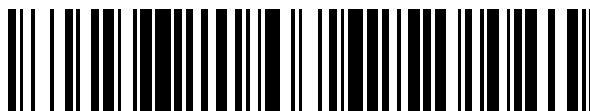


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 896 684**

51 Int. Cl.:

**C12N 1/12** (2006.01)

**C12M 1/00** (2006.01)

**B01D 53/62** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.04.2017 PCT/FR2017/050852**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.10.2017 WO17178743**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.04.2017 E 17719866 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.09.2021 EP 3443070**

54 Título: **Procedimiento de cultivo de microalgas y/o cianobacterias a partir de efluentes de gases industriales que contienen dióxido de carbono e instalación para la implementación de este procedimiento**

30 Prioridad:

**12.04.2016 FR 1653200**

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

**25.02.2022**

73 Titular/es:

**ITALCEMENTI S.P.A. (50.0%)**

**Via Stezzano, 87**

**24126 Bergamo, IT y**

**ALGOSOURCE TECHNOLOGIES (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CORAZZA, FABIO;**

**LOMBARD, CHRISTOPHE;**

**LEURANGUER, JÉRÔME;**

**LEBORGNE, FRANÇOIS y**

**LEPINE, OLIVIER**

74 Agente/Representante:

**VIDAL GONZÁLEZ, Maria Ester**

ES 2 896 684 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Procedimiento de cultivo de microalgas y/o cianobacterias a partir de efluentes de gases industriales que contienen dióxido de carbono e instalación para la implementación de este procedimiento

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere al campo de los procedimientos de cultivo de microalgas, más particularmente un procedimiento de cultivo de microalgas en un fotobiorreactor.

Estado de la técnica anterior

Para crecer y desarrollarse, la biomasa, como las microalgas, necesita nutrientes minerales, pero también agua, CO<sub>2</sub> y luz, para realizar su fotosíntesis.

- 10 En el contexto de la lucha contra el calentamiento global y debido a un consumo específico de CO<sub>2</sub> mayor por m<sup>2</sup> que las plantas terrestres (aproximadamente 10 veces mayor), se ha llevado a cabo una gran cantidad de investigaciones durante los últimos veinte años para desarrollar procesos de captura y recuperación de gases y humos industriales ricos en CO<sub>2</sub> mediante el uso de microalgas para producir moléculas de interés o biocombustibles. Recientemente, se ha propuesto utilizar efluentes gaseosos industriales tales como efluentes gaseosos de fábricas de cemento o de centrales eléctricas de carbón (CHENG Jun et al., Bioresource Technology, 190, 2015, pp 235-241) para enriquecer los medios de cultivo de algunas microalgas en dióxido de carbono.

Sin embargo, dependiendo de su origen, los efluentes gaseosos industriales pueden estar cargados con componentes que inhiben el crecimiento de los microorganismos en cuestión o reducen la capacidad posterior de utilizar estos microorganismos.

- 20 Por ejemplo, el documento de C. G. Borkenstein (J. Appl. Phycol., 23, 2010, pp 131-135) que describe un procedimiento que utiliza como fuente de carbono de cultivo de un alga verde (*Chlorella emersonii*) un efluente gaseoso de fábrica de cemento, concluye que el plomo se acumula en la biomasa de algas (con una tasa tres veces superior al valor de referencia) que, por lo tanto, no debe utilizarse como complemento alimenticio o pienso.

Objeto de la invención

- 25 Por lo tanto, un primer objeto de la invención es proporcionar un procedimiento de cultivo de microalgas a partir de efluentes gaseosos industriales que contienen dióxido de carbono que no altera las propiedades de estas microalgas y permite su recuperación, especialmente en alimentación animal o humana.

Otro objeto de la invención es proporcionar un procedimiento de cultivo de microalgas a partir de un efluente de gas industrial que contiene dióxido de carbono que también es aplicable a las cianobacterias.

- 30 Descripción de la invención

Con este fin, la presente invención se refiere a un procedimiento de cultivo de microalgas y/o de cianobacterias en un fotobiorreactor que contiene un medio nutritivo que incluye una fuente de carbono, la fuente de carbono es un efluente de gas industrial que contiene dióxido de carbono, y el procedimiento comprende las siguientes etapas sucesivas:

- a) – la captura de efluentes de gases industriales húmedos (humos) que contienen dióxido de carbono,
- 35 b) – el secado/depuración de dicho efluente gaseoso por enfriamiento, provocando la condensación de la fracción húmeda y obteniendo un efluente gaseoso seco,
- c) – la separación del condensado del efluente gaseoso seco que contiene dióxido de carbono,
- d) – el seguimiento del pH del medio de cultivo en el fotobiorreactor que contiene una o más cepas de microalgas y/o cianobacterias, con determinación de un intervalo de pH óptimo para el crecimiento de dichas cepas,
- 40 e1) – el enriquecimiento con dióxido de carbono (carbonatación) de una solución nutritiva de microalgas y/o cianobacterias mediante dicho efluente seco/purificado, seguido, en función del pH del medio de cultivo, de la inyección de dicha solución nutritiva enriquecida con dióxido de carbono en el fotobiorreactor,
- o e2) – la inyección directa del efluente seco que contiene dióxido de carbono en el fotobiorreactor,
- f) – la recolección de la biomasa producida para su valoración,

- 45 caracterizado porque el efluente gaseoso es un efluente de la industria cementera, más particularmente capturado en el conducto de la chimenea de una fábrica de cemento, antes de su descarga a la atmósfera, porque el enfriamiento del efluente se realiza a una temperatura inferior a o igual a 5 °C, y porque las microalgas o cianobacterias se seleccionan de las siguientes cepas: *Arthrospira platensis* (espirulina), *Chlorella vulgaris* o *Nannochloropsis oculata*.

