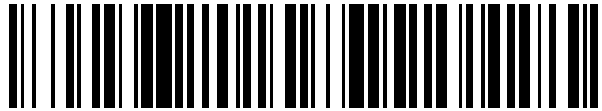


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 549 390**

51 Int. Cl.:

C12N 1/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.06.2010 E 10166236 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.07.2015 EP 2397541**

54 Título: **Un método para cosechar algas**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.10.2015

73 Titular/es:

**NESTE OIL OYJ (100.0%)
Keilaranta 21
02150 Espoo, FI**

72 Inventor/es:

**MALM, ANNIKA y
TANNER, REIJO**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 549 390 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

Un método para cosechar algas

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método para cosechar algas de una solución acuosa. En particular, la presente invención se refiere a un método sólido que puede cosechar algas de forma eficaz incluso de soluciones diluidas con buen rendimiento.

10

Antecedentes de la invención

Las algas son una alternativa atractiva para producir petróleo renovable debido a su naturaleza habitual y potencial de alta producción. Especialmente, como las algas pueden crecer en diferentes tipos de sistemas acuosos, incluso en aguas residuales, no ocupan terreno agrícola ni reservas forestales de ningún tipo.

15

La producción industrial de algas adecuadas para producir petróleo renovable requiere procesos de crecimiento a gran escala usando cepas de microalgas con alto contenido de lípidos, recuperación de la biomasa producida de las soluciones diluidas, la separación del producto deseado de la biomasa y diferentes etapas de purificación.

20

La cosecha de la biomasa de microalgas supone un desafío. Los problemas principales son el pequeño tamaño de las microalgas, la tendencia a crecer como células individuales y la baja densidad del medio de cultivo. Los volúmenes de solución a tratar son grandes, y la cantidad de procesamiento y energía necesaria convierte la separación de la biomasa de microalgas en un proceso exigente y caro. Se ha calculado que hasta un 20-30 % de los costes totales de producción se deben a la etapa de recuperación de la biomasa.

25

La cantidad de agua a drenar es importante y la separación de las algas deseadas, por ejemplo, usando centrifugación o secado es costosa. La centrifugación se utiliza ampliamente y es eficaz, pero conlleva costes de capital y de funcionamiento muy elevados.

30

Los métodos adecuados para las macroalgas por lo general no son aplicables para recoger microalgas, es decir, algas microscópicas con un tamaño celular inferior a aproximadamente 20 μm o microalgas cultivadas con un tamaño celular incluso inferior a 10 μm . Además de su pequeño tamaño y comportamiento de natación activo con flagelos, la existencia de la pared celular, su espesor y material en muchas microalgas unicelulares afectan su sedimentación. Por ejemplo, las diatomeas más grandes (>10 μm) con una gruesa pared silíceica tendrán una velocidad de sedimentación más elevada que las células flageladas muy pequeñas (2-5 μm) sin pared celular delgada, o con pared celular delgada.

35

Tras el crecimiento de las microalgas en soluciones de crecimiento diluidas, la biomasa se separa llevando a una biomasa concentrada 50-200 veces. En su caso, la biomasa debería tener un peso seco de aproximadamente 5-15 % en peso.

40

Los métodos utilizados en la depuración de agua tales como la floculación o la coagulación también se pueden aplicar al cosechado de biomasa. Un inconveniente de los métodos de floculación utilizados es que el rendimiento de la biomasa recuperada sigue siendo bajo, normalmente solamente de aproximadamente el 80 %. Además, los procesos de separación son lentos en eliminar el agua y recuperar la biomasa útil con un contenido de agua bajo.

45

El documento US 2009/0162919 describe un método a gran escala comercialmente viable para concentrar microalgas que tengan un diámetro celular inferior a 20 μm en un ambiente acuoso. En este método, las microalgas se ponen en contacto con un floculante inorgánico, preferentemente un floculante de aluminio tal como policloruro de aluminio, que forma flóculos que posteriormente se separan. Estas microalgas floculadas forman un lodo concentrado con una densidad de biomasa de al menos el 1 %. En algunas realizaciones, un polímero adicional tal como un monómero de acrilamida, acrilato, amina o mezcla de los anteriores se añade adicionalmente a la solución de microalgas. Este polímero orgánico se puede derivar de un material natural, por ejemplo, quitosana o arcilla. Se consiguen eficacias de cosechamiento superiores al 80 %. La cantidad de floculantes de hierro y aluminio utilizados en los ejemplos puede impedir el uso posterior de la biomasa de algas así obtenidas en aplicaciones que requieran poco o ningún contenido de metales.

50

55

El objetivo de la presente invención es proporcionar un método adecuado para cosechar algas eficazmente, especialmente microalgas, a partir de soluciones de crecimiento acuosas diluidas.

60

Un objetivo adicional de la presente invención es proporcionar un método sólido para cosechar algas de forma eficaz y económica a gran escala con rendimiento elevado usando tan pocos productos químicos como sea posible.

65

Sumario de la invención

Los inventores han descubierto que se obtienen rendimientos de microalgas sorprendentemente buenos con una duración de proceso muy corta mediante la introducción de una etapa con un coagulante orgánico y una arcilla en un orden específico en una solución acuosa que contiene las microalgas finamente suspendidas.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método para cosechar algas como se representa mediante la reivindicación 1.

El uso de floculantes basados en hierro y/o aluminio puede impedir el uso adicional de la biomasa de las algas, por ejemplo, en aplicaciones de alimentos o comida. El contenido de metales debe permanecer por debajo de los límites admisibles o recomendados. Además, debería evitarse el uso excesivo de metales ya que pueden causar problemas, por ejemplo, si la masa de algas se va a utilizar como fuente de producción de combustible o alimento para peces. Suele ser necesario extraer los metales de los aceites extraídos de la biomasa antes de procesarlos adicionalmente. Los metales residuales en la fase acuosa también limitan el reciclado del medio de cultivo, y pueden requerirse etapas de depuración adicionales. La presente invención, por tanto, proporciona un método para cosechar algas de una solución acuosa que requiere menos purificación de la masa de algas antes de su uso posterior.

El efecto del método gradual utilizado de añadir un coagulante orgánico y una arcilla inorgánica inerte se puede potenciar adicionalmente mediante la adición de una pequeña cantidad de un floculante inorgánico en la solución que contiene algas después del tratamiento con el coagulante orgánico y la arcilla inorgánica inerte. La adición de floculante inorgánico facilita la reducción de la cantidad del coagulante orgánico y la arcilla inerte necesarios, dependiendo de la cepa de algas. Además, el tiempo de floculación total se puede reducir, y se forman flóculos más grandes cuando se utiliza un floculante inorgánico adicional. Sin embargo, en determinadas aplicaciones, no es factible el uso de floculantes que contienen hierro y/o aluminio. En determinadas aplicaciones es posible una pequeña cantidad de floculantes que contienen metales, pero preferentemente es algo a evitar, o al menos, la cantidad debe ser lo suficientemente baja para no ocasionar problemas en el procesamiento posterior.

