

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 714 924**

51 Int. Cl.:

**C11B 1/10** (2006.01)

**C11B 3/00** (2006.01)

**C11B 7/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.07.2016 E 16305982 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2018 EP 3275981**

54 Título: **Proceso continuo para fraccionar una suspensión**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**30.05.2019**

73 Titular/es:

**UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE (33.3%)  
Jardin du Pharo, 58, boulevard Charles Livon  
13007 Marseille, FR;  
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE (33.3%) y  
ECOLE CENTRALE DE MARSEILLE (33.3%)**

72 Inventor/es:

**BADENS, ELISABETH y  
CRAMPON, CHRISTELLE**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 714 924 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

Proceso continuo para fraccionar una suspensión

La invención se refiere a un proceso continuo para fraccionar una suspensión elegida entre una biomasa de microalgas o una leche.

5 Las pastas de microalgas comprenden agua en la que hay microalgas suspendidas (células de tamaño micrométrico) que son bien conocidas por contener lípidos neutros, a veces en cantidades significativas, entre los que se encuentran los glicéridos y más particularmente los ácidos grasos omega 3 que pueden tener un alto valor añadido. Además, podrían estar presentes otros compuestos de alto valor añadido, como los carotenoides (carotenos, como el  $\beta$ -caroteno y las xantófilas, como por ejemplo la astaxantina y la luteína) utilizados como antioxidantes, pigmentos o agentes fotoprotectores. Las proteínas, polímeros y/o carbohidratos también se pueden recuperar de las microalgas para ser valoradas.

10 Es por eso que hay un gran interés en un proceso para fraccionar la pasta de microalgas y recuperar los lípidos neutros y los compuestos de interés. Las áreas de aplicación de estos compuestos son energía (en particular, biocombustibles), nutracéuticos, cosméticos, productos farmacéuticos, alimentos para humanos y animales, materiales, etc.

15 Por ejemplo, el documento WO 2012/078852 describe un proceso para fraccionar una biomasa, en particular una biomasa de algas. Este proceso comprende una primera etapa, llamada "etapa de acondicionamiento", de acondicionamiento de la biomasa para crear un material celular descompuesto. Esta etapa de acondicionamiento se puede llevar a cabo mediante diferentes métodos, entre los que se encuentra un método en el que la biomasa se suspende en  $\text{CO}_2$  y agua.

20 Después, se lleva a cabo una segunda etapa, llamada etapa de contacto. Esta etapa consiste en poner en contacto la biomasa con un disolvente no polar o una mezcla de disolventes orgánicos que tienen polaridades diferentes. Esta etapa es una etapa de extracción líquido/líquido para solubilizar compuestos solubles en el disolvente no polar y retener los compuestos polares en la fase acuosa de la biomasa de algas.

25 Durante la tercera etapa, la fase que contiene los compuestos solubles en agua se separa de la fase que contiene los compuestos solubles no polares en el disolvente no polar.

Después de esta etapa, la cuarta etapa del proceso pretende aislar los compuestos de interés.

30 En este proceso, al menos cuatro etapas principales se llevan a cabo de manera secuencial y con numerosos disolventes en gran cantidad. Además, este proceso se lleva a cabo en diferentes cámaras. Este proceso es un proceso por lotes que no permite tratar grandes cantidades de biomasa de manera sencilla. El documento US 2016053191 A1 describe un método para extraer un lípido convertible en biodiesel a partir de microalgas utilizando un dióxido de carbono supercrítico. El método de extracción de lípidos es una técnica económica y respetuosa con el medio ambiente, que puede reducir considerablemente el tiempo de extracción y no utiliza disolventes orgánicos tóxicos.

35 En contraste, el proceso de la invención es un proceso continuo que permite fraccionar grandes cantidades de suspensión de microalgas. Además, en el proceso de la invención, no hay necesidad de romper las células de microalgas antes de fraccionar y recuperar los lípidos neutros y los compuestos de microalgas de interés. Además, el proceso de la invención hace uso de un solo disolvente particular, el dióxido de carbono supercrítico ( $\text{CO}_2$ ), excepto el agua proveniente de la propia biomasa húmeda de microalgas, para extraer lípidos y compuestos que tienen alto valor añadido.

40 La leche es una suspensión coloidal que contiene lípidos neutros en cantidades bajas pero significativas, junto con otros compuestos de interés. También en este caso, existe la necesidad de fraccionar la leche de una manera sencilla para obtener lípidos neutros y compuestos de interés. Las áreas de aplicación de estos compuestos son, en particular, alimentos para humanos, cosméticos, nutracéuticos.