La importancia de la etapa de secado del efluente gaseoso, posibilitando la obtención de un gas seco, radica también en la eliminación de todos los elementos arrastrados por la condensación de la fracción húmeda del gas, resultando simultáneamente en la reducción de polvos residuales y elementos solubles en vapor de agua. Por lo tanto, esta etapa también se denomina etapa de purificación del efluente gaseoso.

5 Ventajosamente, al menos parte de las calorías recuperadas durante el enfriamiento del efluente crudo se dirigen al fotobiorreactor y/o al gas seco, para elevar su temperatura.

Preferiblemente, el contenido de vapor de agua del gas seco a presión atmosférica es menor o igual al 3%, preferiblemente menor o igual al 1%.

10 De acuerdo con una primera realización de la invención, el gas seco enriquece la solución nutritiva con CO<sub>2</sub> antes de que entre en el fotobiorreactor.

De acuerdo con una segunda realización de la invención, el gas seco se inyecta directamente en el fotobiorreactor, introduciéndose la solución nutritiva por separado.

15 El efluente gaseoso, al ser un efluente de la industria del cemento, más particularmente capturado en el conducto de la chimenea de una fábrica de cemento, antes de su liberación a la atmósfera, el procedimiento según la invención permite así el reciclaje de los humos de la fábrica de cemento, ventajosamente también con la recuperación del calor residual del procedimiento de clinkerización.

Los ejemplos que se presentan a continuación muestran que dicho efluente, de una fábrica de cemento, no es perjudicial, contrariamente a la enseñanza del estado de la técnica mencionado en la introducción, para la posterior valoración de las microalgas así producidas, incluso para una valoración en el sector alimentario.

20 Dado que el funcionamiento de una fábrica de cemento es continuo, el procedimiento de cultivo según la invención puede realizarse en forma continua.

25 Más particularmente, se ha observado, de modo sorprendente, que las microalgas y/o cianobacterias cultivadas según el procedimiento de la invención, seleccionadas de las siguientes cepas: *Arthrospira platensis* (espirulina), *Chlorella vulgaris* o incluso *Nannochloropsis oculata*, son resistentes y no presentan acumulación de elementos metálicos, incluido el plomo.

La introducción del gas seco mencionado con anterioridad está controlada por el pH del medio de cultivo. De hecho, una cantidad demasiado grande de CO<sub>2</sub> acidifica el medio. Preferiblemente, el pH del medio de cultivo se regula entre 6 y 10, preferiblemente entre 7 y 8 para la cepa *Chlorella vulgaris*, preferiblemente entre 9 y 10 para la cepa *Arthrospira platensis*.

30 Parece que al menos una fracción del condensado se introduce en el fotobiorreactor, sin que esto sea perjudicial: ni con respecto al rendimiento del cultivo, ni a la calidad de las microalgas o cianobacterias.

Preferiblemente, el enfriamiento del efluente se realiza a una temperatura menor o igual a 5 °C, preferiblemente a una temperatura menor o igual a 2 °C.

35 Después de la separación del condensado, el gas seco se recalienta ventajosamente antes de burbujear en el medio de cultivo, preferiblemente a una temperatura superior o igual a 20 °C e inferior o igual a la temperatura óptima (*Arthrospira platensis* (espirulina) ≤ 35 °C; *Chlorella vulgaris* ≤ 25 °C) para el crecimiento de microalgas y/o cianobacterias así cultivadas.

40 Ventajosamente, las distintas etapas que comprenden el secado/purificación del efluente por enfriamiento, la separación del efluente seco y el condensado, el enriquecimiento de dióxido de carbono (carbonatación) del medio de cultivo de las microalgas y la inyección de dicho medio de cultivo enriquecido con dióxido de carbono en un fotobiorreactor se llevan a cabo a una presión relativa de entre 0,1 y 2 bar, preferiblemente a una presión relativa de entre 0,2 y 1 bar.

El procedimiento de acuerdo con la presente invención se puede implementar en una instalación que comprende los siguientes elementos, de aguas arriba a aguas abajo:

- 45 - medios de muestreo, tal como una bomba de muestreo, de efluentes industriales crudos;
- un separador gas/líquido que comprende un intercambiador de calor que lleva un módulo para enfriar el efluente crudo;
- estando conectado dicho separador gas/líquido, por un lado, para la fracción líquida, a un dispositivo de muestreo de condensado, y por otro lado, para la fracción gaseosa, a medios para introducir el efluente seco/purificado
- 50 directamente en el fotobiorreactor o en un contactor gas/líquido que contiene una solución nutritiva de microalgas y/o cianobacterias destinadas a enriquecer dicha solución nutritiva en dióxido de carbono;

- medios para inyectar, como una bomba dosificadora o una bomba peristáltica, el medio de cultivo enriquecido con dióxido de carbono en un fotobiorreactor,

5 - un fotobiorreactor que contiene un medio de cultivo que contiene una o más cepas de microalgas y/o cianobacterias, equipado con un medidor de pH para medir dicho medio de cultivo, y que comprende un módulo para alimentar la solución nutritiva de biomasa y un módulo para muestrear la biomasa producida en dicho fotobiorreactor.

