

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 981 103**

51 Int. Cl.:

A23L 33/105 (2006.01)

A23F 5/48 (2006.01)

B01D 11/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2019** **E 19306206 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2024** **EP 3797846**

54 Título: **Extracción microfluídica a partir de extracto vegetal**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.10.2024

73 Titular/es:

CHANEL PARFUMS BEAUTÉ (100.0%)
135 avenue Charles de Gaulle
92200 Neuilly-sur-Seine, FR

72 Inventor/es:

RILHAC, VINCENT y
TORIBIO, ALIX

74 Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

ES 2 981 103 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Extracción microfluídica a partir de extracto vegetal

5 **Sector de la técnica**

La invención se refiere al campo de la extracción líquido-líquido realizada en condiciones que pertenecen al campo de la microfluídica. La invención tiene especial aplicación en el sector cosmético.

10 **Estado de la técnica**

Los componentes activos de los cosméticos desempeñan funciones muy diversas. Se utilizan, por ejemplo, para conferir a una composición cosmética un efecto hidratante, antiarrugas, de fragancia, de cuidado de la piel o visual. A menudo es conveniente concentrar los principios activos en una solución antes de utilizarlos. La extracción líquido-líquido o la destilación molecular son métodos clásicos conocidos por los expertos en la técnica.

La destilación molecular es una destilación fraccionada de alto vacío. Su aplicación es compleja y requiere una gran cantidad de energía para su funcionamiento. La destilación molecular se realiza a alta temperatura y permite aislar moléculas vaporizables, pero puede provocar, no obstante, la degradación de los principios activos extraídos.

La extracción líquido-líquido es un procedimiento clásico de separación en química. Consiste en la extracción por transferencia de una molécula de interés (o principio activo, ambos con el mismo significado en esta descripción) contenida en un primer líquido (el refinado) a un segundo líquido inmiscible con el primero (el disolvente de extracción). Al final de la extracción, se recupera un extracto formado por el disolvente enriquecido en moléculas de interés y un refinado empobrecido en moléculas de interés. Esto aumenta la concentración de la molécula de interés en el disolvente.

La extracción líquido-líquido convencional se realiza, por ejemplo, en un embudo de decantación, cuya capacidad se adapta en función de las necesidades. Los dos líquidos se mezclan en el embudo de decantación y se dejan reposar hasta que forman dos fases distintas que pueden separarse posteriormente.

Sin embargo, la extracción clásica líquido-líquido comentada anteriormente presenta varios inconvenientes. En particular, un sistema de extracción de este tipo no permite una extracción continua. En efecto, las distintas extracciones se llevan a cabo en distintos recipientes, por ejemplo varios embudos de separación, de cantidades definidas. Las extracciones se realizan entonces en modo "discontinuo". Por tanto, son necesarias varias extracciones y decantaciones antes de obtener la cantidad deseada de disolvente enriquecido. Además, se requiere una mano de obra considerable para transferir los reactivos y los productos de un recipiente a otro.

Además, la superficie de contacto entre las dos fases utilizadas en una extracción fluido-fluido convencional está limitada al tamaño del recipiente en el que se encuentran dichas fases. Del mismo modo, la difusión de las moléculas de interés de una fase a otra está limitada debido a los grandes volúmenes implicados. Por último, en función de los líquidos utilizados, por ejemplo extractos oleosos, pueden formarse emulsiones, lo que dificulta aún más la separación y decantación de las fases y requiere más tiempo. La recuperación del disolvente enriquecido y del refinado también se ve afectada negativamente, ya que el refinado puede acabar en el disolvente y el disolvente en el refinado.

Por tanto, es importante encontrar un nuevo método que pueda extraer eficazmente principios activos a veces raros y/o frágiles en cantidades suficientes, para satisfacer las necesidades de la industria cosmética, por ejemplo. También es importante encontrar un método que pueda utilizarse a temperatura ambiente para no degradar los principios activos extraídos.

El campo de la microfluídica es un campo reciente en las fronteras de la física y la química, en el que intervienen volúmenes muy pequeños de líquido, por ejemplo del orden de microlitros (μL) a femto-litros (fL). Tales dimensiones facilitan el cumplimiento de una serie de restricciones de la mecánica de fluidos. Por ejemplo, el flujo obtenido en un sistema microfluídico es fácilmente laminar porque el número de Reynolds depende directamente de las dimensiones del sistema. Del mismo modo, la difusión de moléculas de interés se ve favorecida frente a su convección debido a la expresión del número de Peclet, que también depende directamente de las dimensiones del sistema.

La extracción microfluídica es un procedimiento de extracción líquido-líquido que consiste en poner en contacto dos fluidos dentro de canales de dimensiones comprendidas entre una centésima de micrómetro ($0,01\ \mu\text{m}$) y un milímetro (mm).

