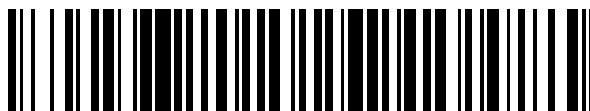


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 552 013**

51 Int. Cl.:

B03D 1/14 (2006.01)
B03D 1/24 (2006.01)
C02F 1/24 (2006.01)
B01F 3/04 (2006.01)
A01G 7/00 (2006.01)
C12N 1/06 (2006.01)
C12P 7/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.06.2008 E 08768635 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.10.2015 EP 2164640**

54 Título: **Procedimiento para acondicionamiento y concentración de microalgas**

30 Prioridad:

19.06.2007 US 944813 P

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

25.11.2015

73 Titular/es:

**RENEWABLE ALGAL ENERGY, LLC (100.0%)
225 Rosehaven Court
Kingport, TN 37663, US**

72 Inventor/es:

**CLAYTON, ROBERT, L.;
FALLING, STEPHEN, N. y
KANEL, JEFFREY, S.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 552 013 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).

DESCRIPCION

Procedimiento para acondicionamiento y concentración de microalgas

Campo técnico

5 La invención se refiere de un modo general al campo de la utilización de algas, tal como en los biocombustibles, y más en particular a un procedimiento para acondicionamiento y/o concentración de microalgas.

Fundamentos de la invención

10 Las microalgas son organismos acuáticos simples que producen oxígeno y materia orgánica mediante fotosíntesis. Las microalgas se usan en la producción de alimentos, suplementos nutricionales, productos farmacéuticos, pigmentos naturales, productos bioquímicos, y biomasa para la producción de combustible. Tienen también utilidad en la eliminación de nitrógeno, fósforo y metales pesados en las aguas residuales. Las microalgas son particularmente útiles debido a su alta velocidad de crecimiento y su tolerancia a diversas condiciones ambientales.

15 Debido a la amplia gama de usos de las microalgas y de los productos basados en microalgas, es esencial contar con métodos eficaces para el cultivo y la recolección de microalgas. "Acondicionamiento" es el tratamiento de una dispersión acuosa de microalgas mediante rotura de células, tratamiento químico y/o floculación con el fin de facilitar el aislamiento de las microalgas o componentes celulares en una etapa posterior.

20 Existen dos planteamientos básicos para el cultivo de microalgas: sistemas de biorreactores cerrados y sistemas de estanque abierto. El sistema intensivo más importante es el biorreactor cerrado, que utiliza conductos transparentes en los que las microalgas crecen en el agua por la exposición a la luz y la introducción de dióxido de carbono y nutrientes. Las razones principales para elegir el diseño de biorreactor son el control del cultivo y/o el deseo de eliminar el dióxido de carbono de las emisiones de gases residuales. Con una especie de microalgas modificada genéticamente, el aislamiento ayuda a evitar la contaminación por otras especies y el escape al medio ambiente.

25 La biomasa de microalgas recolectada se puede convertir en alimento animal, combustible sólido, metano, hidrógeno, gas de síntesis, o combustibles líquidos para el transporte como el biodiesel y el bioetanol. Las operaciones secuenciales pueden permitir la producción de dos o más de estos productos a partir de los lípidos de microalgas (triglicéridos), almidones y residuos. De especial interés en el presente texto es la producción de ésteres de ácidos grasos (biodiesel) a partir de los lípidos de las microalgas. Véase, por ejemplo, el trabajo de revisión de investigación: "Biodiesel from microalgae", Yusuf Chisti, *Biotechnology Advances*, volumen 25, páginas 294 - 306 (2007). La biomasa de microalgas recolectada puede también hidratarse para la producción de hidrocarburos líquidos.

30 La densidad de población óptima para el cultivo de microalgas es aquella para la cual la luz llega a la profundidad completa del medio de cultivo, sin que las capas superiores ensombrezcan sustancialmente las inferiores. La gama de 200.000 a 500.000 células por mililitro se utiliza comúnmente en la técnica como una densidad de población eficiente para el crecimiento de microalgas unicelulares. En estanques y biorreactores agitados, se pueden mantener las poblaciones más altas, mientras que en estanques estáticos las densidades más bajas son las que mejor se comportan. Estas densidades de población dan lugar a concentraciones bajas (del orden de 0,02 por ciento en peso) de productos de microalgas en el medio de cultivo.