Preferiblemente, los órganos para tomar el efluente gaseoso industrial crudo son capaces de impartir una sobrepresión, preferiblemente entre 0,1 y 2 bar, más preferiblemente entre 0,2 y 1 bar, al circuito del gas a los medios para introducir el efluente seco en el fotobiorreactor o en el contactor gas/líquido que contiene la solución nutritiva.

10 Así, el efluente seco gaseoso puede burbujear libremente en cualquier dispositivo de carbonatación del medio de cultivo o en cualquier fotobiorreactor.

15 Ventajosamente, el intercambiador de calor se conecta al fotobiorreactor para aportarle calorías para optimizar su temperatura de funcionamiento y/o al gas seco para elevar su temperatura después de su separación del condensado. La instalación no se limita a un determinado tipo de fotobiorreactor: la instalación puede comprender un fotobiorreactor tubular cerrado, o un fotobiorreactor plano (bajo iluminación artificial o natural), o incluso un fotobiorreactor abierto, del tipo de cuenca de circulación circular (denominado "raceway") cerrada o abierta.

Por lo tanto, la instalación puede utilizarse ventajosamente para el reciclado de efluentes gaseosos de fábricas de cemento que contienen dióxido de carbono.

La invención se entenderá claramente al leer la siguiente descripción de ejemplos de realización, con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

20 Figuras

La Figura 1 es un esquema simplificado de un ejemplo de instalación para realizar el proceso de cultivo según la invención.

La Figura 2 es un gráfico que muestra el cambio en la concentración de biomasa en función del tiempo con CO<sub>2</sub> o gas seco de fábrica de cemento, así como después de agregar una fracción de condensado.

25 Ejemplos

Se llevaron a cabo experimentos en una fase piloto del procedimiento según la presente invención con dos cepas diferentes, inoculadas en fotobiorreactores separados:

30 • La microalga *Chlorella vulgaris*. *Chlorella vulgaris* es un alga verde unicelular, muy rica en clorofila (2-3%), pero también en proteínas (60% en masa), enzimas, vitaminas (A, B, C y E), ácidos grasos esenciales insaturados y minerales (hierro, calcio, magnesio, zinc, potasio, azufre, manganeso).

35 • La cianobacteria *Arthrospira platensis* (espirulina). *Arthrospira platensis*, más conocida con el nombre de "espirulina" es una cianobacteria filamentosa perteneciente a la familia Cyanophyceae. Sus dimensiones varían de 200 a 1500 µm de largo para un espesor de 10 a 20 µm. En 2013, su producción mundial se estimó en más de 5.000 toneladas, incluidas de 300 a 500 toneladas en Francia. Se utiliza principalmente como complemento alimenticio en humanos y/o animales. De hecho, es muy rica en proteínas (más del 60% en masa), ácidos grasos esenciales, vitaminas, β-caroteno y ficocianina. Gracias a sus excepcionales propiedades nutricionales, China la declaró alimento de interés nacional y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) decidió en 2014 recomendar su producción y su uso en la lucha contra la desnutrición.

40 Durante este estudio, las microalgas o cianobacterias se cultivaron en fotobiorreactores 1 intensivos (señalados PBR). Un fotobiorreactor es un reactor que garantiza la producción de microorganismos fotosintéticos suspendidos en agua. Se habla de sistemas intensivos, cuando la mayoría de los parámetros se controlan para obtener una productividad óptima. Estos parámetros más importantes son: luminosidad, temperatura, pH, concentración de nutrientes, concentración de la especie estudiada y la garantía de condiciones axénicas de los cultivos (ausencia en el cultivo, de cualquier organismo que pueda competir con la especie estudiada).

45 La instalación utilizada en los ejemplos presentados a continuación se muestra esquemáticamente en la Figura 1. Esta instalación se instaló en un sitio industrial, en las inmediaciones de la chimenea 2 de una fábrica de cemento.

50 Comprende una bomba 3 de muestreo directo del efluente 12 gaseoso (también denominado "humo") en el conducto de la chimenea 2 de dicha fábrica de cemento. Esta bomba 3 está conectada a un primer separador 4 de una primera fracción 7A líquida condensada durante este muestreo. El gas que sale de este separador 4 se enfría luego a una temperatura menor o igual a 5 °C dentro de la unidad fría también denominada enfriador 5 en la que se condensa la fracción 7B líquida restante. Estas dos fracciones líquidas se recogen mediante una bomba 6 peristáltica y se combinan para formar el condensado 7 total.

