorción indica que, éstos decrecieron con el incremento de la temperatura, para ambas especies de eucalipto, confirmando la adsorción preferente de las moléculas a bajas temperaturas. Por otra parte, las capacidades de adsorción, representadas por  $q_s$  en el modelo de Langmuir y  $Q_s$  en el modelo de D-R, disminuyeron con el aumento de la temperatura, reflejando la naturaleza exotérmica del fenómeno en estudio, tanto para *E. globulus* como para *E. nitens*. Finalmente, las energías libres de adsorción, E, calculadas desde el modelo de D-R, decrecieron con el incremento de la

temperatura para ambas especies, siendo la tendencia más notable para la especie *E. globulus*. Todo lo anterior, confirma que el proceso adsorptivo fue de tipo exotérmico.

### 6.8. Cinética de adsorción

La cinética de adsorción para ambas especies de eucalipto (Ver **Figura 19**) fue estudiada con el fin de indagar si el equilibrio fue un proceso instantáneo, de forma independiente a los posibles fenómenos de interferencia asociados a la extracción en sí misma (Ver **Sección 3.6.3**). Allí, se observa que el equilibrio de adsorción tarda aproximadamente 20 minutos en alcanzarse. Es muy frecuente que se asuma que el equilibrio de adsorción es alcanzado de forma instantánea durante la extracción de solutos desde matrices sólidas (Marrone, Poletto, Reverchon, y Stassi, 1998; Sovová, 2005), sin embargo, de acuerdo a los resultados presentados en esta sección, se infiere que este tipo de suposición pueda ser incorrecta. El retardo en conseguir el estado de equilibrio puede deberse a un proceso lento de transferencia de masa (adsorbato) desde el seno de la solución de extracto hasta el interior de la matriz sólida y/o por una lenta adsorción en sí misma. El estado actual de este trabajo no permite una identificación de la causa, sin embargo, si es el proceso de adsorción es el que genera el retardo en alcanzar la condición de equilibrio, las suposiciones que indican que el equilibrio es alcanzado de forma instantánea podrían conducir a resultados equivocados. Más aún, Abdelwahab y Amin (2013) indican que en los modelos cinéticos, es usual asumir que la velocidad global de adsorción es exclusivamente controlada por la velocidad de adsorción del soluto sobre la superficie de la fase adsorbente, y que la difusión intraparticular y el transporte de masa externo pueden ser despreciados. Además, indican que la velocidad de adsorción sobre la superficie puede ser representada en la misma forma que una velocidad de reacción química. La adsorción de flavonoides sobre resina macroporosa indicó un tiempo de adsorción de 2 horas (Li y col., 2015), tiempo mayor al obtenido en este estudio, posiblemente ligado a la presencia de microporos y al retardo en la difusión interna del adsorbato. Kumar y col. (2014), por su parte, estudiaron la cinética de adsorción de fenoles sobre corteza molida de pino (*Pinus desinflora*), la cual posee un diámetro de

poro similar a los obtenidos en este trabajo. El equilibrio para este caso fue alcanzado a los 20 minutos, orden de tiempo similar al obtenido en este trabajo.



**Figura 19.** Cinética de adsorción de compuestos fenólicos en corteza de *E. globulus* y *nitens*. 50°C, RS/L 1/60  
(Fuente: Elaboración propia)

## 7. CONCLUSIONES

- Diámetros de partícula inferiores a 0.59 mm alcanzaron una concentración de equilibrio única y un aumento de la velocidad para llegar a ésta, indicando una disminución del fenómeno difusivo y del posible atrapamiento de adsorbato en el interior de la matriz porosa.
- Partículas de corteza de *E. globulus* y *nitens* presentaron mesoporos y áreas superficiales BET similares. La visualización mediante SEM indicó cambios superficiales de la corteza luego del proceso extractivo, y presencia de lignina como estructura globular, para ambas especies de eucalipto.
- Corteza de *E. globulus* y *E. nitens* presentaron condiciones óptimas similares, pero rendimientos y concentración de fenoles levemente mayores para *E. nitens*, indicando una extracción mayor de compuestos fenólicos.
- Las isotermas de adsorción indicaron un comportamiento exotérmico y un claro aumento de la capacidad adsorptiva de la corteza para mayores concentraciones de fenoles en la fase líquida, en el equilibrio.
- Las isotermas de adsorción lineal, de Freundlich y de Langmuir ajustaron los datos experimentales de forma apropiada, siendo modeladas finalmente por la isoterma de Freundlich, al cumplir ésta con ser efectiva y realista en su modelación.
- La obtención de isotermas de adsorción de forma independiente de la cinética de extracción fue validada mediante su uso en balances de masa de una multiextracción, adecuándose eficientemente a los datos experimentales correspondientes.

- Los parámetros termodinámicos indicaron una adsorción de compuestos fenólicos sobre corteza de *E. globulus* y *E. nitens* de tipo exotérmica y espontánea, y con un mecanismo de naturaleza física.
- Se establecieron datos físicos de las matrices sólidas en estudio y datos de equilibrio del sistema compuestos fenólicos/corteza de *E. globulus* y *E. nitens*, para su uso en futuros estudios de modelación matemática y diseño de fitoextracciones de fenoles desde estos subproductos forestales, buscando generar un producto valorado en el mercado.