Los siguientes documentos forman parte del estado de la técnica:

QIN WEIWEI ET AL: "A successive laminar flow extraction for plant medicine preparation by microfluidic chip",

MICROFLUIDICS AND NANOFUIDICS, SPRINGER, DE, vol. 23, n.º 4, 30 de marzo de 2019 (2019-03-30), páginas 1-8; XUAN MU ET AL: "Selectively modified microfluidic chip for solvent extraction of Radix Salvia Miltiorrhiza using three-phase laminar flow to provide double liquid-liquid interface area", MICROFLUIDICS AND NANOFUIDICS, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 9, n.º 2-3, 24 de diciembre de 2009 (2009-12-24), páginas 365-373; KISHORE K. R. TETALA ET AL: "A three-phase microfluidic chip for rapid sample clean-up of alkaloids from plant extracts", LAB ON A CHIP, vol. 9, n.º 14, 1 de enero de 2009 (2009-01-01), página 2085; documento internacional WO 96/12541 A1, CN 206 372 553 U, GONÇALVES DANIEL ET AL: "Fractionation of orange essential oil using liquid-liquid extraction: Equilibrium data for model and real systems at 298", FLUID PHASE EQUILIBRIA, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 399, 28 de abril de 2015 (2015-04-28), páginas 87-97; Koshima Cristina C. ET AL: "Fractionation of Bergamot and Lavandin Crude Essential Oils by Solvent Extraction: Phase Equilibrium at 298.2 K", JOURNAL OF CHEMICAL AND ENGINEERING DATA, vol. 60, n.º 1, 19 de diciembre de 2014 (2014-12-19), páginas 37-46; Arce Alberto ET AL: "Citrus Essential Oil Deterpenation by Liquid-Liquid Extraction", Canadian Journal of Chemical Engineering, vol. 83, n.º 2, 1 de abril de 2005 (2005-04-01), páginas 366-370 y US 6 355 693 B1.

Objeto de la invención

Los inventores descubrieron inesperadamente que un procedimiento de extracción microfluídica que utilizaba un chip microfluídico denominado "en doble Y" podía garantizar la extracción continua de principios activos con una eficacia de enriquecimiento tan alta como la de un procedimiento clásico denominado "en lote" o de destilación molecular.

La extracción microfluídica también tiene la ventaja de poder funcionar a temperatura ambiente, evitando de este modo la degradación de las moléculas de interés extraídas. Por último, la extracción microfluídica ocupa menos espacio y consume menos energía que los procesos de extracción convencionales utilizados hasta la fecha.

El objeto de la invención es un procedimiento de extracción microfluídica de moléculas de interés a partir de un extracto vegetal líquido que comprende:

- un chip 10 microfluídico con un circuito de doble Y, que comprende dos entradas E1 y E2, dos salidas S1 y S2 y un canal principal,

- un primer depósito R1 que comprende el extracto F1 vegetal líquido, un segundo depósito R2 que comprende un disolvente F2 para extraer moléculas de interés que es inmiscible con el extracto F1 vegetal líquido, estando cada uno de dichos depósitos R1, R2 primero y segundo en conexión fluida con las entradas E1 y E2 del chip 10 microfluídico,

- un regulador 100 de presión capaz de presurizar dicho primer extracto F1 vegetal líquido y dicho disolvente F2 de extracción,

- un primer colector C1 en conexión fluida con el chip 10 microfluídico, en el que se recupera el extracto F1 vegetal líquido empobrecido en moléculas de interés,

- un segundo colector C2 en conexión fluida con el chip 10 microfluídico en el que se recupera el disolvente F2 de extracción enriquecido con moléculas de interés,

comprendiendo dicho procedimiento de extracción las siguientes etapas,

- a) controlar las presiones P1 y P2 para someter el extracto F1 vegetal líquido a una presión P1 y el disolvente F2 de extracción a una presión P2, de forma que la superficie de contacto entre ambos fluidos se sitúe en el punto de unión de las entradas E1 y E2,

- b) poner en contacto el extracto F1 vegetal líquido y el disolvente F2 de extracción en el canal principal durante un tiempo que permita extraer las moléculas de interés,

- c) recuperar el disolvente F2 de extracción enriquecido con moléculas de interés, y

- d) opcionalmente, evaporar el disolvente F2 de extracción,

caracterizado por que el extracto vegetal es un aceite vegetal y el disolvente de extracción es etanol.

La extracción según el procedimiento de la invención puede realizarse ventajosamente a temperatura ambiente, preferiblemente entre 20 y 30 °C, más preferiblemente entre 22 y 27 °C.

A diferencia de las extracciones de destilación molecular tradicionales, que se llevan a cabo a temperaturas más elevadas de hasta 250 °C, el uso de la extracción microfluídica según la invención a temperatura ambiente evita la degradación térmica que es perjudicial para los extractos vegetales.

Chip microfluídico

El diagrama de la figura 1 ilustra de forma no limitativa un chip microfluídico denominado "en doble Y" utilizado en el procedimiento de la invención.

El chip 10 microfluídico de la figura 1 tiene dos entradas E1 y E2 formadas por dos canales independientes que se unen en un punto conocido como "punto de unión" PJ para formar un único canal conocido como "canal principal".

Dicho canal principal se divide en el "punto de división" PD en dos nuevos canales distintos que forman las dos salidas S1 y S2 del chip 10 microfluídico.

En la presente solicitud, el término "conexión fluida" se refiere a un medio de conexión que permite la transferencia de fluido F1 o F2 entre los diferentes elementos a los que se refiere.