5 El gas 11 seco proveniente del enfriador 5 se puede calentar en un intercambiador de calor (también llamado calentador 8) para llevar su temperatura de dicho gas seco a la temperatura adecuada para el cultivo de microalgas o cianobacterias en el fotobiorreactor 1. Este fotobiorreactor está equipado con una sonda 9 de pH y temperatura. La introducción de este gas 11 seco se realiza mediante una válvula 10 controlada por la sonda de pH. El fotobiorreactor puede operar en modo "discontinuo" con recolección puntual de parte de su contenido y luego reemplazo del volumen extraído con medio de cultivo fresco o en modo continuo durante el cual este último es alimentado continuamente con solución 13 nutritiva y la biomasa 15 también se recolecta en forma continua con vistas a su valoración.

Finalmente, el exceso de gas 11 seco se dirige a un respiradero 14 a través de una válvula 16 que permite mantener una presión relativa superior a aproximadamente 0,5 bar en el circuito de gas de la instalación.

10 A continuación se presentan las condiciones de funcionamiento preferidas para el funcionamiento de dicha instalación.

15 El humo producido por la fábrica de cemento se filtra en un precipitador electrostático y luego se envía a la chimenea 2 a través de un ventilador de extracción. Este efluente gaseoso que contiene en promedio menos de 10 mg/Nm<sup>3</sup> de polvo en funcionamiento normal es expulsado a la atmósfera bajo presión atmosférica a una velocidad de aproximadamente 20 m/s a 30 m/s y una temperatura comprendida entre 60 °C y 90 °C. Este efluente húmedo contiene entre el 7 y el 13% en volumen de humedad.

20 La llamada bomba 3 de muestreo extrae continuamente el efluente gaseoso de la chimenea a una velocidad de 10 a 30 L/min a través de una tubería de material sintético o vidrio. Esta bomba no solo permite tomar el efluente gaseoso sino que también le da energía volumétrica (es decir, presión). Al estar la tubería aguas arriba y aguas abajo de dicha bomba en contacto con la atmósfera, parte de la humedad contenida en el efluente gaseoso 12 recogido naturalmente se condensa y se recoge en el separador 4. Para completar esta primera condensación "natural" y secar al máximo el efluente gaseoso que sale del separador 4, este pasa por el enfriador 5 donde su temperatura desciende temporalmente por debajo de 5 °C (o incluso por debajo de 2 °C). A continuación, el gas 11 seco se recalienta y luego se envía continuamente al respiradero a través de la válvula 16 equipada con un regulador electrónico de flujo másico que permite mantener una presión relativa en el circuito superior a 0,5 bar. Entre el calentador 8 y la válvula 16, una derivación en la tubería principal permite suministrar gas seco, bajo demanda, al fotobiorreactor 1 para la producción de microalgas o cianobacterias.

30 Los condensados 7 producidos, recogidos del separador 4 y del enfriador 5, se extraen a medida que se forman utilizando la bomba 6 peristáltica dedicada que también permite mantener la presión en la línea de muestreo. Estos condensados incluyen no solo la humedad del humo producido por la cementera, sino también la gran mayoría de los polvos, elementos metálicos y partículas no quemadas. Este sistema de tratamiento del efluente de gas crudo de la fábrica de cemento permite, por lo tanto, depurarlo de manera continua.

35 En las pruebas realizadas, el gas 11 seco obtenido de la fábrica de cemento presentaba la siguiente composición promedio: entre el 5% y el 20% de CO<sub>2</sub>, entre el 5% y el 20% de O<sub>2</sub> y entre el 60% y el 90% de N<sub>2</sub> en volumen. También contenía sustancias no quemadas en proporciones muy bajas, NO<sub>x</sub> entre 300 y 700 mg/Nm<sup>3</sup> y CO entre 100 y 300 mg/Nm<sup>3</sup>.

Ejemplo 1:

Parámetros del humo de la fábrica de cemento:  $P = P_{atm}$ ,  $T = 80 \text{ °C}$ ; polvos totales: 10 mg/Nm<sup>3</sup>; humedad: 9%

Muestreo de humo: 20 L/min

Presión relativa aguas abajo de la bomba de muestreo: +0,6 bar

40 Temperatura del humo en el enfriador: + 3 °C

Composición del volumen principal del gas seco obtenido: CO<sub>2</sub> = 13%; O<sub>2</sub> = 13%; N<sub>2</sub> = 74% en volumen; NO<sub>x</sub> = 600 mg/Nm<sup>3</sup>; CO = 200 mg/Nm<sup>3</sup>

Los resultados obtenidos permitieron constatar que el procedimiento aplicado había permitido reducir al menos:

> 90% de la fracción húmeda del humo de la fábrica de cemento

45 > 95% de los polvos totales en masa (incluidos los polvos crudos y los metales, incluidos los metales pesados)

> 99% de HCl + NH<sub>3</sub> + HF

> 60% de sustancias sin quemar

> 15% de NO<sub>x</sub>

50 Los análisis de agua de condensación (condensados) muestran que hay componentes de materia prima y clínker (de la fábrica de cemento) tales como: calcio, potasio, sodio, azufre, silicio, magnesio, aluminio, hierro (llamados elementos

“mayores”: calcio entre 40 y 80 mg/L, potasio entre 6 y 10 mg/L, mientras que los elementos aluminio, magnesio, sodio, azufre y sílice están casi todos en un intervalo de 1 a 7 mg/L).