45 Para este objetivo, el proceso actual para fraccionar una suspensión elegida entre biomasa de microalgas o leche es un proceso de una sola etapa. El proceso consiste en poner en contacto la suspensión con un fluido supercrítico ( $\text{CO}_2$  supercrítico), en un contactor.

La presente invención se refiere, por lo tanto, a un proceso de fraccionamiento de una suspensión elegida entre biomasa de microalgas o leche, que comprende las siguientes etapas:

50 a) poner en contacto la suspensión con un disolvente que consiste en  $\text{CO}_2$  supercrítico en un contactor, se introducen la suspensión y el  $\text{CO}_2$  supercrítico a contracorriente,

b) recuperar continuamente una fase rica en  $\text{CO}_2$  supercrítico que sale de la parte superior del contactor, después de ponerse en contacto con la suspensión, la fase rica en  $\text{CO}_2$  supercrítico que contiene lípidos extraídos de la suspensión y un refinado que sale del fondo del contactor,

c) separar continuamente los lípidos neutros y/o los compuestos de interés contenidos en la fase rica en CO<sub>2</sub> supercrítico, y el refinado,

d) se lleva a cabo el proceso que no comprende ninguna etapa para romper las células de la biomasa de algas antes de la etapa a).

5 Dichos lípidos neutros se eligen en particular entre triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos libres y sus mezclas, siendo los lípidos neutros en particular los ácidos grasos ω-3. Estos lípidos neutros y en particular los ácidos grasos ω-3 son de alto valor añadido.

10 Por compuestos de interés se entiende en particular antioxidantes, carbohidratos o pigmentos. Dichos compuestos de interés son, por ejemplo, carotenoides, en particular carotenos, como β-caroteno y/o xantófilas, como por ejemplo astaxantina y luteína.

Cuando la suspensión es una leche, los compuestos como los minerales (Ca, Na, K, P, ...), los glúcidos y las proteínas están presentes en el refinado y se pueden separar del agua, por ejemplo, mediante ultrafiltración.

Por contactor se entiende cualquier dispositivo que permita una extracción a contracorriente y la recuperación de una fase superior (más ligera) y una fase inferior (más pesada).

15 En particular, el contactor es una columna de fraccionamiento o un mezclador decantador.

La biomasa húmeda de microalgas o la leche, y el CO<sub>2</sub> supercrítico se introducen a contracorriente.

20 Más precisamente, la biomasa húmeda de microalgas o la leche (el alimento) se introduce en la parte superior de la columna de fraccionamiento y el CO<sub>2</sub> supercrítico se introduce en la parte inferior de la columna de fraccionamiento. La diferencia de gravedad induce los flujos de las dos fases; la biomasa húmeda de microalgas o la leche constituye la fase descendente y la fase supercrítica constituye la fase ascendente.

En particular, la suspensión es una biomasa de microalgas.

25 La suspensión de microalgas puede ser la biomasa de microalgas tal como se recoge (que contiene células de microalgas, agua y partículas de desechos potenciales). Pero, la biomasa de microalgas que se introduce en la columna de fraccionamiento también puede ser la biomasa de microalgas recogida que se ha concentrado previamente, por ejemplo, por centrifugación, filtración o floculación-flotación.

Así, la biomasa húmeda de microalgas que se introduce en la columna de fraccionamiento puede tener una concentración de microalgas comprendida entre 0,5 y 200 g.l<sup>-1</sup>, correspondientes respectivamente al contenido de agua comprendido entre 99,95 y 80 % en peso. En particular, estos valores son adecuados a escala de laboratorio, piloto o industrial.

30 En particular, la suspensión es leche.

Por leche se entiende leche de origen animal o vegetal.

Por leche de origen animal se entiende la secreción láctea de cualquier mamífero y productos lácteos derivados de la misma como, por ejemplo, leche entera, leche parcialmente desnatada, leche homogeneizada, leche pasteurizada y crema líquida. En particular, la leche se elige entre leche de vaca, cabra, oveja, búfalo y yegua.

35 Por leche de origen vegetal se entiende leche de plantas. En particular, la leche se elige entre leche de almendra, anacardo, nuez, coco, arroz, lupino, cacahuete, guisante, avena, espelta, centeno, quinoa, cáñamo, soja, girasol y sésamo.

