UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUIMICA Y AMBIENTAL
SANTIAGO-CHILE

EXTRACCIÓN DE TRIGLICÉRIDOS DESDE *NANNOCHLOROPSIS SP*. USANDO CO_2 SUPERCRÍTICO COMO SOLVENTE

CRISTÓBAL JOSÉ GÓMEZ LÓPEZ

MEMORIA DE TITULACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE

INGENIERO CIVÍL QUÍMICO

PROFESOR GUÍA: **DR. GONZALO NÚÑEZ MONTOYA.**

PROFESOR CORREFERENTE: **DR. DANIEL NAVIA LÓPEZ.**

NOVIEMBRE 2017

Dedicado a mis amados padres, mis queridos amigos y a toda la gente que nunca me dejó solo…

"You'll Never Walk Alone"

Agradecimientos

Al finalizar este trabajo de memoria, quiero agradecer primero a mis padres Patricia y José, a los más grandes cracks de la historia de todo el universo conocido y por conocer. Gracias por su aguante durante todo estos años, su amor incondicional y por acompañar absolutamente a todas las instancias posibles, ¡los amo de aquí al infinito! A mi familia: la luz de mi camino, mis hermanos y sus familias, y sobretodo cada uno de mis sobrinos, los regalones. El amor y el cariño son el combustible perfecto para esta máquina que tenemos dentro del corazón.

Agradecer a mis amigos queridos, mis compañeros, pero sobre todo a ese círculo cercano que brinda energía en todo momento, ya sea con una sonrisa o con una palabra de aliento. En esos momentos de flaqueza, son esas buenas vibras las que daban ese impulso que se necesitaba para seguir arremetiendo con todo. Gracias por enseñarme que hay que entregarse por entero, en absolutamente todo lo que te propongas, con pasión y sobretodo, con sentimiento.

Al Departamento de Ingeniería Química y Ambiental de la UTFSM, Campus San Joaquín. Especialmente al profesor Gonzalo Núñez: guía de este camino supercrítico, gracias por su paciencia y por el entusiasmo que le pone a su trabajo; al profe Daniel Navia, cuya ayuda en el modelo fue crucial para salir del pantano de la modelación, y muy especialmente a los apoyos académicos: a Jeamilette, Victoria, Roberto, Jorge, Marcelo y Natalia, cuyos paternales consejos y ayuda invaluable, fueron muy importantes en todo momento, no solo en el laboratorio, sino que en el desarrollo de este largo camino.

Al proyecto FONDECYT n° 11140737, liderado por el profesor Gonzalo Núñez, muchas gracias por darme la oportunidad de hacer un aporte en un tema tan interesante e innovador. Disfruté muchísimo todo lo relacionado con este trabajo; desde las problemáticas que fueron frecuentes en la puesta en marcha, hasta que pude realizar las curvas de extracción donde "*Hazal*" se pudo portar bien al fin, y no tuvo mañas en los flujos de CO_2. Espero de todo corazón, que este proyecto llegue a buen término.

Y agradecer al Club Deportivo Universidad Católica, al Pitbull, al Milo, al Huaso, fuentes de corazón, coraje, resiliencia y muchísima pasión. *"El orgullo que todos llevamos adentro / El orgullo que tengo de ser cruzado / y si juntos mojamos la camiseta / seguramente, damos la vuelta"*

Abstract

Biodiesel´s production needs of triglycerides for its production. The first generations of biofuels took the oily seeds as a source of triglycerides; this represented a quandary thinking that this raw material is a food source. That's why they look for alternative sources of greasy acids; one of them, which has a high growth and development, it is the micro seaweed, *Nannochloropsis sp* standing out, for its suppressed high place of greasy acids.

The target of this work was to extract triglycerides from this one micro seaweed using supercritical CO_2 in typical extraction conditions of operation in oily seeds (40 – 60 °C and 300 – 450 Bar). Also, he proposed to shape the matter transference with the hypothesis of linear driving force (Model LDF) to simulate the accumulative curves, and this way to obtain the different parameters of mass transfer.

The substratum (*Nannochloropsis sp*), it was a pre-agreement in pellets, with the goal to avoid the compression of the bed, which was producing canalization of CO_2 – SC´s flow and poor extraction yield. There was characterized physically the substratum (Oil content: 7.601%, Bed porosity: 4.92%), and triglyceride's extraction were realized in an extractor of 93.23 cm^3 using a superficial velocity in the order of 0.4 mm/s, for the later modeling using MATLAB by finite differences methodology.

Inside the observed results, the operational solubility behaved as bibliographical sources bring: in processes with pressure under the cross-over point (pressure where the solubility curves cross), an increase in temperature adversely affects the solubility; while on this point affects positively. Also, the experimental operational solubility is less than its thermodynamic value (11.88 % average for 300 bar and 4.79 % for 450 bar), this owes principally because, under these conditions it predominates over the extra-particle mass transfer, extracting in majority, the triglyceride that solubilize in initial natural form with the supercritical CO_2. This is justified by the clear extraction yield for each conditions of operation (57.33 % of average clear yield for 300 bar and 37 % for 450 bar), and the values of the global, external and internal coefficients of mass transfer, obtained for every case.

Additionally it appreciated for this work, the pretreatment wasn´t sufficient to achieve a interconnected pores network, justifying itself this way, the predominance of the external mass transfer.

On having confirmed the model and the experimental information, the Linear Drivin Force Model (LDF), it is adapted to extractions of *Nannochloropsis sp* triglycerides, to conditions of extraction used usually in the industry. Nevertheless, it is important to know the cross-over point to determine where they begin to appreciate more significant differences in the adjustment parameters.

Resumen

Las primeras generaciones de biocombustibles tienen como fuente de materia prima, las semillas oleaginosas y otras fuentes vegetales; esto representa un dilema considerando que es una fuente de alimento. Es por esto que se buscan fuentes alternativas de triglicéridos para producir biodiesel; una de ellas son las microalgas, que tienen un alto crecimiento y desarrollo científico. Dentro de las microalgas se destaca por su alto contenido en ácidos grasos, la *Nannochloropsis sp*.

El objetivo de este trabajo fue extraer triglicéridos de esta microalgas utilizando CO_2 supercrítico en condiciones típicas de extracción en semillas oleaginosas (40 – 60 °C y 300 – 450 Bar). Además, se propuso modelar la transferencia de materia con modelo de fuerza impulsora lineal (Modelo LDF) para simular las curvas acumulativas, y así obtener los distintos parámetros de transferencia de materia.

El sustrato utilizado (*Nannochloropsis sp.)*, fue pre-tratado en forma de comprimidos con el objetivo de evitar la compactación del lecho, que producía canalización del flujo de CO_2 y pobre rendimiento de extracción. Se caracterizó físicamente el sustrato (contenido de aceite: 7,6 %, porosidad de lecho: 4,9 %), y se realizaron las extracciones de triglicéridos en un extractor de 93,23 cm^3 usando una velocidad superficial de 0,4 mm/s. Finalmente, con los datos experimentales se realiza la posterior modelación mediante software MATLAB.

Dentro de los resultados observados, la solubilidad operacional se comportó como reportan fuentes bibliográficas: en procesos con presión bajo el *punto de cross-over* (punto donde se cruzan las curvas de solubilidad vs presión), un aumento de temperatura afecta negativamente la solubilidad; mientras que sobre este punto afecta positivamente. Además, la solubilidad operacional experimental es menor que su valor termodinámico (un 11,12% para 300 bar y un 4,79% para 450 bar), esto se debe principalmente, debido a que, bajo estas condiciones predomina la transferencia de materia extra-partícula, extrayéndose en gran mayoría, el triglicérido que solubiliza de forma natural inicialmente con el CO_2 supercrítico. Esto se justifica con el rendimiento de extracción neto para cada una de las condiciones de operación (57,33% de rendimiento neto para 300 bar y 37 % para 450 bar), y con los valores de los coeficientes globales, externos e internos de transferencia de materia obtenidos para cada caso.

Al contrastar el modelo y los datos experimentales, el Modelo de Fuerza Impulsora Lineal (LDF), es adecuado para modelar extracciones de *Nannochloropsis sp*. Sin embargo, es importante conocer el punto de *cross-over* para determinar en dónde se comienzan a apreciar diferencias más significativas en los parámetros de ajuste.

Índice de contenidos

1. Introducción 9
1.1 Extracción con Fluidos Supercríticos (FSC) 12
1.1.1 Características de los fluidos supercríticos 12
1.1.2 Proceso de extracción supercrítica 14
2 Objetivos del estudio 17
3 Materiales y Métodos 18
3.1 Materiales utilizados 18
3.1.1 Materia prima 18
3.1.2 Insumos empleados para medición de porosidad de lecho 19
3.1.3 Solvente empleado para la extracción 20
3.2 Equipamiento empleado 20
3.2.1 Equipos para la caracterización de materia prima 20
3.2.2 Equipo de Extracción Supercrítica 22
3.2.3 Flujómetro para leer el caudal de CO_2 24
3.2.4 Equipo de medición de masa 25
3.3 Método de trabajo experimental 25
3.3.1 Determinación de la porosidad de lecho 25
3.3.2 Extracción supercrítica: Condiciones de operación 26
3.3.3 Procedimiento durante la extracción supercrítica 27
3.3.4 Modelo de Fuerza Impulsora Lineal (LDF) 28
3.3.5 Resolución Modelo LDF 31
4 Resultados y Discusión 33
4.1 Resultados caracterización previa 33
4.2 Resumen soluto extraído neto 34
4.3 Resultados de extracción supercrítica a presión constante 35
4.4 Rendimiento de extracción 40
4.5 Coeficiente de transferencia de materia 42
4.6 Análisis estadístico del Modelo LDF 45
4.7 Extracciones a temperatura constante 47
4.8 Proceso de modelación: extracción total máxima 49
4.8.1 Modelos a 300 Bar 49

4.8.2 Modelos a 450 bar 51
5 Conclusiones y Recomendaciones 52
5.1 Recomendaciones 54
6. Bibliografía 55
6 Anexos 57

Índice de Tablas

Tabla 1: Contenido lipídico de algunas especies de microalgas. (Adaptado de Chisti, 2007) 9
Tabla 2: Comparación de diversas fuentes de materia prima para biodiesel, según su rendimiento por unidad de superficie (Chisti, 2007) 10
Tabla 3: Intervalo de algunas propiedades fisicoquímicas de gases, líquidos y fluidos supercríticos (Adaptado de Del Valle & Aguilera, 1999) 13
Tabla 4: Propiedades críticas de diversos fluidos. (Adaptado de del Valle & Aguilera, 1999) 14
Tabla 5: Información nutricional *Nannochlropsis sp* (Desert Bioenergy, 2015) 18
Tabla 6: Dimensiones de pellet de geometría cilíndrica de *Nannochloropsis sp* 18
Tabla 7: Especificaciones técnicas cilindro de CO_2 Indura (Indura, 2017) 20
Tabla 8: Dimensiones de los canastos que contienen tanto la materia prima, como las perlas de vidrio en el equipo de extracción 23
Tabla 9: Datos principales balanza Radwag AS 82.220 R2 (Radwag, 2017) 25
Tabla 10: Número de corridas experimentales, realizadas en el presente trabajo a distintas condiciones de operación 26
Tabla 11: Resumen datos operacionales generales para cada una de las extracciones. 28
Tabla 12: Resumen resultados obtenidos del procedimiento de alúmina 33
Tabla 13: Resultados obtenidos de la extracción *Soxhlet* 33
Tabla 14: Resumen de extracción neta de soluto para cada procedimiento experimental 34
Tabla 15: Constante de equilibrio lineal, para cada una de las extracciones realizadas 37
Tabla 16: Solubilidades operacionales obtenidas tanto operacional como termodinámicamente para las distintas condiciones de extracción. 37
Tabla 17: Soluto inicialmente disponible, en base a la solubilidad operacional para cada una de las extracciones 39
Tabla 18: Asíntotas observadas a 300 y 450 Bar, en conjunto con la cantidad de aceite extraído 40
Tabla 19: Rendimiento de extracción para cada una de las condiciones operacionales, tanto en el vial como en el proceso neto 41
Tabla 20: Porcentaje de aceite extraído, al interior del vial para cada condición operacional 42
Tabla 21: Difusividades efectivas a 300 y 450 Bar, en conjunto a su factor microestructural 43

Tabla 22: Coeficiente de transferencia de materia externo, para cada condición operacional 44
Tabla 23: Coeficientes globales de transferencia de materia, según los datos experimentales..... 44
Tabla 24: Coeficientes de transferencia de materia (interno, externo y global), para cada una de las extracciones realizadas 45
Tabla 25: Coeficientes de determinación (r^2), para cada uno de las extracciones experimentales 46
Tabla 26: Resumen propiedades obtenidas de las curvas experimentales a 40 °C 48
Tabla 27: Resumen propiedades obtenidas de las curvas experimentales a 60 °C 49
Tabla 28: Resumen solubilidades modelos a 300 bar, con cantidad total máxima de aceite constante 50
Tabla 29: Resumen solubilidades modelos a 450 bar, para extracción total de aceite. 51
Tabla 30: Resultados extracciones supercríticas a 40 °C y 300 bar 62
Tabla 31: Resultados extracción supercrítica a 60 °C y 300 bar 62
Tabla 32: Resultados extracción supercrítica a 50 °C y 400 bar 63
Tabla 33: Resultados extracción supercrítica a 40 °C y 450 bar 63
Tabla 34: Resultados extracción supercrítica a 60 °C y 450 bar 64
Tabla 35: Diferentes tecnologías relacionadas con pretratamiento y extracción de lípidos provenientes de microalgas, además de su potencial de escalamiento (3 alto escalamiento, 1 bajo escalonamiento)..... 65
Tabla 36: Detalles técnicos celda de extracción *Eurotechnica* HPE lab-500 66
Tabla 37: Principales estudios revisados donde se utiliza CO_2 supercrítico para extracción de lípidos..... 0

Índice de Figuras

Figura 1: Diagrama de bloques, del proceso de obtención de triglicéridos a partir de microalgas. 11
Figura 2: Diagrama Presión vs Temperatura para el CO_2, elaborado mediante programa NIST – Refprop. ... 13
Figura 3: Diagrama esquemático del proceso de extracción con CO_2 – SC 15
Figura 4: Curva de rendimiento acumulado en un proceso de extracción supercrítica, junto a sus zonas respectivas. 16
Figura 5: Pellets de *Nannochlopsis sp*. Empleados en este trabajo experimental. 19
Figura 6: Oxido de Aluminio (Alúmina) empleada en el cálculo de porosidad de lecho. 19
Figura 7: Equipo *Soxhlet* utilizado para la extracción de aceite, para el proceso de caracterización (Ubicado en el Laboratorio de Alta Presión de la UTFSM, Campus San Joaquín). 21
Figura 8: Bomba de vacío Boeco, modelo R-300 empleado en el procedimiento experimental (Boeco) 21
Figura 9: Rotavapor Buchi, modelo R-3 empleado en el procedimiento experimental (Buchi, 2017) 21
Figura 10: Celda de extracción mediante CO_2 – SC, *Eurotechnica*, HPE Lab-500, utilizado en el Laboratorio de Alta Presión de la UTFSM Campus Santiago – San Joaquín 22
Figura 11: Chaqueta calefactora para el cilindro de CO_2, marca LMK *Thermosafe* 22
Figura 12: Perlas de vidrio de 1 mm de diámetro, disponibles para el equipo de extracción 23

Figura 13: Canasto donde se encuentra el lecho de microalgas en el proceso de extracción supercrítica 24
Figura 14: Canasto donde se encuentran las perlas de vidrio en el proceso de extracción supercrítica. 24
Figura 15: Vial de vidrio donde se recolecta el aceite de microalga extraído 24
Figura 16: Flujómetro marca Ritter, modelo TG 10, empleado en el proceso experimental. 24
Figura 17: Diagrama del sistema de extracción supercrítico utilizado en el laboratorio. 27
Figura 18: Designación de los nodos de tipo axial, para el lecho de microalgas dentro del proceso de modelado/optimización 31
Figura 19: Datos experimentales de rendimiento acumulado en función del consumo específico de CO_2, para 300, 400 y 450 bar. 35
Figura 20: Datos experimentales de rendimiento acumulado en función del consumo específico de CO_2, en conjunto con sus modelos respectivos para 300, 400 y 450 bar. 36
Figura 21: Curvas de solubilidad en CO_2 – SC, en función de la presión, en el tramo de desarrollo experimental, (modificado según modelo de del Valle, de la Fuente, & Uquiche, 2012) 38
Figura 22: Gráfica de los datos experimentales, en función de su valor dentro del modelo. 46
Figura 23: Curvas de extracción a 40 °C, junto a sus respectivos modelos 47
Figura 24: Curvas de extracción a 60 °C, junto a sus respectivos modelos 48
Figura 25: Modelos de rendimiento acumulado total de aceite, en función del consumo especifico de CO_2 a 300 bar. 50
Figura 26: Modelos de rendimiento acumulado total de aceite, en función del consumo especifico de CO_2 a 450 bar. 51
Figura 27: Bomba Neumática correspondiente al equipo de extracción supercrítica 60
Figura 28: Válvula BPR del equipo de extracción. 61

1. Introducción

Dentro de la botánica, se considera alga a cualquier organismo con *clorofila* y un cuerpo no diferenciado en raíces, tallo y hojas (Salazar, 2012). Dentro de esta definición se engloban dos grandes grupos: las macroalgas y las microalgas.

Las macroalgas son organismos fotosintéticos multicelulares de rápido crecimiento y gran tamaño, viviendo principalmente en zonas que tienen acceso a una gran cantidad de luz y nutrientes (Salazar, 2012). Por otro lado, las microalgas son cuerpos microscópicos que normalmente crecen en suspensión dentro de un cuerpo acuático y poseen ciertas características de las bacterias (como las algas azules que cuentan con núcleos celulares indiferenciados y sin membrana). La mayoría de microalgas poseen flagelos móviles los cuales favorecen su traslado, constituyendo los principales componentes del fitoplancton marino (plancton vegetal) (Salazar, 2012). Debido al gran número de especies existentes con distintas características funcionales, existe un gran interés para el desarrollo científico y productivo con potencial desde el punto de vista fisiológico y bioquímico.

Las microalgas son una materia prima que busca ser aprovechada por diversas industrias, tales como la cosmética, la alimenticia y por sobre todo, la energética sumando un total estimado de US$ 1643 billones anuales el año 2012 (Merino, 2012). En relación con esta última el uso de microalgas como materia prima para la producción de biocombustibles ha cobrado importancia en los últimos años por el creciente interés a nivel mundial en fuentes de energías renovables menos contaminantes. Dicho interés potencial se sustenta en el alto contenido másico de lípidos y alta tasa de reproducción por unidad de superficie que poseen.

El contenido lipídico de varias especies de microalgas viene señalado en la Tabla 1, en donde destaca la especie *Nannochloropsis sp.* con un alta cantidad porcentual de lípidos, la cual fluctúa entre un 31% y 68 % (Chisti, 2007).

Tabla 1: Contenido lipídico de algunas especies de microalgas. (Adaptado de Chisti, 2007)

Especie de microalga	Contenido lipídico (% en masa seca)
Botryococcus braunii	25 – 75
Chlorella sp.	28 – 32
Monallanthus salina	> 20
Nannochloris sp.	20 – 35
Nannochloropsis sp.	31 – 68
Neochloris oleoabundans	35 – 54
Nitzschia sp.	45 – 47
Phaeodactylum tricornutum	20 – 30
Schizochytrium sp.	50 – 77

Adicionalmente las microalgas tienen una rápida tasa de crecimiento en espacio reducido, lo que permite obtener una mayor cantidad de aceite por unidad de área de cultivo y tiempo al ser comparado con otras fuentes vegetales (tales como vegetales y/o semillas oleaginosas), de modo

que permite limitar el uso de los terrenos cultivables de alimentos para consumo humano. Esta característica se traduce en que se necesita una menor cantidad de dicho terreno para obtener la misma cantidad de aceite necesario para producir biodiesel. Dicha característica que la diferencia de otras fuentes vegetales de aceite, se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2: Comparación de diversas fuentes de materia prima para biodiesel, según su rendimiento por unidad de superficie (Chisti, 2007)

Cultivo	Rendimiento por superficie $m^3_{aceite} m^{-2}_{area}$	Área necesaria[1] $m^2 \times 10^{10}$	Porcentaje del área de cultivo[2] %
Maíz	1,72	1540	846
Semilla de soya	4,46	594	326
Canela	11,90	223	122
Jatropha	18,92	140	77
Coco	26,89	99	54
Aceite de Palma	59,50	45	24
Microalga (70%, bs)	1,37	2	1,1
Microalga (40%, bs)	0,587	4,5	2,5

[1] Necesarias para satisfacer el 50% del consumo total de combustibles en Estados Unidos (Chisti, 2007)

[2] Porcentaje del área de cultivo disponible en Estados Unidos (Chisti, 2007)

Se aprecia en la tabla anterior que, para cubrir el 50% de las necesidades en combustible de EEUU (0,53 billones de m^3 al año) se necesitan 1540 millones de hectáreas de plantaciones de maíz, mientras que solo se necesitan 2 millones de hectáreas de microalgas al 70% de porcentaje en peso de lípidos, mostrándose que se requiere mucho menos espacio de cultivo para obtener la misma cantidad de lípidos.