En el agua de condensación, se encuentran iones nitrito (de 50 a 100 mg/L) e iones nitrato (de 10 mg/L), así como trazas de material no quemado.

5 También hay elementos metálicos en proporciones muy bajas (llamados elementos “menores”): las concentraciones de arsénico (<20 µg/L), berilio (<5 µg/L), cadmio (<4 µg/L), cobalto (<10 µg/L), molibdeno (<10 µg/L), antimonio (<6 µg/L) y telurio (<10 µg/L) están por debajo del límite de detección de PIC (indicado para cada elemento entre paréntesis). Las concentraciones de cromo (<8 µg/L), manganeso (<10 µg/L), níquel (<5 µg/L), selenio (<10 µg/L), estaño (<10 µg/L), talio (<15 µg/L) y vanadio (<10 µg/L), a veces están cerca o por debajo de este límite. Finalmente, se observa que, para los elementos que generalmente se encuentran por encima del umbral de detección, destacan claramente dos grupos:

- Aquellos cuyos valores se mantienen en el mismo orden de magnitud: bario, cromo, níquel, selenio, estaño, estroncio y vanadio con concentraciones medias respectivamente de 31,3 µg/L, 14,3 µg/L, 19,6 µg/L, 20,3 µg/L, 5 µg/L, 246 µg/L y 18,2 µg/L.
- 15 • Aquellos cuyos valores fluctúan significativamente de una prueba a otra: mercurio (14 a 245 µg/L), cobre (514 a 3956 µg/L), hierro (21 a 4741 µg/L) plomo (18 a 143 µg/L), talio (<15 a 182 µg/L) y zinc (761 a 6778 µg/L).

Por lo tanto, todos los elementos anteriores, detectados en el agua de condensación, se eliminan de la fracción gaseosa en el gas 11 seco que entra en el fotobiorreactor 1.

Ejemplo 2:

20 No obstante, con el fin de evaluar la robustez del procedimiento, es decir, evaluar la capacidad de los cultivos para tolerar posibles pasajes o adiciones de condensado en el medio de cultivo, para también manejar mejor aún los condensados formados durante el muestreo del gas de la fábrica de cemento, se llevaron a cabo experimentos en los que la tasa de condensado en el medio de cultivo que alimentaba continuamente el fotobiorreactor de prueba se había incrementado al 2,5%, luego al 5% (en volumen). Nótese que una adición del 0,2% de condensado en el medio de cultivo corresponde a poner los cultivos en contacto con todo el gas húmedo (efluente producido por la fábrica de cemento).

Las microalgas se cultivaron en un fotobiorreactor tubular vertical con un diámetro interno de 5 cm y un volumen de 6,4 L.

Las condiciones de funcionamiento se agrupan en la siguiente Tabla 1:

30 Tabla 1: Tabla que resume las condiciones de cultivo para los experimentos de evaluación de la robustez de los cultivos con PBR tubulares

Cepa	Arthrospira platensis
Flujo de burbujas de aire	300 ± 20 mL/min de aire
pH	9,50 ± 0,01
Temperatura	35 ± 2 °C
Luminosidad	4 neones de 21 Watts en formación interna o externa
Inyección de CO <sub>2</sub> (13%)	45 ± 2 mL/min de CO <sub>2</sub> puro
	300 ± 20 mL/min de gas de fábrica de cemento
Flujo del medio de cultivo	1,5 ml/min
Tasa de dilución	0,014 h <sup>-1</sup>
Medio de cultivo	Ver tabla 2

35 Este sistema operó en modo “continuo” con la adición de 2,2 ml/min de medio de cultivo fresco, lo que también permitió la recolección continua de la biomasa 15 producida. En luz artificial, para una determinada cepa, este sistema consume un promedio de 1,7 L/h de gas seco (que corresponde a 0,11 mL de condensado para un humo que inicialmente contiene 9% de humedad).

Este condensado, rico en oligoelementos, así como en iones nitrito e iones nitrato (fuente de nitrógeno), se puede

agregar al medio de cultivo que alimenta continuamente al fotobiorreactor tubular.

Dos fotobiorreactores tubulares utilizaron cultivos similares en paralelo:

- Un primer PBR tubular que sirve de referencia, alimentado con CO<sub>2</sub> puro y un medio de cultivo sin adición de condensado.
- 5 • Un segundo PBR tubular que constituye el cultivo de “prueba”, alimentado con gas de fábrica de cemento seco y, en modo continuo, un medio de cultivo que contiene concentraciones crecientes de volumen de condensado (0,2%, 2,5% y 5%).

El medio de cultivo se detalla en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2: Composición del medio de cultivo para la cepa *Arthrospira platensis*

Elementos principales	Elemento	Masa en g/L (o kg/m <sup>3</sup> )	Elemento	Masa en g/L (o kg/m <sup>3</sup> )
	NaCl	1	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,4
	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O		MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,032
	NaNO <sub>3</sub>	1	NaHCO <sub>3</sub>	4,2
	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,005	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	3,04
	Na <sub>2</sub> EDTA	0,04	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,2
Oligoelementos 1 mL/L de medio de cultivo	Elemento	Masa en g/L (o kg/m <sup>3</sup> )	Elemento	Masa en g/L (o kg/m <sup>3</sup> )
	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0,23	CUSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,03
	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,11		

10 La biomasa producida en cada uno de los fotobiorreactores se recogió, se filtró (en un tamiz de 38 µm, luego en un filtro GF/F de 0,7 µm), se secó y luego se analizó. El filtrado también se analizó en busca de elementos no absorbidos por la biomasa.