La etapa de contacto a) se puede realizar en presencia de un modificador polar.

40 Por modificador polar se entiende un compuesto polar, que es soluble en dióxido de carbono supercrítico y aumenta la polaridad de dicho dióxido de carbono supercrítico.

Los modificadores polares son bien conocidos por los expertos en la técnica y, en particular, se eligen entre alcoholes de cadena corta.

Por alcoholes de cadena corta se entiende alcanos C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineales o ramificados sustituidos por un grupo hidroxilo, en particular metanol o etanol.

45 El uso de un modificador polar puede mejorar o incluso hacer posible la extracción de compuestos polares de interés.

Por ejemplo, cuando la suspensión es una biomasa de microalgas y se usa un modificador polar, algunos compuestos polares pueden solubilizarse en la fase fluida, como astaxantina o luteína, y puede mejorarse la extracción de β-caroteno.

En particular, la fracción de masa del modificador polar en la fase de CO<sub>2</sub> supercrítico comprende de 0 a 20 %.

## ES 2 714 924 T3

Por fase de CO<sub>2</sub> supercrítico se entiende el CO<sub>2</sub> supercrítico como se define en la etapa a), y cuando está presente, el modificador polar y/o el agente de esterificación.

La etapa de contacto a) también se puede realizar en presencia de un agente de esterificación.

5 Por agente de esterificación se entiende un compuesto o composición reactivos que permite la esterificación de los lípidos neutros que llevan un grupo ácido carboxílico.

Los agentes de esterificación son bien conocidos por los expertos en la técnica y, en particular, se eligen entre alcoholes de cadena corta; alcoholes de cadena corta y un catalizador elegido entre ácidos y bases; carbonato de dimetilo; un biocatalizador; y carbonato de dimetilo y un biocatalizador.

Por biocatalizador se entiende en particular una enzima que cataliza o realiza la reacción de esterificación.

10 En particular, el agente de esterificación es metanol o etanol, y opcionalmente una base como hidróxido o hidróxido de potasio. El agente de esterificación también puede ser carbonato de dimetilo y un biocatalizador como Novozyme 435.

15 En presencia de un agente de esterificación, que se mezcla con el CO<sub>2</sub> supercrítico, se puede realizar tanto la extracción como la transesterificación de los lípidos, lo que lleva a la extracción de los ésteres metílicos de los ácidos grasos -FAMES- o ésteres etílicos de los ácidos grasos -FAEEs-, cuando dicho agente de esterificación es, por ejemplo, metanol o etanol respectivamente, en presencia o no de un catalizador.

La transformación de lípidos neutros en los ésteres correspondientes mejora la separación, ya que los ésteres son más solubles en CO<sub>2</sub> supercrítico que sus correspondientes lípidos (glicéridos o ácidos grasos libres).

Cuando se mezclan alcoholes de cadena corta con el CO<sub>2</sub> supercrítico, juegan el papel tanto de un modificador polar como de un agente de esterificación, dependiendo de la concentración en alcohol.

20 Preferiblemente, el proceso se lleva a cabo a una presión comprendida entre 8 y 30 MPa y a una temperatura comprendida entre 35 y 70 °C.

La presión está por debajo de 30 MPa para asegurar una cierta diferencia entre las densidades de las fases encontradas mientras permite la solubilización de los lípidos neutros y los compuestos de interés en la fase supercrítica.

La presión está por debajo de 70 °C para evitar la degradación de los compuestos termolábiles.

25 La relación en masa [caudal del CO<sub>2</sub> supercrítico]/[caudal de la suspensión] está comprendida preferiblemente entre 2/1 y 250/1. En particular, estos valores son adecuados independientemente de las dimensiones de la columna (altura y diámetro interno) del contactor, más particularmente a escala de laboratorio, piloto o industrial.

30 El caudal de CO<sub>2</sub> supercrítico puede estar comprendido entre 3 y 20 kg.h<sup>-1</sup> y el caudal de suspensión puede estar comprendido entre 0,08 y 1,5 kg.h<sup>-1</sup> para una columna de dos metros de altura con un diámetro interno de aproximadamente 20 mm. Estos valores son particularmente adecuados a escala de laboratorio.

El caudal de CO<sub>2</sub> supercrítico puede ser de aproximadamente 50 kg.h<sup>-1</sup> y el caudal de suspensión puede ser de aproximadamente 5 kg.h<sup>-1</sup> para una columna de 4 metros de altura con un diámetro interno de aproximadamente 58 mm. Estos valores son particularmente adecuados a escala piloto.