35 La concentración previa de las microalgas antes de la recolección es un paso deseable para reducir el volumen de cultivo de microalgas manejado. Sin embargo, la concentración previa es difícil y costosa de implementar en los sistemas de acuicultura a gran escala, como sería necesario para la producción de biocombustibles de microalgas. Excepto en la producción de productos de microalgas de muy alto valor, la tecnología actual de la recolección de microalgas es antieconómica para la manipulación del gran volumen de medio de crecimiento. Para que las microalgas se conviertan en una fuente económica y renovable de bajo valor, se necesitan productos de alto volumen (como los biocombustibles), y métodos mejorados de cultivo, recolección y concentración de microalgas.

40 Se han probado numerosas técnicas para la eliminación de microalgas de una corriente líquida. La filtración es el proceso más común para aislar los sólidos de dispersiones líquidas, y se han utilizado o intentado utilizar muchas configuraciones de filtros con microalgas. Sin embargo muchas especies útiles de microalgas no son susceptibles de filtración debido a su muy reducido tamaño y/o a su estructura blanda y deformable que provoca la obstrucción del filtro. La patente de E.E. U.U. nº 5.490.924 describe un sistema de filtro que tiene un sistema de retrolavado y de limpieza del filtro adaptado para producir simultáneamente verticalmente movimientos alternativos recíprocos y rotar para desalojar selectivamente las microalgas y otras partículas del filtro. Este sistema es adecuado para la purificación del agua, pero no para el aislamiento de biomasa de microalgas a gran escala.

45 La patente de EE. UU. nº 3.875.052 detalla un proceso en etapas múltiples que comprende una etapa de concentración previa en la que la suspensión de microalgas se alimenta a lo largo de una superficie de filtración a una elevada velocidad de contacto, seguido por filtración, lavado y presión. Sin embargo, este proceso sólo es aplicable a microalgas filamentosas y no a las microalgas unicelulares, más pequeñas.

La patente de EE. UU. nº 6.328.165 describe un aparato de recolección para la acuicultura marina que utiliza un filtro de cinta continua en movimiento complejo e incorpora ciclos de lavado.

5 La patente de EE. UU. nº 3.951.805 es un dispositivo de filtro de cinta complicado y costoso para la recolección de microalgas. Hay muchas más técnicas de filtrado que se pueden utilizar, pero en todos ellos se debe prestar especial atención al aclarado o la limpieza del filtro para asegurar una operación eficiente. Si las microalgas pueden deformarse, pueden obstruir o cegar el filtro rápidamente.

10 La centrifugación es otra técnica común de aislamiento de sólidos que se cita a veces para su uso en el aislamiento de microalgas. Por ejemplo, la patente de EE. UU. nº 4.115.949 describe el cultivo y centrifugación de microalgas para la producción de glicerol y sustancias proteicas de valor nutritivo. La centrifugación, la filtración y la sedimentación son métodos de recolección de microalgas que se discutieron en "A Look Back at the U. S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae", NREL/TP-580-24190 (1998). Desgraciadamente el equipo de centrifugación es demasiado caro para la etapa inicial de la recolección a gran escala de microalgas para productos de gran volumen y de bajo precio.

15 La patente de EE. UU. nº 6.332.980 describe el uso de flotación por aire disuelto y un separador de hidrociclón para eliminar del agua los gases volátiles, plaguicidas y partículas tales como las microalgas. Este sistema es adecuado para la purificación del agua, pero no para el aislamiento a gran escala de biomasa de microalgas.

20 También se ha utilizado energía acústica para separar partículas, incluyendo microalgas, del líquido portador. Las patentes de EE. UU. nº 4.0554.91 y 5.626.767 describen el uso de una onda de resonancia ultrasónica para mover partículas, incluyendo microalgas, a diferentes velocidades, permitiéndolas separarse. Sin embargo, esta técnica se basa en diferencias en las propiedades acústicas entre el sólido y el líquido, y puesto que las microalgas son en ocasiones flotantes de forma neutra, se necesitaría una gran cantidad de energía para la separación.

La recolección de microalgas sobre un adsorbente que tiene una superficie hidrófoba fue descrita por Curtain, et al. en la patente de EE. UU. nº 4.554.390. Este proceso es práctico en la producción de productos de alto valor pero es demasiado costoso para la fabricación de biocombustibles.