Es por esto que se hace necesario desarrollar metodologías que permitan obtener de forma eficaz a niveles industriales, el contenido lipídico de esta materia prima con el objetivo de poder transformarla posteriormente en biocombustible útil; ya que se prevé que en los próximos años se reducirán los costos de producción (los cuales actualmente son elevados tanto energética como monetariamente) y siendo cada vez más competitivos frente a los combustibles fósiles (Cavieres, 2011).

Además en nuestro país existe un gran potencial para el cultivo de microalgas; sobre todo en la zona norte donde se presentan extensas tierras disponibles (con alta radiación solar, necesaria para el crecimiento de microalgas) hoy sin valor productivo, las cuales buscan ser explotadas por diversas empresas interesadas en reducir sus emisiones de CO_2 (compuesto necesario para el crecimiento de microalgas). Abriéndose una ventaja industrial para el desarrollo tecnológico de este tipo de procesos en Chile. (Revista Aqua, 2016).

Específicamente este trabajo se enfoca en la obtención de triglicéridos a partir de la especie *Nannochloropsis sp*, debido a que esta alga ha demostrado ser una de las más adecuadas para la producción de biocombustibles debido a su facilidad de crecimiento y alto contenido lipídico (principalmente ácidos grasos como el palmítico y linoleico), que permite producir un biodiesel de calidad según especificaciones internacionales (Gouveia L. , 2008).

Para realizar el proceso de extracción del aceite proveniente de microalgas, se realiza el siguiente procedimiento (Halim, 2012), el cual viene se presenta en la Figura 1.

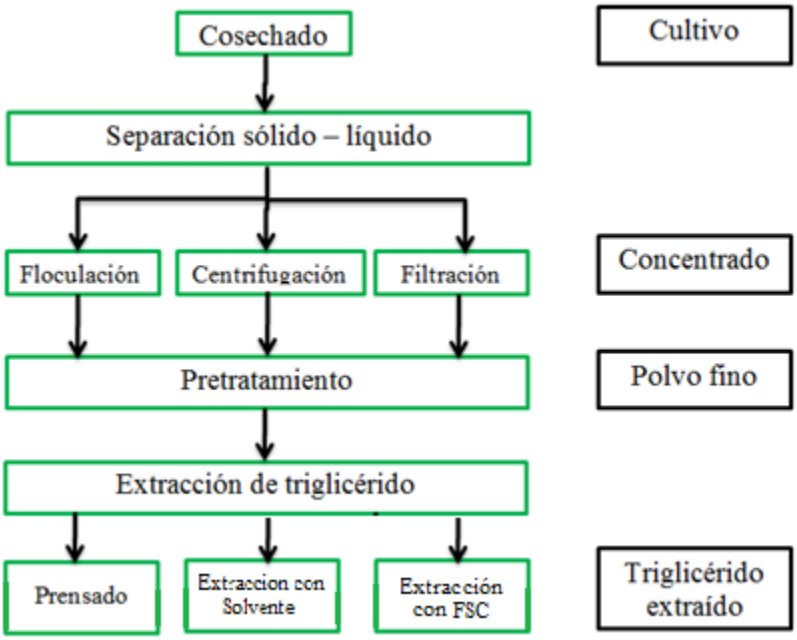


Figura 1: Diagrama de bloques, del proceso de obtención de triglicéridos a partir de microalgas.

Luego de cosechar del cultivo se procede a realizar etapas de separación solido-liquido tales como: centrifugación, floculación o filtración. El objetivo es eliminar el agua del cultivo de microalgas hasta una concentración de entre 10 – 450 g/L (Halim, 2012). El cultivo de microalgas que se obtiene de este proceso, se conoce como "concentrado".

Posteriormente el concentrado pasa a etapas de pretratamiento dependiendo del tipo de extracción a realizar, con el objetivo de mejorar la eficiencia de la extracción de lípidos subsecuente. Este proceso puede tomar diferentes caminos, pudiendo ser realizado en uno o varios pasos dependiendo de las alteraciones de biomasa deseadas. Los distintos tipos de pretratamientos son:

- Ruptura de las paredes en las células vegetales, teniendo como objetivo la liberación de los lípidos intracelulares al medio circundante, ayudando al proceso de extracción.
- Vía de pre-tratamiento de 2 pasos, que consiste en el secado del concentrado y posterior molienda, hasta formar polvo fino reduciendo el diámetro de partícula. Este pretratamiento tiene como objetivo el eliminar el agua residual, facilitando la transferencia de materia durante la extracción.

Estas dos etapas se pueden realizar en conjunto, también existen casos donde no es necesario realizar pretratamiento, llevándose a cabo la extracción de lípidos directamente.

En el Anexo: *Tecnologías relacionadas con el pretratamiento y extracción de lípidos provenientes de microalgas*, se presenta el desarrollo y grado de escalamiento industrial de cada una de las diversas técnicas tanto de cultivo, deshidratación, pretratamiento y extracción de lípidos para

microalgas, entregados en las diversas fuentes bibliográficas.

Con respecto a la etapa de extracción propiamente tal, la biomasa pre-tratada se expone a una elución disolvente, extrayendo los lípidos desde las matrices celulares. Este proceso es facilitado por las características en que se encuentra la materia prima pre-tratada, tales como tamaño de partícula, grado de ruptura celular o grado de humedad.

Para extraer el aceite desde fuentes vegetales los tres procesos más comunes son: prensado hidráulico, prensado expeler y extracción con solventes. Estos últimos consisten usualmente en extracciones sucesivas mediante lavados en contracorriente con hexano (fluido que se utiliza debido a su facilidad para separar por ebullición), luego la materia que forma el lecho desengrasado es llevada a un tostador-desolventizador para recuperar el solvente. El hexano es removido del aceite en evaporadores de película y finalmente destilado a vacío (Grasso, 2013). Sin embargo el hexano es un fluido tóxico, por lo que buscan solventes alternativos para evitar su uso. Es ahí donde en los últimos años, aparece una alternativa: la extracción utilizando fluidos supercríticos (FSC), la cual se caracteriza por tener tiempos de proceso menores de extracción y mayor selectividad al contrastarla con el método de extracción por solventes tradicional (Salazar, 2012).

1.1 Extracción con Fluidos Supercríticos (FSC)

1.1.1 Características de los fluidos supercríticos

Un fluido supercrítico (FSC), es aquel que en condiciones de presión y temperatura supera a las de su punto crítico. Bajo estas condiciones, el fluido tiene propiedades físicas que lo hacen especialmente indicado como solvente de extracción.

Las principales características de los FSC son las siguientes: el valor de su viscosidad está próxima a las de un gas, aumentando sus propiedades de transporte; su densidad es similar a valores presentado en líquidos, favoreciendo la interacción entre las moléculas de solvente y soluto; pequeñas variaciones de presión y temperatura varían la densidad del fluido controlando así su poder solvente; y los coeficientes de difusión son similares a los líquidos, facilitando la transferencia de masa (del Valle & Aguilera, 1999).

La Figura 2 muestra el diagrama presión – temperatura para el CO_2, donde se destacan las zonas de interacción de las distintas fases, y el punto crítico, el cual es aquel punto determinado por la presión, temperatura y densidad crítica, en el que las fases líquido y vapor se vuelven indistintas entre sí (Esquivel & Bernardo-Gil, 1993). En el caso puntual para el dióxido de carbono, el punto crítico está determinado por una presión de 7,38 MPa y 31 °C de temperatura.

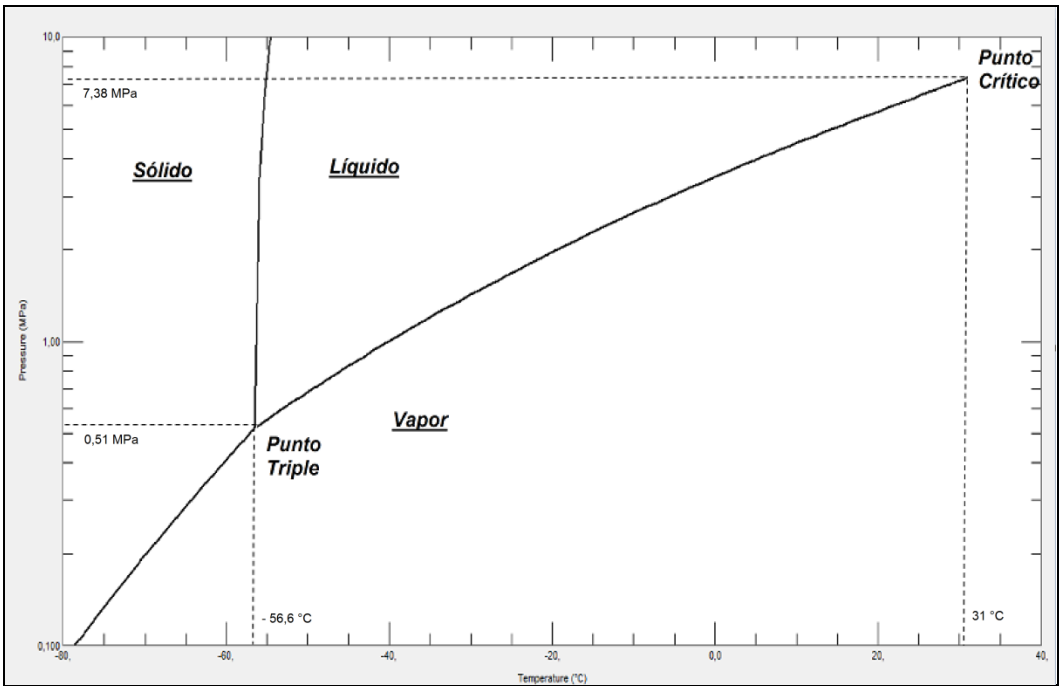


Figura 2: Diagrama Presión vs Temperatura para el CO_2, elaborado mediante programa NIST – Refprop.

Los fluidos supercríticos poseen la propiedad adicional, de que al existir pequeños cambios en la temperatura y/o presión de operación en la zona critica, se provocan grandes cambios en la densidad del solvente, y de este modo, en su poder disolvente mejorando del potencial de extracción. Debido a esto, los fluidos supercríticos se convierten en una alternativa interesante a los solventes convencionales en la recuperación de solutos desde matrices vegetales, aptas para el consumo humano (Aravena, 2011).

En la Tabla 3 se presenta una comparativa diferentes estados físicos, donde se aprecia lo mencionado anteriormente tanto para la densidad como para la viscosidad, denotando la ventaja que poseen estos fluidos para procesos de extracción de solutos.

Tabla 3: Intervalo de algunas propiedades fisicoquímicas de gases, líquidos y fluidos supercríticos (Adaptado de Del Valle & Aguilera, 1999)

Estado del Fluido		Densidad ρ $kg\ m^{-3}$	Difusividad D $m^2\ s^{-1}$	Viscosidad μ $kg\ s\ m^{-1}$
Gaseoso	P = 1 atm T = 15 – 30 °C	$0{,}6 - 2$	$1 - 4 \times 10^{-5}$	$1 - 3 \times 10^{-5}$
Líquido	P = 1 atm T = 15 – 30 °C	$200 - 1600$	$0{,}2 - 2 \times 10^{-9}$	$0{,}2 - 3 \times 10^{-3}$
Supercrítico	$P = P_C$ $\rho = \rho_c$	$200 - 500$	7×10^{-8}	$1 - 3 \times 10^{-5}$
	$P = 4\ P_C$ $\rho = \rho_c$	$400 - 900$	2×10^{-8}	$3 - 9 \times 10^{-5}$

Para llevar a cabo una extracción supercrítica a partir de sustratos vegetales de manera efectiva, las condiciones operacionales recomendadas son de entre 10 – 100 °C por encima de la temperatura crítica (T_c) del solvente y 50 – 300 bar sobre su presión crítica (P_c) (del Valle & Aguilera, 1999). Entre los compuestos que se utilizan en las extracciones, el dióxido de carbono (CO_2) se presenta como la mejor alternativa para la extracción utilizando alimentos como materia prima, puesto que puede actuar como solvente a temperaturas relativamente bajas ($Tc = 31°C$) para no dañar compuestos termolábiles presentes típicamente en sustratos vegetales, no es corrosivo en presencia de agua, no es inflamable ni provoca daños a los solutos ni a las matrices (del Valle & Aguilera, 1999), tal como se aprecia en la Tabla 4, que muestra la comparativa entre CO_2 y otros compuestos en sus propiedades críticas.

Tabla 4: Propiedades críticas de diversos fluidos. (Adaptado de del Valle & Aguilera, 1999)

Solvente	Propiedad crítica		
	Temperatura	Presión	Densidad
	K	atm	$kg\ m^{-3}$
Trifluoruro metano	299,1	46,9	520
Dióxido de Carbono	304,2	72,9	470
Etano	305,4	48,2	200
Dióxido de Nitrógeno	309,7	71,7	460
n-Propano	370	42,4	220

1.1.2 Proceso de extracción supercrítica

El proceso de extracción empleando un fluido supercrítico se comporta como si fuera un proceso de extracción convencional, el cual posee 2 etapas: la extracción propiamente tal y la separación entre fluido y soluto.

La materia prima pre-tratada (con tamaño de partícula y humedad conocidos) alimenta el equipo de extracción, posteriormente se presuriza el solvente supercrítico a las condiciones de operación requeridas (pasando a la fase supercrítica) para finalmente el CO_2 desplazarse sobre la superficie de las partículas que conforman el lecho para la desorción de los lípidos desde el interior de las partículas de microalgas. Inmediatamente después de la desorción, el CO_2 forma un complejo $FSC - lipido$ el cual se transporta mediante difusión por gradiente de concentración, desde el film del FSC hasta el seno del fluido.

La desorción de los lípidos desde la materia prima hacia el seno del solvente se produce en 4 etapas principalmente (Halim, 2012): en primer lugar ocurre la desorción de los lípidos de las microalgas dentro de la película estática de CO_2, posteriormente existe solubilización de los lípidos liberados en el FSC, luego ocurre la formación del complejo $FSC - lipido$ y finalmente ocurre la difusión de este complejo, mediante gradiente de concentración hacia el seno del fluido.

Finalmente, el complejo $FSC - lipido$ es transportado fuera del extractor, donde llega hasta una zona donde mediante una válvula de expansión, disminuye su presión volviendo el FSC al estado gaseoso para posteriormente ser liberado al ambiente, o recirculado en caso de ser necesario. Por otra parte, el soluto crudo precipita por gravedad a un tanque de almacenamiento siendo recolectado

posteriormente. La Figura 3, entrega un esquema de lo que representa un proceso de extracción mediante fluidos supercríticos, destacándose estas dos etapas.

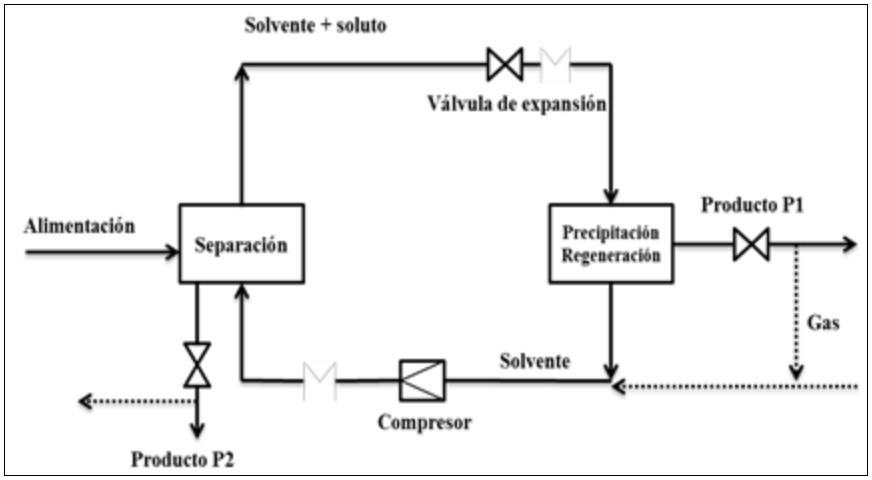


Figura 3: Diagrama esquemático del proceso de extracción con CO_2 – SC

Uno de los principales métodos para caracterizar cada una de las extracciones, son las curvas de rendimiento acumulado $(g_{soluto}/kg_{microalga})$ en función del tiempo transcurrido (t) o del consumo especifico del fluido supercrítico usado durante la extracción $(kg_{FSC}/kg_{microalga})$. Dichas curvas son confeccionadas con la masa contenida recolectada en ciertos intervalos de tiempo determinados arbitrariamente. Con dichas masas y la masa total de microalga utilizada se crea la curva de rendimiento acumulado en función del tiempo**.** Por otro lado para obtener la Curva de rendimiento acumulado en función del consumo específico, se debe obtener primero este último parámetro el cual se calcula en base al flujo promedio de solvente, obtenido a partir de un flujómetro.

El consumo específico se calcula mediante la Ec. 1:

$$Consumo\ Especifico = \frac{\dot{m}_{CO_2} \cdot t}{m_{microalga}} \tag{1}$$

En donde:

- $\dot{m}_{CO_2}$ Corresponde al flujo promedio de FSC durante el proceso de extracción (kg/s)
- t Corresponde al tiempo de cada punto de medición (s)
- $m_{microalga}$ Corresponde a la masa de microalga medida previamente (kg).

La Figura 3 entrega de forma esquemática, la curva de rendimiento acumulado vs consumo específico de CO_2, que se obtiene a partir de una extracción supercrítica. Dentro de esta gráfica se tienen 2 zonas importantes:

- Zona I: Donde se aprecia una pendiente lineal, es una zona de tasa de rendimiento de extracción constante, en esta parte del gráfico se puede obtener la solubilidad operacional (denotada por la pendiente inicial del tramo lineal en la curva).

- Zona II: En la segunda etapa se observa que la gráfica llega a un valor limitante de forma asintótica; este rendimiento máximo viene dado por la cantidad total de sustancias extraíbles dentro del lecho.

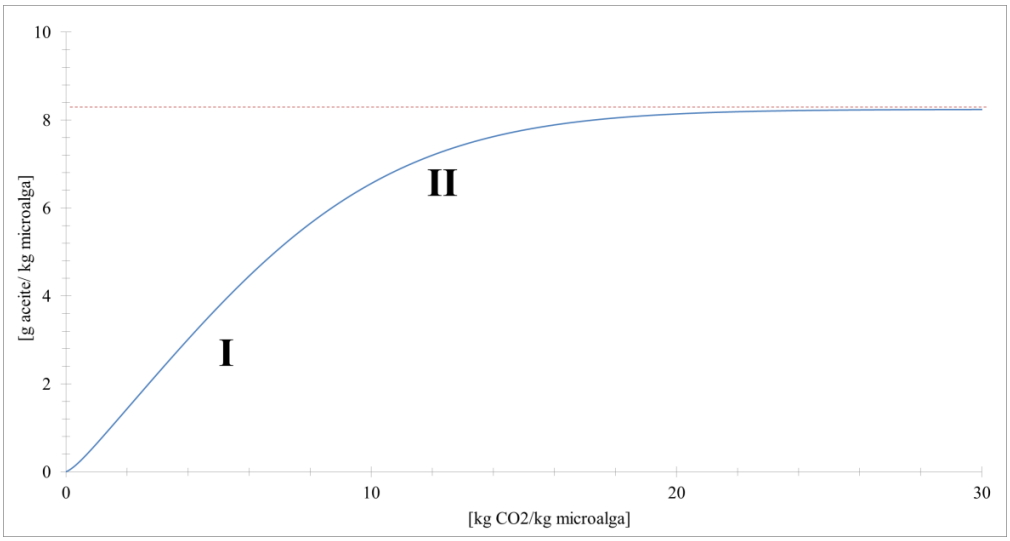


Figura 4: Curva de rendimiento acumulado en un proceso de extracción supercrítica, junto a sus zonas respectivas.

El proceso de extracción se puede modelar mediante un balance de materia diferencial a través del lecho, el cual entrega un sistema de ecuaciones diferenciales que relaciona las concentraciones al interior y al exterior de la partícula que integra el lecho. El modelo que se utilizará en el presente trabajo en conjunto a cada uno de sus parámetros, se desarrollará en el capítulo 3.3.3: *Modelo de Fuerza Impulsora Lineal (LDF)*. Adicionalmente, un resumen del balance general para el lecho empacado, viene entregado en el anexo 1: *Modelo general de extracción con CO_2 supercrítico*.

2 Objetivos del estudio

El objetivo principal de este trabajo de memoria es el siguiente: **Estudiar la extracción de triglicéridos a partir de *Nannochloropsis sp*, empleando CO_2 supercrítico ($CO_2 - SC$), como solvente a escala de laboratorio, para su posterior uso como materia prima para la producción de biocombustible.**

Por otro lado, los objetivos específicos de este trabajo de memoria son los siguientes:

i. Caracterizar el sustrato para obtener las propiedades principales útiles a la hora de la modelación.
ii. Generar curvas de cinética de extracción de triglicéridos (curva de extracción acumulada y de rendimiento), mediante $CO_2 - SC$, utilizando *Nannochloropsis sp* como materia prima, a diversas condiciones de presión y temperatura.
iii. Simular mediante software MATLAB empleando el modelo de Fuerza Impulsora Lineal (LDF), con el fin de obtener parámetros de ajuste para el modelo de extracción, al compararlo con datos experimentales reales.
iv. Determinar el coeficiente de difusividad efectiva para transferencia de materia en el proceso de extracción de *Nannochloropsis sp* a diferentes condiciones de operación dadas.
v. Determinar si el modelo de Fuerza Impulsora Lineal (LDF) es adecuado para predecir el proceso de extracción de triglicéridos empleando microalgas como sustrato, a un rango de condiciones de operación dado.