## BIBLIOGRAFÍA

- Abdelwahab, O., y Amin, N. K. (2013). Adsorption of phenol from aqueous solutions by *Luffa cylindrica* fibers: Kinetics, isotherm and thermodynamic studies. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 39(4), 215-223. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejar.2013.12.011>
- Alemanno, L., Ramos, T., Gargadenec, A., Andary, C., y Ferriere, N. (2003). Localization and Identification of Phenolic Compounds in *Theobroma cacao* L. Somatic Embryogenesis. *Annals of Botany*, 92(4), 613-623. doi: 10.1093/aob/mcg177
- Araus, K., Uquiche, E., y del Valle, J. M. (2009). Matrix effects in supercritical CO<sub>2</sub> extraction of essential oils from plant material. *Journal of Food Engineering*, 92(4), 438-447. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.12.016>
- Aspé, E., y Fernández, K. (2011). Comparison of phenolic extracts obtained of *Pinus radiata* bark from pulp and paper industry and sawmill industry. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 13, 243-252.
- Battaglia, M., Beadle, C., y Loughhead, S. (1996). Photosynthetic temperature responses of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens*. *Tree Physiol*, 16, 81-89.
- Beltrán, M., Oliva, T., Gallardo, T., y Osorio, G. (2009). Ascorbic acid, phenolic content, and antioxidant capacity of red, cherry, yellow and white types of pitaya cactus fruit (*Stenocereus stellatus Riccobono*). *Agrociencia*, 43(2), 153-161.
- Bown, H. E., y Lasserre, J.-P. (2015). An air-drying model for piled logs of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens* in Chile. *New Zealand Journal of Forestry Science*, 45(1). doi: 10.1186/s40490-015-0047-6
- Braga, F., Ayres-Saraiva, D., Gattass, C. R., y Capella, M. A. (2007). Oleanolic acid inhibits the activity of the multidrug resistance protein ABCC1 (MRP1) but not of the ABCB1 (P-glycoprotein): possible use in cancer chemotherapy. *Cancer Lett*, 248(1), 147-152. doi: 10.1016/j.canlet.2006.06.008
- Brusseau, M. L. (1998). Non-ideal transport of reactive solutes in heterogeneous porous media: 3. model testing and data analysis using calibration versus prediction. *Journal of Hydrology*, 209(1-4), 147-165. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-1694\(98\)00121-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-1694(98)00121-8)
- Cacace, J. E., y Mazza, G. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering*, 59(4), 379-389. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00497-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00497-1)
- Cadahía, E., Conde, E., de Simón, B. F., y García-Vallejo, M. C. (1997). Tannin Composition of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globulus* and *E. rudis*. Part II. Bark. *Holzforchung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*, 51(2), 125-129. doi: 10.1515/hfsg.1997.51.2.125
- Cai, Y., Luo Q Fau - Sun, M., Sun M Fau - Corke, H., y Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74(17), 2157-2184.
- Cocero, M. J., y García, J. (2001). Mathematical model of supercritical extraction applied to oil seed extraction by CO<sub>2</sub>+saturated alcohol — I. Desorption model. *The Journal of Supercritical Fluids*, 20(3), 229-243. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0896-8446\(01\)00068-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0896-8446(01)00068-7)
- CONAF. (2017). Cifras oficiales Catastros Usos de Suelo y Recursos Vegetacionales - CONAF. Recuperado 30/11/2017, de <https://sit.conaf.cl/exp/ficha.php>

- Crini, G., y Badot, P.-M. (2010). *Sorption Processes and Pollution: Conventional and Non-conventional sorbents for pollutant removal from wastewaters* G. Crini & P.-M. Badot (Eds.), Recuperado de [https://books.google.cl/books?id=y06b\\_mOOrVwC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.cl/books?id=y06b_mOOrVwC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
- Cussler, E. L. (1997). *Diffusion Mass Transfer in Fluid Systems* (2nd ed.). Cambridge, United Kingdom: Press syndicate of the university of Cambridge.
- Dada, A., Olalekan, A., y Olantuya, A. (2012). Langmuir, Freundlich, Temkin and Dubinin-Radushkevich Isotherms Studies of Equilibrium Sorption of Zn<sup>+2</sup> Unto Phosphoric Acid Modified Rice Husk. *Journal of Applied Chemistry*, 3(1), 38-45.
- Diouf, P. N., Stevanovic, T., y Cloutier, A. (2009). Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. *Food Chemistry*, 113(4), 897-902. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.016>
- Domingues, R. M. A., Sousa, G. D. A., Freire, C. S. R., Silvestre, A. J. D., y Neto, C. P. (2010). Eucalyptus globulus biomass residues from pulping industry as a source of high value triterpenic compounds. *Industrial Crops and Products*, 31(1), 65-70. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.09.002>
- Domingues, R. M. A., Sousa, G. D. A., Silva, C. M., Freire, C. S. R., Silvestre, A. J. D., y Neto, C. P. (2011). High value triterpenic compounds from the outer barks of several Eucalyptus species cultivated in Brazil and in Portugal. *Industrial Crops and Products*, 33(1), 158-164. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.10.006>
- Dreisewerd, B., Merz, J., y Schembecker, G. (2015). Determining the solute–solid interactions in phytoextraction. *Chemical Engineering Science*, 134, 287-296. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ces.2015.04.025>
- Dreisewerd, B., Merz, J., y Schembecker, G. (2016). Modeling the Quasi-Equilibrium of Multistage Phytoextractions. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 55(6), 1808-1812. doi: 10.1021/acs.iecr.5b04506
- Dudonne, S., Fau, V. X., Fau, C. P., Fau, W. M., y Merillon, J. M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1768-1774.
- Duffey, G. (1965). *Química Física* (McGraw-Hill Ed.). New York.
- Ekka, B., Nayak, S. R., Dash, P., y Patel, R. K. (2016). Removal of malachite green dye from aqueous solution using mesoporous silica synthesized from 1-octyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid. *AIP Conference Proceedings*, 1724(1). doi: <http://dx.doi.org/10.1063/1.4945131>
- Fontecha, M. A., López, M., Álvarez, M., y Moreno, C. (2006). About the endothermic nature of the adsorption of the herbicide diuron from aqueous solutions on activated carbon fiber. *Carbon*, 44, 2330-2356.
- Foo, K. Y., y Hameed, B. H. (2010). Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. *Chemical Engineering Journal*, 156(1), 2-10. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2009.09.013>
- Forest, P. (2012). *Eucalyptus Globulus*. Recuperado 03-07, 2016, de <http://www.pacificforest.cl/especies.php#>
- Forestal, C. (2010). Forestal Comaco: Bosques de *Eucalyptus*. Recuperado 03-07, 2016, de [http://www.comacoforestal.com/esp/bosques\\_de\\_eucalyptus/](http://www.comacoforestal.com/esp/bosques_de_eucalyptus/)