Las dos entradas E1 y E2 pueden estar en conexión fluida mediante tubos, por ejemplo, a los depósitos R1 y R2 respectivamente, de modo que los fluidos F1 y F2 pueden fluir a través del chip 10 microfluídico.

Del mismo modo, las dos salidas S1 y S2 pueden estar en conexión fluida mediante tubos, por ejemplo, a los colectores C1 y C2 respectivamente, de modo que los fluidos F1 y F2 pueden descargarse del chip 10 microfluídico.

Según una realización de la presente invención, la entrada E1 puede estar conectada a un primer depósito R1 que contiene un fluido F1, siendo dicho fluido F1, por ejemplo, un extracto vegetal. La entrada E2 puede conectarse a un segundo depósito R2 que contiene un fluido F2 diferente del primer fluido, siendo dicho fluido F2, por ejemplo, un disolvente de extracción. La salida S1 puede conectarse a un primer colector C1 para recibir el fluido F1 empobrecido o enriquecido en molécula de interés a la salida del chip microfluídico. En el caso de que el fluido F1 sea extracto vegetal, dicho primer colector recoge entonces el refinado de extracto vegetal empobrecido en molécula de interés. La salida S2 puede conectarse a un segundo colector C2 para recibir el fluido F2 empobrecido o enriquecido en la molécula de interés. En el caso de que el fluido F2 sea un disolvente de extracción, dicho segundo colector C2 recoge entonces el disolvente de extracción enriquecido en la molécula de interés.

En el resto de esta descripción, se considera que el fluido F1 es el extracto vegetal líquido y que el fluido F2 es el disolvente de extracción.

El canal principal puede tener diversas formas, y la sección transversal de dicho canal principal puede ser, entre otras, un cuadrado, un círculo, un semicírculo, un rectángulo, un rombo, un polígono regular o un polígono irregular. Preferiblemente, la sección transversal del canal principal del chip 10 microfluídico es rectangular.

El diagrama de la figura 2 muestra una vista en perspectiva de un canal principal con forma rectangular caracterizado por una profundidad h, una anchura l y un volumen V total. Dicho volumen total de dicho canal principal se considera entre el punto PJ de unión y el punto PD de separación.

El canal principal del chip microfluídico utilizado en el proceso de la invención puede tener una anchura l comprendida entre 50 y 500 μm , preferiblemente entre 100 y 300 μm , y preferiblemente de 200 μm ,

- una profundidad H comprendida entre 1 y 800 μm , preferiblemente entre 5 y 500 μm , más preferiblemente entre 10 y 200 μm , mejor aún entre 50 y 150 μm , y más particularmente de 100 μm ,

- un volumen V total del canal entre el punto PJ de unión y la separación de los dos canales de salida en Y en el punto PD de separación comprendido entre 0,1 μL y 20 μL , preferiblemente 0,2 μL y 10 μL , más preferiblemente 0,3 y 5 μL , mejor aún 0,4 y 1,5 μL , más particularmente 1 μL .

La extracción microfluídica tiene la ventaja particular de aumentar la superficie de contacto entre los fluidos dentro del canal principal, optimizando de este modo la difusión de moléculas de interés de un líquido a otro.

El canal principal del chip 10 microfluídico también puede tener una geometría general en el plano del chip microfluídico en forma de círculos concéntricos, cuadrados o rombos, una línea y preferiblemente en forma de serpentina.

El chip 10 microfluídico mostrado en la figura 3 es un ejemplo no limitativo de un canal principal cuya geometría general en el plano del chip 10 microfluídico tiene forma de serpentina.

La geometría global en el plano del canal puede utilizarse, por ejemplo, para optimizar el espacio ocupado por el sistema.

La extracción según el procedimiento de la invención también tiene la ventaja de que puede llevarse a cabo en paralelo, es decir, N chips microfluídicos con un circuito de "doble y" pueden funcionar en paralelo, siendo N un número entero entre 1 y 200.000, preferiblemente entre 500 y 200.000, más preferiblemente entre 1.000 y 100.000.

Un procedimiento de extracción con varios chips microfluídicos en paralelo tiene la ventaja de aumentar considerablemente la capacidad de procesamiento del sistema. Un sistema que comprende, por ejemplo, por 100.000 chips microfluídicos funcionando en paralelo puede alcanzar un caudal global (dicho caudal global corresponde a la suma de los caudales de extracción del disolvente de extracción enriquecido con moléculas de interés) de al menos 16,2 kg/h, es decir, casi 10 veces más que un procedimiento convencional como la destilación molecular de laboratorio. Existen equipos de destilación molecular que pueden destilar toneladas de producto al día, pero estos equipos son extremadamente voluminosos y caros.

Un sistema que comprende, por ejemplo, 100.000 chips microfluídicos funcionando en paralelo también ahorra espacio en comparación con los procedimientos de extracción convencionales comentados anteriormente.

La presente invención permite conectar 100.000 chips microfluídicos que funcionan en paralelo en un espacio que cabe en apenas 1 m² de suelo.

El chip 10 microfluídico utilizado en el procedimiento de la invención puede estar hecho de un material seleccionado entre vidrio, silicona o un polímero, preferiblemente silicona y más preferiblemente PDMS.