Es necesario el mezclado, relacionado con la adición de sustancias químicas en las etapas (i) y (ii), para proporcionar un contacto eficaz entre las sustancias químicas y los especímenes de algas y para acelerar el efecto de formación de flóculos. Las etapas de adición de sustancias químicas van seguidas de mezclado y posteriormente una etapa de agitación. Los flóculos se formarán principalmente durante la agitación.

Las algas floculadas producidas se separan y se recogen produciendo un rendimiento sorprendentemente bueno. Se recuperan más del 90 % de las algas originalmente en la solución acuosa a tratar, preferentemente más de un 95 %, más preferentemente incluso más de un 99 %. El volumen de las algas separadas y recogidas en el método de acuerdo con la presente invención es al menos un 10 %, preferentemente al menos un 5 %, incluso de forma más preferente al menos un 1 %, tal como un 0,5 %, del volumen de la solución acuosa original que contiene las algas. Además, el método proporciona un tiempo de procesamiento total muy rápido. Como ejemplo, un lote de un litro se puede procesar en menos de 10 minutos. El proceso y el equipo utilizado se escalan con facilidad a un modo de funcionamiento continuo con las cantidades deseadas de decenas de toneladas por hora.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra una realización preferida de un esquema de cosechado de acuerdo con la presente invención.

La Figura 2 muestra otra realización preferida de un esquema de cosechado de acuerdo con la presente invención.

Descripción detallada de la invención

El crecimiento de algas a escala industrial se puede realizar de varias formas. El cultivo en estanques de agua dulce exentos de sales facilita el proceso de cosechado, mientras que el uso de estanques de agua marina, y especialmente de estanques de alta salinidad, constituye un desafío debido a la posible precipitación de sales, tales como sales de Mg y/o Ca, de la solución de crecimiento cuando se alteran las propiedades de la solución. La salinidad también aumenta la densidad del medio de crecimiento, y la diferencia entre las densidades relativas de las células de microalgas y el agua se hace muy pequeña, complicando el uso de centrifugación o asentamiento de las células. Además, es probable que se produzca la coprecipitación junto con las algas cuando el pH debe ajustarse para la precipitación. Los estanques abiertos pueden comprender un área de varios kilómetros cuadrados. Los estanques para cultivo de algas sufren el impacto de factores externos tales como la dependencia de la velocidad de crecimiento de cada microorganismo individual de la iluminación y temperatura del entorno, solución de dióxido de carbono del aire circundante que altera el pH de la solución, contaminación mediante, por ejemplo, arenas, otras bacterias y microorganismos, células muertas y/u otros fenómenos inesperados impredecibles que se producen al aire libre. La presente invención ofrece un método sólido adecuado para su uso incluso en estanques abiertos de

salinidad elevada que es fuente de soluciones de algas.

El método de la presente invención es adecuado para algas de crecimiento autótrofo, heterótrofo o mixotrófico, preferentemente para las microalgas que son algas individuales e invisibles a simple vista, es decir, con menos de 50 µm. Preferentemente, las microalgas adecuadas comprenden uno o más representantes de las siguientes clases taxonómicas: Clorofíceas (algas retorcidas), Dinofíceas (dinoflageladas), Primmnesiofíceas (algas haptofitas), Pavlovofíceas, Crisofíceas (algas dorado-marrones), Diatomofíceas (diatomeas), Eustigmatofíceas, Rapidofíceas, Euglenofíceas, Pedinofíceas, Prasinofíceas y Clorofíceas. Más preferentemente, los géneros de microalgas comprenden *Dunaliella*, *Chlorella*, *Botryococcus*, *Haematococcus*, *Chlamydomas*, *Isochrysis*, *Pleurochrysis*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Nitzschia*, *Nannochloropsis*, *Tetraselmis* y *Synechocystis*. De manera más preferida, las microalgas se seleccionan del grupo que consiste de *Dunaliella*, *Chlorella*, *Botryococcus*, *Haematococcus*, *Nannochloris*, *Chlamydomas*, *Isochrysis*, *Pleurochrysis*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Nitzschia*, *Nannochloropsis*, *Tetraselmis* y *Synechocystis*. Se ha descubierto que el método es especialmente eficaz para microalgas seleccionadas del grupo que consiste en *Nannochloropsis* sp. tal como el alga verde *Nannochloropsis* sp. que crece en agua de mar, que es una picoalga esférica que tiene una envoltura que comprende polisacáridos y que produce ácidos grasos polinsaturados; *Haematococcus* sp.; *Dunaliella* sp. tal como el alga verde *Dunaliella tertiolecta*; *Phaeodactylum* sp. tal como el alga verde *Phaeodactylum tricornutum*; y *Chlorella* sp. tal como el alga verde *Chlorella ypenoidosa* que puede incorporar una gran cantidad de contenido lipídico, pero es difícil de recuperar mediante el uso de agentes de floculación simples.

El cultivo de microalgas puede ser una población pura, pero suele ser una población mixta, especialmente en un estanque abierto. Las microalgas adecuadas son microorganismos naturales, microorganismos reproducidos o diseñados mediante ingeniería genética. Los presentes métodos sólidos permiten el uso de varios tipos de poblaciones de microalgas mixtas, incluso con un grado de contaminación en su interior. Una ventaja de la presente invención es que las microalgas no forman agregados con facilidad, tales como filamentos o colonias, y que no sedimentan espontáneamente en el medio de cultivo, especialmente incluso aquellas microalgas que son especialmente pequeñas y tienen células flageladas con paredes celulares delgadas o no existentes, se pueden flocular y cosechar eficazmente de la solución acuosa.

La composición química y el pH de la solución de crecimiento de las algas dependen de la población de algas y por tanto reaccionan de forma muy diferente frente a los cambios de temperatura, pH, adiciones de ácidos/bases y las sustancias químicas añadidas. Esto dificulta predecir el comportamiento de sedimentación de las algas. Las algas preferentemente utilizadas son normalmente las que crecen en soluciones de tipo agua marina que tienen la salinidad del agua de mar, hasta el 4,5 %. Los mejores resultados se obtienen con algas que crecen con una salinidad inferior al 4 % y también dependiendo de la cepa del alga. Cuando la salinidad aumenta, la precipitación de las sales alcalinotérricas aumenta y, por tanto, aumenta la cantidad de sustancias químicas necesarias. Por otra parte, los fócúlos resultantes son muy resistentes a la manipulación mecánica. Si la salinidad de la solución de crecimiento es superior al 4,5 %, tal como de 6 a 12 % en peso, la solución a tratar se puede diluir con agua dulce o con agua marina que tenga una salinidad normalmente inferior a aproximadamente el 3,5 %, tal como agua salobre de estuarios.