- Franco, D., Pinelo M Fau - Sineiro, J., Sineiro J Fau - Nunez, M. J., y Nunez, M. J. (2007). Processing of *Rosa rubiginosa*: extraction of oil and antioxidant substances. *Bioresource Technology*, 98(18), 3506-3512.
- Freire, C. S. R., Silvestre, A. J. D., Neto, C. P., y Cavaleiro, J. A. S. (2002). Lipophilic Extractives of the Inner and Outer Barks of *Eucalyptus globulus*. *Holzforschung*, 56(4), 372. doi: 10.1515/HF.2002.059
- Geankoplis, C. (2003). *Transport Processes and separation process principles* (4th ed.).
- Geldres, E., Gerding, V., y Schlatter, J. E. (2006). Biomasa de *Eucalyptus nitens* de 4-7 años de edad en un rodal de la X Región, Chile. *Bosque (Valdivia)*, 27, 223-230.
- Ghosal, P. S., y Gupta, A. K. (2015). An insight into thermodynamics of adsorptive removal of fluoride by calcined Ca-Al-(NO<sub>3</sub>) layered double hydroxide. *RSC Advances*, 5(128), 105889-105900. doi: 10.1039/C5RA20538G
- Giles, C. H., Smith, D., y Huitson, A. (1974). A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical. *Journal of Colloid and Interface Science*, 47(3), 755-765. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0021-9797\(74\)90252-5](http://dx.doi.org/10.1016/0021-9797(74)90252-5)
- Godoy, S., Roeckel, M., y Fernández, K. (2012). Influence of the structure and composition of the País grape proanthocyanidins on the inhibition of angiotensin I-converting enzyme (ACE). *Food Chemistry*, 134(1), 346-350. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.171>
- González, N. (2015). *Evaluación del potencial de la corteza de Eucalyptus Nitens para la obtención de productos químicos*. (Pregrado), Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Gregg, S., y Sing, K. (1967). *Adsorption, Surface Area and Porosity* (A. Press Ed.). Nueva York: Academic Press Inc.
- Hinz, C., Gaston, L. A., y Selim, H. M. (1994). Effect of sorption isotherm type on predictions of solute mobility in soil. *Water Resources Research*, 30(11), 3013-3021. doi: 10.1029/94WR01728
- Horiuchi, K., Shiota, S., Hatano, T., Yoshida, T., Kuroda, T., y Tsuchiya, T. (2007). Antimicrobial activity of oleanolic acid from *Salvia officinalis* and related compounds on vancomycin-resistant enterococci (VRE). *Biol Pharm Bull*, 30(6), 1147-1149.
- Hostettmann, K., Chen, S., Marston, A., y Stuppner, H. (2014). *Handbook of Chemical and Biological Plant Analytical Methods* (K. Hostettmann Ed.): Wiley.
- Hou, A. J., Liu, Y. Z., Yang, H., Lin, Z. W., y Sun, H. D. (2000). Hydrolyzable tannins and related polyphenols from *Eucalyptus globulus*. *J Asian Nat Prod Res*, 2(3), 205-212. doi: 10.1080/10286020008039912
- INFOR. (2017). Anuario Forestal 2017. Santiago, Chile: Instituto Forestal.
- Jethave, G., Fegade, U., Attarde, S., y Ingle, S. (2017). Facile synthesis of Lead Doped Zinc-Aluminum Oxide Nanoparticles (LD-ZAO-NPs) for efficient adsorption of anionic dye: Kinetic, isotherm and thermodynamic behaviors. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 53, 294-306. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.04.038>
- Kassing, M., Jenelten, U., Schenk, J., Hänsch, R., y Strube, J. (2012). Combination of Rigorous and Statistical Modeling for Process Development of Plant-Based Extractions Based on Mass Balances and Biological Aspects. *Chemical Engineering & Technology*, 35(1), 109-132. doi: 10.1002/ceat.201100268
- Kumar, N., Man, H., y Woo, H.-S. (2014). Biosorption of phenolic compounds from aqueous solutions using pine (*Pinus desinflora Sieb*) bark powder. *BioResources*, 9(3), 5155-5174.

- Li, X., Ma, Z., y Yao, S. (2015). Bioactivity-guided systematic extraction and purification supported by multitechniques for sugarcane flavonoids and anthocyanins. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 547-554. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbp.2014.08.001>
- Lima, M. A., Lavorente, G. B., da Silva, H. K. P., Bragatto, J., Rezende, C. A., Bernardinelli, O. D., . . . Polikarpov, I. (2013). Effects of pretreatment on morphology, chemical composition and enzymatic digestibility of eucalyptus bark: a potentially valuable source of fermentable sugars for biofuel production – part 1. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1). doi: 10.1186/1754-6834-6-75
- Limousin, G., Gaudet, J. P., Charlet, L., Szenknect, S., Barthès, V., y Krimissa, M. (2007). Sorption isotherms: A review on physical bases, modeling and measurement. *Applied Geochemistry*, 22(2), 249-275. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeochem.2006.09.010>
- Liu, J. (2005). Oleanolic acid and ursolic acid: research perspectives. *J Ethnopharmacol*, 100(1-2), 92-94. doi: 10.1016/j.jep.2005.05.024
- Malterud, K. E., Bremnes, T. E., Faegri, A., Moe, T., Dugstad, E. K. S., Anthonen, T., y Henriksen, L. M. (1985). Flavonoids from the Wood of *Salix caprea* as Inhibitors of Wood-Destroying Fungi. *Journal of Natural Products*, 48(4), 559-563. doi: 10.1021/np50040a007
- Mall, I. D., Srivastava, V. C., Agarwal, N. K., y Mishra, I. M. (2005). Removal of congo red from aqueous solution by bagasse fly ash and activated carbon: Kinetic study and equilibrium isotherm analyses. *Chemosphere*, 61(4), 492-501. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.03.065>
- Marquez-Martin, A., De La Puerta, R., Fernandez-Arche, A., Ruiz-Gutierrez, V., y Yaqoob, P. (2006). Modulation of cytokine secretion by pentacyclic triterpenes from olive pomace oil in human mononuclear cells. *Cytokine*, 36(5-6), 211-217. doi: 10.1016/j.cyto.2006.12.007
- Marrone, C., Poletto, M., Reverchon, E., y Stassi, A. (1998). Almond oil extraction by supercritical CO<sub>2</sub>: experiments and modelling. *Chemical Engineering Science*, 53(21), 3711-3718. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2509\(98\)00150-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0009-2509(98)00150-X)
- Martínez, B. (2014). *Obtencion de nano-fibras de celulosa a partir de corteza de Eucalyptus Globulus*. (Tesis de pregrado), Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Mishra, V., Balomajumder, C., y Agarwal, V. K. (2010). Biosorption of Zn (II) onto the Surface of Non-living Biomasses: A Comparative Study of Adsorbent Particle Size and Removal Capacity of Three Different Biomasses. *Water, Air, & Soil Pollution*, 211(1), 489-500. doi: 10.1007/s11270-009-0317-0
- Moore, W. (1950). *Química Física* (M. M. Cía. Ed.). España.
- Mota, I., Rodrigues Pinto, P. C., Novo, C., Sousa, G., Guerreiro, O., Guerra, Â. R., . . . Rodrigues, A. E. (2012). Extraction of Polyphenolic Compounds from Eucalyptus globulus Bark: Process Optimization and Screening for Biological Activity. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51(20), 6991-7000. doi: 10.1021/ie300103z
- Muhammad, Choong, T. S. Y., Chuah, T. G., Yunus, R., y Yap, Y. H. T. (2010). Adsorption of  $\beta$ -carotene onto mesoporous carbon coated monolith in isopropyl alcohol and n-hexane solution: equilibrium and thermodynamic study. *Chemical Engineering Journal*, 164(1), 178-182. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2010.08.052>
- Muhammad, Moonis, A., Thomas, S., Chuah, T., Robiah, Y., y Taufiq, Y. (2011). Desorption of  $\beta$ -carotene from mesoporous carbon coated monolith: Isotherm, kinetics and regeneration studies. *Chemical Engineering Journal*, 173, 474-479.