Regulador de presión

El chip microfluídico según la invención también está conectado a un regulador 100 de presión. Ventajosamente, dicho regulador 100 de presión permite aplicar una presión de una décima, preferiblemente una centésima, de milibar para controlar el flujo de los fluidos F1 y F2 dentro del chip microfluídico.

Dicho regulador 100 de presión está conectado al primer depósito R1 y al primer colector C1 de manera que el fluido F1 está sometido a una presión P1.

Dicho regulador 100 de presión está conectado al primer depósito R2 y al primer colector C2 de manera que el fluido F2 está sometido a una presión P2.

Dicho regulador 100 de presión está conectado, por ejemplo, a los depósitos R1 y R2 mediante una tubería hermética que no permite la salida de aire, para aplicarles una presión P1 y P2.

La presión aplicada independientemente a los fluidos F1 y F2 tiene un impacto directo sobre el caudal de dichos fluidos en las entradas E1 y E2 y las salidas S1 y S2 del chip 10 microfluídico. En general, la presión y el caudal están linealmente relacionados según la ecuación matemática 1 siguiente.

[Fórmula matemática 1]

$$P = R \cdot Q$$

siendo P la presión a la que está sometido el fluido y se expresa, por ejemplo, en milibares (mbar).

Q es el caudal al que fluye el fluido y se expresa, por ejemplo, en microlitros por segundo (μL/s).

R es un coeficiente homogéneo a una presión dividida por un caudal y que puede medirse experimentalmente de la manera conocida por el experto en la técnica.

La presión también influye directamente en la disposición de los fluidos dentro del canal. La figura 4 muestra un diagrama simplificado de un chip microfluídico en doble Y. Q1 es el caudal al que fluye el fluido F1 a través del chip microfluídico y Q2 es el caudal al que fluye el fluido F2. w1 es la anchura ocupada en el canal principal por el fluido F1 cuando el canal se ve desde arriba y w2 es la anchura ocupada en el canal principal por el fluido F2 cuando el canal se ve desde arriba.

Para optimizar la difusión dentro del canal, las anchuras ocupadas por los dos fluidos F1 y F2 dentro del canal, vistos desde arriba, son ventajosamente iguales. Ventajosamente, se respeta la siguiente igualdad: w1 = w2.

Además, en el canal principal del chip microfluídico siempre se respeta la siguiente igualdad de la fórmula matemática 2:

[Fórmula matemática 2]

$$\frac{w_1}{w_2} = \frac{\mu_1 \cdot Q_1 \cdot \rho_2}{\mu_2 \cdot Q_2 \cdot \rho_1}$$

w_1 y w_2 son las anchuras ocupadas por los fluidos F1 y F2 respectivamente dentro del canal principal del chip microfluídico visto desde arriba, μ_1 y μ_2 son las viscosidades dinámicas de los fluidos F1 y F2 respectivamente, Q_1 y Q_2 son los caudales a los que fluyen los fluidos F1 y F2 respectivamente, ρ_1 y ρ_2 son las densidades de los fluidos F1 y F2 respectivamente.

Si los fluidos F1 y F2 se mueven en el mismo sistema, la combinación de las igualdades según las ecuaciones matemáticas 1 y 2 conduce a la igualdad según la siguiente ecuación matemática 3.

[Fórmula matemática 3]

$$\frac{w_1}{w_2} = \frac{P_1}{P_2}$$

w_1 y w_2 son las anchuras ocupadas respectivamente por los fluidos F1 y F2 dentro del canal principal del chip microfluídico visto desde arriba; P_1 y P_2 son las presiones a las que están sometidos los fluidos F1 y F2.

Idealmente, las anchuras w_1 y w_2 dentro del canal principal del chip microfluídico deben ser iguales a la salida del canal principal para garantizar una buena separación de los fluidos enriquecidos y empobrecidos en moléculas de interés. Para lograr esta igualdad, el cumplimiento de la ecuación matemática 3 implica que las presiones P_1 y P_2 aplicadas a los fluidos F1 y F2 respectivamente deben ser iguales.

Los inventores han hecho el sorprendente descubrimiento de que la aplicación de dos presiones P_1 y P_2 idénticas a los fluidos F1 y F2 no produce el efecto esperado por la teoría explicada anteriormente. De hecho, los inventores observaron anchuras w_1 y w_2 diferentes en el punto PD de separación, de modo que una cantidad de fluido F2 se mezcla con el fluido F1 en la salida S1.

Esta observación puede explicarse en parte por las pérdidas de carga experimentadas por los fluidos. Estas pérdidas de carga dependen en gran medida de los fluidos considerados, del contacto entre los fluidos y con las paredes del sistema, de la geometría del canal y de los caudales a los que circulan los fluidos F1 y F2.

Los inventores han descubierto varios pares de presiones (P_1 , P_2) que permiten satisfacer la condición $w_1 = w_2$ en todo el canal principal y, en particular, en el punto PJ de separación del chip microfluídico.