35 El caudal de CO<sub>2</sub> supercrítico puede ser de aproximadamente 600 kg.h<sup>-1</sup> y el caudal de la suspensión puede ser de aproximadamente 50 kg.h<sup>-1</sup> para una columna de 8 metros de altura con un diámetro interno de aproximadamente 126 mm. Estos valores son particularmente adecuados a escala industrial.

40 Cuando el contactor es una columna de fraccionamiento, el contacto entre la alimentación y la fase supercrítica puede mejorarse mediante el uso de un empaquetamiento en la columna de fraccionamiento. De hecho, la columna de fraccionamiento que se usa es preferiblemente una columna de fraccionamiento empaquetada. Las columnas de fraccionamiento empaquetadas permiten aumentar la superficie de contacto entre las fases encontradas, lo que permite una buena transferencia de masa.

En particular, el empaquetamiento de la columna de fraccionamiento se elige entre empaquetamientos aleatorios y empaquetamientos estructurados, más particularmente los que se venden respectivamente bajo la marca registrada Interpack® o Sulzer®.

45 Un ejemplo de un empaquetamiento apropiado para la columna de fraccionamiento es un empaquetamiento aleatorio vendido bajo la marca comercial Interpack® 10 mm. Este empaquetamiento tiene una superficie específica de 580 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>.

Otro ejemplo de empaquetamiento es un empaquetamiento estructurado comercializado bajo la marca comercial Sulzer® CY, que puede usarse para columnas industriales.

El empaquetamiento Interpack® de 10 mm es un empaquetamiento de metal (acero inoxidable).

El empaquetamiento Sulzer® CY es un empaquetamiento hecho de material híbrido de malla.

5 Gracias a la alta superficie de contacto entre las dos fases y gracias a las propiedades específicas de transferencia de masa de fluidos supercríticos, el CO<sub>2</sub> se difunde fácilmente en la masa de pasta de microalgas o la leche y más especialmente en el interior de las células de microalgas, extrayendo así los compuestos más solubles. El hecho de que la biomasa de microalgas esté en suspensión en agua ayudará a la transferencia de los diferentes solutos a través de las membranas celulares húmedas, blandas y potencialmente hinchadas.

La presión y la temperatura que se aplicarán durante el proceso dependerán de la solubilidad de los compuestos que se extraerán de la suspensión elegida entre biomasa de microalgas o leche mediante CO<sub>2</sub> supercrítico. Por ejemplo, se obtiene una buena solubilización de lípidos neutros (no polares) a 60 °C y 30 MPa.

10 Además, la presión y la temperatura que se utilizarán para llevar a cabo el proceso de la invención también dependen de la diferencia entre la densidad de la suspensión elegida entre biomasa de microalgas o leche y la densidad de CO<sub>2</sub> supercrítico. Esta diferencia no debe ser inferior a 150 kg m<sup>-3</sup>.

15 Las fases que salen de la parte superior y de la parte inferior de la columna de fraccionamiento fluyen naturalmente por diferencia de gravedad. La fase superior, que es el extracto (o fase más ligera), contiene principalmente CO<sub>2</sub> supercrítico más lípidos neutros (y/u otros compuestos de alto valor añadido), y bajas cantidades de agua extraída de la suspensión. La fase inferior generalmente se llama el refinado (o fase más pesada). La fase inferior está compuesta principalmente por agua, células de microalgas, partículas de desecho y bajas cantidades de CO<sub>2</sub>, en el caso de la biomasa de microalgas, y principalmente de agua, material sólido (glúcidos, proteínas, minerales, etc.) y bajas cantidades de CO<sub>2</sub>, en el caso de la leche.

20 Las dos fases (fases superior e inferior) se recogen continuamente mediante una simple despresurización.

Al salir de la columna de fraccionamiento, las fases superior e inferior vuelven a una presión más baja (que la presión de fraccionamiento) o directamente a la presión ambiente.

25 Cuando llega a presión ambiente, el CO<sub>2</sub> supercrítico vuelve al estado gaseoso y los compuestos objetivo se separan espontáneamente del CO<sub>2</sub>. La fase superior se despresuriza y el CO<sub>2</sub> se separa de la fase restante líquida llamada extracto recogido en un separador. El extracto se compone principalmente de lípidos neutros (tri-, di- y monoglicéridos, así como de ácidos grasos libres), algunos de ellos son compuestos de alto valor añadido (ácidos grasos ω-3) y, cuando la suspensión es una biomasa de microalgas, de pigmentos y/o antioxidantes lipófilos. El extracto puede contener bajas cantidades de agua. El CO<sub>2</sub> se puede reciclar con una tasa de reciclaje por ejemplo del 98 %.