- Muñoz, F. (2005). *Evaluación de prácticas silvícolas en plantaciones de Eucalyptus nitens (Deane & Maiden) Maiden en Chile*. (Tesis doctoral), Universidad de Córdoba, Córdoba, España.
- Ng, J. C. Y., Cheung, W. H., y McKay, G. (2003). Equilibrium studies for the sorption of lead from effluents using chitosan. *Chemosphere*, 52(6), 1021-1030. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00223-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00223-6)
- Niokhor, P., Stevanovic, T., y Cloutier, A. (2009). Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. *Food Chemistry*, 113, 897-902.
- Pereira, H. (1988). Variability in the chemical composition of plantation eucalypts (*Eucalyptus globulus* Labill.). *Wood and Fiber Science*, 20(1), 82-90.
- Piccin, J. S., Dotto, G. L., y Pinto, L. A. A. (2011). Adsorption isotherms and thermochemical data of FD&C Red n° 40 binding by Chitosan. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28, 295-304.
- Pragnesh, D., Satindar, K., y Ekta, K. (2011). Removal of Eriochrome black-T by adsorption on to eucalyptus bark using green technology. *Indian Journal of Chemical Technology*, 18, 53-60.
- Quadri, J. (1995). *Estudio experimental de la adsorción de o-clorofenol en carbon activo*. (Pregrado), Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Quilhó, T., Pereira, H., y Richter, H. G. (1999). Variability of Bark Structure in Plantation-Grown *Eucalyptus Globulus*. *IAWA Journal*, 20(2), 171-180. doi: <https://doi.org/10.1163/22941932-90000677>
- Quilhó, T., Pereira, H., y Richter, H. G. (2000). Within-tree variation in phloem cell dimensions and proportions in *Eucalyptus globulus* *IAWA Journal*, 21(1), 31-40. doi: <https://doi.org/10.1163/22941932-90000234>
- Rani, S., y Sud, D. (2015). Efecto de temperatura on adsorption-desorption behavior of triazophos in Indian soils ground. *Plant, soil and environment*, 61(1), 36-42.
- Rodriguez, S., y Torres, M. (1994). Análisis cuantitativo de componentes principales y secundarios en la corteza de diversas especies nativas y exóticas de la provincia de Llanquihue, X Región, Chile. *Bosque*, 15(2), 45-48.
- Rogovskii, V. S., Matiushin, A. I., Shimanovskii, N. L., Semeikin, A. V., Kukhareva, T. S., Koroteev, A. M., . . . Nifant'ev, E. E. (2010). [Antiproliferative and antioxidant activity of new dihydroquercetin derivatives]. *Eksperimental'naiia i klinicheskaia farmakologiia*, 73(9), 39-42.
- Ryu, S. Y., Choi, S. U., Lee, S. H., Lee, C. O., No, Z., y Ahn, J. W. (1994). Antitumor triterpenes from medicinal plants. *Archives of Pharmacal Research*, 17(5), 375-377. doi: 10.1007/BF02974180
- Saiers, J. E., y Hornberger, G. M. (1996). Migration of <sup>137</sup>Cs through quartz sand: experimental results and modeling approaches. *Journal of Contaminant Hydrology*, 22(3), 255-270. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0169-7722\(95\)00094-1](http://dx.doi.org/10.1016/0169-7722(95)00094-1)
- Salatino, A., Kraus, J. E., y Salatino, M. L. F. (1993). Contents of Tannins and their Histological Localization in Young and Adult Parts of *Struthanthus vulgaris* Mart. (Loranthaceae). *Annals of Botany*, 72(5), 409-414. doi: 10.1006/anbo.1993.1126
- Santos, F. A., Alban, L., Frankenberg, C. L. C., y Pires, M. (2016). Characterization and use of biosorbents prepared from forestry waste and their washed extracts to reduce/remove chromium. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13(1), 327-338. doi: 10.1007/s13762-015-0878-y

- Santos, S., Freire, C., Domingues, M., Silvestre, A., y Pascoal Neto, C. (2011). Characterization of phenolic components in polar extracts of *Eucalyptus globulus* Labill. bark by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(17), 9386-9393. doi: 10.1021/jf201801q
- Santos, S., Villaverde, J., Freire, C., Domingues, R., Neto, C., y Silvestre, A. (2012). Phenolic composition and antioxidant activity of *Eucalyptus grandis*, *E. urograndis* (*E. grandis* × *E. urophylla*) and *E. maidenii* bark extracts. *Industrial Crops and Products*, 39, 120-127. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.02.003>
- Sato, H., Genet, C., Strehle, A., Thomas, C., Lobstein, A., Wagner, A., . . . Saladin, R. (2007). Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. *Biochem Biophys Res Commun*, 362(4), 793-798. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.06.130
- Sattler, K., y Feindt, H. J. (1995). *Thermal separation processes: principles and design*. Weinheim, Germany.
- Selig, M. J., Viamajala, S., Decker, S. R., Tucker, M. P., Himmel, M. E., y Vinzant, T. B. (2007). Deposition of lignin droplets produced during dilute acid pretreatment of maize stems retards enzymatic hydrolysis of cellulose. *Biotechnology Progress*, 23(6), 1333-1339. doi: 10.1021/bp0702018
- Sjöström, E. (1993). *Wood chemistry Fundamentals and Applications* (A. P. Inc Ed. second ed.). Espoo, Finland.
- Sovová, H. (2005). Mathematical model for supercritical fluid extraction of natural products and extraction curve evaluation. *The Journal of Supercritical Fluids*, 33(1), 35-52. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2004.03.005>
- Storck, S., Bretinger, H., y Maier, W. F. (1998). Characterization of micro- and mesoporous solids by physisorption methods and pore-size analysis. *Applied Catalysis A: General*, 174(1-2), 137-146. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0926-860X\(98\)00164-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0926-860X(98)00164-1)
- Terzyk, A. P. (2004). Molecular properties and intermolecular forces--factors balancing the effect of carbon surface chemistry in adsorption of organics from dilute aqueous solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(1), 9-29.
- Tolstikova, T. G., Sorokina, I. V., Tolstikov, G. A., Tolstikov, A. G., y Flekhter, O. B. (2006). Biological activity and pharmacological prospects of lupane terpenoids: I. natural lupane derivatives. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 32(1), 37-49. doi: 10.1134/S1068162006010031
- Tóth, J. (1994). Thermodynamical Correctness of Gas/Solid Adsorption Isotherm Equations. *Journal of Colloid and Interface Science*, 163(2), 299-302. doi: <http://dx.doi.org/10.1006/jcis.1994.1107>
- Tran, H. N., You, S.-J., y Chao, H.-P. (2016). Thermodynamic parameters of cadmium adsorption onto orange peel calculated from various methods: A comparison study. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(3), 2671-2682. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.05.009>
- Van der Hoeven, D. (2015, 11 de Enero). Wood biorefinery has an enormous potential. *Bio Based Press*.
- Vázquez, G., Fontenla, E., Santos, J., Freire, M. S., González-Álvarez, J., y Antorrena, G. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial Crops and Products*, 28(3), 279-285. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.03.003>
- Vázquez, G., González-Alvarez, J., Santos, J., Freire, M. S., y Antorrena, G. (2009). Evaluation of potential applications for chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus*