Según una realización de la invención, el regulador 100 de presión funciona de manera que los fluidos F1 y F2 están sometidos respectivamente a presiones (P_1 , P_2) tales como:

P_1 está comprendida entre 65 y 75,

P_2 está comprendida entre 63 y 73 mbar, o bien el regulador 100 de presión funciona de manera que los fluidos F1 y F2 están sometidos a presiones (P_1 , P_2) tales como:

P_1 está comprendida entre 190 y 210 mbar,

P_2 está entre 186 y 206 mbar.

Además, según una realización de la presente invención, el regulador 100 de presión funciona de modo que el caudal de disolvente de extracción en la salida del chip microfluídico esté comprendido entre 0,01 $\mu\text{L/s}$ y 500 $\mu\text{L/s}$, preferiblemente entre 0,1 $\mu\text{L/s}$ y 12 $\mu\text{L/s}$, más preferiblemente entre 0,5 y 1 $\mu\text{L/s}$.

Además, según una realización de la presente invención, el regulador 100 de presión funciona de modo que el caudal a la salida del chip microfluídico del extracto vegetal líquido está comprendido entre 0,001 $\mu\text{L/s}$ y 500 $\mu\text{L/s}$, preferiblemente entre 0,005 $\mu\text{L/s}$ y 10 $\mu\text{L/s}$, más preferiblemente entre 0,005 y 0,01 $\mu\text{L/s}$.

Para garantizar que el disolvente enriquecido en moléculas de interés recuperado en el colector C2 no esté contaminado por el refinado de extracto vegetal empobrecido obtenido en la salida S1, puede observarse un margen de seguridad "a".

En caso de que se observe un margen de seguridad "a", el regulador de presión funciona a pares de presiones (P_1 , P_2) que satisfacen la siguiente condición $w_1 = a \cdot w_2$ en el punto de separación; siendo w_1 y w_2 las anchuras ocupadas respectivamente por los fluidos F1 y F2 dentro del canal principal del chip 10 microfluídico, a es un margen de

seguridad, un número real positivo comprendido entre 0 y 1.

Si se observa un margen de seguridad, a está comprendido entre 0,85 y 0,95, preferiblemente a es 0,9.

5 Según una realización de la presente invención, el regulador 100 de presión se elige entre los reguladores de presión disponibles comercialmente capaces de satisfacer las condiciones definidas anteriormente. El regulador de presión de la presente invención es, por ejemplo, el regulador de presión Elveflow comercializado por Elvelys.

Extracto vegetal

10 El extracto vegetal se elige en función de la molécula de interés deseada.

El extracto vegetal utilizado en el procedimiento de extracción de la presente invención es un extracto oleoso de una parte de la planta obtenido tras filtración, por ejemplo aceite de café.

15 Disolvente de extracción

Según el extracto vegetal elegido, el disolvente de extracción se selecciona en función de su afinidad con la molécula de interés.

20 Según una realización de la presente invención, el disolvente de extracción es ventajosamente inmiscible con el extracto vegetal líquido.

El disolvente de extracción utilizado en el procedimiento de extracción de la presente invención es el etanol.

25 Procedimiento de extracción

El procedimiento de extracción según la invención puede comprender una primera etapa a) que consiste en hacer funcionar el regulador 100 de presión a un par de presiones P1, P2 particular con el fin de someter respectivamente los fluidos F1 y F2 a las presiones P1 y P2 de manera que se tenga una superficie de contacto entre los dos fluidos situada en el punto PJ de unión del chip microfluídico en doble Y.

30 En función de las características del chip microfluídico, las características del canal principal, la geometría general del canal principal y los caudales a los que se someten los fluidos F1 y F2, el extracto F1 vegetal líquido y el disolvente F2 de extracción se ponen en contacto durante un periodo de tiempo que permite extraer las moléculas de interés.

El procedimiento de extracción según la invención puede comprender una segunda etapa b) durante la cual los fluidos se ponen en contacto durante un tiempo que permite extraer las moléculas de interés. En particular, el tiempo de contacto está comprendido entre 5 y 300 segundos, preferiblemente entre 8 y 200 segundos, más preferiblemente entre 10 y 100 segundos, y aún más preferiblemente entre 50 y 70 segundos.

45 Cuanto mayor sea el tiempo de extracción, mayor será el rendimiento másico de la extracción. El rendimiento másico corresponde a la masa de extracto que contiene las moléculas de interés en el disolvente F2 de extracción recuperado a la salida S2 en relación con la masa inicial de extracto F1 vegetal líquido en la entrada E1.

Un rendimiento másico satisfactorio es, por ejemplo, superior o igual al 5 %, preferiblemente superior o igual al 10 %, mejor aún en torno al 15 %.

50 El procedimiento de extracción según la invención comprende una tercera etapa c) en donde el disolvente de extracción enriquecido con la molécula de interés se recupera y opcionalmente se reutiliza para el procedimiento de extracción.

El procedimiento de extracción según la invención puede, por ejemplo, vincularse a un dispositivo de purificación que permita obtener moléculas de interés de forma continua mientras se reutiliza el disolvente de extracción para el procedimiento de extracción.

El procedimiento de extracción según la invención puede comprender una cuarta etapa opcional d) en la que se evapora el disolvente de extracción enriquecido con la molécula de interés.