30 La fase inferior está despresurizada y el CO<sub>2</sub> (contenido en cantidades bastante pequeñas) se separa de la fase restante líquida llamada refinado. El refinado contiene grandes cantidades de agua, células de microalgas (cuando la suspensión es una biomasa de microalgas) y los diferentes compuestos no solubles en CO<sub>2</sub> supercrítico.

La separación entre el extracto y el refinado, y el CO<sub>2</sub> supercrítico es espontánea y se realiza fácilmente mediante una simple despresurización.

35 En la parte superior de la columna, se pueden usar uno o varios separadores. Varios separadores con diferentes condiciones de presión y temperatura pueden permitir una separación selectiva de los compuestos extraídos. Como, por ejemplo, los compuestos triglicéridos o ácidos grasos ω-3 pueden separarse de los pigmentos. En ese caso, la presión disminuye secuencialmente desde el primer separador hasta los siguientes. Los compuestos menos solubles se recuperarán en el primer separador, mientras que los compuestos más solubles se recogerán en el último separador.

40 El uso de un gradiente de presión a lo largo de varios separadores es bien conocido por los expertos en la técnica y, en particular, se describe por Michel Perrut en "Extraction par fluide supercritique", j2770, Techniques de l'Ingénieur, 1999.

La fase de refinado se puede someter a decantación para separar las células de microalgas de la fase líquida acuosa.

45 La columna de fraccionamiento puede comprender varias secciones en las que se pueden aplicar diferentes temperaturas. El reflujo interno inducido puede mejorar la separación. En ese caso, la alimentación no se puede introducir en la parte superior de la columna si no en la mitad o entre la mitad y la parte superior. La presión se establecería preferentemente entre 8 y 20 MPa. De hecho, para tales condiciones de presión, se observa el comportamiento retrógrado. Eso significa que la solubilidad del soluto en CO<sub>2</sub> supercrítico disminuye cuando la temperatura aumenta. Por lo tanto, si la sección superior está a una temperatura más alta que las otras inferiores, el soluto solubilizado en la fase supercrítica en las secciones más bajas, se condensará (ya que serán menos solubles a una presión más alta) creando un reflujo interno.

50 El uso de un gradiente de temperatura a lo largo de varias secciones de un contactor, en particular una columna de fraccionamiento, es bien conocido por los expertos en la técnica y, en particular, lo describe Michel Perrut (*ibid.*).

Para que el proceso de la invención se entienda mejor, a continuación se muestra un ejemplo de su realización.

## Figuras

La Figura 1 es un diagrama esquemático de una unidad de fraccionamiento a escala de laboratorio que se puede utilizar en el proceso de la invención. Esta unidad de fraccionamiento incluye una columna empaquetada denominada 1, con un diámetro interno de 19 mm y 2 m de altura con una celda de visualización (no representada) ubicada en la parte inferior de la columna 1, debajo de la boquilla de inyección (no representada) del disolvente (CO<sub>2</sub> supercrítico). La temperatura de la columna 1 se controla mediante dos camisas de calefacción independientes, denominadas 2 y 3.

C1: refrigerador; H1, H2: calentadores; P1, P2: Bombas de alta presión, S1: separador; PV: regulador de contrapresión; V1-V7: válvulas - (1) columna; (2), (3): secciones de columna.

La Figura 2 es un diagrama esquemático de una unidad de fraccionamiento a escala piloto o industrial que se puede utilizar en el proceso de la invención. Esta unidad de fraccionamiento incluye una columna empaquetada denominada 1. La temperatura de la columna 1 se controla por medio de cuatro camisas de calefacción independientes, denominadas 2-5.

C1, C2: refrigeradores; H1-H4: calentadores; P1, P2: Bombas de alta presión, S1, S2, R2: separadores; R1: tanque intermedio; PV: regulador de contrapresión; V1-V12: válvulas - (1) columna; (2) - (5) secciones de columna.

**Ejemplo 1:** fraccionamiento supercrítico de lípidos neutros (principalmente triglicéridos y ácidos grasos) a partir de una suspensión de microalgas

El proceso de la invención se describirá en referencia a la figura 1 adjunta, que es un diagrama esquemático de una unidad de fraccionamiento utilizada en el proceso de la invención.