- globulus) bark extracts. *Industrial Crops and Products*, 29(2–3), 364-370. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.07.004>
- Vázquez, G., Santos, J., Freire, M. S., Antorrena, G., y González-Álvarez, J. (2012). Extraction of antioxidants from eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark. *Wood Science and Technology*, 46(1), 443-457. doi: 10.1007/s00226-011-0418-y
- Witte, J., y Hall, M. (2004). *Maderas del sur de Chile: árboles, aplicaciones y procesos*. Santiago, Chile.
- Wong, Y. C., Szeto, Y. S., Cheung, W. H., y McKay, G. (2004). Adsorption of acid dyes on chitosan—equilibrium isotherm analyses. *Process Biochemistry*, 39(6), 695-704. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00152-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00152-3)
- Wongkittipong, R., Prat, L., Damronglerd, S., y Gourdon, C. (2004). Solid–liquid extraction of andrographolide from plants—experimental study, kinetic reaction and model. *Separation and Purification Technology*, 40(2), 147-154. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2004.02.002>
- Wright, G. (2015). *Mathematical modeling of the solid-liquid extraction of phenolic-rich compounds from Pinus contorta bark*. (Master of applied science), University of Toronto.
- Yi, J., Wang, Z., Bai, H., Li, L., Zhao, H., Cheng, C., . . . Li, J. (2016). Polyphenols from pinecones of *Pinus koraiensis* induce apoptosis in colon cancer cells through the activation of caspase in vitro. *RSC Advances*, 6(7), 5278-5287. doi: 10.1039/C5RA24913A
- Zobel, A., Kuraš, M., y Tykarska, T. (1989). Cytoplasmic and Apoplasmic Location of Phenolic Compounds in the Covering Tissue of the *Brassica napus* Radicle Between Embryogenesis and Germination. *Annals of Botany*, 64(2), 149-157. doi: 10.1093/oxfordjournals.aob.a087818

## ANEXOS

### Anexo 1: Muestreo de árboles

#### A1.1. Protocolo de muestreo

##### Selección de la muestra:

- Se seleccionan 6 árboles en total; 3 árboles de la especie *E. nitens* cuyo diámetro medio (DAP) debió estar en el rango de 36 a 40 cm, y 3 árboles de la especie *E. Globulus* cuyo diámetro medio debió estar en el rango de 20 a 26 cm. Este dato fue registrado en la hoja de datos.
- El corte para realizar el volteo debió situarse a no más de 15 cm del suelo, este dato quedó registrado como altura de tocón.
- Se registró la altura total del árbol.

#### A1.2. Hojas de muestreo

**Letra de identificación:** Árbol 1

**Especie:** *E. nitens*

**Identificación del predio:** Los Castaños FCSA, Rodal 9404

**Día de recolección:** 17/12/2015



**Tabla 15.** Especificaciones de árbol n°1 utilizado en este estudio.

<b>Medida</b>	<b>Medición (m)</b>
DAP	0.36
Altura de tocón	0.15
Altura total	35

(Fuente: Elaboración propia)

**Letra de identificación:** Árbol 2

**Especie:** *E. nitens*

**Identificación del predio:** Los Castaños FCSA, Rodal 9404

**Día de recolección:** 17/12/2015

**Tabla 16.** Especificaciones de árbol n°2 utilizado en este estudio.

<b>Medida</b>	<b>Medición (m)</b>
DAP	0.38
Altura de tocón	0.15
Altura total	37

(Fuente: Elaboración propia)

**Letra de identificación:** Árbol 3

**Especie:** *E. nitens*

**Identificación del predio:** Los Castaños FCSA, Rodal 9404

**Día de recolección:** 17/12/2015

**Tabla 17.** Especificaciones de árbol n°3 utilizado en este estudio.

<b>Medida</b>	<b>Medición (m)</b>
DAP	0.36
Altura de tocón	0.15
Altura total	32

*(Fuente: Elaboración propia)*



## Anexo 2: Cuantificación de fenoles totales

El ensayo de Folin-Ciocalteu se basa en la transferencia de electrones del compuesto antioxidante al molibdeno, contenido en el reactivo de Folin-Ciocalteu. De esta forma, se forma un complejo azulado que presenta absorbancia a 765 nm (Grandón, 2012).

El procedimiento consiste en preparar una solución madre de cada muestra con 0.01 g de extracto en 10 mL de agua milli-Q, y posteriormente se realiza una dilución 10, tomando 1 mL de la solución madre y aforando hasta 10 mL con agua milli-Q. Luego, en un tubo de ensayo se mezclan: 0.25 mL de la solución diluida con extracto a analizar, 1.25 mL de reactivo comercial Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, Alemania) (diluído en agua milli-Q en proporción 1:10) y 1 mL de una solución acuosa de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 7.5 % (p/v). La mezcla se calienta en baño termostático a 45°C, por 15 min. Pasado este tiempo, se mide la absorbancia de la muestra en espectrofotómetro UV-VIS doble haz (Techcomp, UV2300, China) a una longitud de onda de 765 nm.

Para el cálculo de fenoles totales a partir de los valores de absorbancia obtenidos, se utiliza la **Ecuación 22**, la cual comprende el uso de un factor de equivalencia obtenido mediante calibración previa del equipo (Ver **Figura 20**).

$$F_T = \frac{Abs_{extracto}}{A} \cdot \frac{D}{C_{extracto} \cdot 1000} \quad (22)$$

En donde,

**F<sub>T</sub>**: Concentración de fenoles totales (g GAE/g extracto)

**Abs<sub>extracto</sub>**: Absorbancia del extracto

**A**: Factor de equivalencia, obtenido a partir de la curva de calibración (0.0116 (L/mg ácido gálico))

**D**: Dilución de la muestra

**C<sub>extracto</sub>**: Concentración de extracto (g/L)

El valor de  $Abs_{\text{extracto}}$  se obtuvo mediante la corrección previa del valor blanco (**Ecuación 23**), que corresponde a la absorbancia obtenida cuando en lugar de extracto, se agregan 0.25 mL de agua milli-Q.