3 Materiales y Métodos

3.1 Materiales utilizados

3.1.1 Materia prima

La materia prima empleada es la especie *Nannochloropsis sp*, la cual fue seleccionada debido a su alto contenido lipídico (principalmente ácidos grasos insaturados y un porcentaje significativo de ácido palmítico), además de un contenido suficiente de ácidos polisaturados y linoleico que permite producir un biodiesel de calidad según las especificaciones internacionales (Gouveia L. , 2008). Esta microalga fue proporcionada por la empresa *Desert Bioenergy* y contiene la siguiente información nutricional, entregada por la Tabla 5 (Desert Bioenergy, 2015).

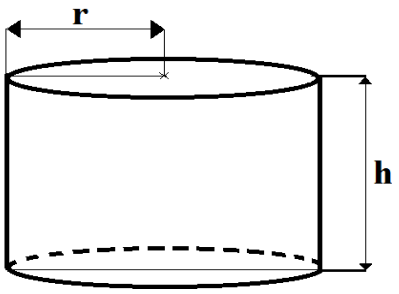
Tabla 5: Información nutricional *Nannochlropsis sp* (Desert Bioenergy, 2015)

Ítem		**100 g**
Proteína total (g)		34,8
Cenizas (g)		20,2
Fibra cruda (g)		2
Calorías $(kcal)$		314
Materia grasa (g)		25
% Materia grasa	Grasa saturada (%)	27,02
	Grasa monosaturada (%)	28,94
	Grasa polinsaturada (%)	42,92

El formato en el que se presenta la materia prima, es en forma de comprimidos de geometría cilíndrica. Esto es debido a que si se realizaba la extracción en el formato original de la empresa proveedora (polvo fino), se producía un rendimiento poco eficiente (producto de la formación de una torta en el lecho, impidiendo el paso de CO_2 entre las partículas de sólido, evitando la extracción de aceite). Las dimensiones de estos comprimidos que se utilizarán en las diferentes extracciones, se muestran en la Tabla 6:

Tabla 6: Dimensiones de pellet de geometría cilíndrica de *Nannochloropsis sp*

Radio (r), cm	0,35
Altura (h), cm	0,50
Volumen, cm^3	0,192
Diámetro equivalente[1], cm	0,716



1. Diámetro de una esfera del mismo volumen que la partícula a caracterizar, en cm

Dichos comprimidos fueron aglomerados empleado *Polivinilpirrolidona (PVP)* como agente aglomerante (bajo una proporción de: 5% p/p de aglutinante, 1% p/p de talco y 1% p/p de estearato

de magnesio), este proceso fue realizado por el Departamento de Química de la Pontificia Universidad Católica en su Campus San Joaquín. Este aglomerante es un polímero sintético, constituido esencialmente de grupos lineales 1-vinil-2-pirrolidona, el grado de polimerización del cual resultan en polímeros de varios pesos moleculares (Acofarma, 2010).

Los pellets utilizados, poseen una buena resistencia a esfuerzos tanto de compresión como de corte, convirtiéndose en una buena alternativa, para formar el lecho al cual circulara el FSC para que ocurra la extracción de triglicéridos. La Figura 5, entrega una imagen real de los pellets empleados en este trabajo.

Figura 5: Pellets de *Nannochlopsis sp*. Empleados en este trabajo experimental.

3.1.2 Insumos empleados para medición de porosidad de lecho

Para la determinación de la porosidad de lecho dentro del proceso de caracterización, se utiliza Oxido de Aluminio (Al_2O_3) conocido comercialmente como "*Alumina*". Este polvo fino cumple de manera adecuada los requisitos para ingresar dentro de cada uno de los espacios del lecho, para determinar su porosidad posteriormente. La alúmina utilizada, viene entregada por la empresa Heyn en formato de sacos de 1 kg, la Figura 6 entrega una referencia de este compuesto.

Figura 6: Oxido de Aluminio (Alúmina) empleada en el cálculo de porosidad de lecho.

3.1.3 Solvente empleado para la extracción

El insumo principal que se usa para el proceso de extracción, es el Dióxido de carbono. Este gas es proporcionado por la empresa Indura, y cuenta con certificación bajo la norma ISO – 9001 y Sistema ISO 22000 (Indura, 2017), además posee las siguientes características resumidas en la Tabla 7.

Tabla 7: Especificaciones técnicas cilindro de CO_2 Indura (Indura, 2017)

Propiedad	Valor entregado por Indura
Volumen (15 °C – 1 atm), m^3	18,7
Masa, kg	35
Presión, bar	49,9

Otro insumo utilizado durante el proceso de extracción fue el refrigerante, el cual tiene el objetivo de colaborar en el proceso de pre enfriado para poder llegar a las condensar el dióxido de carbono, para su bombeo posterior en la bomba neumática de doble pistón y presurizarlo hasta condiciones supercríticas de operación. El compuesto empleado en la refrigeración es etilenglicol ($C_2H_6O_2$). Dicho refrigerante se encuentra al interior de la unidad de refrigeración de la unidad de extracción *Eurotechnica HPE lab-500,* el cual se encuentra en una temperatura constante por defecto de – 10

3.2 Equipamiento empleado

En primer lugar se debe tener conocimiento de los parámetros principales de la materia prima a utilizar. Es por esto que se realiza un proceso de caracterización previa para conocer principalmente el porcentaje másico de lípidos dentro de la microalga a utilizar (empleando extracción *Soxhlet*). Por otro lado, dentro del procedimiento utilizado en laboratorio se tienen dos principales equipos relevantes los cuales son: flujómetro para medir el caudal volumétrico de CO_2 que circula a través del extractor, y el extractor propiamente tal (en conjunto con todos sus equipos adicionales, como chaquetas calefactoras, válvulas reguladoras de presión, medidores de presión y temperaturas anexos).

3.2.1 Equipos para la caracterización de materia prima

Para el proceso de extracción *Soxhlet* se emplearon dos equipos idénticos constituidos por un sifón, una sección para depositar la muestra y otra para que circule el refrigerante. Estas unidades fueron calentadas mediante mantas calefactoras (Soviquim). El funcionamiento del equipo consiste en evaporar el solvente mediante la manta calefactora, el cual llega a un condensador pasando a estado líquido el cual llega a la cámara de muestra donde extrae el aceite que cae hasta un balón de vidrio depositado en la parte inferior, una vez que el nivel de solvente en la cámara llega al nivel del sifón, éste se descarga y el ciclo se repite.

Figura 7: Equipo *Soxhlet* utilizado para la extracción de aceite, para el proceso de caracterización (Ubicado en el Laboratorio de Alta Presión de la UTFSM, Campus San Joaquín).

El solvente fue evaporado para su recuperación mediante un rotavapor (*Buchi*, modelo R-3, Figura 9). Seteado a una temperatura de 59 °C, trabajando en conjunto a una bomba de vacío (*BOECO*, modelo R-300, Figura 8), a una presión de vapor de 65 kPa.

Figura 8: Bomba de vacío Boeco, modelo R-300 empleado en el procedimiento experimental (Boeco)

Figura 9: Rotavapor Buchi, modelo R-3 empleado en el procedimiento experimental (Buchi, 2017)

3.2.2 Equipo de Extracción Supercrítica

El equipo principal dentro del proceso de extracción de triglicéridos a partir de microalgas como materia prima, es la celda de extracción (*Eurotechnica*, unidad de extracción – reacción HPE lab – 500, Figura 10), que tiene como parámetros límites de operación los 500 bar de presión y 120 °C de temperatura.

La Figura 10, muestra el montaje completo de la celda de extracción, la cual consta de: controles de temperatura enlazados a un pre-calentador *(preheater*) de potencia de 500 kW, una bomba de tipo neumática de doble pistón, un pre-enfriador con sistema de enfriado adicional mediante hielo externo, una válvula reguladora de contrapresión de tipo BPR (*Back Pressure Regulator*), una chaqueta calefactora con potencia de 240 W con el propósito de mantener caliente el cilindro gasificado de CO_2,, conexiones y tuberías de 0,25 in de diámetro, la zona donde se ubica el vial para la extracción del sustrato obtenido, la cual está inmersa en un baño empleando agua caliente con el objetivo de reducir la formación de CO_2 sólido (hielo seco) producto de la expansión de este fluido y el tanque de extracción propiamente tal el cual tiene un volumen de 280 mL.

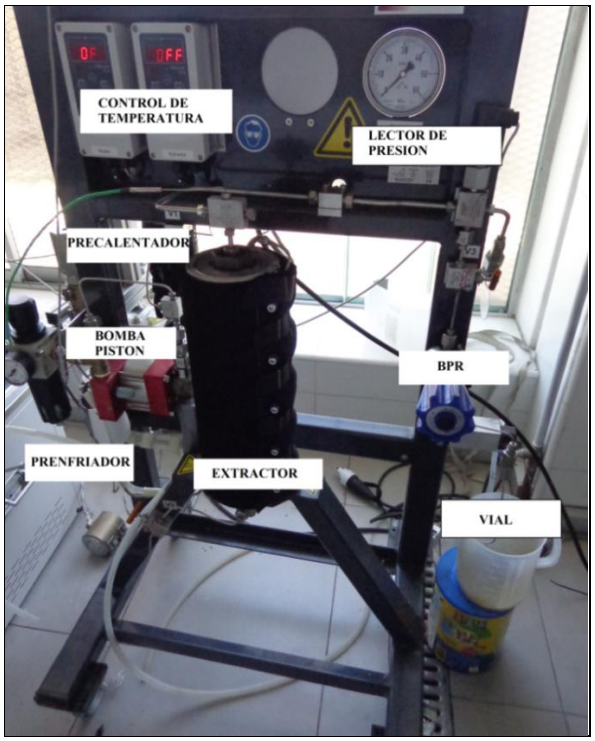


Figura 10: Celda de extracción mediante CO_2 – SC, *Eurotechnica*, HPE Lab-500, utilizado en el Laboratorio de Alta Presión de la UTFSM Campus Santiago – San Joaquín

Figura 11: Chaqueta calefactora para el cilindro de CO_2, marca LMK *Thermosafe*

Adicionalmente la materia prima alimentada en el extractor, se instala en canastos con el objetivo de formar el lecho empacado en donde ocurre el proceso. Al interior del equipo de extracción existen dos canastos: uno contiene la microalga propiamente tal, mientras que el otro contiene perlas de vidrio de aproximadamente 1 mm de diámetro, las cuales tienen como función aumentar el

volumen de lecho y disminuir consecuentemente el consumo de CO_2 dentro del extractor. Dichas perlas de vidrio se muestran en la Figura 12.

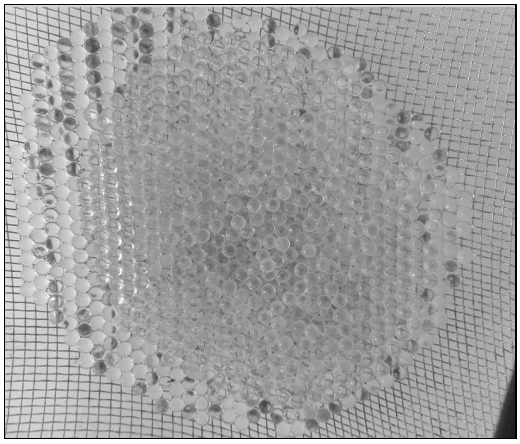


Figura 12: Perlas de vidrio de 1 mm de diámetro, disponibles para el equipo de extracción

Las dimensiones de dichos canastos se presentan en la Tabla 8, donde se aprecia que solamente difieren en su altura, siendo el canasto de mayor volumen en el que se priorizará la carga de microalgas; sin embargo, se pueden emplear ambos canastos para la materia prima, utilizando una cantidad de masa mayor y por lo tanto, una mayor cantidad de aceite a extraer.

Tabla 8: Dimensiones de los canastos que contienen tanto la materia prima, como las perlas de vidrio en el equipo de extracción

Propiedad	Canasto materia prima	Canasto perlas de vidrio
Diámetro interno (cm)	3,3	3,3
Diámetro externo (cm)	3,9	3,9
Altura (cm)	10,9	9
Volumen canasto (cm^3)	93,23	76,98

Finalmente para la recolección de aceite extraído, se utilizan viales de vidrio con un diámetro de 1,9 cm, los cuales deben ser lo suficientemente resistentes para soportar la expansión repentina de CO_2 y la formación de hielo seco producto de este cambio. La Figura 15 entrega una referencia de estos viales, donde destaca su forma alargada y sus 2 asas en donde se afirma a la estructura principal del equipo de extracción.

Figura 13: Canasto donde se encuentra el lecho de microalgas en el proceso de extracción supercrítica

Figura 14: Canasto donde se encuentran las perlas de vidrio en el proceso de extracción supercrítica.

Figura 15: Vial de vidrio donde se recolecta el aceite de microalga extraído

3.2.3 Flujómetro para leer el caudal de CO_2

Para poder conocer el flujo másico de dióxido de carbono que circula a través del equipo de extracción, se utiliza un método indirecto que requiere conocer el caudal que circula por un flujómetro a condiciones de presión y temperatura ambiental (*Ritter*, modelo TG – 10, Figura 16), el cual consta de las siguientes componentes: un medidor que lleva un registro acumulado de volumen que circula a través del equipo y un termómetro que mide la temperatura ambiente. Adicionalmente posee una manecilla que al dar una vuelta representa 10 L de fluido circulado a través del equipo, con una precisión de 0,1 L.

Figura 16: Flujómetro marca Ritter, modelo TG 10, empleado en el proceso experimental.

El procedimiento de medición de caudal es mediante un intervalo de tiempo determinado, viene dado por la Ec. 2:

$$\dot{m}_{CO_2} = \frac{[L_{Flu}(t_f) - L_{Flu}(t_o)] \cdot \rho_{CO_2}(P_{amb}, T_{Flu})}{t_f - t_o} \qquad (2)$$

En donde $L_{Flu}(t)$ representa la lectura del flujómetro para el instante de tiempo respectivo, ρ_{CO_2} es la densidad del dióxido de carbono a las condiciones de medición del flujómetro, y los tiempos t_o y t_f son los instantes de tiempos inicial y final respectivamente. Así se puede conocer el flujo másico de CO_2 ($\dot{m}_{CO_2}$).

3.2.4 Equipo de medición de masa

El equipo empleado para las mediciones de masa necesarias durante el procedimiento experimental, es una balanza analítica modelo *AS 82.220 R2* de la marca *Radwag*. Dicha balanza tiene una capacidad máxima de 220 g de masa, y consta de una precisión en la última cifra significativa que presenta, de 0,1 mg. Las principales características de dicha balanza, vienen entregadas en la Tabla 9:

Tabla 9: Datos principales balanza Radwag AS 82.220 R2 (Radwag, 2017)

Parámetro	Valor
Capacidad máxima	$82/220\ g$
legibilidad	$0{,}1/0{,}01\ mg$
Rango de tara	$-220\ g$
Repetibilidad	$0{,}015\ mg$
Linealidad	$\pm 0{,}06\ mg$

El equipo utilizado en el laboratorio tiene como objetivo, el obtener las masas para cada uno de los viales que poseen aceite extraído, durante el proceso de extracción, para así poder generar posteriormente las curvas de rendimiento acumulado respectivas. °C.

3.3 Método de trabajo experimental

El trabajo experimental se separa en 3 fases: caracterización de la materia prima y del lecho empacado para obtener parámetros útiles para el modelado, la extracción con CO_2 supercrítico de triglicéridos a partir de *Nannochloropsis sp*, y finalmente el modelado mediante *software* MATLAB, a diversas condiciones de presión y temperatura de operación, contrastándolo con los datos experimentales obtenidos para así obtener los diversos parámetros del modelo seleccionado (Modelo de Fuerza Impulsora Lineal) y coeficientes relevantes en la transferencia de masa.

3.3.1 Determinación de la porosidad de lecho

Para conocer la porosidad de lecho, se utilizó óxido de aluminio (Al_2O_3) conocido comercialmente como *Alúmina*. El método de obtención de dicho parámetro, viene dado por la relación siguiente (Andrighetti, 2014)

$$\varepsilon = \frac{V_{interparticula}}{V_{total}} \tag{3}$$

Se utiliza un polvo de alúmina muy fino, debido a que la delgadez del polvo es un parámetro

importante que permite minimizar el volumen intersticial entre la alúmina y las partículas sólidas. El procedimiento para obtener este parámetro de lecho, es el siguiente:

1. En base a un volumen determinado previamente en una probeta (tarada con antelación), se llena con una masa conocida de comprimidos de microalga.
2. Posteriormente se agrega alúmina, la cual tiene la facultad de introducirse en los espacios interparticular, procurando que entre por todos los espacios visibles agitando la probeta, permitiendo la compactación entre alúmina/microalga.
3. Se recalcula la masa del conjunto alúmina/microalga al interior de la probeta, obteniéndose indirectamente el volumen de alúmina agregado, en función de su masa.
4. Con ambos volúmenes (total e interpartícula, el cual representa la alúmina), se obtiene la porosidad de lecho, mediante la Ec. 4:

$$\varepsilon = \frac{V_{interparticula}}{V_{total}} = \frac{\frac{m_{(alumina+Microalga)} - m_{Microalga}}{\rho_{alumina}}}{V_{total}} \tag{4}$$

3.3.2 Extracción supercrítica: Condiciones de operación

Dentro del procedimiento experimental, destacan las extracciones empleando CO_2 supercrítico como solvente en la unidad de extracción a escala laboratorio, las cuales tenían como objetivo obtener las curvas acumuladas de extracción de triglicéridos a partir de *Nannochloropsis sp* a distintas condiciones de presión y temperatura. Posteriormente con dichos resultados experimentales, se obtienen los parámetros de transferencia de materia mediante procedimiento de mínimos cuadrados, en contraste con los datos experimentales para posteriormente emplear el modelo de Fuerza Impulsora Lineal (*Lineal Driving Force, LDF*), utilizando el software computacional MATLAB.

Para lograr dichas curvas se fijaron los siguientes datos operacionales, detallados en la Tabla 10. Se tienen 2 condiciones de temperatura: una superior (60°C) y una inferior (40°C) y 2 condiciones de presión: una superior (450 bar) y una inferior (300 bar) además de una condición intermedia (50°C – 400 bar). Realizándose un total de 7 extracciones.

Tabla 10: Número de corridas experimentales, realizadas en el presente trabajo a distintas condiciones de operación

		Presión bar		
		300	400	450
Temperatura °C	40	**(2)**	**-**	**(2)**
	50	**-**	**(1)**	**-**
	60	**(1)**	**-**	**(1)**

Dichas condiciones operacionales fueron establecidos bajo criterios empleados en extracciones de microalgas (Gouveia L. , 2012), como en otras especies vegetales (Uquiche, 2003; Whittle, 2015 y Andrich, 2006). Destacándose la combinación de 300 bar y 40 °C como las más empleada experimentalmente según bibliografía. Dichos criterios se debieron adicionalmente contrastar con

las limitantes del equipo de extracción a escala laboratorio, para poder así trabajar con holgura y evitar problemáticas posteriores en el manejo del mismo.

3.3.3 Procedimiento durante la extracción supercrítica

El procedimiento para el uso de la unidad de extracción (diagrama de la extracción desde el cilindro de CO_2, hasta la recolección en el vial, viene dado por la Figura 17), durante la extracción supercrítica, viene dado por los siguientes pasos:

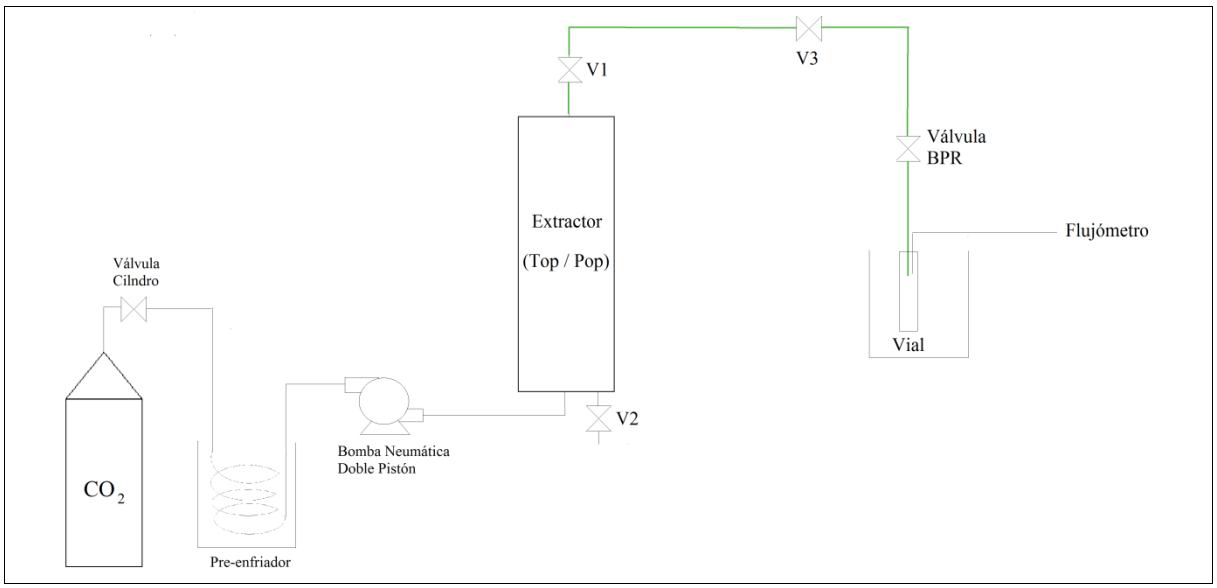


Figura 17: Diagrama del sistema de extracción supercrítico utilizado en el laboratorio.