15 El gráfico de la Figura 2 muestra la evolución de la concentración de biomasa en los dos PBR tubulares en función del tiempo. En este gráfico, la primera línea vertical esquematiza el lanzamiento de la fase denominada “batch” y la segunda, el paso del cultivo del modo batch al modo continuo. Más específicamente, en el momento 0, se inyectaron 1,1 L de inóculo en el fotobiorreactor de referencia. Después de un aumento de la concentración, se llevó a cabo una transferencia de la mitad de la biomasa del PBR de referencia al PBR de prueba en t = 2 días, el inicio de la fase denominada “batch”. Después de un aumento adicional de la concentración en los dos PBR, se inicia el modo continuo en el último en t = 6 días. Las otras líneas verticales indican el paso a una fase en modo continuo con adición de condensado en el medio de cultivo (para la prueba PBR):

1: fase “batch”

2: fase continua sin agregar condensado

3: fase con una adición del 2,5% de condensado en la prueba PBR

25 4: fase con adición del 5% de condensado en la prueba PBR:

30 Se observa que la evolución de las concentraciones de los dos PBR se produce de manera idéntica desde la fase 1 hasta el primer tercio de la fase 3. A partir del día 11, la concentración del PBR de referencia es siempre superior a la del ensayo PBR. No obstante, las concentraciones evolucionan en forma similar hasta el primer tercio de la fase 4. Por lo tanto, la concentración del PBR de referencia se mantiene estable en torno a 1,68 g/L, mientras que la del ensayo pasa de 1,32 g/L, a 0,99 g/L durante tres días. Los caudales de dilución no son responsables de esta diferente evolución de las concentraciones. Por el contrario, la tasa de flujo de dilución promedio para el control es 1,51 mL/min, mientras que la de la prueba PBR es 1.38 mL/min. Así, incluso con un caudal de dilución menor que para el PBR de referencia, a partir del primer tercio de la fase 3 (2,5% de condensado en el medio de cultivo), la tasa de crecimiento

de la prueba PBR es menos importante que la del PBR de referencia. Este contraste se debe claramente a la adición del 2,5% de condensado (adición realizada en el medio de cultivo de prueba, pero también directamente en la prueba de PBR, en el octavo día).

5 Además, se realizaron análisis en particular para determinar la concentración de los diversos metales presentes en la cepa *Arthrospira platensis* producida con 0.2%, 2.5% y 5% de condensado (lo mismo ocurrió con la cepa *Chlorella vulgaris* seca y producido con 0,1% y 10% de condensado añadido al medio de cultivo).

Los resultados relacionados con la espirulina se recopilan en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3: Análisis de los metales presentes en la cepa de espirulina

Pruebas PRB/Elementos	Reglamentación (mg/kg)	1		2		3		4		5	
		Ref.	Prueba 0,2%	Ref.	Prueba 0,2%	Ref.	Prueba 2,5%	Ref.	Prueba 2,5%	Ref.	Prueba 5%
Arsénico mineral	3	0,52	0,36	0,67	0,54	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00	<1,00
Cadmio	0,5	0,06	0,05	0,15	0,19	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20	<0,20
Mercurio	0,1	0,05	0,02	0,01	0,01	0	0,08	0,04	0,12	0,03	0,19
Plomo	5	1,42	1,62	2,96	2,63	0,76	0,77	7,33	3,46	0,91	2,36
Estaño	5	2,12	1,83	3,55	3,77	1,08	0,52	0,85	0,99	0,73	0,84

Las diversas pruebas realizadas con una biomasa de espirulina producida con una solución nutritiva que contiene diferentes contenidos de condensado, no revelaron, para contenidos inferiores al 2,5% (en particular para un contenido del 0,2%) un impacto sobre el crecimiento de estas cianobacterias (resultados no mostrados), ni acumulación en ellas de los principales elementos metálicos (incluido el plomo) a tener en cuenta en la alimentación humana (según el dictamen de la CSHPF Referencia AFSSA N.º 2007-SA-0007). Por otro lado, para niveles del 2,5% y más, el impacto en el crecimiento de cianobacterias es significativo (ver la Figura 2), así como la acumulación de ciertos metales en células como el mercurio (ver la Tabla 3).

Estos ensayos muestran, por un lado, la robustez del procedimiento según la invención y, por otro lado, que si el medio de cultivo añadido en forma continua contiene hasta un 0,2% de condensado, las diferentes cepas ensayadas se desarrollan normalmente y la biomasa así producida cumple las normas alimentarias europeas. Por lo tanto, la espirulina así producida podría utilizarse como complemento alimenticio, en estado puro o tras la extracción de sus principios activos.