25 Las separaciones adsortivas por burbujas son un grupo de procesos utilizados en el tratamiento de una dispersión de alimentación que comprende un líquido portador y material hidrófobo que es de naturaleza molecular, coloidal y/o en partículas. Este material hidrófobo se recoge selectivamente (es decir, se adsorbe o se une) en la superficie de las burbujas de forma que se las puede permitir subir a través del líquido portador, concentrando o separando así el material hidrófobo del líquido portador. La espuma resultante con partículas recogidas se puede tratar en una entre
30 unas cuantas maneras para colapsar la espuma y aislar las partículas. Este importante proceso se utiliza comercialmente en una amplia gama de aplicaciones que incluyen el aislamiento de minerales y metales de la mena, la desecación de microalgas, la eliminación de las gotículas de aceite de una corriente acuosa, la eliminación de las partículas de ceniza del carbón, la eliminación de partículas en las corrientes de tratamiento de aguas residuales, la purificación del agua potable y eliminación de tintas y adhesivos durante el reciclado del papel. Véase, por ejemplo,
35 "Harvesting of Algae by Froth Flotation", G. V. Levin, et al., *Applied and Environmental Microbiology*, volumen 10, páginas 169 - 175 (1962). Otras aplicaciones de procesos adsortivos con burbujas se describen en *Adsorptive Bubble Separation Techniques*, Robert Lemlich, Editor, Academic Press, Nueva York, Nueva York (1972). En todas estas aplicaciones, existe la necesidad de poner en contacto eficientemente partículas o gotículas en una dispersión acuosa con un gas y después unir el material hidrófobo a las burbujas. Este proceso es susceptible de corrientes de
40 alimentación muy grandes y se practica ampliamente como tal en la industria minera.

Para los procesos adsortivos por burbujas para separar materiales, los materiales hidrófobos comprenden el componente a separar. Hacer hidrófobo al material se denomina comúnmente "acondicionar", en donde las superficies de las partículas se tratan con productos químicos, u otras técnicas que modifican selectivamente el
45 componente a separar. En la mayoría de los casos las partículas no son inicialmente hidrófobas, y las partículas a separar o a desecar se hacen hidrófobas para que puedan ser recogidas y separadas con un proceso adsortivo con burbujas. En otros casos, las partículas son todas hidrófobas, y se modifica un componente para hacerlo hidrófilo con el fin de mantenerlo en la corriente acuosa.

50 Las microalgas son hidrófilas y por tanto la separación adsortiva con burbujas es mínimamente eficaz en células de microalgas vivas enteras. Para usar la separación adsortiva con burbujas de adsorción, las células de microalgas deben ser acondicionadas para hacerlas hidrófobas.

Un ejemplo del uso del acondicionamiento con floculación seguido de la separación adsortiva con burbujas para recolectar microalgas se describió en la patente de EE. UU. nº 4.680.314. La patente de EE. UU. nº 6.524.486 utiliza también un agente floculante para producir acumulaciones de microalgas que después se separan por flotación usando un proceso adsortivo con burbujas. Este proceso requiere la adición de agentes de floculación que son
55 caros, pueden tener problemas medioambientales, y pueden contaminar el producto o el medio de crecimiento.

Otro método para hacer hidrófobas a las células de microalgas para utilizar la separación adsortiva con burbujas es por "rotura celular" (también denominada "lisis"). Mediante la rotura de la pared celular y/o la membrana celular, los

lípidos y otros componentes naturalmente hidrófobos son liberados de la célula. Estos componentes y fragmentos de células pueden después recuperarse con un proceso de separación adsortiva con burbujas.

La rotura de la célula se puede lograr mediante varios métodos que se pueden clasificar como químicos, físicos o mecánicos. Los métodos químicos incluyen la digestión enzimática, solubilización con detergente, disolución lipídica con un disolvente, y tratamiento alcalino (saponificación de lípidos). Los métodos físicos incluyen choque osmótico, descompresión, sonicación, tratamiento térmico, y congelación-descongelación. Los métodos mecánicos incluyen trituración, homogeneización a alta cizalladura y extrusión a presión. La homogeneización de las células por impulsores de alta velocidad (por ejemplo, un mezclador de cocina) es un proceso mecánicamente simple, pero requiere alta energía y eliminación de calor. El gran requerimiento de energía por volumen de medio de microalgas hace que esta técnica no sea rentable para sistemas de acuicultura a gran escala. Véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n° 4.931.291, que utiliza varios métodos de rotura celular de microalgas para producir alimento para larvas de crustáceos y mariscos.