1. Se llena el canasto respectivo (tarado previamente), con una cantidad con masa determinada de comprimidos de microalga, posteriormente se cierra el cilindro de extracción.
2. Luego de revisar que no existe ninguna fuga en el cilindro, se procede a fijar las condiciones operaciones de temperatura y presión en ese orden (con la válvula reguladora de presión BPR evitando que circule CO_2 hasta que se llegue a la presión determinada).
3. En el momento de tener las condiciones operacionales, se abre la válvula reguladora, comenzando a circular el CO_2, y con ello, la extracción. Se debe iniciar el conteo de tiempo.
4. Cuando el cronometro llegue a los tiempos determinados arbitrariamente (0, 5, 10, 20, 40, 60 y 90 minutos), se hace un intercambio en el vial donde se deposita la muestra, cambiándolo por uno vacío lo más rápido posible, para evitar perdida de material.
5. Posteriormente se masa la cantidad de aceite obtenido, generando la curva de rendimiento acumulado ($g_{ac}/kg_{microalga}$), ya que la cantidad de aceite extraída en ese tiempo, se suma con su valor anterior.

Un procedimiento más detallado para las extracciones realizadas, se encuentra en el anexo *Procedimiento Experimental: Paso a paso*, en conjunto con las precauciones que se deben tener a la hora de operar este equipo.

Además durante la extracción se establecen las condiciones de flujo del CO_2 que circula a través del

equipo, las cuales son: la velocidad superficial (U) que es un parámetro que depende del caudal volumétrico de CO_2 que atraviesa una sección transversal de lecho de forma efectiva, según la siguiente relación:

$$U = \frac{\dot{Q}}{A} = \frac{\frac{\dot{m}}{\rho_{CO_2}}}{\frac{\pi}{4}\, d^2} \tag{4}$$

Este parámetro se trató de mantener uniforme durante la extracción, sin embargo el flujo de dióxido de carbono era un parámetro dificultoso de controlar. Por lo que se estableció el rango de velocidad superficial entre 0,3 y 0,5 mm/s. Dicha variable es regulada mediante el trabajo conjunto entre la válvula BPR y el sistema de bombeo neumático. Cabe destacar, que el flujómetro TG-10 posee un tope máximo para su precisión de 0,72 mm/s de velocidad superficial, sin embargo dicho valor no es posible de alcanzar de forma adecuada bajo las condiciones actuales del equipo debido a la formación de hielo seco en exceso, taponeando las líneas e imposibilitando el funcionamiento normal del equipo. Es por esto, que se decidió emplear en este procedimiento experimental, una velocidad de extracción menor.

El resumen de todos los parámetros operacionales relevantes para cada una de las extracciones vienen dados en la Tabla 11.

Tabla 11: Resumen datos operacionales generales para cada una de las extracciones.

Presión	Temperatura	Densidad CO_2[1]	Carga microalga	Solubilidad termodinámica[2]	Velocidad superficial[3]	Flujo promedio CO_2[4]
Bar	$°C$	$kg\ m^{-3}$	g_{MA}	$g_{ac}\ kg_{CO_2}^{-3}$	$mm\ s^{-1}$	$g\ min^{-1}$
300	40	910,469	48,373	8,11	0,367	23,929
300	40	910,469	49,606	8,11	0,408	26,649
300	60	830,333	48,577	7,391	0,351	20,864
400	50	923,81	54,965	14,223	0,409	27,096
450	40	975,144	49,342	14,898	0,431	30,137
450	40	975,144	48,868	14,898	0,464	32,404
450	60	913,754	50,808	19,489	0,458	29,982

[1] Obtenida vía NIST REFPROP, enlazada al programa Microsoft Excel
[2] Tomado de correlación presentada en (del Valle, de la Fuente, & Uquiche, 2012, pág. 68).
[3] Valor promedio obtenido durante el proceso de extracción
[4] Valor promedio obtenido durante el proceso de extracción

3.3.4 Modelo de Fuerza Impulsora Lineal (LDF)

El modelo de Fuerza Impulsora Lineal (*Lineal Driving Force*, LDF), es una simplificación derivada de los modelos de Control de Transferencia de Masa Externa (EMTC), en el cual se desprecia la resistencia interna a la transferencia de masa (los gradientes de concentración de soluto intrapartícula (C_s) no existen), que depende solo de la componente axial z y la componente

temporal t. Este modelo es posible utilizarlo cuando la mayoría del aceite está disponible libremente en la superficie de la partícula (esto se puede dar cuando se produce una alta tasa de destrucción de las paredes de las células que contienen el aceite en su interior) o cuando la película de FSC estacionario es delgada (esto se produce cuando las velocidades intersticiales son bajas).

Se selecciona este modelo debido a que es uno de los más simplificados, además este modelo se aplica en extracción de lípidos en semillas oleaginosas, y se desea extrapolar para la extracción de lípidos provenientes de microalgas, debido a las necesidades crecientes para expandir las fuentes de lípidos diferentes de fuentes vegetales.

Una hipótesis de transferencia de masa que considera una aproximación usando un Modelo LDF, asume que el perfil de soluto residual al interior de la matriz solida con una forma parabólica (Uquiche, 2003). Este modelo además, se define como una función de la concentración promedio de soluto al interior de la partícula ($\overline{C_s}$). Usando esta aproximación, los efectos de difusión intrapartícula (D_e) y de transferencia de masa externa (k_f) pueden ser combinados en un coeficiente global de transferencia de masa (k_p), definido como:

$$k_p = \frac{5D_e k_f}{5D_E + Rk_f} \tag{5}$$

Un parámetro que se utiliza en el modelo LDF es el Flujo de transferencia de materia (flux) de carácter difusivo, entre la interfase partícula – fluido supercrítico, la cual se calcula según la Ec. 6 la cual depende de las concentraciones de soluto tanto en el lecho ($\overline{C_s}$), y en el seno del FSC (C_f), además del coeficiente global de transferencia de materia (k_p) y del radio de partícula (R) y de una constante de equilibrio K de tipo lineal, que caracteriza dicha interfase (Ec. 6).

$$J = \frac{3k_p}{R}\left(C_{fs} - C_f\right) = \frac{3k_p}{R}\left(\frac{1}{K}\overline{C_s} - C_f\right) \tag{6}$$

La constante K define la partición del soluto entre la fase sólida y la fase fluida y relaciona las concentraciones de soluto en el sólido con el fluido (en la interfase FSC – partícula) de forma lineal (Ec. 7).

$$K = \frac{\overline{C_s}}{C_{fs}} \tag{7}$$

Dentro de las distintas ecuaciones que conforman el balance de materia para el proceso de extracción de un trozo de lecho de altura infinitesimal son las siguientes (Uquiche, 2003; del Valle & de la Fuente, 2006). En primer lugar, se tiene el balance de materia en el seno del fluido (Ec. 8):

$$\frac{\partial C_f}{\partial t} + U\frac{\partial C_f}{\partial z} = \frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon}J \tag{8}$$

En donde C_f corresponde a la concentración (kg/m^3) de soluto extraíble en el seno del fluido (función dependiente del tiempo t y la componente axial z), U corresponde a la velocidad

superficial del fluido empleado como solvente (m/s), ε corresponde a la porosidad del lecho (fracción de espacio vacío) y J corresponde a flujo (flux) de soluto que circula por unidad de área, producto de la transferencia de materia (kg/sm^2); este parámetro J está relacionado con la variación de la concentración promedio de soluto, de característica intrapartícula ($\overline{C_s}$), (Ec. 9)

$$\frac{d\overline{C_s}}{dt} = -J \tag{9}$$

Este sistema de ecuaciones diferenciales posee 2 condiciones iniciales (una para cada concentración) y una condición de borde para la concentración de características axiales. La siguiente relación entrega la primera condición inicial del modelo para la concentración en el seno del fluido C_{f0} (Ec. 10),Esta ecuación viene dada por la cantidad de aceite que solubiliza naturalmente a las condiciones de operación (parámetro dado por la solubilidad del soluto en el CO_2, Y_a), la cual depende netamente de las condiciones iniciales de presión y temperatura, a través de todo el extractor, en el instante t = 0.

$$C_f(0,z) = C_{f0} = Y_a \cdot \rho_{CO_2}(P,T) \qquad (\forall z \in 0 \leq z \leq L) \tag{10}$$

Por otra parte, la segunda condición inicial (Ec. 11), representa la cantidad inicial promedio de soluto en la matriz sólida, donde C_{s0} representa la cantidad de soluto que queda en la matriz luego de la solubilidad natural del CO_2 para iniciar el proceso de extracción, esta condición es dependiente de la fracción másica de aceite en la microalga (x_o), la masa que se alimenta al extractor (m_{MA}), el volumen del extractor (V_{ext}) y los parámetros termodinámicos del CO_2 que dependen de las condiciones operacionales: la densidad (ρ_{CO_2}) y la solubilidad del soluto en el fluido (Y_a).

$$\overline{C_s}(0,z) = C_{s0} = x_o \cdot m_{MA} - V_{ext} \cdot Y_a \cdot \rho_{CO_2}(P,T) \qquad (\forall z \in 0 \leq z \leq L) \tag{11}$$

Debido a que el balance de materia, para el soluto que presenta el Modelo LDF posee una variación de la concentración en el seno del fluido del mismo a través de la componente axial, se debe incluir en el sistema de ecuaciones diferenciales una condición de borde (Ec. 12). Esta relación entrega como información que, para todo instante de tiempo antes del comienzo del extractor, no hay soluto disuelto en el fluido supercrítico.

$$C_f(t,0) = 0 \qquad (\forall t \geq 0) \tag{12}$$

Los parámetros requeridos para el modelo se obtienen mediante el caracterizado de la materia prima (porosidad de lecho, porcentaje en masa de aceite vegetal, dimensiones de la partícula, entre otros), mientras que los demás parámetros del proceso se obtienen de las condiciones de operación. Mientras que el resto de parámetros tales como la constante K de partición, la difusividad efectiva D_e y el coeficiente global de transferencia de materia k_p), se obtienen mediante el método de mínimos cuadrados, comparando lo predicho en el modelo con los datos experimentales.

3.3.5 Resolución Modelo LDF

Para resolver el sistema de ecuaciones diferenciales presentada en el Modelo LDF, se debe establecer un sistema de nodos en el lecho empacado donde se realiza la extracción. Debido a que el Modelo LDF no depende de la componente radial, basta con establecer nodos en el eje axial, en el sentido de circulación del CO_2 – SC (como muestra la Figura 18), es decir: el primer nodo es el que está en el fondo del extractor, y el nodo final está en el tope del mismo.

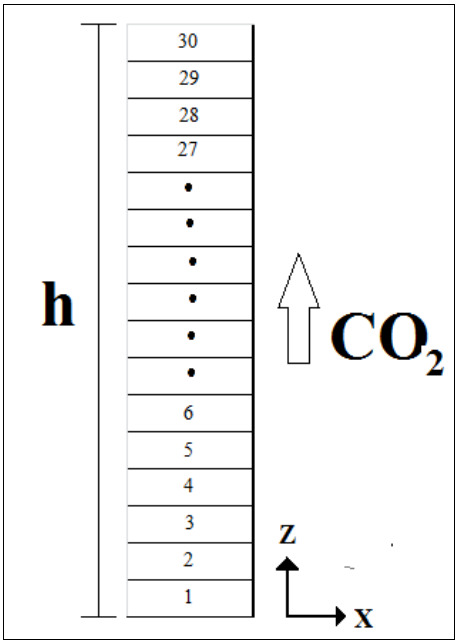


Figura 18: Designación de los nodos de tipo axial, para el lecho de microalgas dentro del proceso de modelado/optimización

El número de nodos viene definido de forma arbitraria. Para el análisis posterior se definió el número de nodos en 30, siendo calculada la altura que abarca cada nodo para la diferencia finita, de acuerdo a la siguiente relación:

$$\Delta z = \frac{h_{ext}}{n° \, nodos - 1} \tag{13}$$

Para resolver el sistema de ecuaciones presentado en el Modelo LDF se emplean diferencias finitas de tipo central para la derivada espacial, quedando un sistema de ecuaciones diferenciales temporales de la concentración de aceite, tanto en la microalga como en el fluido supercrítico. Estableciéndose como objetivo final conocer la funcionalidad de la concentración de aceite tanto en el fluido supercrítico (C_f), como en el lecho sólido ($\overline{C_s}$) para cada nodo, en cada instante de tiempo.

Para el primer nodo ($i = 1$), las ecuaciones que representan el Modelo LDF, vienen dadas por las ecuaciones 14, 15 y 16, obtenida mediante la aplicación de diferencias finitas de tipo central para la concentración de soluto en el seno del fluido, empleando los nodos 2 y el "nodo 0", dado por la condición de borde del modelo (Ec. 12).

$$\frac{dC_f(1,t)}{dt} = \frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon} J(1,t) - U\frac{(C_f(2,t) - C_f(0,t))}{2 \cdot \Delta z} \tag{14}$$

$$\frac{d\overline{C_s}(1,t)}{dt} = -J(1,t) \tag{15}$$

$$J(1,t) = \frac{3k_p}{R}\left(\frac{1}{K}\overline{C_s}(1,t) - C_f(1,t)\right) \tag{16}$$

Para los nodos intermedios (desde $i = 2$, hasta $i = n - 1$) el sistema de ecuaciones presentado en el Modelo LDF para cada uno de los nodos en cada instante de tiempo de simulación (Ec 17, 18 y 19). Se presenta la ecuación 17 obtenida mediante discretización con diferencias finitas centrales.

$$\frac{dC_f(i,t)}{dt} = \frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon} J(i,t) - U\frac{(C_f(i+1,t) - C_f(i-1,t))}{2 \cdot \Delta z} \qquad (\forall\, i = 2, \dots, n-1) \tag{17}$$

$$\frac{d\overline{C_s}(i,t)}{dt} = -J(i,t) \qquad (\forall\, i = 2, \dots, n-1) \tag{18}$$

$$J(i,t) = \frac{3k_p}{R}\left(\frac{1}{K}\overline{C_s}(i,t) - C_f(i,t)\right) \qquad (\forall\, i = 2, \dots, n-1) \tag{19}$$

Para el nodo final ($i = n$) se tiene el sistema de ecuaciones diferenciales temporales que forman el Modelo LDF (Ec 20, 21 y 22), destacándose la primera de estas, en la cual la derivada espacial de la concentración se establece bajo una condición especial del método de diferencias finitas (diferencia finita de segundo orden, en retroceso).

$$\frac{\delta C_f(n,t)}{\delta t} = \frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon} J(n,t) - U\frac{(3C_f(n,t) - 4C_f(n-1,t) + C_f(n-2,t))}{2 \cdot \Delta z} \tag{20}$$

$$\frac{\delta\overline{C_s}(n,t)}{dt} = -J(n,t) \tag{21}$$

$$J(n,t) = \frac{3k_p}{R}\left(\frac{1}{K}\overline{C_s}(n,t) - C_f(n,t)\right) \tag{22}$$

Resolviendo este sistema de ecuaciones diferenciales, es posible crear las curvas de extracción simuladas para cada una de las condiciones experimentales y compararlas con los datos experimentales para poder definir si el modelo LDF es adecuado o no para este tipo de procedimientos. En el Anexo: *Código de MATLAB, del Modelo LDF* se tiene el detalle del código empleado en este trabajo.

4 Resultados y Discusión

4.1 Resultados caracterización previa

La Tabla 12, entrega los resultados obtenidos en el procedimiento empleando alúmina para obtener la porosidad del lecho de *Nannochloropsis sp* (Ec. 4), apreciándose que el valor de porosidad de lecho que se utilizará en las modelaciones posteriores es de $0{,}0492 \pm 0{,}0045$.

Tabla 12: Resumen resultados obtenidos del procedimiento de alúmina

Volumen Total	Masa matraz	Masa matraz + microalga	Masa matraz + microalga + alúmina	Masa alúmina	Volumen interpartícula[1]	Porosidad lecho
mL	g	g	g	g	mL	$-$
11	53,542	58,893	61,246	2,353	0,596	0,0541
10	53,552	58,933	60,729	1,796	0,455	0,0455
11	53,553	59,066	61,144	2,078	0,526	0,0478
Porosidad promedio (-)				0,0492		
Desviación standard				0,0045		

[1] Volumen ocupado por alúmina en mL.

Por otra parte la Tabla 13 entrega los resultados obtenidos del porcentaje másico de aceite en la extracción *Soxhlet*, según el equipamiento mostrado en Figura 7. Cabe destacar que estos resultados fueron realizados empleando los comprimidos de *Nannochloropsis sp* en las mismas condiciones como si se fuera a utilizar en la extracción (aproximadamente el mismo contenido de humedad), para disminuir el ruido que pudiese ocasionar dicho parámetro. Se aprecia que según los resultados expresados en la tabla anterior, que la fracción másica de aceite de los comprimidos, es de $0{,}07601 \pm 0{,}01146\ g_{Ac}/g_{MA}$,

Tabla 13: Resultados obtenidos de la extracción *Soxhlet*

Extracción *Soxhlet*	Masa pastillas	Masa balón vacío	Masa balón + aceite	Masa aceite	Fracción masa aceite	Porcentaje aceite
	g_{MA}	g	g	g_{ac}	$g_{Ac}\ g_{MA}{}^{-1}$	%
1	1,0458	105,6513	105,7271	0,0758	0,07248	7,248
2	1,08503	105,6548	105,7272	0,0724	0,06673	6,673
3	1,08079	106,4458	106,5418	0,096	0,08882	8,882
Fracción masa aceite promedio en g_{Ac}/g_{MA}					0,07601	
Promedio porcentaje en masa del aceite en %					7,601	
Desviación standard del promedio del porcentaje en masa de aceite en %					1,146	

4.2 Resumen soluto extraído neto

Otro parámetro que se puede extraer desde la información experimental, corresponde a la cantidad de aceite extraído de forma neta, es decir, la cantidad total efectivamente extraída desde el lecho alimentado. Se obtiene al realizar una resta de la masa tanto antes como después de la extracción al canasto donde se encuentra el lecho. Estos valores para cada una de las extracciones realizadas, se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14: Resumen de extracción neta de soluto para cada procedimiento experimental

Presión	Temperatura	Masa sustrato inicial	Masa sustrato final	Masa aceite extraído	Masa aceite en vial	Asíntota curva extracción
Bar	$°C$	g	g	g	g	$g_{Ac} kg_{MA}{}^{-1}$
300	40	48,373	46,173	2,2	0,4037	8,346
		49,606	47,36	2,246	0,4109	8,283
300	60	48,577	46,635	1,942	0,6215	12,794
400	50	54,965	52,856	2,109	1,1285	20,531
450	40	49,342	48,270	1,072	0,4834	9,797
		48,868	47,704	1,164	0,3095	11,429
450	60	50,808	48,835	1,973	0,8275	16,287

4.3 Resultados de extracción supercrítica a presión constante

El siguiente apartado, muestra las diferentes curvas de rendimiento acumulado, en función del consumo específico de CO_2 tanto para 300, 400 y 450 bar. El detalle de los valores obtenidos para cada una de las extracciones, se encuentra en el anexo: *Resumen datos de extracción.*

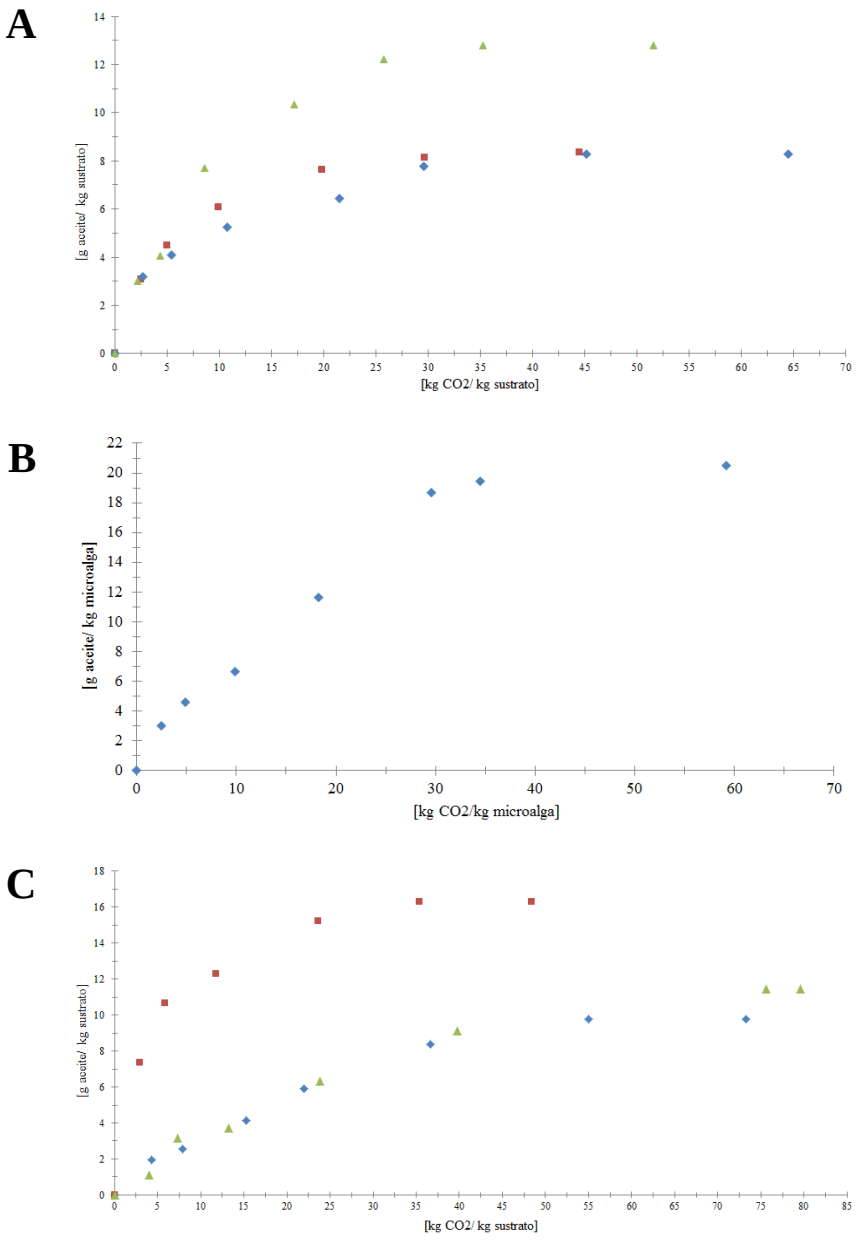


Figura 19: Datos experimentales de rendimiento acumulado en función del consumo específico de CO_2, para 300, 400 y 450 bar.
Figura A: (▲) 300 bar – 60°C; (■) 300 bar – 40°C; (◆) 300 bar – 40°C duplicado. **Figura B**: (◆) 400 bar – 50°C. **Figura C**: (■) 450 bar – 60°C; (◆) 450 bar – 40°C; (▲) 340 bar – 40°C duplicado.