La solución de crecimiento puede tener un pH alcalino tan elevado como 7-9 a la que se añaden los agentes neutralizantes normalmente necesarios para evitar la precipitación indeseada de determinadas sustancias químicas tales como floculantes químicos. La necesidad de reactivos que ajustan el pH aumentan los costes del proceso. Una característica atractiva del presente método sólido es que no se requiere necesariamente el ajuste del pH de la solución de crecimiento. Una solución acuosa que contiene algas se utiliza como punto de partida del método de la presente invención puede ser cualquier tipo de solución acuosa adecuada para mantener el cultivo de algas, es decir, la estructura celular y la viabilidad permanece intacta. El método se puede aplicar a medios de cultivo artificiales, así como a medio de agua dulce o marino natural, con un pH comprendido entre ligeramente ácido a básico, y con un amplio intervalo de salinidad, preferentemente menos del 4,5 % en peso, de forma más preferente menos de un 4 %, lo más preferentemente menos de un 3,7 %, tal como menos de un 3,5 %.

De acuerdo con una realización preferida, la solución o suspensión acuosa para crecimiento de las algas se utiliza como tal en el método de la presente invención.

El término "solución" se refiere a la fase líquida cuando las microalgas se encuentran en la solución acuosa que contiene microalgas. Antes del tratamiento, las microalgas se encuentran más o menos suspendidas en la solución que constituye la fase líquida y las microalgas. Tras el uso de sustancias químicas, parte de las algas forman agregados, aglomerados, microflocúlos o flocúlos que dan como resultado la formación de un lodo, en donde puede seguir existiendo algunas algas suspendidas en la fase líquida como suspensión. Todos estos tipos diferentes de composiciones acuosas se denominan como "solución".

El contenido de algas de la solución de crecimiento suele ser lo bastante bajo para potenciar el crecimiento y la fotosíntesis. Profundidades de estanque de hasta 30 cm garantizan una proporción de luz diurna favorable en la totalidad de la masa de algas. En el método de la presente invención, la concentración de algas en dicha solución que contiene algas puede ser del 5 al 10 % en peso para soluciones de cultivo con crecimiento heterotrófico en

- 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65
- biorreactores. En un cultivo en estanque abierto, la concentración suele ser inferior. El método de la presente invención es satisfactoriamente capaz de flocular, separar y recuperar algas de las soluciones acuosas que contienen algas que tienen concentraciones de algas de 1,5 g de peso seco/l (ps/l), o incluso 1,0 g ps/l o incluso también 0,8 g ps/l. En determinadas circunstancias, es también posible usar concentraciones tan bajas como 0,5 g ps/l. Preferentemente, la solución acuosa que contiene algas tiene un pH neutro o ligeramente ácido o alcalino dependiendo de la cepa de algas y la fase de crecimiento en cuestión. Por ejemplo, se sabe que una velocidad de fotosíntesis elevada aumenta el pH, mientras que la respiración disminuye el pH.
- La primera etapa del método de la presente invención implica la adición de un coagulante orgánico en la solución que contiene algas. Una ventaja de usar un coagulante orgánico es que no es sensible al pH de la solución que contiene algas.
- Preferentemente, el coagulante orgánico usado es un coagulante polimérico muy catiónico. Más preferentemente, el coagulante orgánico se selecciona entre el grupo de polímeros de (met)acrilatos de dialquilaminoalquilo; polímeros de (met)acrilamidas de dialquilaminoalquilo; polímeros de haluros de dialildialquilamonio; polímeros formados a partir de una amina y epihalohidrina o dialohidrina; y poliamidas. De manera más preferida, el coagulante orgánico comprende un copolímero de epicalohidrina dimetilamina. También es posible utilizar una mezcla de coagulantes orgánicos.
- La cantidad de coagulante orgánico necesario suele ser inferior a 20 mg/l. Incluso menos de 15 mg/l proporciona buenos resultados, o incluso menos de 10 mg/l. En una realización, se ha descubierto que una cantidad inferior a 5 mg/l es suficiente, en particular, dependiendo del cultivo de algas. En otra realización, es posible una cantidad inferior a 3 mg/l dependiendo de la cantidad de arcilla y los floculantes y/o electrolitos opcionalmente añadidos. La cantidad de coagulante orgánico utilizado deberá ser tan bajo como sea posible por motivos de coste. La cantidad de coagulante orgánico depende, en cierta medida, del tipo de alga, la posible presencia de una población mixta, impurezas, contaminación y las propiedades de la solución de crecimiento del alga, es decir, pH y salinidad. Además, la cantidad de coagulante orgánico depende de la cantidad de arcilla inorgánica y/o el posible floculante inorgánico a añadir en las siguientes etapas del método. Preferentemente, la relación entre el material de arcilla inerte en mg/l a coagulante orgánico en mg/l es de 100 a 5, preferentemente de 60 a 5, y lo más preferentemente de 45 a 15. El coagulante orgánico es normalmente una solución de coagulante conocida comercial, que se puede utilizar como tal, o preferentemente se diluye primero en agua antes de su adicción a la solución que contiene algas.
- Los coagulantes orgánicos se utilizan normalmente en los sistemas de depuración de agua a un pH ácido, tal como aproximadamente 4-5. Se ha descubierto sorprendentemente que estas sustancias químicas se podrían utilizar para la agregación de algas en un intervalo de pH amplio, incluso a valores de pH elevado tal como 7-9. Esto es más cómodo, ya que no se necesitan adiciones de otras sustancias químicas neutralizantes para ajustar el pH. Las soluciones resultantes se pueden circular sin adiciones adicionales de sustancias químicas, minimizando de esta forma el consumo de sustancias químicas.
- El mezclado de la solución resultante que contiene las algas y el coagulante orgánico es necesario para conseguir coagular eficazmente las algas, así como la producción de las propiedades deseadas para las etapas posteriores de floculación, separación y recogida de las algas. El mezclado es, preferentemente, una mezcla intensa que produce un flujo de líquido turbulento en comparación con la última fase de agitación, que incluye solamente un mezclado suave.
- En una realización, el mezclado, preferentemente un mezclado intenso, es un mezclado continuo, realizado preferentemente mediante la adición del coagulante orgánico en la etapa (i) y la adición del material de arcilla inorgánica inerte en la etapa (ii), y que continúa adicionalmente después de la etapa (ii).
- En otra realización, el mezclado durante y/o después de la adición de una sustancia química en la etapa (i), y también en la etapa (ii), se lleva a cabo creando un flujo másico suficientemente fuerte para un mezclado eficaz.
- En otra realización adicional, el mezclado se consigue mediante deflectores estáticos, o similares, mediante la producción de un flujo o solución turbulenta en su interior por ejemplo, el uso de una instalación de tuberías o conducciones.
- El tiempo de mezclado total depende de las propiedades de solución y el volumen del equipo utilizado. Como ejemplo, un volumen de 800 ml en un matraz se mezcla en menos de 5 min, preferentemente en menos de 1 min, más preferentemente de 10 a 60 s, usando un mezclado intenso.
- Por "mezclado intenso" se entiende mezclado que produce el mismo efecto que mezclar 800 ml de solución de cultivo de algas en un matraz de 1 l usando una hélice con deflectores a una velocidad de mezclado de 200 a 400 rpm. Un equipo comercial con fines de ensayo está comercialmente disponible de, por ejemplo, la empresa Kemira Kemwater, denominada MiniFloculator. Una persona experta en el campo del mezclado de líquido es capaz de escalar el mezclado.