Ejemplo 3:

Ensayos realizados en laboratorio sobre la microalga *Nannochloropsis oculata* en presencia de diferentes adiciones de condensados (1%, 5%, 10%, 15%) procedentes de la misma fábrica de cemento que la de los Ejemplos 1 y 2 anteriores han demostrado que esta microalga presenta una notable resistencia a los elementos contenidos en los condensados.

Más particularmente, la microalga *Nannochloropsis oculata* posee la capacidad de acumular lípidos dentro de las células (con contenidos superiores al 50% - 70% en masa) cuando su "alimentación" en el medio nutritivo carece del elemento nitrógeno. Esta microalga es, por lo tanto, de gran interés en cuanto a la acumulación de lípidos del tipo ácido graso de "doble enlace múltiple" (poliinsaturados) y, por lo tanto, de aplicaciones en los campos de la alimentación y los biocombustibles.

Se llevaron a cabo las mismas pruebas de laboratorio con las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Arthrospira platensis* (espirulina). La microalga *Chlorella vulgaris* también mostró una notable resistencia a las mismas adiciones de condensados (1%, 5%, 10%, 15%), así como una adición del 30%. La cianobacteria *Arthrospira platensis* no se ve afectada por una adición del 1% de condensados a su medio de cultivo (confirmación de los resultados obtenidos en la fábrica de cemento con una adición del 0,2% - ver el ejemplo 2). Por otro lado, su desarrollo se ve afectado con una adición del 10% de condensados a su medio de cultivo (anteriormente, misma observación con una adición del 2,5% y 5% de condensados a su medio de cultivo).

Las principales conclusiones del estudio en su conjunto que deben tenerse en cuenta son:

- que en contacto con el efluente gaseoso de la fábrica de cemento utilizado como fuente de CO<sub>2</sub> (orden de magnitud de adición del condensado: 0,1% - 0,2%), las tres cepas mencionadas en la presente solicitud de patente se desarrollan normalmente.

- que los procedimientos de cultivo mediante el reciclaje del efluente gaseoso son robustos, es decir, que al multiplicar por 5 estas tasas, las microalgas continúan desarrollándose con normalidad y que su tasa de metales intracelulares cumple con los estándares alimentarios.

- que a tasas de adición de condensados más altas (> 1%), las cepas *Chlorella vulgaris* y *Nannochloropsis oculata* continúan mostrando buena resistencia a los condensados.

**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento de cultivo de microalgas y/o de cianobacterias en un fotobiorreactor (1) que contiene un medio nutritivo que incluye una fuente de carbono, la fuente de carbono es un efluente de gas industrial que contiene dióxido de carbono, y el procedimiento comprende las siguientes etapas sucesivas:
- 5 a) – la captura de efluentes de gases industriales húmedos que contienen dióxido de carbono,
  - b) – el secado/depuración de dicho efluente gaseoso por enfriamiento, provocando la condensación de la fracción húmeda y obteniendo un efluente gaseoso seco,
  - c) – la separación del condensado del efluente gaseoso seco que contiene dióxido de carbono,
  - 10 d) – el seguimiento del pH del medio de cultivo en el fotobiorreactor que contiene una o más cepas de microalgas y/o cianobacterias, con determinación de un intervalo de pH óptimo para el crecimiento de dichas cepas,
  - e1) – el enriquecimiento con dióxido de carbono (carbonatación) de una solución nutritiva de microalgas y/o cianobacterias mediante dicho efluente seco/purificado, seguido, en función del pH del medio de cultivo, de la inyección de dicha solución nutritiva enriquecida con dióxido de carbono en el fotobiorreactor,
  - 15 o e2) – la inyección directa del efluente seco que contiene dióxido de carbono en el fotobiorreactor,
  - f) – la recolección de la biomasa producida para su valoración,
- caracterizado porque el efluente gaseoso es un efluente de la industria cementera, más particularmente capturado en el conducto de la chimenea (2) de una fábrica de cemento, antes de su descarga a la atmósfera, porque el enfriamiento del efluente se realiza a una temperatura inferior a o igual a 5 °C, y porque las microalgas o cianobacterias se seleccionan de las siguientes cepas: *Arthrospira platensis* (espirulina), *Chlorella vulgaris* o *Nannochloropsis oculata*.
- 20
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque dicho procedimiento se lleva a cabo en forma continua.
3. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque al menos una fracción del condensado se introduce en el fotobiorreactor.
- 25
4. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el enfriamiento del efluente se realiza a una temperatura menor o igual a 2 °C.
5. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque al menos parte de las calorías recuperadas durante el enfriamiento del efluente crudo se dirigen al fotobiorreactor y/o al gas seco.
- 30
6. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque las diversas etapas que comprenden el secado/purificación del efluente por enfriamiento, la separación del efluente seco y el condensado, el enriquecimiento de dióxido de carbono del medio de cultivo de microalgas y la inyección de dicho medio de cultivo enriquecido con dióxido de carbono en un fotobiorreactor se realizan a una presión relativa comprendida entre 0,1 y 2 bar, preferiblemente a una presión relativa comprendida entre 0,2 y 1 bar.