Con los resultados experimentales y empleando el método de ajuste de mínimos cuadrados se obtienen los parámetros de ajuste para cada condición operacional. Dichos parámetros son: la constante (K) de reparto de soluto en la interfase sólido – FSC (Ec. 7) y la difusividad efectiva (D_e), la cual corresponde al real valor del coeficiente de difusión binario entre el CO_2 y el soluto que incluye las diversas barreras de transferencia de materia**.** Las siguientes figuras entregan los datos experimentales en conjunto con el modelo obtenido luego del proceso de modelación.

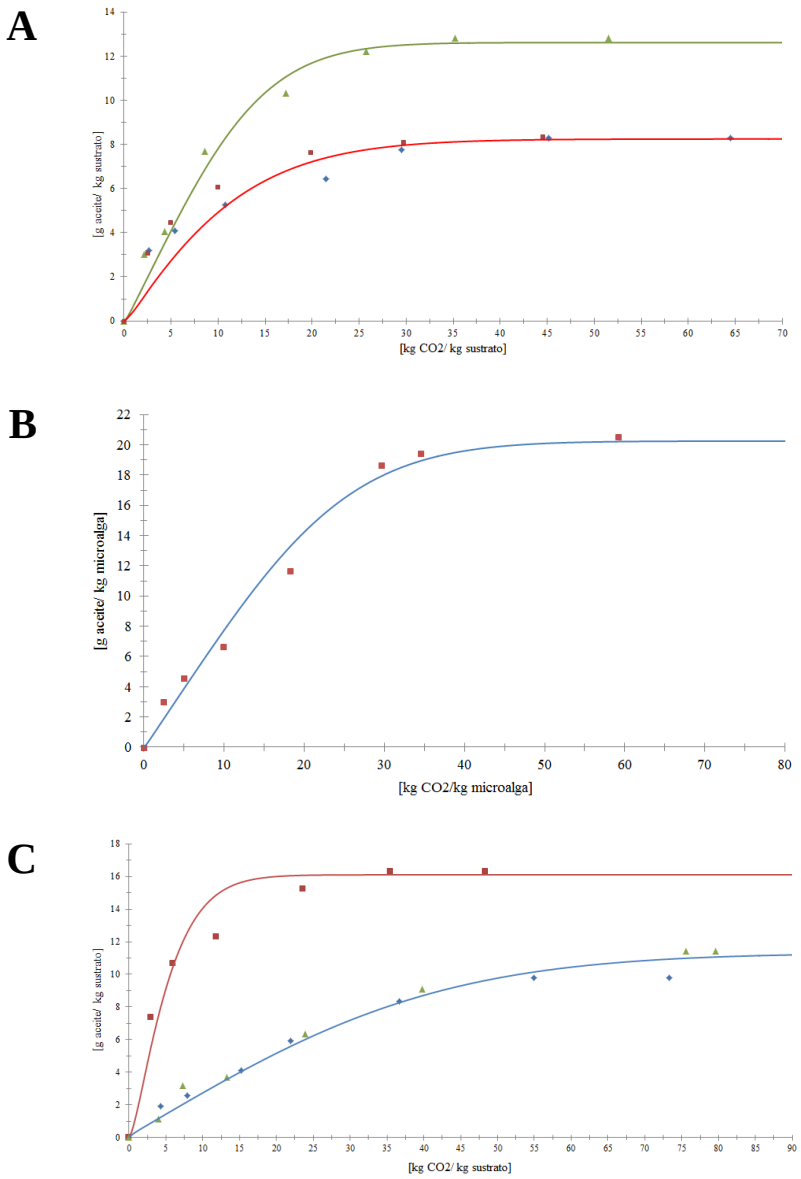


Figura 20: Datos experimentales de rendimiento acumulado en función del consumo específico de CO_2, en conjunto con sus modelos respectivos para 300, 400 y 450 bar.
Figura A: (▲) 300 bar – 60°C; (■) 300 bar – 40°C; (◆) 300 bar – 40°C duplicado; (—) Modelo a 40°C; (—) Modelo a 60°C. **Figura B**: (◆) 400 bar – 50°C; (—) Modelo a 50°C. **Figura C**: (■**)** 450 bar – 60°C; (◆) 450 bar – 40°C; (▲) 450 bar – 40°C duplicado; (—) Modelo a 40°C; (—) Modelo a 60°C.

Una diferencia que puede apreciarse para cada condición operacional, está en la constante de equilibrio lineal en la interfase (K). La Tabla 15 entrega los valores de este parámetro, para cada extracción, a raíz del ajuste de los datos experimentales:

Tabla 15: Constante de equilibrio lineal, para cada una de las extracciones realizadas

Presión Bar	Temperatura $°C$	Constante de equilibrio (K) $-$
300	40	0,2212
300	60	0,2779
400	50	0,5336
450	40	0,7646
450	60	0,7271

De acuerdo a la definición de K (Ec. 7), un menor valor de este parámetro, implica una mayor cantidad de soluto en estado de equilibrio, entre la matriz sólida y el fluido supercrítico en la interfase. Esto es justamente lo que se aprecia experimentalmente al analizar las solubilidades operacionales y la cantidad de soluto disponible inicialmente.

Adicionalmente, en los gráficos que relacionan los datos experimentales con sus respectivos modelos (Figura 20), se observan diferencias en la pendiente de la zona de carácter lineal para ambas temperaturas de operación. Este parámetro corresponde a la solubilidad operacional, así finalmente se puede establecer a que condición se posee una mayor cantidad de soluto disponible de forma inicial, por lo que se tiene un proceso de extracción externa más veloz. La Tabla 16 entrega las solubilidades tanto operacionales como del modelo a cada temperatura y presión.

Tabla 16: Solubilidades operacionales obtenidas tanto operacional como termodinámicamente para las distintas condiciones de extracción.

Presión Bar	Temperatura $°C$	Solubilidad termodinámica $g_{ac}\ kg_{CO_2}{}^{-1}$	Solubilidad operacional $g_{ac}\ kg_{CO_2}{}^{-1}$	Solubilidad modelo $g_{ac}\ kg_{CO_2}{}^{-1}$
300	40	8,11	0,9073	0,546
		8,11	0,7621	
300	60	7,3909	0,9442	0,7901
400	50	14,2226	0,675	0,7657
450	40	14,8982	0,3237	0,2781
		14,8982	0,4346	
450	60	19,4886	1,8061	1,5859

Por otro lado, para poder comparar extracciones a una misma presión de operación se debe tener en cuenta que la temperatura puede tener un efecto positivo o negativo sobre la solubilidad de un soluto en CO_2 dependiendo de la presión del sistema, como indica la Figura 21, donde se tienen las solubilidades termodinámicas según las temperaturas de operación de este trabajo, tal como indica la siguiente ecuación (del Valle, de la Fuente, & Uquiche, 2012).

$$Y_a = 8{,}07\left(\frac{\rho}{910}\right)^{\left[9{,}59-8{,}45\left(\frac{\rho}{910}-1\right)-23\left(\frac{\rho}{910}-1\right)^2\right]}\exp\left\{-4182\left[1-259\left(\frac{1}{T}-\frac{1}{313}\right)\right]\left(\frac{1}{T}-\frac{1}{313}\right)\right\} \qquad (25)$$

Este efecto contrario se basa en el hecho de que un incremento en la temperatura, si bien produce una reducción en la densidad del solvente (CO_2 – SC) y con ello una disminución de su poder solvente, al mismo tiempo aumenta la presión de vapor y volatilidad del soluto lo que se traduce en un mayor traspaso a la fase fluida. Por lo tanto, cuando el efecto sobre la reducción de la densidad es menos fuerte que el aumento en la volatilidad del soluto, un incremento en la temperatura se traduce en un aumento en la solubilidad, sucediendo lo contrario si el efecto sobre la densidad es más fuerte que el de la volatilidad (Aravena, 2011).

Lo anterior implica que existe una presión a la cual a diferentes temperaturas la solubilidad del soluto en CO_2 es la misma (punto de *cross – over*), cumpliéndose que por sobre esta presión un incremento en la temperatura tiene un efecto positivo en la solubilidad del soluto en CO_2, mientras que bajo esta presión se observa el efecto contrario. Dentro de la Figura 21, se observa que el punto de *cross – over* entre 40 y 60 °C, es de 330 bar.

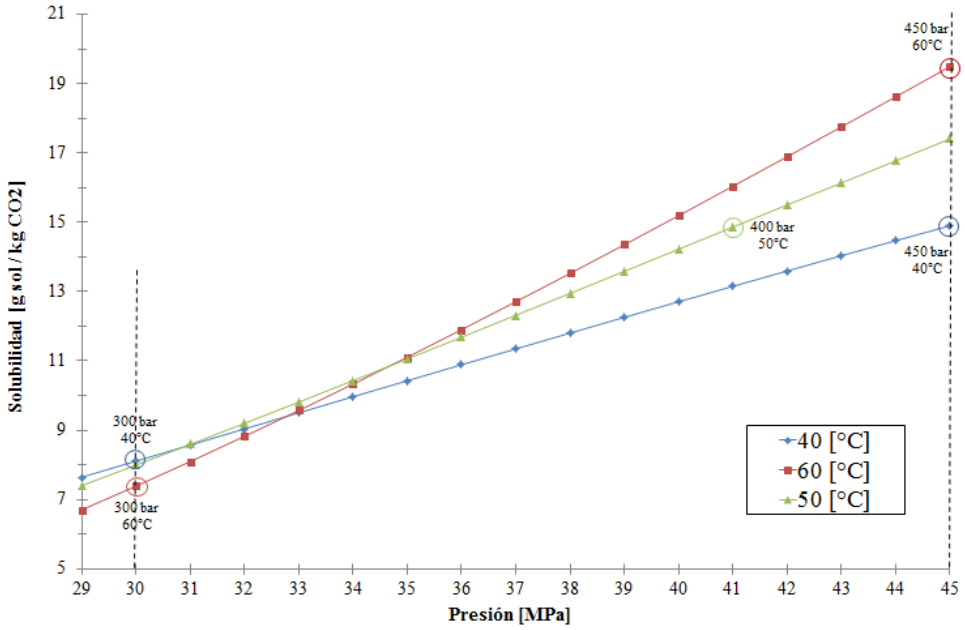


Figura 21: Curvas de solubilidad en CO_2 – SC, en función de la presión, en el tramo de desarrollo experimental, (modificado según modelo de del Valle, de la Fuente, & Uquiche, 2012)

Al contrastar las curvas de datos experimentales a presión constante, se observa que la temperatura incrementa la pendiente lineal de la zona inicial de la curva, o dicho de otro modo, tiene un efecto

positivo sobre la solubilidad del soluto en el CO_2 en todos los casos experimentales. Es interesante destacar, que al efectuar esta comparación a presiones cada vez más cercanas al punto de *cross-over* (como ocurre a 300 bar), las pendientes lineales son cada vez más parecidas, lo que implica que las solubilidades bajo dichas condiciones son similares, tal como se aprecia en las siguientes relaciones donde se observa la relación entre ambas condiciones de temperatura.

$$\frac{Y_a(300\ [bar] - 60[°C])}{Y_a(300\ [bar] - 40[°C], \exp 1)} = 1{,}041 \text{ veces} \qquad \frac{Y_a(300\ [bar] - 60[°C])}{Y_a(400\ [bar] - 60[°C], \exp 2)} = 1{,}239 \text{ veces}$$

Por otra parte, a presiones superiores al punto de *cross-over* (como ocurre a 450 bar), se tienen diferencias más significativas de la solubilidad operacional, como se aprecia en las siguientes relaciones, donde la solubilidad a 60°C es entre 4 y 5,5 veces superior al valor reportado a 40°C.

$$\frac{Y_a(450\ [bar] - 60[°C])}{Y_a(450\ [bar] - 40[°C], \exp 1)} = 5{,}58 \text{ veces} \qquad \frac{Y_a(450[bar] - 60[°C])}{Y_a(450\ [bar] - 40[°C], \exp 2)} = 4{,}16 \text{ veces}$$

Esta variación en las solubilidades, implica adicionalmente una diferencia de soluto disponible de forma inicial (en g_{ac}) en cada procedimiento. Ese valor representa la cantidad de soluto inicialmente disponible, producto de la solubilización del CO_2 en el instante inicial de extracción (Ec 26):

$$m_{o,ac} = V_{ext} \cdot \varepsilon \cdot \rho_{CO_2} \cdot Y_a \tag{26}$$

Donde $m_{o,ac}$ es la masa de soluto disponible de forma inicial, V_{ext} es el volumen del extractor, ε corresponde a la porosidad del lecho, ρ_{CO_2} es la densidad del CO_2 a las condiciones operacionales dadas, e Y_a corresponde a la solubilidad operacional.

La Tabla 17 muestra los solutos inicialmente disponibles para cada una de las extracciones realizadas, observándose que a 300 bar (cercano al punto de *cross-over*), no existen diferencias significativas en dicho parámetro. Sin embargo a 450 bar, si existe un aumento considerable del soluto disponible (a 60 °C de temperatura se tiene 4,46 veces más soluto disponible que a 40 °C)

Tabla 17: Soluto inicialmente disponible, en base a la solubilidad operacional para cada una de las extracciones

Presión Bar	Temperatura $°C$	Solubilidad operacional $g_{ac}\ kg_{CO_2}{}^{-1}$	Soluto disponible inicialmente mg_{ac}
300	40	0,9073	3,789
		0,7621	3,1826
300	60	0,9442	3,5961
400	50	0,675	2,8602
450	40	0,3237	1,4478
		0,4346	1,9439
450	60	1,8061	7,5697

Por lo que bastaría con aumentar la temperatura de operación para poder tener una mayor cantidad de soluto disponible, a presión constante, propiciando una extracción de tipo externa más preponderante y veloz. Sin embargo, se debe conocer el punto de cross-over, para tener certeza de que un aumento de la temperatura, influirá positivamente en la solubilidad.

4.4 Rendimiento de extracción

Otra diferencia apreciable que puede observarse es la asíntota observada para ambas temperaturas. A mayor valor se observó una asíntota mayor, tanto a 300 bar, como a 450 bar. Cabe destacar que ambas asíntotas, son menores que la cantidad total de aceite posible de extraer, valor obtenido en la extracción *Soxhlet* (Tabla 13). Esto se debe a que el pretratamiento no logró de forma uniforme la ruptura de las paredes celulares en todas las partículas, por lo que no todas poseen la misma cantidad de aceite liberado, produciendo una variación en la asíntota observada

Además, dentro de cada procedimiento experimental, el aceite extraído puede tener 2 posibles destinos, los cuales son: llegar hasta el vial de recolección, o bien que se quede al interior de las líneas de la unidad de extracción, debido a la condición pastosa que posee el triglicérido.

Se calcula la cantidad neta de aceite extraído, como la resta entre las masas dentro del canastro que contiene el lecho al inicio y el final del proceso de extracción. Tanto la cantidad observada en cada una de las asíntotas, como la cantidad de soluto obtenida en los viales de extracción y neta, se aprecian en la Tabla 18.

Tabla 18: Asíntotas observadas a 300 y 450 Bar, en conjunto con la cantidad de aceite extraído

Presión	Temperatura	Asíntota curva extracción	Diferencia % con la asíntota mayor	Cantidad de aceite neto extraído	Velocidad superficial
Bar	$°C$	$g_{Ac}\ kg_{MA}{}^{-1}$	%	g_{Ac}	$mm\ s^{-1}$
300	40	8,346	34,77	2,1997	0,38
		8,283	35,26	2,2458	0,41
300	60	12,794	0	1,9419	0,35
400	50	20,531	-	2,1094	0,41
450	40	9,797	39,85	1,0719	0,43
		11,429	29,83	1,1639	0,46
450	60	16,287	0	1,973	0,46

Este aumento en la asíntotas sumado al leve efecto que tiene la presión sobre el rendimiento, parecen indicar que la variación en la volatilidad del soluto, tiene mayor relevancia que los cambios en la densidad del CO_2 en la solubilidad, tal como indican fuentes bibliográficas sobre extracciones a diferentes microalgas (Aravena, 2011). Dichos cambios en las asíntotas de rendimiento acumulado observado, se cuantifican en una diferencia de $35{,}01 \pm 0{,}34$ % en el proceso de extracción a 300 bar, y del $34{,}27 \pm 7{,}08$ %, para el proceso de extracción a 450 bar.

Adicionalmente a partir de lo que se observa en la Tabla 18, se pueden realizar las siguientes observaciones:

- A condiciones operacionales constantes, al aumentar la velocidad superficial (u), se obtiene un mayor rendimiento de extracción (aunque con una diferencia poco significativa, con respecto al máximo observado, la cual va aumentando a medida que la presión de operación se aleja del punto de *cross-over*), como una mayor cantidad de soluto neto extraído. Esto se justifica gracias a la relación entre la velocidad superficial con el flujo de CO_2 que circula a través del lecho; a medida que aumenta el flujo de CO_2 – SC, se solubiliza una mayor cantidad de soluto dentro del solvente (estos valores están relacionados con la solubilidad operacional de forma proporcional), aumentando la cantidad neta de triglicérido extraído.

- A presión y flujo de CO_2 constante, al aumentar la temperatura de operación se logra un mayor rendimiento de extracción, además de una mayor cantidad de soluto extraído neto (valor relacionado con la solubilidad), siendo una diferencia más relevante, en puntos sobre el *cross – over*, como ocurre a los 450 bar, donde existe una influencia positiva de la temperatura en la solubilidad.

Otra relación importante para cuantificar el proceso de extracción, está en conocer el rendimiento de extracción que relaciona la cantidad de aceite con el total esperado que debiese extraerse (Ec 27). La Tabla 19 entrega los datos de dichos de rendimientos de extracción tanto en el vial, como de forma neta:

$$Rend. = \frac{m_{ac}(vial\ o\ neto)}{m_{MA} * \%_{ac}} \tag{27}$$

En donde $\%_{ac}$ es el porcentaje másico de aceite dentro de los pellets de microalga, dado por la extracción *Soxhlet*, entregado en la Tabla 13.

Tabla 19: Rendimiento de extracción para cada una de las condiciones operacionales, tanto en el vial como en el proceso neto

Presión	Temperatura	Rendimientos de extracción			
		Vial		Extraído neto	
Bar	$°C$	Fracción	%	Fracción	%
300	40	0,1098	10,98	0,5983	59,83
		0,109	10,9	0,5956	59,56
300	60	0,1683	16,83	0,5259	52,59
400	50	0,2701	27,01	0,5049	50,49
450	40	0,1289	12,89	0,2859	28,58
		0,0833	8,33	0,3133	31,33
450	60	0,2143	21,43	0,5109	51,09

A pesar de que al observar la Tabla 19, se aprecian rendimientos de extracción neta relativamente altos (del orden de un 50% del aceite total contenido, según extracción *Soxhlet*, exceptuando las extracciones a 450 bar), se aprecian perdidas al interior de la línea del equipo de extracción, las cuales son dependientes de las condiciones de operación, y de la velocidad superficial. Dichos valores, vienen dados por la siguiente tabla:

Tabla 20: Porcentaje de aceite extraído, al interior del vial para cada condición operacional

Presión Bar	Temperatura $°C$	Porcentaje de aceite extraído dentro del vial %
300	40	18,32
300	60	32
400	50	53,5
450	40	46,54
450	60	41,94

4.5 Coeficiente de transferencia de materia

La matriz sólida puede estar en la forma de una barrera porosa o membrana, separando dos partes del fluido, como en el caso de la difusión gaseosa. Aquí, el movimiento del soluto puede ser por difusión de una parte del fluido a la otra en virtud de un gradiente de concentración; este movimiento difusivo puede ser dentro del fluido que llena los poros o puede también involucrar difusión superficial del soluto adsorbido (Treybal, 1980).