ES 2 549 390 T3

De acuerdo con una realización preferida la duración del mezclado, preferentemente un mezclado intenso, tras la adición del coagulante orgánico inerte es igual, o mayor, que la duración de la fase de agitación en la etapa (iii).

5 Sin pretender quedar vinculado por teoría alguna, se considera necesario un mezclado eficaz con respecto al coagulante orgánico para proporcionar un contacto eficaz entre el coagulante y los especímenes de algas y para facilitar una formación rápida de agregados de algas o de aglomerados pequeños. No se forman necesariamente flóculos visibles. El tamaño de los aglomerados o agregados sigue estando sustancialmente por debajo del límite de detección visual.

10 En la siguiente etapa, o segunda, del método, se proporciona un material de arcilla inorgánica a la solución obtenida en la primera etapa. La arcilla inorgánica inerte es preferentemente un material de arcilla inorgánica inerte originado de procesos industriales como residuo, tal como yeso de los procesos de eliminación de azufre. Más preferentemente, el material de arcilla inerte comprende bentonita, caolín, diatomita o diatomita modificada, caliza y/o yeso, lo más preferentemente bentonita tal como bentonita activada natural o ácida. El material de arcilla puede comprender adicionalmente cuarzo, calcita, atapulgita, palygorskita, moscovita, dolomita, halosilita o sílice.

15 La cantidad de material de arcilla necesario es inferior a 1000 mg/l. Normalmente, siempre una cantidad menor inferior a 500 mg/l produce buenos resultados. Se ha encontrado que una cantidad inferior a 125 mg/l es suficiente o incluso menor de 90 mg/l. Dependiendo de las circunstancias y el cultivo de algas, se ha descubierto que una cantidad menor de 50 mg/l es eficaz. El objetivo es minimizar la cantidad de arcilla a utilizar, estando comprendida dicha minimización entre las capacidades de una persona experta en el campo de la floculación, y siendo capaz de variar la cantidad dependiendo de las cantidades de coagulante orgánico y posibles sustancias químicas adicionales utilizadas. El material de arcilla inorgánica inerte se mezcla preferentemente en primer lugar con agua y, posteriormente se alimenta a la solución que contiene algas en forma de suspensión.

20 La adición del material de arcilla inicia la formación de flóculos visibles que contienen algas. Sin embargo, la mayoría de los flóculos se forman durante la etapa de agitación.

25 Sigue siendo necesario el mezclado tras proporcionar el material de arcilla inerte y el coagulante orgánico a la solución acuosa de algas para una floculación eficaz de las algas.

30 Las adiciones de sustancias químicas y las fases de mezclado de la etapa (i) y la etapa (ii) van seguidas de una fase de agitación suave antes de la recolección de las algas floculadas. Preferentemente, la fase de agitación suave de la etapa (iii) se lleva a cabo a una velocidad de mezclado de agitación que es aproximadamente 1/10 de la velocidad de mezclado de las etapas (i) o (ii), preferentemente, la velocidad de mezcla intensa de las etapas (i) o (ii). La duración típica de la fase de agitación es inferior a 10 minutos, preferentemente inferior a 5 minutos, más preferentemente de 0,5 a 2 minutos, lo más preferible aproximadamente un minuto. El tiempo de retraso y la velocidad de agitación en el mezclado intenso y la agitación suave se pueden usar para ajustar la aglomeración de algas dependiendo de la calidad del cultivo. A veces, la formación de flóculo se produce inmediatamente después de añadir el floculante. La retroalimentación de un proceso continuo se puede obtener solamente con un retraso corto, ya que las etapas del método se pueden llevar a cabo en una corta duración de tiempo.

35 Opcionalmente, tras la etapa (i), preferentemente durante la fase de agitación (iii), se añade un floculante inorgánico a la solución de algas. Se pueden usar floculantes comerciales típicos. De manera tradicional, se han utilizado floculantes inorgánicos tales como alúmina, cloruro férrico, sulfato ferroso y cal. Preferentemente, el floculante inorgánico comprende un compuesto de hierro y/o un compuesto de aluminio. Más preferentemente, el compuesto de hierro es una sal férrica tal como cloruro férrico, sulfato férrico, o sulfato ferroso, lo más preferentemente sulfato férrico. El compuesto de aluminio es más preferentemente una sal de aluminio, tal como cloruro de aluminio, sulfato de aluminio, policloruro de aluminio, clorhidrato de aluminio, o aluminato de sodio, lo más preferentemente policloruro de aluminio. Se pueden proporcionar oxidantes químicos como peróxido de hidrógeno junto con el compuesto de hierro para potenciar el efecto de la floculación.

40 Cuando se utiliza en primer lugar el coagulante orgánico y posteriormente la arcilla inorgánica, la cantidad de floculante inorgánico es baja en comparación con la floculación tradicional provista únicamente mediante el uso de floculante inorgánico como el único o principal agente de floculación. De esta manera, en el presente método inventivo, se puede minimizar la cantidad de compuestos metálicos a añadir a la solución que contiene algas.

45 En una realización preferida, la cantidad de floculante inorgánico utilizado es inferior a 2 mg/l en la solución que contiene algas. Preferentemente, solamente se aplica una agitación suave tras la adición de los floculantes inorgánicos.

50 En una realización, los polielectrolitos se añaden además de los compuestos de hierro y/o los compuestos de aluminio. Estos productos químicos potencian normalmente el tamaño del flóculo, se pueden obtener flóculos de incluso 1 cm, y los flóculos se separan más fácilmente de la solución. Además, se encuentra que su uso es especialmente ventajoso en condiciones de agua contaminada o cuando se encuentran poblaciones mezcladas. Los polielectrolitos están disponibles de fabricantes comerciales. Preferentemente, se utilizan copolímeros de

poliacrilamida, más preferiblemente copolímeros de acrilamida y acrilato de sodio o amina. Se proporcionan preferentemente polielectrolitos en una cantidad inferior a 20 ppm, más preferentemente menos de 10 ppm y lo más preferentemente 0,5 - 2,5 ppm, en forma de soluciones muy diluidas tales como, por ejemplo, 0,05 % en peso de la solución. Los polielectrolitos se añaden más preferentemente durante la fase de agitación.

5 La duración total para recoger las algas usando el presente método es de menos de 60 min, preferentemente de menos de 30 min, de forma más preferente menos de 15 min, lo más preferentemente menos de 10 min.

10 La etapa final del método es la separación de los flóculos de algas formados a partir de la fase de solución y recogerlos para procesamiento o uso posterior. Dependiendo del tipo de flóculos generados, se utilizan medios típicos para separar y recolectar los flóculos. Preferentemente, la recuperación se realiza mediante sedimentación o flotación. La flotación se prefiere si el área superficial es elevada, ya que la recolección de algas es, por tanto, más eficaz. La flotación puede ser asistida o natural dependiendo de las propiedades de los flóculos de algas, tal como la cantidad de lípidos en los anteriores, o su respuesta a la luz ambiental u otras condiciones del espécimen de soluto.