Esta unidad de fraccionamiento incluye una columna empaquetada denominada 1 en la figura 1, con un diámetro interno de 19 mm y 2 m de altura con una celda de visualización (no representada) ubicada en la parte inferior de la columna 1, debajo de la boquilla de inyección (no representada) del disolvente (CO<sub>2</sub> supercrítico).

La columna es capaz de soportar presiones de hasta 30 MPa, y su temperatura (de 35 a 70 °C) se controla mediante dos camisas de calefacción independientes, denominadas 2 y 3 en la figura 1. La columna se llena con empaquetamiento aleatorio 10 mm Interpack® de VFF (Alemania), con una densidad aparente medida de 588 kg m<sup>-3</sup>, una superficie específica de 580 m<sup>-1</sup> y una fracción de vacío (porosidad equivalente) de 0,917 para mejorar la eficiencia de transferencia de masa.

Durante la operación, el dióxido de carbono que se introduce a través de una válvula denominada V6 en la figura 1, a 4,5 MPa se enfría a 278 K (5 °C) en un intercambiador de calor de doble tubo, denominado C1 en la figura 1, antes de ser bombeado y luego calentado a la temperatura de trabajo, por un calentador denominado H2 en la figura 1. Una bomba de pistón de alta presión, denominada P2 en la figura 1, de Separex (Francia) con una capacidad máxima de 15 l h<sup>-1</sup> de dióxido de carbono líquido y una presión máxima alcanzable de 35 MPa suministra el CO<sub>2</sub> supercrítico con el caudal adecuado. En este ejemplo, la temperatura de trabajo es de 60 °C y la presión de trabajo es de 25 MPa. Esas condiciones permiten la recuperación de lípidos neutros con alta eficiencia de separación.

Sin embargo, la temperatura puede variar de 35 a 70 °C y la presión puede variar de 10 a 30 MPa.

La relación de CO<sub>2</sub> sobrealimentado en el presente ejemplo varía entre 20 y 150 correspondientes a un caudal de CO<sub>2</sub> establecido en 12 kg h<sup>-1</sup> y el caudal de alimentación varía de aproximadamente 0,08 hasta 0,55 kg h<sup>-1</sup>.

Sin embargo, este caudal de CO<sub>2</sub> puede variar de 5 a 15 kg h<sup>-1</sup>.

Cuando el CO<sub>2</sub> supercrítico sale de la columna 1, la corriente de cabeza se despresuriza a través de un regulador de contrapresión, denominado PV en la figura 1, para recuperar el extracto en un separador ciclónico presurizado, denominado S1 en la figura 1. El extracto se calienta utilizando el calentador H1 colocado entre la salida de la columna y el separador para garantizar mantener la temperatura deseada.

La fase rica en CO<sub>2</sub> ya no es un fluido supercrítico, después se recicla y se condensa en el refrigerador C1 para reducir el consumo de dióxido de carbono.

Si la separación entre los compuestos extraídos y el CO<sub>2</sub> no es completa, se puede usar un aparato adicional para purificar la fase rica en CO<sub>2</sub>. Por ejemplo, se puede usar carbón activado para asegurar la separación completa de los gases.

En este ejemplo, la concentración de la biomasa de algas es de 100 g l<sup>-1</sup>.

Sin embargo, esta concentración puede variar de 0,5 a 200 g l<sup>-1</sup>.

La mezcla líquida que se alimenta mediante una bomba de pistón Gilson 307 HPLC, denominada P1 en la figura 1, que tiene una capacidad máxima de 20 ml min<sup>-1</sup> (aproximadamente 1,2 kg h<sup>-1</sup>), a través de una válvula denominada V1 en la figura 1.

El caudal de CO<sub>2</sub> supercrítico se controla con un caudalímetro de masa Rheonik® RHE 14 (Alemania) (no representado

en la figura 1), mientras que el caudal de alimentación de la biomasa de algas se controla directamente mediante la velocidad de la bomba P1.

El extracto que contiene lípidos neutros y el refinado se recogen desde la parte inferior del separador ciclónico S1 y de la columna 1, respectivamente, mediante regulación manual de las válvulas correspondientes, denominadas V2 y V7 en la figura 1.

La biomasa de microalgas se introduce en la parte superior de la columna 1 a través de una bomba denominada P1 y una válvula denominada V1 en la figura 1.