60 El disolvente de extracción enriquecido con moléculas de interés también puede someterse a diferentes tratamientos de purificación para aumentar la concentración de moléculas de interés.

65 Las moléculas de interés se recuperan entonces más fácilmente y se incorporan a composiciones cosméticas, por ejemplo. El disolvente de extracción evaporado de este modo puede reciclarse ventajosamente y reutilizarse en el procedimiento de extracción.

Descripción de las figuras

Figura 1

La [figura 1] muestra un diagrama del procedimiento de extracción microfluídica según una realización de la invención.

Figura 2

La [figura 2] muestra un diagrama de un canal principal rectangular, según una realización de la presente invención.

Figura 3

La [figura 3] muestra un diagrama de un chip microfluídico con un canal principal en forma de serpentina, según una realización de la presente invención.

Figura 4

La [figura 4] muestra un diagrama simplificado explicativo de un chip microfluídico en doble Y, según una realización de la presente invención.

Figura 5

La [figura 5] muestra cromatogramas HPLC de un aceite de café que contiene moléculas de interés, el cromatograma HPLC de una extracción de dicho aceite según una realización de la presente invención y un cromatograma HPLC de una extracción según un método de destilación molecular convencional.

Descripción detallada de la invención

Procedimiento según el ejemplo

El procedimiento de extracción según el ejemplo comprende un dispositivo como el ilustrado en la figura 1. Dicho procedimiento de extracción comprende un regulador 100 de presión, dicho regulador 100 de presión está conectado a un primer depósito R1 que comprende el extracto F1 vegetal líquido, un segundo depósito R2 que comprende el disolvente F2 de extracción, un primer colector C1 que recupera el refinado de extracto vegetal empobrecido en moléculas de interés y un segundo colector C2 que recupera el extracto del disolvente de extracción enriquecido en moléculas de interés.

Dicho procedimiento de extracción comprende además un chip 10 microfluídico en doble Y que comprende dos entradas E1 y E2 en conexión fluida con los dos depósitos R1 y R2 respectivamente y dos salidas S1 y S2 en conexión fluida con los dos colectores C1 y C2.

Según el ejemplo 1, el regulador 100 de presión es del tipo Elveflow comercializado por la empresa Elvesys. El extracto F1 vegetal líquido es un extracto de aceite de café, las moléculas de interés son ésteres diterpénicos y el disolvente F2 de extracción es etanol.

El canal principal del chip 10 microfluídico es rectangular y tiene forma de serpentina. El canal tiene una profundidad de 100 μm , una anchura de 200 μm y un volumen de 1 μL . Cada uno de los fluidos comparte la mitad del volumen, es decir, ocupa 0,5 μL .

Etapas a)

El regulador 100 de presión funciona de modo que el fluido F1 se ve sometido a una presión P1 de 72 mbar, de modo que el caudal del fluido F1 sea de 0,01083 $\mu\text{L/s}$.

El regulador 100 de presión funciona de modo que el fluido F2 se ve sometido a una presión P2 de 70 mbar, de modo que el caudal del fluido F2 sea de 0,679 $\mu\text{L/s}$.

Etapas b)

El extracto F1 vegetal líquido y el disolvente F2 de extracción se ponen en contacto dentro del chip microfluídico durante aproximadamente 45 segundos.

Etapas c)

El disolvente F2 de extracción enriquecido con moléculas de interés se recupera a la salida del chip 10 microfluídico en el colector C2.

Etapa d)

El procedimiento según este ejemplo incluye una etapa D en la que se evapora el disolvente F2 de extracción antes de recuperar las moléculas de interés.

Resultado

El rendimiento másico obtenido mediante el procedimiento de extracción del ejemplo 1 es del 17,7 %. La extracción se llevó a cabo de forma continua durante 2580 min.

De este modo, los inventores han descubierto sorprendentemente que un procedimiento de extracción líquido-líquido que utiliza un chip microfluídico permite obtener un rendimiento de extracción másico superior o igual a los rendimientos de extracción utilizados habitualmente, por ejemplo la destilación molecular o la extracción líquido-líquido en modo lote.

Ejemplo comparativo con la destilación molecular

Se realizó un ejemplo comparativo para comparar los resultados de extracción según el procedimiento de la invención con los resultados de extracción obtenidos según una extracción convencional por destilación molecular.

La figura 5 muestra los cromatogramas HPLC del aceite de partida. Las moléculas de interés en este ejemplo son ésteres diterpénicos, en baja concentración en el aceite de café.

La destilación molecular se lleva a cabo según el siguiente procedimiento conocido por los expertos en la técnica: la temperatura del cuerpo se fija en 280 °C, la temperatura de condensación es de 80 °C. El caudal de aceite es de 1,2 L/h a una presión comprendida entre 2,10 y 3 mbar:

- el sistema se somete a vacío a una presión de entre 10^{-3} y 10^{-2} mbar

- el cuerpo de destilación se calienta a 280 °C

- el condensador se calienta a 80 °C

- el depósito de alimentación se llena con aceite vegetal (el fluido que va a extraerse) y el caudal de alimentación se fija en 1,2 L/h.