15 El uso de agua presurizada es habitual en flotación. Preferentemente, los flóculos de algas en flotación se eliminan de la superficie de la solución mediante un desnatador. Un tratamiento adicional mediante centrifugación, filtrado en tambor o filtrado en malla está permitido gracias al bajo contenido de agua de los flóculos de algas pasados por el desnatador.

20 La cantidad de solución o agua en la masa de flóculo de algas producida es baja, preferentemente menos del 5 % en peso, de forma más preferente menos del 4 % en peso, lo más preferente menos del 3 % en peso, tal como aproximadamente 1 %, lo que facilita la eficacia de la recuperación de los componentes deseados para procesamiento posterior. De esta manera, la biomasa se puede concentrar 160 veces o incluso más en comparación con el porcentaje en peso original.

25 El resto de la solución de algas y/o sobrenadante se puede recircular.

30 La solución de algas y/o el sobrenadante que permanece después de la separación del flóculo de algas se suelen medir ópticamente para determinar el rendimiento de cosechado. La cantidad de células de algas, es decir, la densidad óptica (DO), se determina cómodamente por medida de la intensidad del color verde a una longitud de onda de 680 nm mediante un espectrofotómetro. La densidad óptica medida en el sobrenadante tras la recolección del floculo de algas por el método de la presente invención es inferior al 10 % en comparación con la solución no tratada, es decir, se recoge el 90 % de las algas. Preferentemente, se recolecta hasta el 95 %, lo más preferentemente hasta el 99 % dependiendo de las algas y las sustancias químicas utilizadas.

35 Claramente, se observa un efecto sinérgico cuando, en primer lugar, se añade el coagulante orgánico y, en segundo lugar, se añade la arcilla inorgánica inerte. A partir de las mediciones de DO de la cantidad de algas que permanece en la solución tras retirar los flóculos, es evidente que la mera adición de coagulante orgánico o arcilla inorgánica solos no da como resultado valores razonables de la DO. La eficacia de eliminación de las algas es varias decenas de unidad de porcentaje mejor que la secuencia que utiliza la presente invención.

40

Se puede observar un efecto similar con la adición de floculantes inorgánicos. Se necesitan cantidades considerablemente mayores para obtener valores de la DO de consenso o los comparables a los valores de la DO obtenidos con las adiciones combinadas de coagulante orgánico y arcilla inorgánica inerte. La ventaja adicional obtenida con la adición de floculantes inorgánicos o polielectrolitos se puede comprometer en la disminución de la cantidad de coagulante orgánico y material de arcilla inorgánica inerte a utilizar para eliminar la cantidad global de las sustancias químicas.

45

Este efecto sinérgico se describe adicionalmente en los siguientes ejemplos.

50 La Figura 1 muestra un ejemplo de un flujo del proceso de acuerdo con la invención. La solución que contiene algas se extrae continuamente de un estanque 1 en una conducción en la que el primer coagulante orgánico 2 se añade y se mezcla en la solución que contiene algas mediante un mezclador estático. Posteriormente, se introduce una suspensión de arcilla inorgánica inerte 3 y la solución se alimenta a un depósito 4 que está provisto de medios de mezclado tales como los adecuados para una mezcla rápida e intensa. Se utilizó el nivel de líquido del depósito para ajustar el tiempo de retención. La solución de algas floculadas formada se lleva a un depósito intermedio 5 para mezclado adicional que precede a la introducción del floculante inorgánico 6 y/o la introducción del floculante inorgánico 6 tras mezclado adicional. La solución de flóculo de algas se lleva a un depósito 7, que está provisto de medios de mezclado adecuados para el mezclado o la agitación suave. Posteriormente, se

55

60 añade la solución de polielectrolito 8 con el agua de dispersión 9 y la solución se transporta hasta la unidad de flotación 10 para la extracción de los flóculos de algas 11 y el agua 12, que se puede recircular, por ejemplo, a un estanque o una solución de cultivo.

65 La Figura 2 muestra otro ejemplo de un flujo del proceso de acuerdo con la invención. La solución que contiene algas se extrae continuamente de un estanque 1 a una conducción en la que el primer coagulante orgánico 2 se añade y se mezcla en la solución que contiene algas mediante una bomba de flujo turbulento. Posteriormente, se

introduce una suspensión de arcilla inorgánica inerte 3 y la solución se alimenta a un depósito 4 que está provisto de medios de mezclado tales como los adecuados para una mezcla rápida e intensa. Se utilizó el nivel de líquido del depósito para ajustar el tiempo de retención. El floculante inorgánico 6 se introduce en el flujo de solución antes de introducirse en el depósito 4. Una suspensión adicional de la arcilla inorgánica inerte 3 se introduce en la solución antes de conducirse a un depósito intermedio 5 para mezclado adicional. Se introduce floculante inorgánico 6 adicional en un depósito intermedio 5. La solución de flóculo de algas se lleva a un depósito 7, que está provisto de medios de mezclado adecuados para el mezclado o la agitación suave. Posteriormente, se añade la solución de polielectrolito 8 con el agua de dispersión 9 y la solución se transporta hasta la unidad de flotación 10 para la extracción de los flóculos de algas 11 y el agua 12, que se puede recircular, por ejemplo, a un estanque o una solución de cultivo.

Los siguientes ejemplos ilustran el método inventivo en diferentes condiciones. Dichos ejemplos son solamente ilustrativos, y no se pretende que sean limitantes en su alcance.

15 Ejemplos

Ejemplo 1

Los experimentos de recolección se llevaron a cabo en un matraz de 1000 ml con 800 ml de cultivo de microalgas. Este fue provisto de un agitador de palas con una región de velocidad del agitador regulable 200-400 rpm y una región 10-50 rpm. El equipo se comercializó con el nombre de MiniFlocculator por Kemira, Kemwater.

Este ejemplo demuestra el éxito de la concentración y la separación de microalgas del género *Chlorella*, salinidad de la solución 1,4 % y pH 4,9 y concentración de biomasa 1,00 g/l, mediante, en primer lugar, coagulación y floculación de las microalgas con un coagulante orgánico y un material de arcilla inerte y, a continuación, sedimentando las microalgas.

El coagulante orgánico, Fennoxif 50 (de la empresa Kemira) se disolvió en agua a una concentración de 5 g/l. La arcilla inerte, bentonita (Berkbond N° 2, Steeley Minerals Division, Milton Keynes, Reino Unido), se suspendió en agua que tenía aproximadamente un 5 % de materia seca.

El floculante inorgánico 1, Fennoferri 105 (de la empresa Kemira), se disolvió en agua a una concentración de 4 g/l de sulfato férrico. El floculante inorgánico 2, Kempac 18 (de la empresa Kemira) se disolvió en agua a una concentración de 3,5 g/l de policloruro de aluminio.