El disolvente supercrítico (CO<sub>2</sub> supercrítico) se introduce en la parte inferior de la columna (1).

Así, el CO<sub>2</sub> supercrítico y la biomasa de algas circulan en la columna a contracorriente. El CO<sub>2</sub> supercrítico solubiliza todos o parte de los lípidos neutros y/o los productos con un alto valor añadido como pigmentos o antioxidantes. Si se usa dióxido de carbono puro, los lípidos neutros son los compuestos más solubles y serán "extraídos" preferentemente de las células de algas. Esos lípidos neutros pueden ser tri-, di- o monoglicéridos, así como ácidos grasos libres. Incluso si se utiliza CO<sub>2</sub> supercrítico puro, ya que el agua puede actuar como un codisolvente, el β-caroteno también se puede solubilizar en la fase ligera. Si se agrega un modificador polar (etanol, por ejemplo) al CO<sub>2</sub> supercrítico, algunos compuestos polares más se solubilizarán en la fase fluida, como la astaxantina o la luteína, y se mejorará la extracción de β-caroteno.

La biomasa de algas, a partir de la cual se extrajeron los lípidos neutros y los compuestos de interés, se recupera en la parte inferior de la columna a través de una válvula, denominada V7 en la figura 1.

En el presente caso, ya que el caudal de alimentación varía de 0,08 hasta 0,55 kg h<sup>-1</sup>, se puede recuperar una cantidad de lípidos neutros que varía de 16 a 100 g después de una hora de producción para una biomasa que contiene 20 % en peso (de materia seca) de lípidos neutros y para una recuperación completa. Esas cantidades pueden ser tan altas como 10 kg (de lípidos neutros) por hora de producción a mayor escala, por ejemplo, con una columna de 8 m de altura y con un diámetro interno de 126 mm.

Cuando el CO<sub>2</sub> supercrítico se despresuriza, vuelve a su estado gaseoso, de modo que el aceite que contiene los lípidos y cualquier compuesto de interés se separan espontáneamente.

En el presente caso, el aceite contenía 20 % en peso (de materia seca) de lípidos neutros y hasta 2 % en peso (de materia seca) de compuestos polares (antioxidantes).

Los glicéridos (tri-, di- y mono-), los ácidos grasos libres, los antioxidantes y los otros compuestos de interés se pueden separar entre sí.

Los triglicéridos se separan de los antioxidantes utilizando diferentes separadores con diferentes condiciones de presión y temperatura. Como por ejemplo, se pueden establecer las condiciones de operación del primer separador en 20 MPa y 40 °C permitiendo la recuperación de pigmentos. Se pueden establecer las condiciones operativas del segundo separador a 6 MPa y 40 °C, permitiendo la recuperación de glicéridos.

### **Ejemplo 2:** Deslipidación de la leche

Dependiendo de su origen, la leche está constituida por aproximadamente 87 % de agua y aproximadamente 13 % de extracto seco. El extracto seco representa aproximadamente 130 g.l<sup>-1</sup> y contiene un promedio de 35 a 45 g de grasa. Aproximadamente el 98,5 % de la fracción grasa son lípidos simples en suspensión: 95 a 96 % son triglicéridos, 3 % son diglicéridos, el resto son monoglicéridos.

Dado que el contenido de agua y la composición de los lípidos neutros son casi iguales para la suspensión de leche y microalgas, el aparato, el método y las condiciones operativas expuestas en el ejemplo 1 se pueden aplicar para ambos tipos de alimentos.

Como por ejemplo, la temperatura de trabajo en la columna se fija en 60 °C y la presión de trabajo es 25 MPa.

La relación en masa del CO<sub>2</sub> sobrealimentado en el presente ejemplo (por ejemplo, para una columna de 2 m de altura) varía entre 20 y 150 correspondientes a un caudal de CO<sub>2</sub> establecido en 12 kg.h<sup>-1</sup> y el caudal de alimentación varía de 0,08 hasta 0,55 kg.h<sup>-1</sup>.

El extracto está constituido por la totalidad de lípidos neutros y el refinado contiene agua y material sólido (glúcidos, proteínas, minerales, ...). La separación de la materia seca y el agua se puede realizar por ultrafiltración.