Estos poros pueden estar interconectados entre sí (el fluido puede alcanzar al soluto de forma interna, por los dos lados de los poros) conectando al exterior del sólido por un único lado; o aislados (volviéndose inaccesible al fluido externo). Este estado de los poros depende exclusivamente del grado de ruptura de las partículas de microalga, logrado en el proceso de pretratamiento de la materia prima. Puesto que los flujos de soluto que difunde serán más pequeños que los valores reales debido a las barreras a la transferencia de materia que presenta la matriz sólida, debe de utilizarse una difusividad efectiva D_e, la cual es menor que la difusividad real D_{12}, Ambas difusividades están relacionadas mediante un factor, llamado Factor de corrección microestrctural (del Valle, Germain, & Uquiche, 2005).

$$F = \frac{D_e}{D_{12}} \tag{28}$$

El término F (Ec 28), da una indicación del efecto de las barreras en la matriz sólida, en la transferencia de materia (traspasado en los valores de la difusividad efectiva). Los valores del factor microestructural, para cada condición operacional, vienen entregados en la Tabla 21.

Tabla 21: Difusividades efectivas a 300 y 450 Bar, en conjunto a su factor microestructural

Presión	Temperatura	Difusividad Efectiva $D_e\ x\ 10^{10}$	Difusividad binaria $D_{12}\ x\ 10^{9}$	Factor microestructural
Bar	$°C$	m^2s^{-1}	m^2s^{-1}	$-$
300	40	2,1243	3,0156	0,0704
300	60	5,2261	3,814	0,137
400	50	8,104	3,0164	0,2687
450	40	6,3472	2,5829	0,2457
450	60	2,5028	3,1799	0,0787

Ya que se utilizaron los mismos comprimidos para cada extracciones, el factor de corrección microestructural debiera estar entre una vecindad de valores cercanos, sin embargo, existen resultados disimiles de F, por lo que el pretratamiento no logra de forma uniforme un sistema de poros interconectados debido a la ruptura total de las paredes celulares, por lo que la extracción no extrae la cantidad total de aceite disponible; esta afirmación se justifica adicionalmente, en las diferencias entre las asíntotas observadas y el total obtenido por extracción *Soxhlet* (Tabla 13).

Conciendo la difusividad efectiva para cada condición operacional, se puede obtener el coeficiente global de transferencia de materia para el proceso de difusión por fuerza motriz lineal dada por gradiente de concentración desde la interfase solido – FSC hacia el seno del fluido, tal como lo entrega el Modelo LDF (Ec. 6). En donde k_p corresponde al coeficiente global de transferencia de materia, el cual puede ser obtenido mediante la (Ec 5) del Modelo LDF.

$$k_p = \frac{5D_e k_f}{5D_E + Rk_f}$$

Y el coeficiente de transferencia de materia de tipo externo (k_f), se obtiene gracias a la correlación entregada en bibliografía (Ec 28), en función de los números adimensionales de Reynolds (Re), Schmidt (Sc) y Sherwood (Sh) (del Valle & de la Fuente, 2006):

$$Sh = 0{,}38 \cdot Re^{0{,}83} \cdot Sc^{0{,}33} \tag{28}$$

$$Sh = \frac{k_f \cdot d_p}{D_e} \tag{29}$$

$$Re = \frac{d_p \cdot \rho_{CO_2} \cdot u}{\mu_{CO_2}} \tag{30}$$

$$Sc = \frac{\mu_{CO_2}}{\rho_{CO_2} \cdot D_e} \tag{31}$$

Conociendo los parámetros operacionales, la Tabla 22 entrega el coeficiente de transferencia de materia externo proveniente de la correlación entregada (Ec. 28)

Tabla 22: Coeficiente de transferencia de materia externo, para cada condición operacional

P	T	ρ_{CO_2}	$\mu_{CO_2} \times 10^6$	$d_p \times 10^3$	$u_{CO_2} \times 10^4$	$D_e \times 10^{10}$	Re	Sc	Sh	$k_f \times 10^6$
Bar	$°C$	$kg\ m^{-3}$	$Pa\ s$	m	$m\ s^{-1}$	$m^2\ s^{-1}$	$-$	$-$	$-$	$m\ s^{-1}$
300	40	910,469	93,978	4,51	3,95	2,1243	17.229	485,14	31,146	1,46
300	60	830,333	76,934	4,51	3,5	5,2261	17,061	177,04	22,091	2,56
400	50	923,81	97,407	4,51	4,1	8,104	17,56	129,94	20,43	3,67
450	40	975,144	112,387	4,51	4,45	6,3472	17,436	181,34	22,672	3,19
450	60	913,754	94,912	4,51	4,6	2,5028	19,997	414,52	33,371	1,85

Por lo que el coeficiente global de transferencia de masa, según el Modelo LDF (Ec. 5), para cada condición operacional, viene dada por la Tabla 23:

Tabla 23: Coeficientes globales de transferencia de materia, según los datos experimentales

Presión	Temperatura	Coeficiente global de TDM $k_P \cdot 10^7$
Bar	$°C$	$m\ s^{-1}$
300	40	3,5654
300	60	7,9768
400	50	12,064
450	40	7,6661
450	60	4,2699

Los valores reportados del coeficiente global de transferencia de materia se encuentran en ordenes de magnitud comparables con valores reportados en bibliografía relacionada con extracciones efectuadas a esta especie de microalga y/o semejantes (Uquiche, 2003; Mouahid, 2013).

Con los coeficientes de transferencia de materia externo (k_f) y global (k_p), es posible obtener el coeficiente de transferencia de materia intrapartícula (k_{int}), con la relación existente para una partícula que difunde desde la matriz sólida hasta el seno del fluido, bajo sistema de resistencias en serie (Ec. 32).

$$\frac{1}{k_p} = \frac{K}{k_f} + \frac{1}{k_{int}} \tag{32}$$

La Tabla 24, entrega los valores de los tres coeficientes de transferencia de materia, para cada una de las condiciones operacionales.

Tabla 24: Coeficientes de transferencia de materia (interno, externo y global), para cada una de las extracciones realizadas

Presión	Temperatura	$u_{CO_2} \cdot 10^4$	$k_p \cdot 10^7$	$k_f \cdot 10^7$	$k_{int} \cdot 10^7$
Bar	$°C$	$m\ s^{-1}$	$m\ s^{-1}$	$m\ s^{-1}$	$m\ s^{-1}$
300	40	3,95	3,565	14,67	3,768
300	60	3,5	7,977	25,598	8,733
400	50	4,1	12,064	36,711	14,629
450	40	4,45	9,766	31,908	12,75
450	60	4,6	4,270	18,519	5,13

Como se puede observar en la Tabla 24, el coeficiente de transferencia de materia de tipo externo es mayor que el interno, por lo que se favorece la transferencia de materia de carácter extra partícula, en perjuicio del tipo intraparticula. Adicionalmente, se poseen valores de la constante proporcional de partición K menores que 1 (Tabla 15). Como indica la definición de K (Ec. 7) si $K < 1$, se tiene que $\overline{C_s} < C_{fs}$. Lo que conlleva que la transferencia entre la matriz sólida y la interfase solido – FSC, no es favorecida de forma natural (fuerza impulsora debido al gradiente de soluto).

Eso quiere decir que la gran cantidad de soluto que se extrae bajo estas condiciones, es el que solubiliza naturalmente producto de la interacción con el CO_2 – SC producto del flujo ascendente de dióxido de carbono, justificando lo mostrado en los datos experimentales, que muestran asíntotas que son bajas a la cantidad total de aceite encontrado en la muestra (mediante extracción *Soxtlet*), y los rendimientos de extracción hallados en la Tabla 19.

4.6 Análisis estadístico del Modelo LDF

En este apartado, se determinará si el ajuste realizado empleando el Modelo LDF es adecuado para estos datos experimentales. Para lograr esto, se recurre a 2 herramientas, la primera de ellas tiene que ver con el coeficiente de determinación (r^2), el cual se calcula mediante la siguiente relación:

$$r^2 = 1 - \frac{s_{error}^2}{s_{data}^2} \tag{33}$$

Donde s^2 corresponde a las varianzas tanto del error de los datos experimentales comparados con el modelo, como de los mismos datos experimentales. Para cada uno de los datos experimentales, se tienen los coeficientes de determinación, entregados por la siguiente tabla:

Tabla 25: Coeficientes de determinación (r^2), para cada uno de las extracciones experimentales

Presión	Temperatura	r^2
Bar	$°C$	-
300	40	0,9428
		0,9006
300	60	0,9813
400	50	0,9863
450	40	0,9899
		0,9899
450	60	0,9433

Como se aprecia en la tabla anterior, los valores de r^2, son cercanos a 1, por lo que se puede desprender que el ajuste realizado al modelo es fiable. Otra forma de confirmar la bondad del ajuste utilizado, es la forma gráfica de los valores experimentales de rendimiento acumulado, con los predichos en el modelo a la misma condición operacional de presión y temperatura, el cual se presenta en la Figura 22.

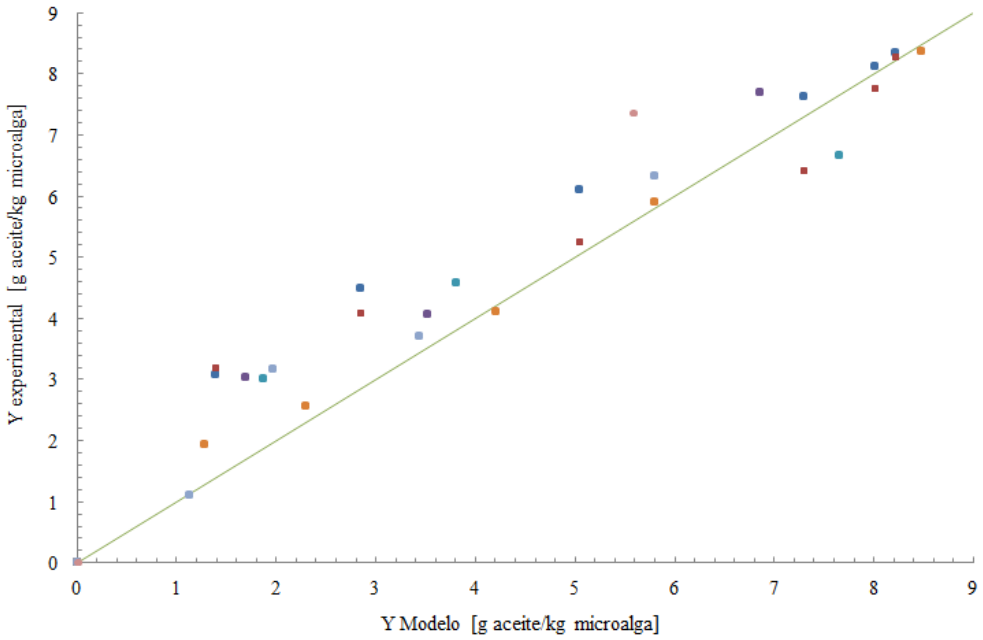


Figura 22: Gráfica de los datos experimentales, en función de su valor dentro del modelo.
(●) 300 bar – 40°C (1); (●) 300 bar – 40°C (2); (●) 300 bar – 60°C; (●) 400 bar – 50°C; (●) 450 bar – 40°C (1); (●) 450 bar – 40°C (2); (●) 450 bar – 60°C.

Se observa en la figura anterior, la existencia de una relación de tipo positiva entre el rendimiento acumulado experimental y el modelo ajustado, además de que los valores graficados, se encuentran

distribuidos en las cercanías de la línea de referencia de 45°, por lo que se puede concluir que el modelo utilizado, posee una buena bondad de ajuste (relacionado con el r^2 obtenido para cada condición), siendo capaz de predecir correctamente los valores para las condiciones experimentales realizadas en el presente trabajo.

4.7 Extracciones a temperatura constante

Se tiene la comparativa de las curvas de extracción a 40 °C (Figura 23). Como se apreció en la curva de solubilidades en función de la presión, a diferentes condiciones isotérmicas (Figura 21), las condiciones operacionales utilizadas en este trabajo, están levemente inferiores al punto de *cross-over* (330 bar), y superior al mismo (450 bar). Por lo que los cambios de solubilidad no son sumamente significativos.

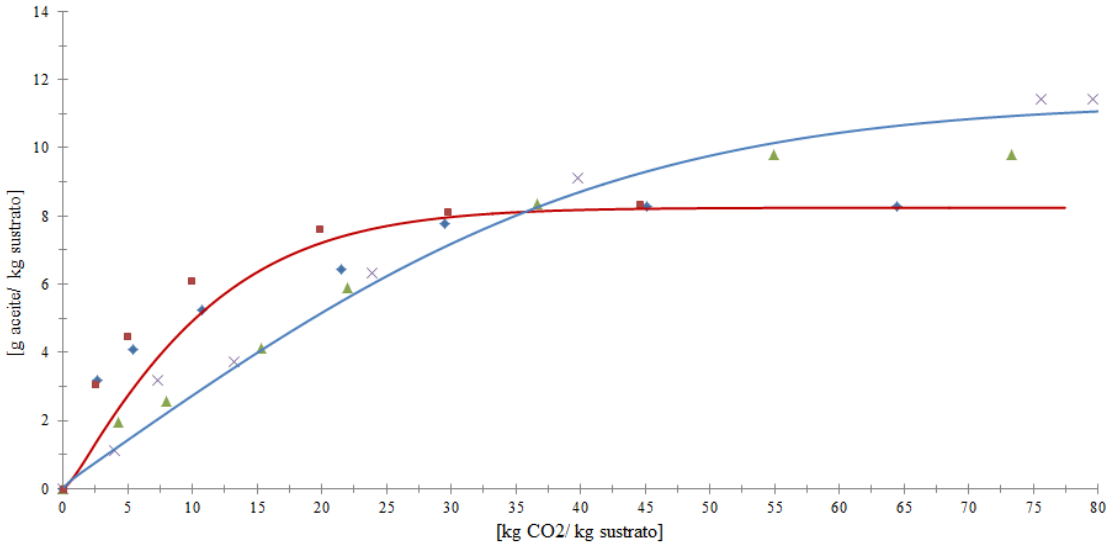


Figura 23: Curvas de extracción a 40 °C, junto a sus respectivos modelos
(■) 300 bar – 40°C; (◆) 300 bar – 40°C duplicado; (——) Modelo a 300 bar; (▲) 450 bar – 40°C; (X) 450 bar – 40°C duplicado; (——) Modelo a 450°C.

Se observa en la Figura 23 que las pendientes son cercanas en su vecindad, destacándose la pendiente de la primera extracción a 300 bar (cuadrados rojos en la Figura 23), esto se debe a su menor velocidad superficial (0,38 mm/s); como la cantidad de aceite disponible es similar para todos las extracciones teniendo una cantidad menor de CO_2 circulando, se alcanza la asíntota más rápido, obteniendo un valor superior en la solubilidad operacional (pendiente lineal).

Sin embargo, se debe destacar que al estar en puntos cercanos al *cross-over*, y que al observar la Figura 23, se aprecia que la pendiente lineal es menor al aumentar la presión, siento contrario a lo mostrado en fuentes bibliográficas (Aravena, 2011). Demostrando que los cambios en la pendiente a esta condición de temperatura, no son lo suficientemente significativos.

Tabla 26: Resumen propiedades obtenidas de las curvas experimentales a 40 °C

Presión	Temperatura	Vel. Superficial $u \cdot 10^4$	Solubilidad Operacional	Solubilidad Modelo	Dif. efectiva $D_e \cdot 10^{10}$	Cte. de equilibrio (K)	Asíntota operacional
Bar	$°C$	$m\ s^{-1}$	$g_{ac}\ kg_{CO_2}{}^{-1}$	$g_{ac}\ kg_{CO_2}{}^{-1}$	$m^2\ s$	$-$	$g_{ac}\ kg_{MA}{}^{-1}$
300	40	3,8	0,9073	0,546	2,1243	0,2212	8,346
		4,1	0,7621	0,546	2,1243	0,2212	8,283
450		4,3	0,675	0,2781	6,3472	0,7646	9,797
		4,6	0,3237	0,2781	6,3472	0,7646	11,429

Por otra parte, a una temperatura de extracción de 60°C, se tiene la Figura 21 y Tabla 27, las cuales presentan una comparación de las extracciones experimentales realizadas a dicha condición.

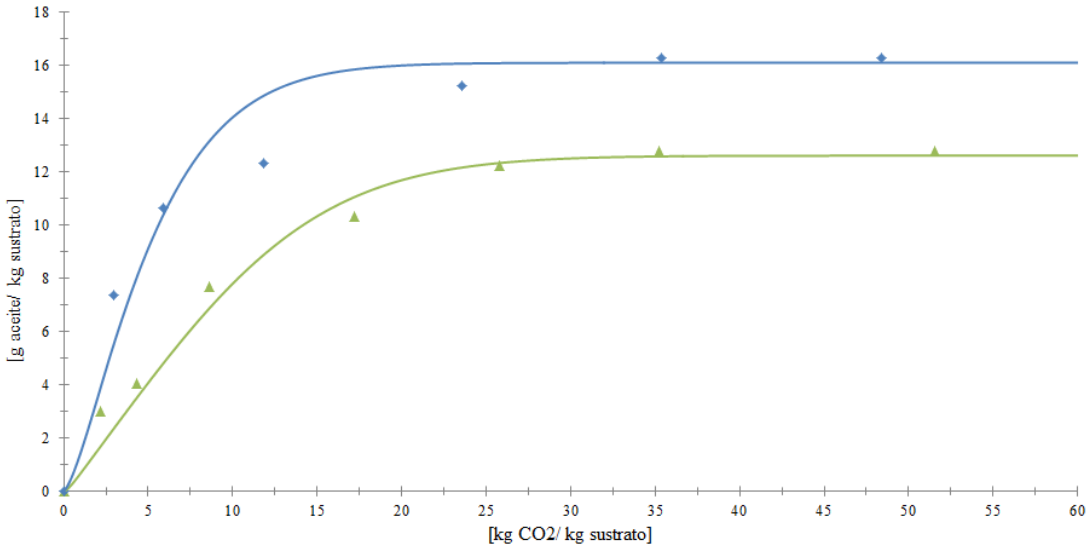


Figura 24: Curvas de extracción a 60 °C, junto a sus respectivos modelos
(▲) 300 bar – 60°C; (—) Modelo a 300 bar; (◆) 450 bar – 60°C; (—) Modelo a 450°C.

Al contrario de lo que se aprecia a 40°C, a 60°C existe una diferencia apreciable en las pendientes del gráfico de rendimiento acumulado vs consumo específico. Dichas diferencias se deben principalmente a dos razones:

- Al comparar el grafico de solubilidad en función de la presión, a condiciones isotérmicas (Figura 21) se aprecia que la pendiente de dicha curva es mucho más pronunciada a 60 °C, lo que implica que los cambios en la solubilidad son más significativos.
- Al comparar las curvas obtenidas a temperatura constante, se aprecia que el aumento de solubilidad en función de la presión es esperable debido a que un incremento de esta condición operacional, produce un aumento en la densidad del CO_2 – SC, lo que conlleva a un aumento en

su poder solvente (Aravena, 2011).

Por otro lado, ya que la masa de microalga que forma el lecho es de un valor semejante para cada una de las extracciones, la velocidad superficial se torna relevante para la solubilidad (entrega de forma indirecta la cantidad de CO_2), por lo que en un menor valor de dicho parámetro, provoca una mayor pendiente de la zona lineal, aunque su efecto no es tan significativo al contrastarlo con el efecto de la temperatura.

Tabla 27: Resumen propiedades obtenidas de las curvas experimentales a 60 °C

Presión	Temperatura	Vel. Superficial $u \cdot 10^4$	Solubilidad Operacional	Solubilidad Modelo	Dif. efectiva $D_e \cdot 10^{10}$	Cte. de equilibrio K	Asíntota operacional
Bar	$°C$	$m\,s^{-1}$	$g_{ac}\,kg_{CO_2}{}^{-1}$	$g_{ac}\,kg_{CO_2}{}^{-1}$	$m^2\,s$	$-$	$g_{ac}\,kg_{MA}{}^{-1}$
300	60	0,35	0,9442	0,7887	5,2261	0,2779	12,794
450	60	0,46	1,8061	1,5624	2,5028	0,1062	16,287

4.8 Proceso de modelación: extracción total máxima

Antes de realizar el análisis de los modelos de extracción máxima, se deben realizar las siguientes consideraciones:

- Debido a que todas las curvas tenían asíntotas distintas en sus datos experimentales, para la comparación en los modelos se utilizó el concepto de "extracción total", es decir que se pudo extraer todo el aceite disponible, este valor se conoció mediante la extracción *Soxhlet* (Tabla 13), a saber:

$$\%_{aceite} = 7{,}601 \pm 1{,}146\ \% \tag{34}$$

$$Cant_{max,ac} = 0{,}0706\ \frac{g_{ac}}{g_{MA}} = 70{,}6\ \frac{g_{ac}}{kg_{MA}} \tag{35}$$

- Los parámetros de ajustes que se utilizaron en este análisis, fueron exactamente los mismos que se obtuvieron en el análisis anterior, es decir los entregados en las tablas Tabla 15 (Constante lineal de equilibrio K) y Tabla 21 (Difusividad efectiva, D_e)

4.8.1 Modelos a 300 Bar

En primera instancia, se tienen los modelos entregados a 300 bar. La Tabla 28, entrega la información de las solubilidades operacionales en este modelo, considerando una extracción de todo el aceite disponible. Al mantener constante la asíntota de rendimiento acumulado, se puede realizar un análisis más acabado de la influencia tanto de la temperatura de operación, como de la velocidad superficial dentro de la solubilidad operacional.