En primer lugar, el coagulante orgánico se añadió al cultivo de microalgas *Chlorella* que tenía una densidad de biomasa de 1 g/l. La solución se agitó intensamente durante un máximo de 3 min. En segundo lugar, se añadió la arcilla inerte. La solución se agitó intensamente durante 0,25-3 min y después más suavemente hasta que se formaron los flóculos. Esto necesitó un máximo de 5 min. Los flóculos formados sedimentaron, dependiendo del tamaño del flóculo, entre 15 s y 15 min.

En algunos de los experimentos, el floculante inorgánico 1, Fennoferri 105, se añadió después de la adición de la arcilla inerte.

El rendimiento del proceso de recolección basado en la sedimentación se valoró en función de la velocidad de sedimentación, eficacia de eliminación (algas que permanecen en suspensión) y la densidad del concentrado obtenido (DO680%, medida óptica a 680 nm). En la Tabla 1 se muestra un resumen de los resultados obtenidos con este procedimiento.

50

Tabla 1

Experimento	Coagulante orgánico (mg/l)	Arcilla inorgánica inerte (mg/l)	Floculante inorgánico 1 (mg/l)	Relación arcilla/coagulante	DO680-%
1	6,25	125		20	7,4
2	12,5	250		20	1,6
3	5	500		100	4,8
4	6	250	1,0	42	2,7
5			40,0		8,6

La floculación fue eficaz, con una pequeña cantidad de coagulante y arcilla. La adición de arcilla densificó las algas floculadas, que ocuparon solamente un 3 % del volumen original. La adición de una cantidad muy pequeña del floculante 1, como se muestra en el experimento 4, disminuyó adicionalmente las cantidades necesarias de productos químicos.

55

Se resalta adicionalmente que se obtiene un resultado excelente cuando se usa solamente la combinación de la primera adición del coagulante orgánico y posteriormente la adición de la arcilla inorgánica inerte, como se muestra en el experimento 2, sin más adiciones de floculante inorgánico.

- 5 En comparación, cuando las algas se floculan solamente con floculante inorgánico, como se muestra en el experimento 5, la cantidad necesaria para flocular y sedimentar el 91,4 % de las algas (8,6 % quedaron en suspensión) fue de 40 mg/l y las algas floculadas ocuparon un volumen del 5 % del original.

Ejemplo 2

10 Los experimentos de recolección se realizaron de una forma similar al ejemplo 1, con la excepción de que se utilizaron microalgas del género *Dunaliella* con una salinidad de la solución del 3,5 %, pH 8,5-9 y una concentración de biomasa de 0,2 g/l.

- 15 El rendimiento del proceso de recolección basado en la sedimentación se valoró en función de la velocidad de sedimentación, eficacia de eliminación (algas que permanecen en suspensión) y la densidad del concentrado obtenido. En la Tabla 2 se muestra un resumen de los resultados obtenidos con este procedimiento.

Tabla 2

Experimento	Coagulante orgánico (mg/l)	Arcilla inorgánica inerte (mg/l)	Floculantes inorgánicos 1 (mg/l)	Relación arcilla/coagulante	DO680-%
1	12,5	750		60	3,7
2	12,5	500		40	7,2
3	18,75	500	1,0	27	4,7
4	18,75	250	2,0	13	4,3
5		500			41,9
6	25				31,9
7			35		5,1

20 La floculación usando solamente el coagulante orgánico fue ineficaz, como se muestra en el experimento 6, dando como resultado flóculos muy pequeños con velocidad de sedimentación baja que dejó un 31,9 % de las algas en suspensión cuando se añadieron 25 mg/l de coagulante orgánico.

- 25 Una adición de solo 500 mg/l de arcilla, como se muestra en el experimento 5 dio como resultado la eliminación de algunas algas, pero el 41,9 % quedó en suspensión.

30 La combinación de coagulante y arcilla, como se muestra en los experimentos 1 y 2, hizo los floculos más pesados y de sedimentación más rápida (5 min). La adición de una cantidad muy pequeña del floculante 1, como se muestra en los experimentos 3 y 4, densificó los flóculos e hizo que la eliminación fuera más eficaz.

En comparación, cuando el floculante inorgánico se añadió solo, como se muestra en el experimento 7, se necesitó una cantidad mucho mayor que 35 mg/l para eliminar el 95 % de las algas.

Ejemplo 3

40 Los experimentos de recolección se realizaron de una forma similar al ejemplo 1, con la excepción de que se utilizaron microalgas del género *Nannochloropsis*, con una salinidad en solución del 2,9 %, pH 6,1 y una concentración de biomasa de 0,2 g/l.

El rendimiento del proceso de recolección basado en la sedimentación se valoró en función de la velocidad de sedimentación, eficacia de eliminación (algas que permanecen en suspensión) y la densidad del concentrado obtenido. En la Tabla 3 se muestra un resumen de los resultados obtenidos con este procedimiento.

Tabla 3. *Nannochloropsis*

Experimento	Coagulante orgánico (mg/l)	Arcilla inorgánica inerte (mg/l)	Floculante inorgánico 1 (mg/l)	Floculante inorgánico 2 (mg/l)	Relación arcilla/coagulante	DO680-%
1	18,75	500			27	3,1

2	18,75	125	4		7	4,3
3	12,5	500	0,5		40	1,9
4	12,5	312,5	1,5		25	3,3
5	9,4	250	1		27	5,8
6	6,25	375			60	13,7
7	6,25	375	1,5		60	4,1
8	6,25	375	4		60	7,4
9	6,25	375		1,3	60	7,8
10	18,75					37,3
11		500				92
12	12,5		1,25			27,9
13		375	5,0			74,1
14			25			18,0
15			50			4,3
16				22		7,8
17				44		3,9

El coagulante (experimento 10) o la arcilla (experimento 11) solos o combinados con una pequeña cantidad de floculante inorgánico (experimentos 12 y 13) no fue eficaz para la eliminación de las algas de la suspensión. Mientras, la continuación de la primera adición del coagulante y la posterior adición de la arcilla funcionó bien, como se muestra en los experimentos 1 y 6. Una pequeña cantidad del floculante inorgánico mejoró el resultado adicionalmente, como se muestra en los experimentos 2-5 y 7-9.

En comparación, la cantidad de floculante inorgánico necesario para flocular más del 95 % de las algas fue 50 mg/l de floculante 1 (experimento 15) o 44 mg/l de floculante 2 (experimento 17). En comparación, se necesitó menos cantidad de floculante 2, con una mayor densidad de carga, que de floculante 1.

Ejemplo 4

Los experimentos de recolección se realizaron de una forma similar al ejemplo 1, con la excepción de que se utilizaron microalgas del género *Phaeodactylum* con una salinidad de la solución del 3,5 %, pH 8,5-9 y una concentración de biomasa de 0,4 g/l.

El rendimiento del proceso de recolección basado en la sedimentación se valoró en función de la velocidad de sedimentación, eficacia de eliminación (algas que permanecen en suspensión) y la densidad del concentrado obtenido. En la Tabla 4 se muestra un resumen de los resultados obtenidos con este procedimiento.