El aceite se raspa contra la pared del cuerpo de destilación durante unos diez segundos (entre 10 y 20 segundos). Las moléculas de interés se evaporarán y se recondensan en el condensador situado en el centro del cuerpo de destilación.

El sistema separa las dos fracciones y las recoge en dos recipientes diferentes.

El extracto obtenido tras la destilación molecular aumenta la concentración de moléculas de interés, como puede observarse en el cromatograma HPLC del extracto obtenido por destilación molecular (figura 5).

El cromatograma HPLC del extracto etanólico obtenido mediante el procedimiento según la invención permite comparar los dos métodos de extracción comentados en este ejemplo.

El cromatograma HPLC del extracto etanólico obtenido mediante el procedimiento según la invención muestra que las moléculas de interés se concentran de forma más eficaz que por destilación molecular. De hecho, el rendimiento obtenido tras una primera pasada por destilación molecular se sitúa entre el 12 y el 15 %. Por tanto, es necesario realizar 2 pases por destilación molecular para extraer todas las moléculas de interés y obtener un rendimiento final (y máximo) del 25 %. Una sola pasada es suficiente con la extracción microfluídica.

La extracción implementada según una realización de la presente invención tiene también la ventaja de revelar nuevas moléculas (potencialmente de interés) como lo muestran los picos del cromatograma situados alrededor de 7 min.

De este modo, los cromatogramas HPLC demuestran claramente que la eficacia del procedimiento según la invención es al menos equivalente a los muy buenos resultados obtenidos por destilación molecular, con unos costes de explotación significativamente reducidos. La presente invención tiene también la ventaja de permitir la extracción de nuevas moléculas que no podrían aislarse por destilación molecular.

Lista de signos de referencia

	- 10: chip microfluídico
5	- 100: regulador de presión
	- F1: primer fluido, por ejemplo, el disolvente de extracción
10	- F2: segundo fluido, por ejemplo, el extracto vegetal líquido
	- E1: entrada del fluido F1 en el chip microfluídico
	- E2: entrada del fluido F2 en el chip microfluídico
15	- F1: salida del fluido F1 del chip microfluídico
	- F2: salida del fluido F2 del chip microfluídico
20	- R1: depósito del líquido F1
	- R2: depósito del fluido F2
	- C1: colector del fluido F1 enriquecido o empobrecido de molécula de interés
25	- C2: colector del fluido F2 enriquecido o empobrecido de molécula de interés
	- PJ: punto de unión
30	- PD: punto de separación
	- L: longitud del canal principal
	- h: profundidad del canal principal
35	- 1: anchura del canal principal
	- Q ₁ : caudal del fluido F1 en el chip microfluídico
	- Q ₂ : caudal del fluido F2 en el chip microfluídico
40	- w ₁ : anchura ocupada por el fluido F1 en el canal principal
	- w ₂ : anchura ocupada por el fluido F2 en el canal principal.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de extracción microfluídica de moléculas de interés a partir de un extracto vegetal líquido que comprende:

- un chip 10 microfluídico con un circuito en doble Y, que comprende dos entradas E1 y E2, dos salidas S1 y S2 y un canal principal,

- un primer depósito R1 que comprende el extracto F1 vegetal líquido, un segundo depósito R2 que comprende un disolvente F2 de extracción de moléculas de interés inmisible con el extracto F1 vegetal líquido, estando cada uno de dichos depósitos R1, R2 primero y segundo en conexión fluida con las entradas E1 y E2 del chip 10 microfluídico,

- un regulador 100 de presión capaz de presurizar dicho primer extracto F1 vegetal líquido y dicho disolvente F2 de extracción,

- un primer colector C1 en conexión fluida con el chip 10 microfluídico, en el que se recupera el extracto F1 vegetal líquido empobrecido en moléculas de interés,

- un segundo colector C2 en conexión fluida con el chip 10 microfluídico en el que se recupera el disolvente F2 de extracción enriquecido con moléculas de interés,

comprendiendo dicho procedimiento de extracción las siguientes etapas,

a) controlar las presiones P1 y P2 para someter el extracto F1 vegetal líquido a una presión P1 y el disolvente F2 de extracción a una presión P2, de forma que la superficie de contacto entre los dos fluidos se sitúa en el punto de unión de las entradas E1 y E2,

b) poner en contacto el extracto F1 vegetal líquido y el disolvente F2 de extracción en el canal principal durante un tiempo que permita extraer las moléculas de interés,

c) recuperar el disolvente F2 de extracción enriquecido con moléculas de interés, y

d) opcionalmente, evaporar el disolvente F2 de extracción, **caracterizado por que** el extracto vegetal es un aceite vegetal y el disolvente de extracción es etanol.

2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la extracción se lleva a cabo a temperatura ambiente, preferiblemente entre 20 y 30 °C, más preferiblemente entre 22 y 27 °C.

3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 2, en el que el regulador 100 de presión funciona de modo que el caudal a la salida del chip microfluídico del disolvente Q2 de extracción está comprendido entre 0,01 $\mu\text{L/s}$ y 500 $\mu\text{L/s}$, preferiblemente entre 0,1 $\mu\text{L/s}$ y 12 $\mu\text{L/s}$, más preferiblemente entre 0,5 y 1 $\mu\text{L/s}$.