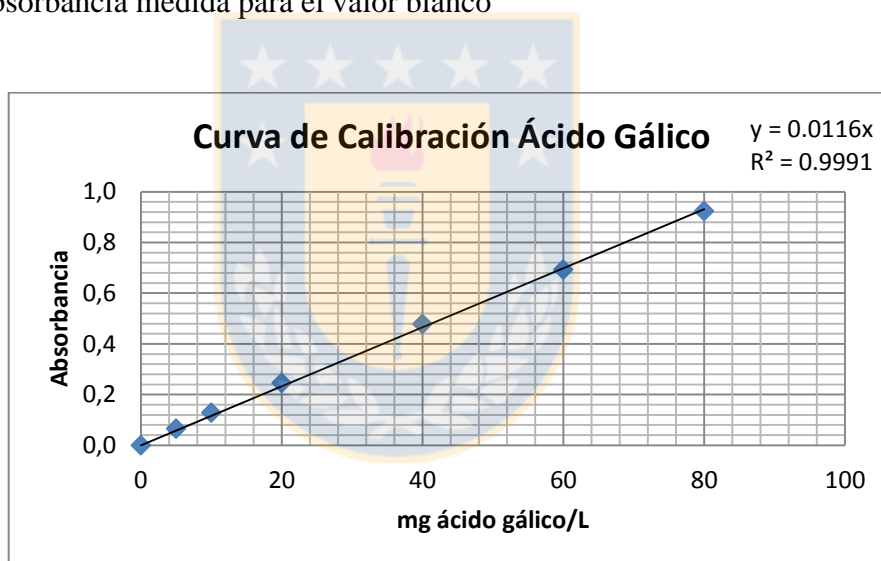
$$Abs_{\text{extracto}} = Abs_m - Abs_b \quad (23)$$

En donde,

**$Abs_{\text{extracto}}$** : Absorbancia del extracto

**$Abs_m$** : Absorbancia medida por el equipo para las muestras de sobrenadante

**$Abs_b$** : Absorbancia medida para el valor blanco



**Figura 20.** Curva de calibración para la determinación de fenoles totales.  
(Fuente: Elaboración propia)

### Anexo 3: Cuantificación de capacidad antioxidante

Este método se basa en la estabilidad del radical 1,1- difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) lo cual se atribuye a la deslocalización del electrón desapareado, esto también le otorga una coloración violeta caracterizada por una banda de absorción, en solución metanólica, centrada alrededor de 517 nm. Cuando una disolución de DPPH entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno o con otra especie radical (R.) se produce la forma reducida DPPH-H ó DPPH-R con la consecuente pérdida del color y por lo tanto la pérdida de la absorbancia. En resumen el método evalúa la capacidad del extracto de secuestrar radicales libres, desactivándolos e imposibilitándolos a propagar la oxidación.

Se prepara una solución DPPH 0.1 mM. Se prepara también una muestra del extracto a analizar en metanol, con concentración conocida.

**Muestra:** mezclar 1 mL de la solución anterior con 2 mL de solución DPPH.

**Blanco:** mezclar 1 mL de metanol con 2 mL de solución DPPH.

**Control:** mezclar 1 mL de solución de anterior con 2 mL de metanol.

Incubar por 30 minutos protegido de la luz y medir absorbancia a 517 nm en espectrofotómetro

Calcular la actividad anti-radical con la **Ecuación 24**.

$$\%Actividad\ antirradical = \left[ 1 - \left( \frac{A_{muestra} - A_{control}}{A_{blanco}} \right) \right] \cdot 100 \quad (24)$$

% AA, corresponde a la actividad antirradical en porcentaje.

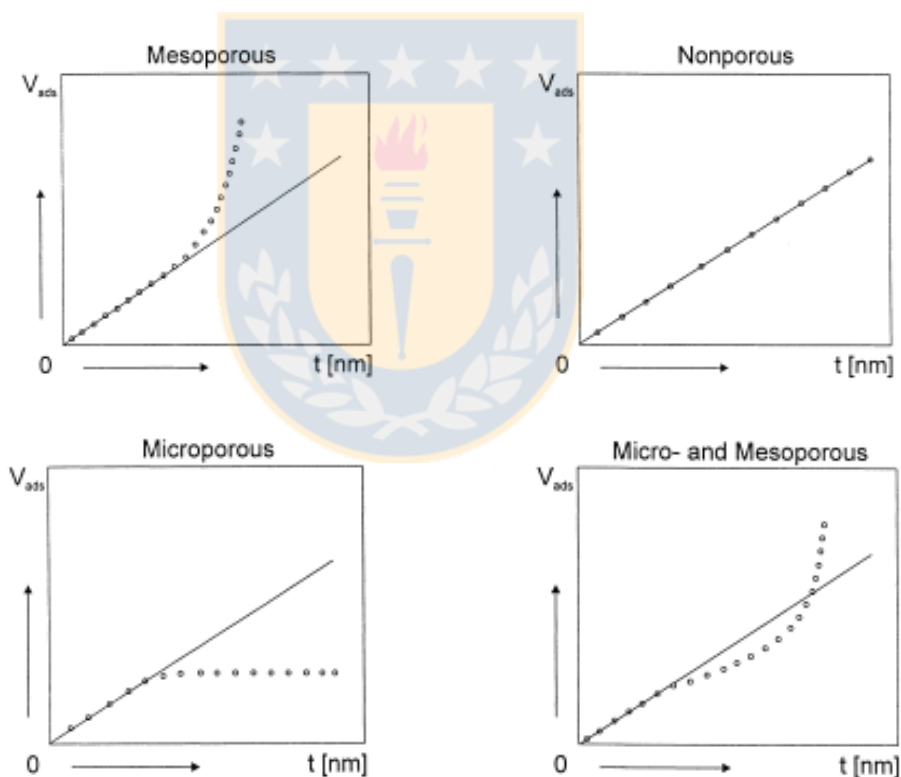
$A_{muestra}$ , corresponde a la absorbancia de la muestra.

$A_{control}$ , corresponde a la absorbancia del control.

$A_{blanco}$ , corresponde a la absorbancia del blanco.

#### Anexo 4. Caracterización física de poros

La distribución de microporosidades fue estudiada mediante el método empírico de análisis semicuantitativo basado en el gráfico-t. Básicamente, las isothermas de las muestras en estudio son comparadas con las formas de isothermas de referencia. Desviaciones horizontales desde la isoterma recta que indica no-porosidad, infieren la presencia de microporos, mientras que desviaciones verticales revelan mesoporos (Ver **Figura 21**). El volumen de microporos puede ser calculado mediante extrapolación de una línea recta, desde la isoterma hacia el eje y (Storck, Bretinger, y Maier, 1998).