Tabla 4. *Phaeodactylum*.

Experimento	Coagulante orgánico (mg/l)	Arcilla inorgánica inerte (mg/l)	Floculante inorgánico 1 (mg/l)	Relación arcilla/coagulante	DO680-%
1	9,4	62,5		7	1,9
2	3,75	62,5		17	5,5
3	6,25	125		20	0,3
4	6,25	94		15	1,0
5	3.125	125	1,25	40	0,5
6	3.125	94	3,75	30	0,5
7			25		2,8

La combinación de coagulante y arcilla funcionó muy bien también con las algas del género *Phaeodactylum*.

Ejemplo 5

Los experimentos de recolección se realizaron de una forma similar al ejemplo 1, con la excepción de que se utilizaron microalgas del género *Nannochloropsis* con una salinidad de la solución del 3,5 %, pH 7,8 y una concentración de biomasa de 0,35 g/l.

El rendimiento del proceso de recolección basado en la sedimentación se valoró en función de la velocidad de sedimentación, eficacia de eliminación (algas que permanecen en suspensión) y la densidad del concentrado obtenido. En la Tabla 5 se muestra un resumen de los resultados obtenidos con este procedimiento.

Tabla 5. *Nannochloropsis*.

Coagulante orgánico (mg/l)	Arcilla inorgánica inerte (mg/l)	Floculante 1 (mg/l)	DO680-% después de 30 min	DO680-% después de 16 h	Observaciones
12,5	62,5	2	2,9		Flóculos formados, sedimentación en 5 min.
12,5	62,5		6,5		Formación de flóculos pequeños, sedimentación en 15 min.
12,5		2	sin sedimentación	9,0	Flóculos pequeños, sedimentación muy lenta (más de 1 h, DO680 medida tras 16 h)
12,5			sin sedimentación	12,0	Flóculos pequeños apenas visibles, sin sedimentación en 1 h (DO680 medida tras 16 h)

Una pequeña adición de arcilla hizo que los flóculos fueran mucho más grandes y sedimentaran más rápido. Una pequeña adición de floculante inorgánico aumentó el tamaño del flóculo (1-3 mm) y mejoró la sedimentación de 15 min a 5 min. El coagulante orgánico, por sí mismo y junto a una pequeña adición de floculante inorgánico, formaron flóculos muy pequeños (apenas visibles a simple vista) que no sedimentaron en 30 min.

El coagulante orgánico no actuó como floculante por sí mismo. Una pequeña adición de arcilla hizo que los flóculos fueran mucho más grandes y sedimentaran más rápido. La adición de floculante inorgánico aceleró aún más la sedimentación.

Ejemplo 6

Se consiguió un aumento en el tamaño y la resistencia del flóculo al añadir un polielectrolito orgánico durante la agitación suave tras la introducción del coagulante orgánico y la arcilla inorgánica inerte. Los experimentos de recolección se realizaron de una forma similar al ejemplo 1, con la excepción de que se utilizaron microalgas del género *Nannochloropsis*, salinidad 2,9 %, pH 6,1 y concentración de biomasa 0,2 g/l. Se añadió durante la agitación suave el polielectrolito orgánico (Fennopol A321 de Kemira) suspendido en agua a una concentración de 0,05 %.

Tras la sedimentación, 30 min de sedimentación, la solución de cultivo se volvió a mezclar intensamente (200 rpm, 30 s) y se dejó sedimentar de nuevo para medir la resistencia de los flóculos formados.

Tabla 6. *Nannochloropsis*.

Coagulante orgánico (mg/l)	Arcilla inorgánica inerte (mg/l)	Floculante inorgánico 1 (mg/l)	Floculante inorgánico 2 (mg/l)	Polielectrolito orgánico (mg/l)	DO680-% tras floculación y sedimentación 30 min	DO680-% tras segundo mezclado (200 rpm 30 s) y sedimentación 30 min
6,25	375		1,3		7,76	9,01
6,25	375		1,3	2,5	5,13	5,63
6,25	375	1,5			11,76	13,89
6,25	375	1,5		2,5	4,63	4,51

Se formaron flóculos grandes (hasta 10 mm) tras la adición de polielectrolito orgánico. Sedimentaron mucho más rápido (menos de 30 s) que los pequeños (ca. 1 mm) que se formaron sin adición (necesario ca. 15 min). Durante el segundo mezclado, los flóculos sin polielectrolito orgánico se desmenuzaron en flóculos más pequeños y la sedimentación fue más lenta que después de la floculación. Los flóculos con polielectrolito orgánico sedimentaron muy rápido también después del segundo mezclado. Esto indica que los flóculos tienen una elevada resistencia mecánica.

En otras palabras, la adición de polielectrolito orgánico aumentó la sedimentación y la resistencia mecánica de los flóculos, es decir, no se rompieron en el experimento del segundo mezclado.

Ejemplo 7

5 Los experimentos de recolección se realizaron de una forma similar al ejemplo 1, con la excepción de que se utilizaron microalgas del género *Nannochloropsis* con una salinidad de la solución del 2,9 %, pH 6,1 y concentración de biomasa 0,2 g/l.

10 En todos los ensayos se añadieron 12,5 mg/l de coagulante orgánico, seguido por la adición de 500 mg/l de cantidades variables de material de arcilla inerte y 0,5 mg/l de floculante 1.

El cultivo sedimentado se volvió a mezclar (200 rpm, 30 s) y se volvió a sedimentar (30 min) para someter a ensayo la resistencia del flóculo.

15 La Tabla 7 muestra los resultados de los experimentos, en los que se utilizaron los siguientes materiales de arcilla:

Experimento de referencia 1: Experimento de referencia con la *Nannochloropsis* original

Experimento de referencia 2: Experimento de referencia sin adición de arcilla

Experimento 3: caolín (de May & Baker Ltd)

20 Experimento 4: diatomita (de Merck)

Experimento 5: una mezcla de bentonita acidificada con $\text{SiO}_2 \times \text{Al}_2\text{O}_3 \times n\text{H}_2\text{O}$ (Galleon Earth V2 Super de Ashapura Volclay Limited)

Experimento 6: una mezcla de bentonita, CaSO_4 y cuarzo (de BASF)

Experimento 7: Ca-bentonita natural, activada con ácido (Tonsil 9192FF de Sud Chemie)

25 Experimento 8: bentonita (Berkbond N° 2, Steeley Minerals Division, Milton Keynes, Reino Unido)

Experimento 9: una mezcla de moscovita, cuarzo, caolín y halosita (diatomita 55-75 %, óxido de aluminio 10-20 %, óxido de hierro 2-10 %, de TAIKO)

Tabla 7.

	tras la floculación	tras la segunda mezcla
	DO680-%	DO680-%
Experimento de referencia 1	100,0	N.A.
Experimento de referencia 2	27,9	33,5
Experimento 3	9,9	8,0
Experimento 4	20,7	18,8
Experimento 5	14,4	16,1
Experimento 6	12,3	11,6
Experimento 7	9,1	12,0
Experimento 8	1,9	1,5
Experimento 9	5,8	11,3