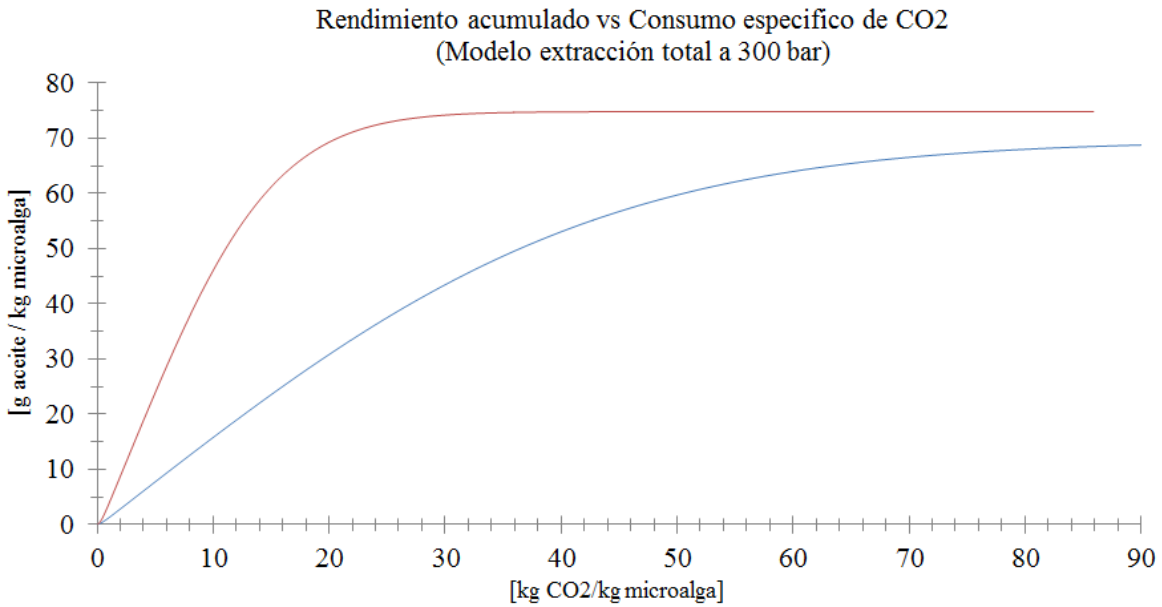


Figura 25: Modelos de rendimiento acumulado total de aceite, en función del consumo especifico de CO_2 a 300 bar.

(—) 300 bar – 40°C; (—) 300 bar – 60°C;

Tabla 28: Resumen solubilidades modelos a 300 bar, con cantidad total máxima de aceite constante

Temperatura	Presión	Solubilidad modelo (X_o $Soxhlet$)	Velocidad superficial
$°C$	bar	$g_{Ac}\ kg_{CO_2}{}^{-1}$	$mm\ s^{-1}$
40	300	2,3441	0,394
60	300	3,1624	0,35

En primer lugar se observa la influencia de la temperatura, con flujo de CO_2 (parámetro entregado de forma indirecta por la velocidad superficial), aproximadamente constante. Dentro de la Figura 25 es posible comparar la curva azul (extracción a 40 °C y 300 bar), con la curva roja (60 °C y 300 bar), las cuales poseen una velocidad superficial de valores semejantes (0,394 y 0,35 mm/s respectivamente). Bajo esta condición de presión, a medida que aumenta la temperatura, la solubilidad aumenta (crece un 34,9% desde 40 a 60 °C). Esta afirmación, es contraria a la que establece la bibliografía para un punto bajo el de *crossover*, la cual ante crecimientos de temperatura la solubilidad tiene un comportamiento negativo, a presión constante (Aravena, 2011). Sin embargo, al trabajar a una presión tan cerca de esta referencia (la cual es de 330 bar), hace que este tipo de modificaciones no sean significativas.

4.8.2 Modelos a 450 bar

Se tienen los modelos entregados a 450 bar de presión (Figura 26). La Tabla 29 entrega la información de las solubilidades operacionales en este modelo de extracción, considerando una extracción total de los triglicéridos disponibles. De la misma forma que en el punto anterior, al tener la asíntota máxima de rendimiento de extracción, se puede realizar una comparativa de los efectos de la temperatura de operación y velocidad superficial.

Tabla 29: Resumen solubilidades modelos a 450 bar, para extracción total de aceite.

Temperatura	Presión	Solubilidad modelo ($X_o\ soxhlet$)	Velocidad superficial
$°C$	bar	$g_{Ac}\ kg_{CO_2}{}^{-1}$	$mm\ s^{-1}$
40	450	0,7423	0,43
60	450	3,7727	0,46

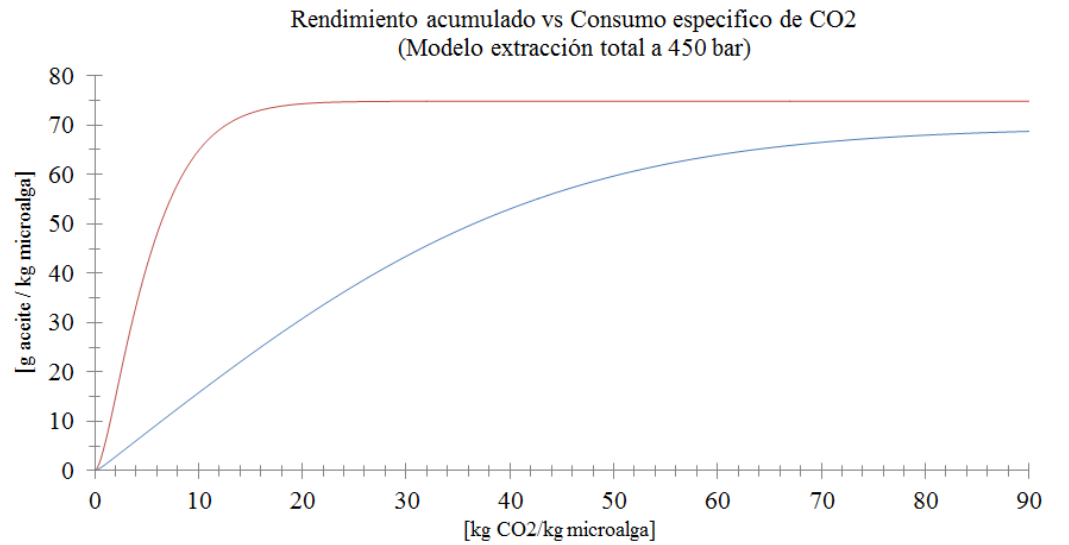


Figura 26: Modelos de rendimiento acumulado total de aceite, en función del consumo especifico de CO_2 a 450 bar.

(–) 450 bar – 40°C; (–) 450 bar – 60°C

Con respecto a los efectos de la solubilidad en función de la temperatura de extracción, al ser estos procesos de extracción en una presión superior al valor de *cross-over*, en este caso la temperatura tiene un efecto positivo en la solubilidad; es decir al existir un aumento de temperatura, a presión constante, conlleva un aumento de la solubilidad operacional, tal como indican las fuentes bibliográficas (del Valle, de la Fuente & Uquiche, 2012; Aravena, 2011). Según los datos experimentales expresados en la Tabla 29, la solubilidad operacional a 60 °C (curva roja de la Figura 26) es aproximadamente 5,08 veces superior a la solubilidad operacional a 40 °C.

5 Conclusiones y Recomendaciones

De este trabajo de investigación, se concluye lo siguiente

Con respecto a la determinación de los parámetros de ajuste, se tiene que al contrastar las curvas de extracción a presión constante, es posible concluir que, según los datos experimentales, la temperatura en todos los casos incrementa la pendiente de la zona inicial de la curva de extracción (Solubilidad operacional). Es interesante destacar que a medida que el análisis se hace a presiones menores, las solubilidades operacionales, son cada vez más parecidas, debido a la cercanía a la presión de *cross-over*. Sin embargo, tal como se indica en bibliografía (del Valle, de la Fuente, & Uquiche, 2012), a presiones superiores a este punto, se tienen diferencias significativas en la solubilidad operacional, en donde un aumento de la temperatura, afecta positivamente a dicho parámetro.

La velocidad superficial es otro parámetro que afecta la solubilidad operacional en un proceso de extracción. Al tener una cantidad similar de aceite disponible, y, una cantidad menor de CO_2 que circula a través del lecho (reflejado en una menor velocidad superficial a través del lecho), se debe llegar a la asíntota de rendimiento acumulado más rápido; entonces, la relación entre ambos factores (cantidad de aceite extraído, y consumo de dióxido de carbono), debe ser mayor; conllevando a que la solubilidad operacional, también es mayor.

Con respecto al efecto de la solubilidad dentro de la cantidad total disponible de aceite para el proceso de extracción, si se tiene un proceso a presión constante (y con un flujo de solvente, aproximadamente constante), basta con aumentar la temperatura de operación, para poder tener una mayor cantidad de soluto disponible inicialmente, propiciando una transferencia de materia externa preponderante. Lo anterior se aprecia al comparar los coeficientes globales de transferencia de materia. En donde se favorece la transferencia de materia de tipo extra-partícula al aumentar la temperatura (ya que, en la mayoría de los casos experimentales, el coeficiente externo de transferencia de materia (k_f), es mayor que el coeficiente interno de transferencia de materia (k_{int}). Dichos coeficientes de transferencia de materia, están dentro de los órdenes de magnitud extraídos en bibliografía, tanto para extracciones de microalgas de otras familias, como de extracciones de triglicéridos a partir de semillas oleaginosas u otras fuentes vegetales.

En lo que relaciona al coeficiente de equilibrio lineal K, entre la fase FSC y el sustrato sólido, se obtuvieron en todas las extracciones experimentales, valores menores que 1 de este parámetro; por la definición de K, se observa que $\overline{\boldsymbol{C_s}} < \boldsymbol{C_{fs}}$. Por lo que, no se es favorecida la transferencia de materia de tipo interna en estos casos experimentales. En consecuencia, el soluto que se extrae en gran cantidad, es el que solubiliza naturalmente producto de la interacción con el CO_2 – SC. Justificándose en los rendimientos de extracción, que no superan el 60% en promedio.

Con respecto a la difusividad efectiva, y, específicamente con el factor microestructural (F), al existir resultados distintos de dicho factor, se concluye que el proceso de pretratamiento, no logro de forma uniforme un sistema de poros interconectados, y una ruptura total de las paredes celulares, por lo que el proceso de extracción no terminó siendo completo, ya que no se pudo liberar de forma completa el aceite existente al interior del lecho de microalga. Esto se justifica principalmente por

los rendimientos de extracción obtenidos, y por la baja dominancia de la transferencia de materia de tipo intrapartícula

En lo que relaciona a los rendimientos de extracción, se establece que la condición operacional optima, según los datos experimentales es **300 bar – 40 °C**, debido a que es la que mayor rendimiento neto de extracción tiene. Sin embargo, desde el punto de vista de trabajo experimental, la opción más conveniente es **400 bar – 50 °C**, debido a que, porcentualmente hablando, existieron menores pérdidas durante la línea del equipo, es decir, se depositó en el vial un mayor % de triglicéridos extraídos.

Por otra parte, con respecto al análisis del coeficiente global de transferencia de materia, se aprecia que el efecto extra-partícula es predominante, al contrastarlo con el efecto intra-partícula, esto se observa adicionalmente al comparar los valores de los coeficientes de transferencia de materia respectivos. Sin embargo, si se lograse aumentar el valor de la difusividad efectiva, manteniendo constantes los parámetros operacionales (temperatura, presión, velocidad superficial), se logra un aumento considerable de la transferencia de materia interna, por lo que se vuelve una alternativa para lograr mayor transferencia de materia global, en caso de que no se logre la unión uniforme de los poros intra-partícula.

Finalmente, al contrastar el modelado y los datos experimentales (mediante el analsis de bondad de ajuste, entregado por los coeficientes de determinación), se concluye que el Modelo de Fuerza Impulsora Lineal (LDF), es adecuado para modelar extracciones de *Nannochloropsis sp*, a condiciones de extracción empleadas usualmente en la industria. Sin embargo, para poder optimizar el poder de trabajo de dicho modelo, es importante conocer el punto de *cross-over* de solubilidad para poder determinar de forma más exacta, en donde se comienza a apreciar diferencias más significativas en los cambios de parámetros de ajuste (K y D_e) relevantes del modelo. En este caso experimental, la presión de *cross-over* es de 330 bar.

5.1 Recomendaciones

En lo que respecta a las recomendaciones para futuros avances en el estudio del Modelo LDF para extracciones de triglicéridos en microalgas, se tiene lo siguiente:

- ✓ Con respecto al pretratamiento, se necesita realizar una pelletización eficiente, con respecto al factor microestructural. Adicionalmente, se necesita hacer un análisis desde el punto de vista estructural para poder conseguir tanto el coeficiente microestructural de forma directa, como la porosidad intra-partícula, con el objetivo de cuantificar de forma más eficiente, la extracción desde el punto de vista intra-partícula.
- ✓ Para asegurar una extracción más efectiva desde ese punto de vista, se debe conocer además el punto de *cross-over* de las solubilidades a las condiciones de operaciones utilizadas, para tener certeza de que un aumento de la temperatura, influirá positivamente o negativamente en este parámetro.
- ✓ Para el trabajo en la bomba neumática de doble pistón del equipo de extracción modelo HPE Lab-500 de la empresa *Eurotechnica*, se recomienda una forma más eficiente de mantener fríos los cabezales de dicha bomba, con el objetivo de lograr un licuado del dióxido de carbono, para su posterior presurización.
- ✓ Se recomienda tener la precaución de realizar una extracción soxhlet en conjunto a cada proceso de extracción supercrítica, para poder cerrar los balances de materia de forma completa, y así ver una relación efectiva entre las condiciones operacionales y las asíntotas observadas.
- ✓ Finalmente, en lo que respecta a la operación del equipo de trabajo, se recomienda trabajar con velocidades superficiales lo más uniformes posibles, para lograr esto, se debe utilizar un valor que ronde los 0,4 mm/s, para este equipo; debido a que a velocidades mayores, se produce una mayor cantidad de hielo seco en la zona de recolección, con las consecuentes perdidas de material.

6. Bibliografía

Acofarma. (2010). *Fichas de información técnica: Polivinil Pirrolidona.* Madrid.

Akermann, A., & Giridhar, M. (1994). *Fundamentals of solids extraction by supercritical fluids.* Texas.

Andrich, G. (2006). *Supercritical fluid extraction of bioactive lipids from the microalga Nannochloropsis sp.* Pisa.

Andrighetti, S. (2014). *Métodos experimentales para la medición de porosidad de lecho de materiales biológicos* . Santiago.

Aravena, R. (2011). *EXTRACCIÓN DE ASTAXANTINA DE HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS USANDO CO_2 SUPERCRÍTICO* . Santiago.

Boeco. (s.f.). *Boedo Vaccum Pump R-300*. Recuperado el 28 de Julio de 2017, de http://www.boeco.com

Brunner, G. (1994). *Gas extraction. An introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes.* New York: Springer.

Buchi. (2017). *Manual de Instruccciones Rotavapor R-3.* Sao Paulo.

Carrillo, A. (2015). *Introducción al Método de Diferencias Finitas y su implementación computacional.* Ciudad de México.

Cavieres, P. (2011). *Boom de algas para Biocombustibles.* Santiago: Colegio de Agrónomos de Chile.

Chisti, Y. (2007). *Biodiesel from microalgae.* Palmerston North.

Crampon, C. (2011). *Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Molecules of Interest from Microalgae and Seaweeds.* Marsella.

del Valle, J. M., & Aguilera, J. M. (1999). *Revisión: Extracción con CO_2 a alta presion. Fundamentos y aplicaciones en la industria de alimentos.* Santiago.

del Valle, J. M., & de la Fuente, J. C. (2006). *Supercritical CO_2 Extraction of Oilseeds: Review of Kinetic and Equilibrium Models.* Santiago.

del Valle, J. M., & de la Fuente, J. C. (2006). *Supercritical CO_2 Extraction of Oilseeds: Review of Kinetic and Equilibrium Models.* Santiago.

del Valle, J. M., de la Fuente, J. C., & Uquiche, E. (2012). *A refined equation for predicting the solubility of vegetable oils in high-pressure CO_2.* Santiago.

del Valle, J. M., Germain, J. C., & Uquiche, E. (2005). *Microstructural effects on internal mass transfer of lipids in prepressed and flaked vegetable substrates.* Santiago.

Desert Bioenergy. (2015). *Ficha técnica Nannochloropsis sp.* Santiago.

Diaz, J. F. (2011). *EFECTO DE LOS PERFILES RADIALES DE POROSIDAD EN LA VELOCIDAD DE EXTRACCIÓN DE LECHOS EMPACADOS CON CO_2 SUPERCRÍTICO.* Santiago.

Esquivel, M., & Bernardo-Gil, M. B. (1993). *El uso de fluidos supercríticos en la industria de aceites alimentarios.* Lisboa.

Gouveia, L. (2008). *Microalgae as a raw material for biofuels production.* Lisboa.

Gouveia, L. (2012). *A biorefinery from Nannochloropsis sp. microalga – Extraction of oils and pigments. Production of biohydrogen from the leftover biomass.* Lisboa.

Grasso, F. (2013). *Diseño del proceso: Pretratamiento enzimático para extracción de aceites vegetales en un extractor de columna.* Buenos Aires.

Halim, R. (2012). *Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review.* Victoria.

Hernandez, L. (2014). *Biofuels from microalgae: lipid extraction and methane production from the residual biomass in a biorefinery approach.* Valladolid.

Herrero, M. (2009). *Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications.* Madrid.

Indura. (2017). *Manual de Gases Indura.*

Merino, L. (2012). Expertos analizaron el potencial de las microalgas aplicado a la industria. *Aqua*, 11-12.

Mouahid, A. (2013). *Supercritical CO_2 extraction of neutral lipids from microalgae: Experiments and modelling.* Marsella.

Radwag. (2017). *User Manual R Series Balances.* Varsovia.

Revista Aqua. (1 de Junio de 2016). Recuperado el 28 de Septiembre de 2017, de Cultivo de microalgas: Pequeñas de alta sofisticación: http://www.aqua.cl/reportajes/cultivo-de-microalgas-pequenas-de-alta-sofisticacion

Ritter. (2011). *TROMMEL-GASZÄHLER Datenblatt Typ: TG 10 Ausf. 5-8.*

Salazar, L. (2012). *EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE ACEITE DE MICROALGAS PARA LA PRODUCCIÓN DE BIODIESEL.* Piura.

Solana, M. (214). *Exploiting Microalgae As A Source Of Essential Fatty Acids By Supercritical Fluid Extraction Of Lipids: Comparison Between Scenedesmus Obliquus, Chlorella Protothecoides And Nannochloropsis Salina.* Padova.

Treybal, R. E. (1980). *Operaciones De Transferencia De Masa.* Mc Graw Hill.

Uquiche, E. (2003). *Supercritical carbon dioxide extraction of red pepper (Capsicum annuum L.) oleoresin.* Temuco.

Whittle, L. (2015). *EXTRACCIÓN DE TRIGLICÉRIDOS A PARTIR DE NANNOCHLOROPSIS SP CON CO_2 SUPERCRÍTICO.* Santiago.

Zaidul, I. S., Sahena, F., & Jinap, S. (2009). *Application of supercritical CO_2 in lipid extraction – A review.* Seradang.

6 Anexos

Modelo general de extracción con CO_2 supercrítico

Para definir el modelado de la extracción de los lípidos que se encuentran dentro del lecho de microalgas, se deben realizar balances de materia tanto dentro del sustrato o lecho (fase sólida), como en el seno del fluido (fase fluido).

Se tiene un lecho empacado de altura L, con una porosidad de lecho (fracción de vacío) ε; a través de este lecho fluye el $CO_2 - SC$ con una velocidad insterticial u y una velocidad superficial U ($u = U/\varepsilon$). Adicionalmente, se sabe que cada una de las partículas que forman el lecho empacado, tienen un diámetro de partícula d_p y poseen una porosidad de partícula ε_p. Este modelo fue propuesto por (Akermann & Giridhar, 1994), el cual vendrá resumido en el cuadro siguiente, siendo la base de todos modelos posteriores, dependiendo de las simplificaciones que se quieran realizar.

Las características de este modelo general, son las siguientes (del Valle & de la Fuente, 2006): las partículas son de forma esférica (radio R), y porosas (porosidad ε_p), la velocidad intersticial del fluido supercrítico en el lecho empacado (u) se considera constante, las propiedades físicas del sustrato y del fluido supercrítico permanecen inalterables, las caídas de presión y variaciones de temperaturas en el lecho se consideran despreciables, el soluto se somete únicamente a dispersión axial en el fluido supercrítico.