**Figura 21.** Estándares para comparación de isothermas para indagación de distribución de micro y mesoporos.  
(Fuente: Storck y col. (1998))

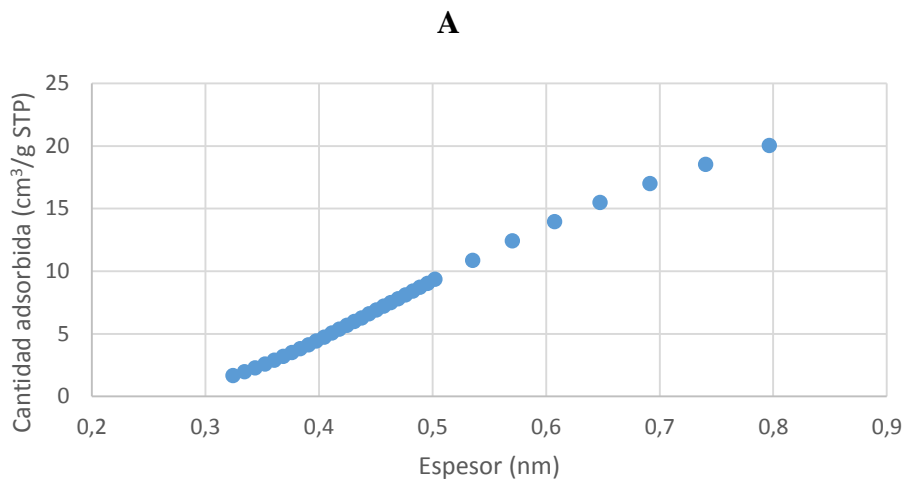


Gráfico-t para análisis de distribución de microporosidades: *E. globulus*

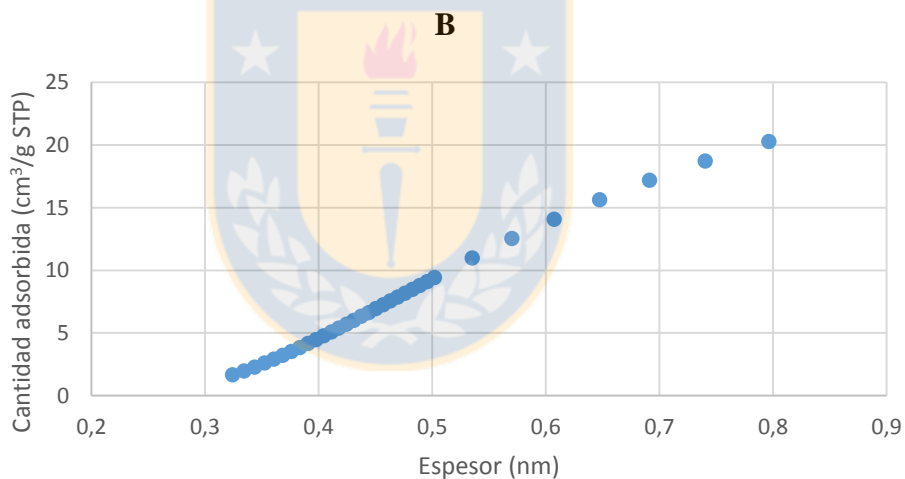


Gráfico-t para análisis de distribución de microporosidades: *E. nitens*

**Figura 22.** Gráficos-t para el análisis de distribución de macroporos obtenidos para (A) *E. globulus* y (B) *E. nitens*.  
(Fuente: Elaboración propia)

**Anexo 5: Valores experimentales obtenidos para diseño Box-Behnken.**

**Especie *E. globulus*:**

FACTORES			RESPUESTAS					
Porcentaje metanol/agua	Razón sólido/líquido (g/mL)	Temperatura (°C)	X <sub>1</sub>	X <sub>1</sub> *	X <sub>2</sub>	X <sub>2</sub> *	X <sub>3</sub>	X <sub>3</sub> *
33.33 (-1)	1/10 (-1)	45 (0)	6.815	5.188	23.856	22.856	21.489	21.255
66.66 (1)	1/10 (-1)	45 (0)	6.026	7.107	26.862	25.637	25.055	23.259
33.33 (-1)	1/60 (1)	45 (0)	11.517	10.519	32.971	35.657	29.776	32.366
66.66 (1)	1/60 (1)	45 (0)	11.589	10.689	35.392	31.134	31.028	27.987
33.33 (-1)	1/35 (0)	30 (-1)	9.328	10.453	17.042	15.956	16.058	14.348
66.66 (1)	1/35 (0)	30 (-1)	9.294	10.688	21.852	22.108	19.759	20.055
33.33 (-1)	1/35 (0)	60 (1)	10.427	10.015	18.644	24.533	16.675	22.058
66.66 (1)	1/35 (0)	60 (1)	9.998	9.893	22.798	28.798	20.987	26.545
50 (0)	1/10 (-1)	30 (-1)	8.082	7.020	26.737	27.383	24.055	24.899
50 (0)	1/60 (1)	30 (-1)	11.662	11.622	25.931	23.279	23.987	21.025
50 (0)	1/10 (-1)	60 (1)	7.698	8.086	28.726	29.054	25.875	26.587
50 (0)	1/60 (1)	60 (1)	11.337	12.602	29.646	28.644	26.987	26.756
50 (0)	1/35 (0)	45 (0)	10.250	10.530	34.055	35.797	30.875	31.987
50 (0)	1/35 (0)	45 (0)	10.323	9.624	36.315	35.402	33.055	32.258
50 (0)	1/35 (0)	45 (0)	9.646	10.771	36.135	37.887	31.999	35.987

X<sub>1</sub>: Rendimiento (% g extracto/g corteza seca)

X<sub>2</sub>: Fenoles totales (mg GAE/g corteza seca)

X<sub>3</sub>: Capacidad antioxidante (%)

\*: Réplica



**Especie *E. nitens*:**

FACTORES			RESPUESTAS					
Porcentaje metanol/agua	Razón sólido/líquido (g/mL)	Temperatura (°C)	X <sub>1</sub>	X <sub>1</sub> *	X <sub>2</sub>	X <sub>2</sub> *	X <sub>3</sub>	X <sub>3</sub> *
33.33 (-1)	1/10 (-1)	45 (0)	9.174	8.689	26.507	26.465	22.957	22.897
66.66 (1)	1/10 (-1)	45 (0)	7.128	9.181	29.357	28.810	27.488	27.845
33.33 (-1)	1/60 (1)	45 (0)	12.646	11.077	42.834	41.884	37.875	37.048
66.66 (1)	1/60 (1)	45 (0)	12.118	13.520	48.420	47.709	44.900	42.549
33.33 (-1)	1/35 (0)	30 (-1)	10.495	7.320	25.663	23.949	22.985	19.997
66.66 (1)	1/35 (0)	30 (-1)	10.792	11.171	23.992	25.826	20.989	24.258
33.33 (-1)	1/35 (0)	60 (1)	17.127	16.457	27.950	28.375	24.985	25.790
66.66 (1)	1/35 (0)	60 (1)	16.987	16.898	28.618	31.618	25.449	28.688
50 (0)	1/10 (-1)	30 (-1)	7.670	8.991	29.177	30.090	27.948	28.052
50 (0)	1/60 (1)	30 (-1)	15.124	13.325	30.504	31.502	28.585	29.016
50 (0)	1/10 (-1)	60 (1)	11.616	11.444	33.564	33.862	31.445	30.485
50 (0)	1/60 (1)	60 (1)	20.554	21.727	35.731	36.731	33.052	33.102
50 (0)	1/35 (0)	45 (0)	11.353	11.712	49.066	48.560	44.255	43.875
50 (0)	1/35 (0)	45 (0)	11.948	10.698	46.714	50.103	41.987	44.255
50 (0)	1/35 (0)	45 (0)	10.919	11.534	48.824	52.874	47.585	46.790