30

REIVINDICACIONES

1. Un método para recolectar algas de una solución acuosa que contiene algas, que comprende las etapas de
 - 5 (i) primero, proporcionar un coagulante orgánico a dicha solución y mezclar dicha solución, y
 - (ii) posteriormente, proporcionar un material de arcilla inorgánica a dicha solución después de la etapa (i) y mezclar dicha solución para formar algas coaguladas, y
 - (iii) agitar la solución resultante después de la etapa (ii) para formar algas floculadas, y
 - 10 (iv) posteriormente, separar y recolectar las algas floculadas de dicha solución.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la duración de la fase de mezclado de las etapas (i) y (ii) es igual o mayor que la duración de la fase de agitación en la etapa (iii).
3. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 en la que la duración del mezclado en las etapas (i) y (ii) es inferior a 30 min, preferentemente de menos de 20 min, de forma más preferente de menos de 10 min, lo más preferentemente de menos de 7 min, tal como menos de 5 min.
4. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la relación (mg/l por mg/l) de material de arcilla inerte a coagulante orgánico es de 100:1 a 5:1, preferentemente de 60:1 a 5:1 y lo más preferentemente de 45:1 a 15:1.
5. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la cantidad de coagulante inorgánico es al menos 2 mg/l y el material de arcilla inerte es al menos 50 mg/l.
6. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 en el que dichas clases de microalgas comprenden Clorofíceas, Dinofíceas (dinoflageladas), Primnesiofíceas (algas haptofitas), Crisofícease (algas dorado-marro), Diatomofíceas (diatomeas), Eustigmatofíceas, Rapidofíceas, Euglenofíceas, Pedinofíceas, Prasinofíceas y Clorofíceas.
7. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6 en el que microalgas se seleccionan entre el grupo que consiste de *Dunaliella*, *Chlorella Tetraselmis*, *Botryococcus*, *Haematococcus*, *Phaeodactylum*, *Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Isochrysis*, *Nannochloropsis*, *Nannochloris*, *Pavlova*, *Nitzschia*, *Pleurochrysis*, *Chlamydomas* y *Synechocystis*, más preferentemente seleccionados del grupo que consiste en *Nannochloropsis*, *Haematococcus*, *Dunaliella*, *Phaeodactylum* y *Chlorella*.
8. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 en el que dicho material de arcilla inerte comprende bentonita, caolín, diatomita, caliza o yeso, preferentemente bentonita.
9. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 en el que dicho coagulante orgánico comprende un coagulante de polímero, preferentemente un coagulante de polímero fuertemente catiónico.
10. El método de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dicho coagulante orgánico se selecciona entre el grupo de polímeros de (met)acrilatos de dialquilaminoalquilo; polímeros de dialquilaminoalquilo, (met)acrilamidas; polímeros de haluros de dialildialquilamonio; polímeros formados a partir de una amina y epihalohidrina o dialohidrina; y poliamidas.
11. El método de acuerdo con la reivindicación 9 en el que dicho coagulante orgánico comprende un copolímero de epiclrorhidrina dimetilamina.
12. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que se añade adicionalmente un floculante inorgánico a dicha solución tras la etapa (i), preferentemente el floculante inorgánico se añade durante la fase de agitación en la etapa (iii).
13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, en el que dicho floculante inorgánico comprende un compuesto férrico y/o un compuesto de aluminio, preferentemente sulfato férrico y/o policloruro de aluminio.
14. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13 en el que dicha separación de la etapa (iv) se lleva a cabo mediante sedimentación o flotación.

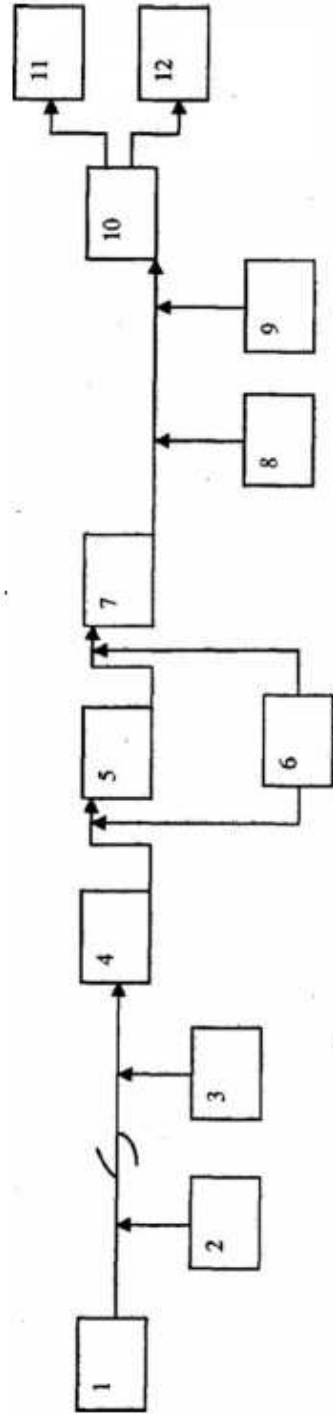


Figura 1

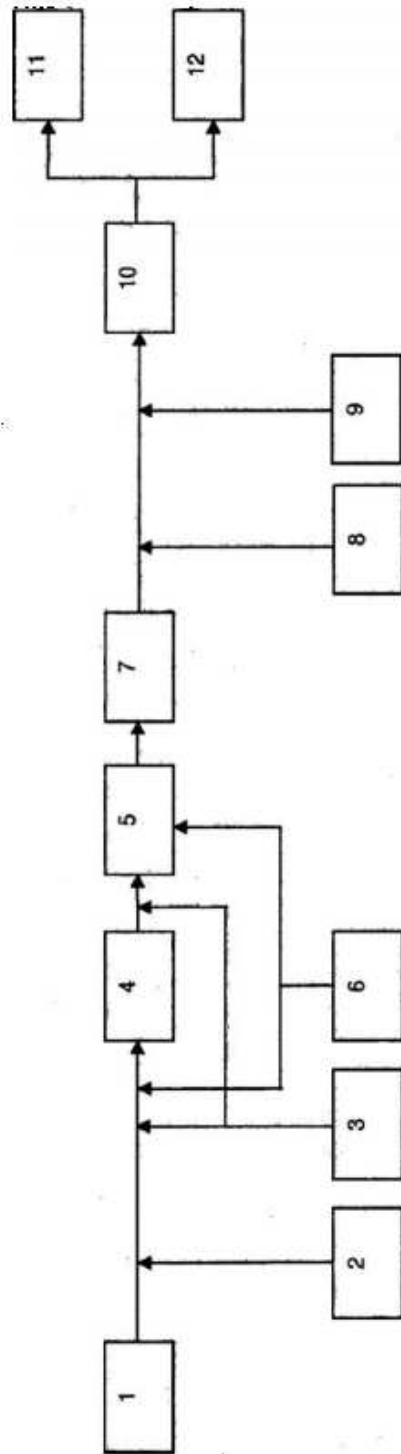


Figura 2