Con respecto a la última hipótesis, el soluto disuelto en el FSC se difunde a lo largo del lecho (coeficiente de dispersión axial D_L) como resultado de los gradientes de concentración axiales. Dos fracciones de soluto a extraer, se pueden encontrar dentro de la matriz sólida, a saber: el soluto que se adsorbe en el sólido (C_s), y el soluto que se disuelve en la fase fluida dentro de los poros (C_p). Concentraciones iniciales ($C_{so}\ y\ C_{po}$) son determinadas por la concentración del soluto total inicial (C_o) y la relación de equilibrio entre las dos fases, es decir:

$$C_{so} = f(C_{po})$$
$$C_o = \varepsilon_p C_{po} + (1 - \varepsilon_p) C_{so}$$

Como resultado de estas suposiciones, la concentración de soluto en la matriz sólida ($C_s\ y\ C_p$) depende de la posición radial dentro de la partícula (r), la posición axial a través del lecho (z) y el tiempo de extracción (t); mientras que la concentración de soluto en el fluido supercrítico, solo depende de $z\ y\ t$. El balance de materia para el seno del fluido, viene dado por la siguiente ecuación:

$$\frac{\partial C_f}{\partial t} + u\frac{\partial C_f}{\partial z} - D_L\frac{\partial^2 C_f}{\partial^2 z} = \frac{3}{R}\frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon} J$$

Con la siguiente condición inicial para la concentración en el seno del fluido:

$$C_f = 0 \qquad (\forall z\ en\ t = 0)$$

Además de las siguientes condiciones de borde, para la concentración en el seno del fluido tanto al inicio, como al fin del extractor:

$$D_L \frac{\partial C_f}{\partial z} = uC_f \qquad (\forall t\ en\ z = 0)$$
$$\frac{\partial C_f}{\partial t} = 0 \qquad (\forall t\ en\ z = L)$$

Por otra parte, para fluido supercrítico que entra a las partículas que forman el lecho, se tiene el siguiente balance de materia:

$$\frac{\partial C_p}{\partial t} + \frac{1}{\varepsilon_p}\frac{\partial C_s}{\partial t} = \frac{D_e}{r^2}\frac{\partial}{\partial r}\left(r^2 \frac{\delta C_p}{\delta r}\right)$$

Con las siguientes condiciones iniciales:

$$C_p = C_{po} \qquad (\forall r\ y\ z\ en\ t = 0)$$

$$C_s = C_{so} \qquad (\forall r\ y\ z\ en\ t = 0)$$

Y las siguientes condiciones de borde:

$$\frac{\partial C_s}{\partial r} = 0 \qquad (\forall t\ y\ z\ en\ r = 0)$$
$$\varepsilon_p\, D_e \frac{\partial C_p}{\partial r} = -J \qquad (\forall t\ y\ z\ en\ r = R)$$

Existen diversos tipos de simplificaciones y modificaciones del modelo general presentado, que presentan diversos comportamientos; los principales modelos simplificados, son los (del Valle & de la Fuente, 2006):

- Mecanismos de Transferencia de Masa Interna:
  - Modelo de Desorción
  - Modelo *Shrinking Core*
  - Modelo de Difusión
- Simplificaciones del Modelo General:
  - Modelos donde se desprecia la dispersión axial del soluto
  - Modelo de Lecho diferencial
  - Modelo de Control de Transferencia de Masa Externa (EMTC)
  - **Modelo *Lineal Driving Force* (LDF)**
  - Modelo de Control de Transferencia de Masa Interna
  - Modelo de dos etapas

Procedimiento Experimental: Paso a paso

Loa siguientes pasos son los que se debieron realizar en cada una de las extracciones supercríticas

dentro del presente trabajo:

1. En un paso previo, se debe preparar el hielo para los cabezales, el baño caliente para el vial de salida, además del refrigerante, la chaqueta calefactora, y los distintos viales para utilizar en la extracción (cada uno de estos, debe estar masado previamente).
2. En primer lugar, se debe conocer la masa de microalga que se introduce dentro del canasto para formar el lecho por el que circulará el CO_2 al interior del equipo de extracción. Dicha masa se obtiene de forma indirecta, tarando el canasto previamente en la balanza analítica Radwag, modelo AS 82/220 – R2.
3. Luego de conocer la masa de microalga a extraer, se procede a realizar la instalación de los canastos dentro del equipo de extracción; uno con la microalga a utilizar, mientras que el otro se llena con perlas de vidrio de 1 mm de diámetro.
4. Posteriormente, se realiza el cierre de las conexiones dentro del equipo de extracción, específicamente el cabezal superior. Además se debe tener precaución de que la válvula de alivio inferior, debe estar cerrada, al igual que la válvula V2 de salida del extractor.
5. Se enciende el calefactor del equipo de extracción, hasta que se llega a la temperatura de operación deseada.
6. En ese instante, se abre la válvula del cilindro de CO_2, permitiendo el paso de este fluido al extractor, anotando la presión del cilindro, para poder tener registro del contenido dentro del mismo. Además de abrir la válvula de aire comprimido que es empleada en la bomba neumática de doble pistón.
7. En este momento, se enciende la bomba neumática, presurizando el CO_2 hasta la presión de operación; teniendo en consideración que debe circular la menor cantidad de dióxido de carbono posible, esto se logra empleando de manera conjunta, la válvula BPR y la acción de la bomba.
8. Luego de que se llega a la presión de operación, y se logra un flujo constante de CO_2, ya se da comienzo al proceso de extracción.
9. Cabe destacar, que existen puntos de cambio de vial, para la confección de la curva de rendimiento acumulado. Dichos tiempos establecidos arbitrariamente, son los siguientes: **5, 10, 15, 20, 30, 60 y 90 minutos.**
10. En cada uno de estos puntos de cambio de vial, se debe anotar la masa de aceite obtenida y la lectura el flujómetro marca TG-10 marca *Ritter*.
11. La extracción se termina cuando, se aprecia una asíntota en la curva acumulada, o cuando se producen problemas operacionales dentro del proceso de bombeo y presurización.
12. Cuando se produce el término de la extracción, se apaga la bomba, se cierra la válvula V1 de entrada al extractor, y se despresuriza el cilindro de extracción; posteriormente se abre la válvula de alivio y se abren las conexiones para extraer el canasto con muestra.
13. Dicho canasto se debe volver a pesar, para conocer cuánto aceite – triglicéridos efectivamente fueron extraídos en dicho procedimiento.
14. Finalmente se debe realizar el proceso de limpieza de las líneas empleando acetona dentro del extractor como fluido de limpieza. Se hace circular CO_2 dentro del equipo a 200 bar y 40 °C como condiciones de operación; durante 15 min aproximadamente.

Dicho procedimiento experimental, fue repetido para cada uno de las extracciones planificadas a las

distintas condiciones operacionales entregadas en la Tabla 10.

Procedimiento Experimental: Riesgos asociados

Pero todo proceso de experimentación tiene riesgos asociados; y la extracción supercrítica no es la excepción. Específicamente en el equipamiento empleado en la presente investigación se cuentan las siguientes problemáticas experimentales:

- Cavitación: Este problema se produce puesto a que, producto del que el sistema de refrigerante durante un proceso de extracción continuo, no es capaz de mantener de manera licuada el CO_2 para su presurización, volviéndolo un fluido supercrítico. Este problema conlleva a que la presión del sistema caiga, y deba ser suspendido el proceso de extracción. Para poder solucionar esta problemática, se realizó un sistema de refrigeración local de los cabezales de la bomba neumática, empleado agua en estado sólido (hielo), el cual debe ser repuesto durante el procedimiento; logrando buenos resultados. Los puntos donde se realiza la refrigeración local en la bomba neumática de doble pistón, vienen dados en la Figura 27

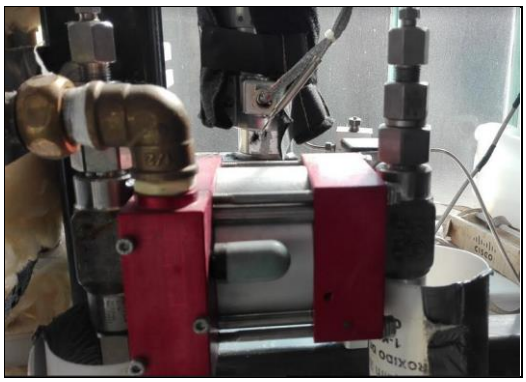


Figura 27: Bomba Neumática correspondiente al equipo de extracción supercrítica

- Expansión repentina de CO_2: Al abrir la válvula BPR y el CO_2 ser liberado, el producto, se expande repentinamente y produce una bajada de temperatura tan intensa que el gas se solidifica. Esta caída de temperatura produce 2 efectos principales: el congelamiento del agua presente en el aire en forma de humedad, congelando las líneas, y la formación de hielo seco en los viales de salida. Este último problema, puede llegar a ser bastante serio, ya que puede romper este material de vidrio producto de la sobrepresión. Para solucionar esta problemática, se recurrió a la instalación de un baño caliente, empleando agua a una mayor temperatura en la zona donde se encuentran los viales para la recolección de aceite dentro de los mismos, tal como lo señala la Figura 28 (en donde las flechas que entrega dicha imagen, muestran las zonas donde existía una mayor formación de hielo, ya sea como congelación de agua ambiente o bien, como hielo seco). Una técnica para remediar la congelación de agua en las líneas donde circula el CO_2, se utilizan fuentes calóricas, tales como resistencias eléctricas o aire caliente.

Figura 28: Válvula BPR del equipo de extracción.

- Fugas en las líneas: Producto de conexiones sueltas principalmente, las fugas de CO_2 desde el interior de las líneas tienen como consecuencia directa, la caída de presión dentro del equipo, provocando que no se realice de forma adecuada el proceso de extracción, e inclusive llegar a la cavitación la bomba. Es necesario realizar siempre una inspección tanto visual como auditiva de cada una de las conexiones, antes del proceso de extracción, para evitar fugas de dióxido de carbono.

- Sobrepresión del equipo: Finalmente producto de diversas razones (principalmente se destaca el mal manejo del sistema conjunto entre bomba neumática – válvula BPR), producen aumentos de la presión dentro del equipo de extracción. Dicho parámetro debe ser controlado con extrema precaución, ya que, tal como indica el anexo existe un límite de 500 bar de presión, superando ese límite, se daña permanentemente el equipo, e inclusive puede llegar a explotar dicho equipamiento.

Como todo equipo de alta presión, se debe utilizar los elementos de protección personal adecuados para dichos experimentos, los cuales son: Zapatos de seguridad de punta de fierro, bata o capa de laboratorio y gafas de protección ocular.

Resumen Datos de extracción

La siguiente sección, tiene como objetivo el presentar los distintos resultados obtenidos en cada una de las extracciones experimentales realizadas en el presente trabajo de investigación. Se presentarán los datos recopilados tanto de rendimiento acumulado (en g_{ac} / kg_{MA}), como de consumo específico de CO_2 (en kg_{CO_2} /kg_{MA}).

Resultados extracción a 40 °C y 300 bar

Tabla 30: Resultados extracciones supercríticas a 40 °C y 300 bar

Extracción a 40 °C – 300 bar						
	Primera Extracción			Segunda Extracción		
Tiempo min	$g_{ac}\ kg_{MA}{}^{-1}$	Rendimiento acumulado	$kg_{CO_2}\ kg_{MA}{}^{-1}$	$g_{ac}\ kg_{MA}{}^{-1}$	Rendimiento acumulado	$kg_{CO_2}\ kg_{MA}{}^{-1}$
0	0	0	0	0	0	0
5	3,074	3,074	2,4734	3,1811	3,1811	2,6861
10	1,4140	4,4881	4,9468	0,9132	4,0943	5,3722
20	1,6042	6,0923	9,8937	1,1571	5,2514	10,7444
40	1,5422	7,6345	19,7873	1,1753	6,4267	21,4889
60	0,4899	8,1244	29,681	1,3406	7,7672	29,5472
90	0,2212	8,3456	44,5215	0,5161	8,2833	45,1267

Resultados extracción a 60 °C y 300 bar

Tabla 31: Resultados extracción supercrítica a 60 °C y 300 bar

Extracción a 60 °C – 300 bar			
Tiempo min	$g_{ac}\ kg_{MA}{}^{-1}$	Rendimiento acumulado	$kg_{CO_2}\ kg_{MA}{}^{-1}$
0	0	0	0
5	3,0241	3,0241	2,1475
10	1,0314	4,0554	4,295
20	3,6314	7,6868	8,5901
40	2,6453	10,3321	17,1801
60	1,8836	12,2157	25,7702
82	0,5785	12,7942	35,2193

Resultados extracción a 50 °C y 400 bar

Tabla 32: Resultados extracción supercrítica a 50 °C y 400 bar

Extracción a 50 °C – 400 bar			
Tiempo min	$g_{ac}\ kg_{MA}{}^{-1}$	Rendimiento acumulado	$kg_{CO_2}\ kg_{MA}{}^{-1}$
0	0	0	0
5	3,0219	3,0219	2,4649
10	1,561	4,5829	4,9297
20	2,0722	6,6551	9,8594
37	4,9941	11,6492	18,2399
60	7,0227	18,6719	29,5782
70	0,7769	19,4487	34,5079
120	1,0825	20,5312	59,1564

Resultados extracción a 40 °C y 450 bar

Tabla 33: Resultados extracción supercrítica a 40 °C y 450 bar

Extracción a 40 °C – 450 bar							
Primera Extracción				Segunda Extracción			
Tiempo min	$g_{ac}\ kg_{MA}{}^{-1}$	Rendimiento acumulado	$kg_{CO_2}\ kg_{MA}{}^{-1}$	Tiempo min	$g_{ac}\ kg_{MA}{}^{-1}$	Rendimiento acumulado	$kg_{CO_2}\ kg_{MA}{}^{-1}$
0	0	0	0	0	0	0	0
7	1,9334	1,9334	4,2754	6	1,105	1,105	3,9786
13	0,6364	2,5698	7,94	11	2,0647	3,1697	7,2941
25	1,5484	4,1182	15,2693	20	0,5382	3,7079	13,2619
36	1,7895	5,9077	21,9877	36	2,6254	6,3333	23,8715
60	2,4543	8,362	36,6462	60	2,7687	9,102	39,7858
90	1,4349	9,7969	54,9693	114	2,3267	11,4287	75,593

Resultados extracción a 60 °C y 450 bar

Tabla 34: Resultados extracción supercrítica a 60 °C y 450 bar

Extracción 60 °C – 450 bar			
Tiempo min	$g_{ac}\ kg_{MA}{}^{-1}$	Rendimiento acumulado	$kg_{CO_2}\ kg_{MA}{}^{-1}$
0	0	0	0
5	9,3528	9,3528	4,1308
10	1,3049	10,6577	7,6714
20	1,6493	12,3071	14,7527
40	2,9385	15,2456	21,2439
60	1,0412	16,2867	35,4064
82	0,3936	16,6804	48,3888

Tecnologías relacionadas con el pretratamiento y extracción de lípidos provenientes de microalgas

Tabla 35: Diferentes tecnologías relacionadas con pretratamiento y extracción de lípidos provenientes de microalgas, además de su potencial de escalamiento (3 alto escalamiento, 1 bajo escalonamiento)

Etapa del proceso	Tecnología	Potencial de escalamiento
Deshidratación	Aglomeración	3
	Centrifugado	2
	Filtración	2
	Floculación	3
	Deshidratación a presión	1
Pretratamiento: Rompimiento de células	Ultrasónico	2
	Homogenización a alta presión	3
	Molienda con perlas	3
	Microondas	2
	Químico (ácidos y enzimas)	2
	Shock osmótico	2
Pretratamiento: Secado	Horno de secado	1
	Secado en frio	1
	Secador spray	1
Pretratamiento: Disminución tamaño de partícula	Molienda con tamizado especifico	2
	Molienda con mortero	1
Extracción de lípidos	Extracción con solvente orgánico	2
	Extracción con fluido supercrítico	2
	Extracción *Soxhlet*	1
	Extracción con solvente orgánico (asistido con ultrasonido)	2
	Extracción con solvente orgánico (asistido con microondas)	2

Características y detalles técnicos equipo de extracción mediante CO_2 supercrítico (*Eurotechnica*, modelo HPE lab-500)

Tabla 36: Detalles técnicos celda de extracción *Eurotechnica* HPE lab-500

Ítem	Especificaciones	Condiciones máximas
Tanque de alta presión "Extractor"	Volumen: 280 mL Diámetro interno: 40 mm Longitud interna: 220 mm Chaqueta calefactora de 2 kW	Presión: 500 bar Temperatura: 120 °C
Precalentador	Tubo enroscado (6 m, 1/8 in de diámetro) 500kW de potencia	Presión: 500 bar Temperatura: 120 °C
Bomba de doble pistón para CO_2 a alta presión	Neumática de doble pistón	1050 Bar (CO_2) 10 Bar (Aire)
Pistones acumuladores (2)	Tubo de 1 in Diámetro interno: 17,4 mm Largo: 12 in	700 Bar
Válvula BPR (Manual)	Puertos de 1/4 in	Presión: 690 Bar Temperatura: 120 °C
Manómetro análogo		600 Bar
Sensor de temperatura	NiCr – Ni de 1/16 in	Presión: 600 Bar Temperatura: 100 °C
Válvulas y conexiones	Diámetro de ¼ in	Presión: 1000 Bar Temperatura: 100 °C
Disco de ruptura	1/4 in	Presión: 550 Bar

Código de MATLAB, del Modelo LDF

Parámetros de entrada para el código:

- Tiempo de modelación (t)
- Vector de datos iniciales Y, definido de la siguiente forma:
  - $i = 1 \rightarrow i = n\ (numero\ de\ nodos)$: Concentración de soluto en el FSC (C_f).
  - $i = n + 1 \rightarrow i = 2n$: Concentración de soluto en el sustrato de microalga $(\overline{C_s})$.
  - $i = 2n + 1$: Rendimiento acumulado, que en el instante inicial es igual a 0.
- Constante de equilibrio lineal (K).
- Difusividad efectiva (D_e).
- Dimensiones del extractor:
  - Diámetro interno (D_{in}).
  - Altura (H).
- Masa de microalga que ingresa al extractor $(Carga)$.
- Densidad del CO_2 (ρ_{CO_2}).
- Viscosidad del CO_2 (μ_{CO_2}).
- Diámetro de partícula de sustrato (d_p).
- Porosidad de lecho (ε).
- Numero de nodos en los que se divide el lecho

```
function
DY=ModeloLDF(t,Y,K,De,H,Din,Carga,RhoCO2,u,viscosidad,dp,porosidad,nodosz)

%Funcion que recibe parametros del proceso,
%- Nodos del 1 a nodosz = Concentracion de soluto en el FSC (Cf)
%- Nodos nodosz a 2*nodosz = Concentracion promedio en el sustrato (Cs)
%- Ubicacion 2*nodosz+1 = Rendimiento acumulado

a=6/dp; %factor de forma particulas esfericas
nodos=(length(Y)-1)/2;
Dz=H/(nodosz-1);

%Cálculo para obtener el kf

Re=(dp*RhoCO2*u)/viscosidad; %Numero de Reynolds
Sc=viscosidad/(RhoCO2*De); %Numero de Schmidt
Sh=0.38*Re^(0.83)*Sc^(0.33); %Correlación

R=dp/2; % Radio de partícula [m]
kf=(Sh*De)/dp; %transferencia externa [m/s]
kp=(5*De*kf)/(5*De+R*kf); %kp del modelo, transferencia global [m/s]

%Inicializacion de variables
DY=zeros(1,2*nodos+1);

%Creacion de vector de J
J=zeros(1,nodos);
for i=1:nodos
    J(i)=a*kp*((1/K)*Y(nodos+i)-Y(i));
end

%Condicion de Borde
Cfo=0;

%Nodo i = 1, método de diferencias finitas
DY(1)=((1-porosidad)/porosidad)*J(1)-(u/(2*Dz))*(Y(2)-Cfo);
DY(nodos+1)=-J(1);

%Nodos i = 2 al i = nodos-1
for i=2:(nodos-1)
    DY(i)=((1-porosidad)/porosidad)*J(i)-(u/(2*Dz))*(Y(i+1)-Y(i-1));
    DY(nodos+i)=-J(i);
end

%Nodo i= nodos
DY(nodos)=((1-porosidad)/porosidad)*J(i)-(u/(2*Dz))*(3*Y(nodos)-4*Y(nodos-
1)+Y(nodos-2));
DY(2*nodos)=-J(nodos);


%Rendimiento Acumulado
Ar=pi()*Din*Din*0.25;
DY(2*nodos+1)=(u*Ar*porosidad*Y(nodos))/Carga;

DY=DY';
```

Estudios revisados en extracción de lípidos a partir de microalgas utilizando CO_2 supercrítico:

Tabla 37: Principales estudios revisados donde se utiliza CO_2 supercrítico para extracción de lípidos

N°	Referencia	Rango parámetros de operación			Parámetro Optimo			Sustrato
		Presión Bar	Temperatura °C	Flujo g/min	Presión Bar	Temperatura °C	Flujo g/min	
1	(Gouveia, 2012)	125 200 300	40 60	0,35 0,6	300	40	0,62	*Nannochlopsis sp*
2	(Halim, 2010)	300	60 80	-	300	60	-	*Chlorococcum sp*
3	(Macías S, 2006)	100 200 300 400 500	40 50 60	0,198	300	50	0,198	*Synechoccocus sp*
4	(Florentini, 2001)	400 550 700	40 55	166,67	-	-	-	*Nannochlopsis sp*
5	(Andrich, 2012)	250 400 550 700	40 55	166,67	-	-	-	*Nannochlopsis sp* *Schizochytrium sp* *Spirulina platensis* *Nannochloropsis Osculata*
6	(Mouhaid, 2013)	400	60	5 8,33	400	60	5	*Cylindrotheca C.* *Chlorella vulgaris* *Spirulina platensis* *Scenedesmus O.*
7	(Solana, 2014)	150 200 250 300	45 55 65	6,67	300	60	6,67	*Chlorella P.* *Nannochloropsis Salina.*
8	(Aravena, 2011)	350 450 550	40 70	10	450	40	10	*Haematococcus Pluvialis*
9	(Andrich, 2005)	400 550 700	55	166,67	-	-	-	*Nannochlopsis sp*