4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 3, en el que el regulador 100 de presión funciona de modo que el caudal a la salida del chip microfluídico del extracto Q1 vegetal líquido está comprendido entre 0,001 $\mu\text{L/s}$ y 500 $\mu\text{L/s}$, preferiblemente entre 0,005 $\mu\text{L/s}$ y 10 $\mu\text{L/s}$, más preferiblemente entre 0,005 y 0,01 $\mu\text{L/s}$.

5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 3, en el que el chip 10 microfluídico **está caracterizado por que** los canales de entrada se unen en un punto PJ de unión para formar un único canal principal, teniendo dicho canal

- una anchura comprendida entre 50 y 500 μm , preferiblemente entre 100 y 300 μm , y más preferiblemente de 200 μm ,

- una profundidad H comprendida entre 1 y 800 μm , preferiblemente entre 5 y 500 μm , más preferiblemente entre 10 y 200 μm , mejor aún entre 50 y 150 μm , y más particularmente de 100 μm ,

- un volumen V total del canal entre el punto PJ de unión y la separación de los dos canales de salida en Y en el punto PD de separación comprendido entre 0,1 μL y 20 μL , preferiblemente 0,2 μL y 10 μL , más preferiblemente 0,3 y 5 μL , mejor aún 0,4 y 1,5 μL , más particularmente de 1 μL .

6. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 5, en el que el chip 10 microfluídico está hecho de un material elegido entre vidrio, silicio o un polímero, preferiblemente silicona tal como PDMS.

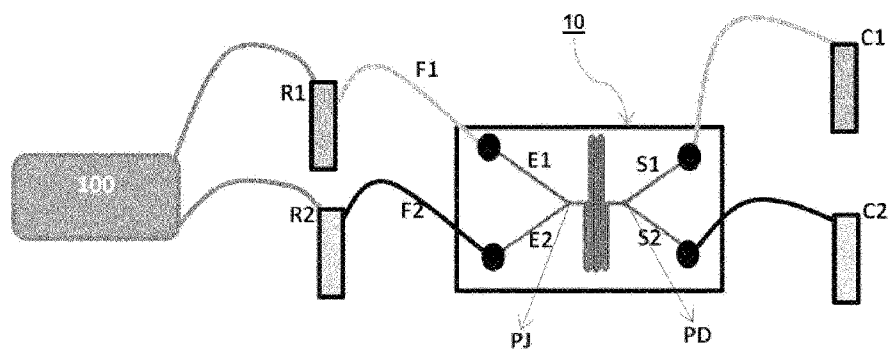
7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el regulador 100 de presión funciona a

pares de presiones (P_1 , P_2) tales que se satisface la condición $w_1 = a \cdot w_2$ en el punto de separación; w_1 y w_2 son las anchuras ocupadas respectivamente por los fluidos F1 y F2 dentro del canal principal del chip microfluídico, siendo "a" un número real positivo comprendido entre 0 y 1 en caso de que el fluido F1 sea el extracto de aceite vegetal, preferiblemente a está comprendido entre 0,85 y 0,95 y a corresponde a un margen de seguridad.

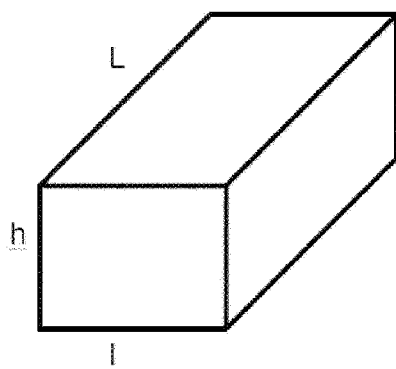
5

8. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 7, en el que al menos N chips 10 microfluídicos con un circuito en doble Y funcionan en paralelo, siendo N un número entero comprendido entre 1 y 200.000.

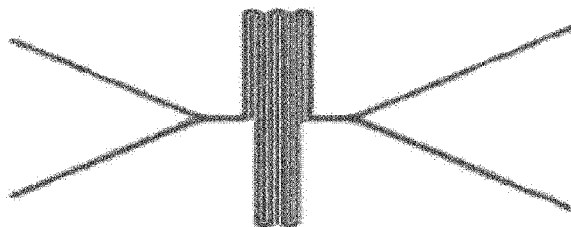
[Fig. 1]



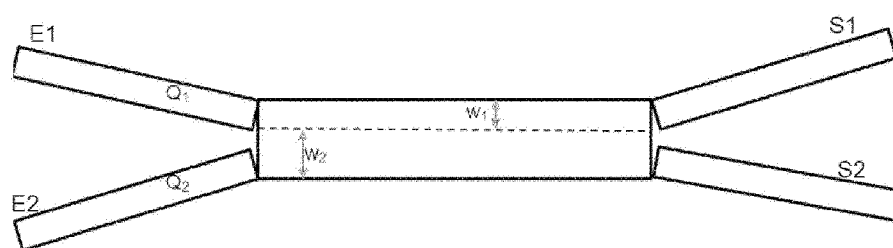
[Fig. 2]



[Fig. 3]



[Fig. 4]



[Fig. 5]