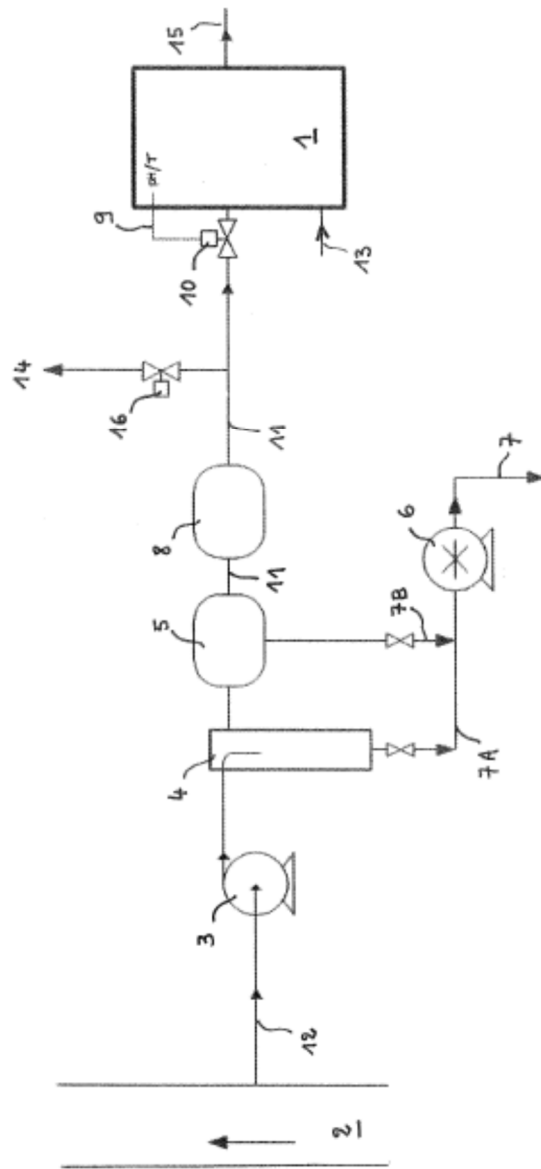


FIG. 1

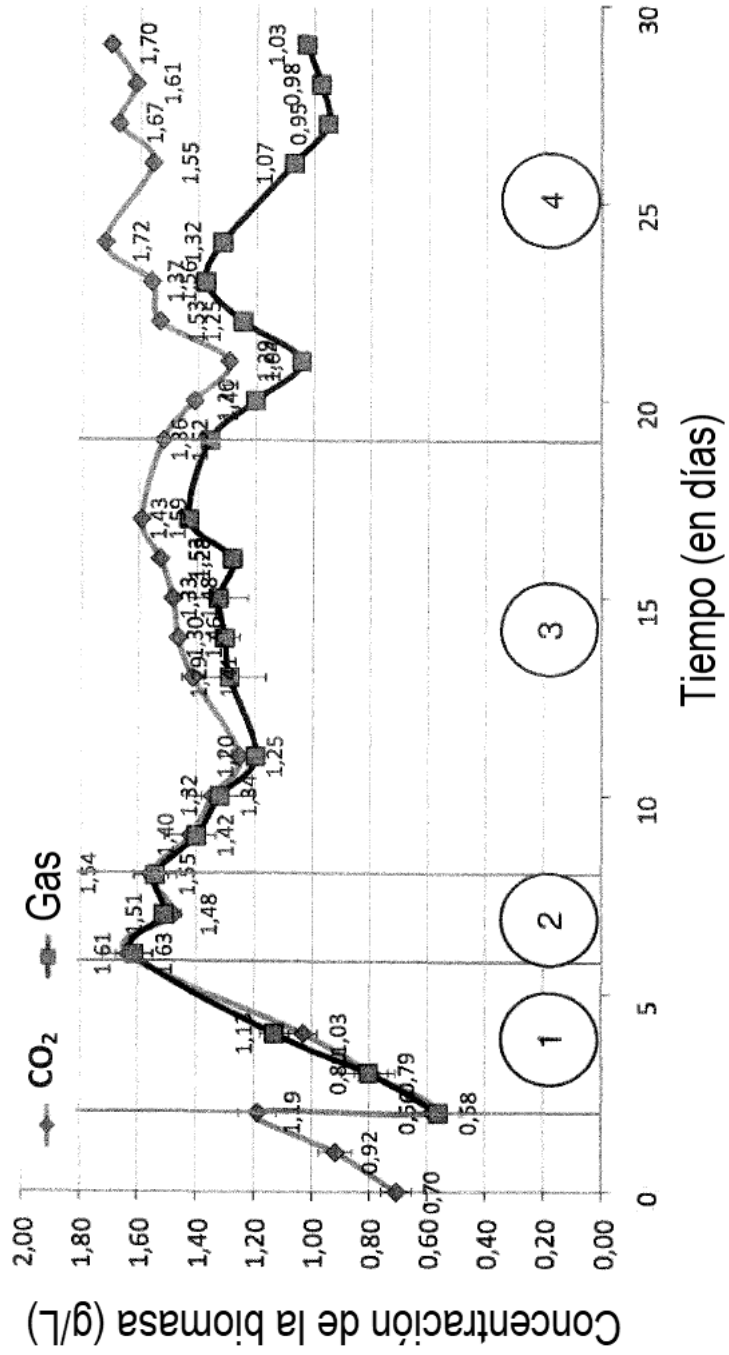


FIG. 2