**REIVINDICACIONES**

1. Un proceso de fraccionamiento de una suspensión elegida entre biomasa de microalgas o leche, que comprende las siguientes etapas:

- 5 a) poner en contacto la suspensión con un disolvente que consiste en CO<sub>2</sub> supercrítico en un contactor, se introducen la suspensión y el CO<sub>2</sub> supercrítico a contracorriente,
- b) recuperar continuamente una fase rica en CO<sub>2</sub> supercrítico que sale de la parte superior del contactor, después de ponerse en contacto con la suspensión, la fase rica en CO<sub>2</sub> supercrítico que contiene lípidos extraídos de la suspensión y un refinado que sale del fondo del contactor,
- 10 c) separar continuamente los lípidos neutros y/o los compuestos de interés contenidos en la fase rica en CO<sub>2</sub> supercrítico, y el refinado,
- d) se lleva a cabo el proceso que no comprende ninguna etapa para romper las células de la biomasa de algas antes de la etapa a).

2. El proceso de la reivindicación 1, en donde la suspensión es una biomasa de microalgas, teniendo dicha biomasa de microalgas una concentración de microalgas comprendida entre 0,5 y 200 g.l<sup>-1</sup> de microalgas.

15 3. El proceso de la reivindicación 1, en donde la suspensión es leche, siendo dicha leche de origen animal o vegetal.

4. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el contactor es una columna de fraccionamiento, en particular una columna de fraccionamiento empaquetada, o un mezclador decantador.

5. El proceso de la reivindicación 4, en donde el empaquetamiento de la columna de fraccionamiento se elige entre empaquetamientos aleatorios y empaquetados estructurados.

20 6. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el fraccionamiento se lleva a cabo a una presión comprendida entre 8 y 30 MPa y a una temperatura comprendida entre 35 y 70 °C.

7. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, llevado a cabo con la relación en masa [caudal CO<sub>2</sub> supercrítico]/[caudal de suspensión] comprendida entre 2/1 y 250/1.

8. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, llevado a cabo con:

- 25 - el caudal de CO<sub>2</sub> supercrítico comprendido entre 3 y 20 kg h<sup>-1</sup> y el caudal de suspensión comprendido entre 0,08 y 1,5 kg h<sup>-1</sup>;
- el caudal de CO<sub>2</sub> supercrítico de aproximadamente 50 kg h<sup>-1</sup> y el caudal de suspensión de aproximadamente 5 kg h<sup>-1</sup>; o
- 30 - el caudal de CO<sub>2</sub> supercrítico de aproximadamente 600 kg h<sup>-1</sup> y el caudal de suspensión de aproximadamente 50 kg h<sup>-1</sup>.

9. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el CO<sub>2</sub> supercrítico separado se recircula en la columna de fraccionamiento.

35 10. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde los lípidos neutros se eligen entre triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos libres y sus mezclas, siendo los lípidos neutros en particular ácidos grasos ω-3.

11. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde los compuestos de interés son antioxidantes, carbohidratos o pigmentos.

12. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la etapa de contacto a) se realiza en presencia de un modificador polar y/o un agente de esterificación.

40

Figura 1

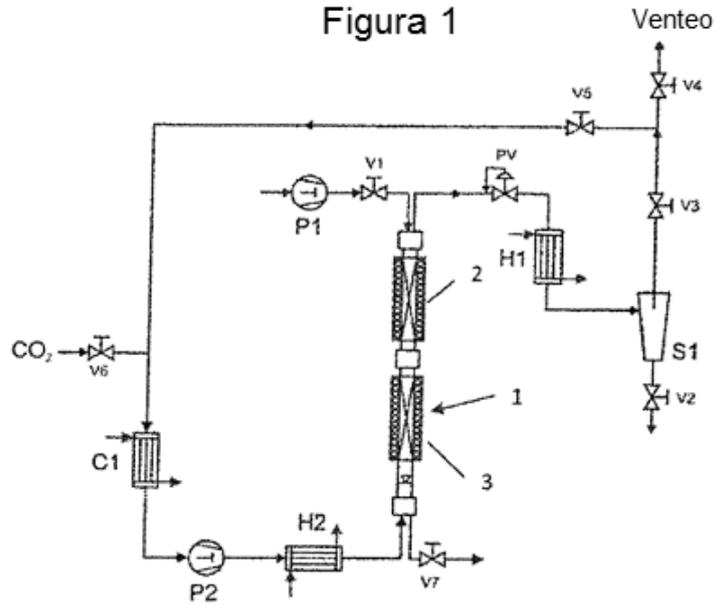


Figura 2