X<sub>1</sub>: Rendimiento (% g extracto/g corteza seca)

X<sub>2</sub>: Fenoles totales (mg GAE/g corteza seca)

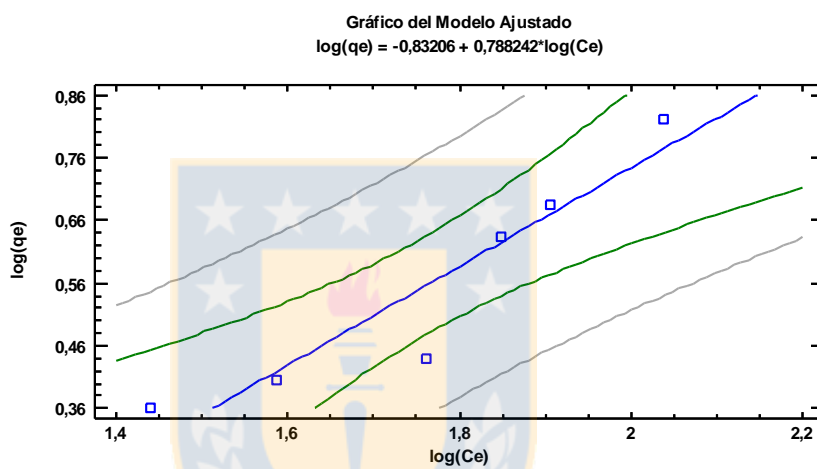
X<sub>3</sub>: Capacidad antioxidante (%)

\*: Réplica

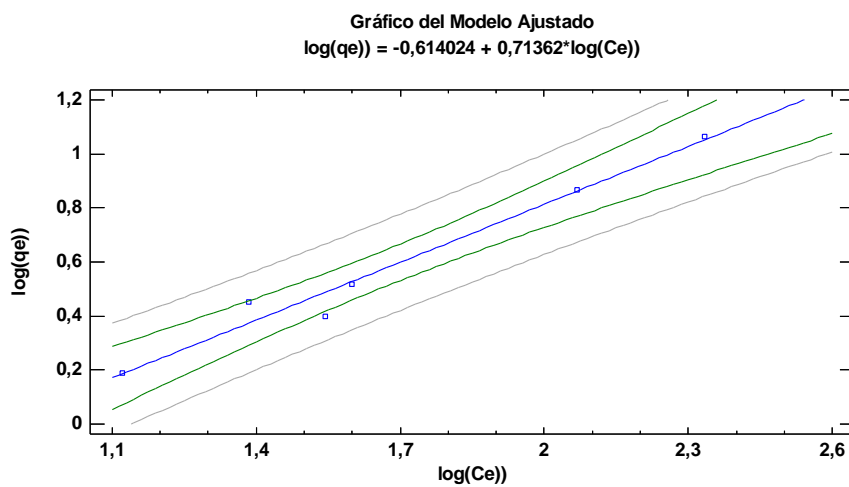
**Anexo 6: Ajustes de modelos de isoterma a datos de equilibrio para ambas especies de eucalipto**

**A6.1. Ajuste modelo de Freundlich linealizado a datos experimentales. 50°C**

**A**



**B**



**Figura 23.** Formas gráficas de isotermas para la adecuación a la forma linealizada de la isoterma de Freundlich. (A) *E. globulus* (B) *E. nitens*. Datos a 50°C.  
 (Fuente: Elaboración propia)

### A6.2. Suma de errores normalizados para isothermas de Freundlich, Langmuir y D-R para *E. globulus* y *E. nitens*, a 30, 50 y 60°C.

Tabla 18. Coeficientes de ajustes lineales y no lineales para modelo de isoterma de adsorción de Freundlich

<i>E. globulus</i>						<i>E. nitens</i>					
Freundlich	Distribución de error					Freundlich	Distribución de error				
Temperatura		Lineal	SSE	EABS	MPSD	Temperatura		Lineal	SSE	EABS	MPSD
30°C	SNE	4.756	<b>3.856</b>	4.125	4.036	30°C	SNE	4.756	<b>4.598</b>	4.955	4.876
	R <sup>2</sup>	76	98.12	95.69	94.33		R <sup>2</sup>	98.54	99.89	95.2	97.01
50°C	SNE	4.921	<b>3.745</b>	3.994	4.763	50°C	SNE	5.784	<b>4.71</b>	5.177	5.63
	R <sup>2</sup>	63.07	99.49	95.65	85.36		R <sup>2</sup>	87.2	99.27	96.32	91.47
60°C	SNE	4.632	<b>3.956</b>	4.762	4.963	60°C	SNE	6.014	<b>4.633</b>	5.499	5.694
	R <sup>2</sup>	78.69	98.57	91.23	90.62		R <sup>2</sup>	90.12	99.44	96.25	95.22
Langmuir	Distribución de error					Langmuir	Distribución de error				
Temperatura		Lineal	SSE	EABS	MPSD	Temperatura		Lineal	SSE	EABS	MPSD
30°C	SNE	5.121	<b>4.025</b>	4.896	4.321	30°C	SNE	5.215	<b>4.741</b>	5.1	5.036
	R <sup>2</sup>	75.63	96.98	90.01	93.25		R <sup>2</sup>	91.7	99.84	94.36	94.85
50°C	SNE	5.623	<b>4.259</b>	4.521	4.322	50°C	SNE	5.712	<b>5.1</b>	5.632	5.198
	R <sup>2</sup>	71.65	98.29	93.17	93.99		R <sup>2</sup>	91.41	98.67	92.33	97.41
60°C	SNE	5.889	<b>4.369</b>	4.855	4.531	60°C	SNE	5.85	<b>4.996</b>	5.123	5.694
	R <sup>2</sup>	70.33	95.82	90.22	88.65		R <sup>2</sup>	95	98.75	96.32	94.23
D-R	Distribución de error					D-R	Distribución de error				
Temperatura		Lineal	SSE	EABS	MPSD	Temperatura		Lineal	SSE	EABS	MPSD
30°C	SNE	7.369	<b>7.001</b>	7.199	7.266	30°C	SNE	8.125	<b>7.794</b>	8.36	8.41
	R <sup>2</sup>	80.21	83.84	82.44	82.12		R <sup>2</sup>	91.29	94.09	90.74	88.55
50°C	SNE	7.445	<b>6.401</b>	7.233	7.241	50°C	SNE	9.655	<b>8.956</b>	9.32	9.251
	R <sup>2</sup>	80.22	91.21	85.66	85.12		R <sup>2</sup>	70.14	80.29	74.19	72.88
60°C	SNE	7.364	<b>6.215</b>	7.129	7.298	60°C	SNE	8.417	<b>8.14</b>	8.901	8.84
	R <sup>2</sup>	79.65	91.73	81.66	80.12		R <sup>2</sup>	85.29	87.9	79.24	80.47

(Fuente: Elaboración propia)