Un proceso de rotura celular común en la técnica anterior utiliza una bomba para forzar la mezcla de alimentación a alta presión a través de una válvula de orificio restringido. La rotura celular se realiza mediante tres mecanismos diferentes: impacto sobre la válvula, elevada cizalladura del líquido en el orificio, y súbita caída de presión en la descarga, que produce finalmente una explosión de la célula. Como un ejemplo de esto, el equipo de rotura de células MICROFLUIDIZER™ de Microfluidics, Newton, MA, EE. UU., utiliza presiones de aproximadamente 345 - 2.760 bares. La patente de EE. UU. n° 6.405.948 describe un método para la liberación de materiales intracelulares usando un molino de desintegración de resonancia en el que un rotor de alta velocidad crea una serie de compresiones y descompresiones.

Las patentes de EE. UU. n° 5.776.349 y n° 6.000.551 describen que las células de microalgas se rompen cuando la dispersión de alimentación de microalgas es sometida a una caída de presión creada bombeando a través de un orificio. Se reivindica que las caídas de presión de 3,4 a 14 bares hacen recuperables a un aceptable porcentaje de las células con una separación adsortiva con burbujas. Sin embargo, es caro bombear toda la dispersión de alimentación, en donde el medio de cultivo puede representar más del 99% de la masa, a estas presiones para obtener un alto porcentaje de rotura celular.

La tecnología de molienda fina tiene aplicación a la rotura celular de microorganismos a escala de laboratorio. En los molinos de bolas o de esferas, las células se agitan en suspensión con medios de molienda que son pequeñas partículas abrasivas, tales como esferas de vidrio o de cerámica. Las células se rompen a causa de las fuerzas de cizalladura, la trituración entre las esferas, y las colisiones con las esferas. La patente de EE. UU. n° 5.330.913 reivindica que una suspensión acuosa de células de *Chlorella* se rompe por los rápidos cambios de presión creados por un impulsor giratorio dentro de un pequeño recipiente cilíndrico sellado herméticamente, con esferas rígidas que tienen un diámetro constante de 500 a 800 micras.

Los molinos de disco horizontales o verticales, de alta energía, emplean una cámara que contiene los discos en un rotor de alta velocidad y el medio de molienda. El proceso de molienda puede hacerse por tandas o de forma continua. Este diseño se utiliza para moler pigmentos, colorantes, productos farmacéuticos, productos alimenticios, minerales, y pequeñas cantidades de células biológicas.

La patente de EE. UU. n° 6.589.785 describe un método para romper las células congelándolas en sólidos y fraccionándolas con un molino de bolas vibratorio en presencia de sustancias desnaturizantes. En el ejemplo citado, se utilizó un dispositivo llamado DISMEMBRATOR U para fraccionar pequeñas cantidades de las células. Cualquier proceso que requiera la congelación de la alimentación sería económicamente prohibitivo.

La patente de EE. UU. n° 5.374.522 reivindica un método para romper los microorganismos mediante el uso de energía ultrasónica en presencia de pequeñas esferas. La solicitud de patente de EE. UU. 2006/0084165 describe un método para romper células o virus. El método implica añadir esferas magnéticas a una solución que contiene células o virus, hacer vibrar las esferas magnéticas e irradiar un láser sobre las esferas magnéticas para romper las células. También en este caso estas técnicas son difíciles y costosas de implementar en sistemas de acuicultura a gran escala, como sería necesario para la producción de biocombustible de algas.

E. M. Grima, E. -H. Belarbi, F. G. Ación Fernández, A. Robles Medina, Y. Chisti, "Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics", *Biotechnology Advances* 20 (2003), 491 – 515, describen la producción comercial de metabolitos intracelulares de microalgas que requiere lo siguiente: (1) producción monoséptica a gran escala de la biomasa de microalgas apropiada; (2) recuperación de la biomasa a partir de un caldo relativamente diluido; (3) extracción del metabolito de la biomasa; y (4) purificación del extracto crudo.

La patente de EE. UU. n° 5.951.875 se refiere a un procedimiento y sistema para recuperar carotenoides mixtos a partir del alga *Dunaliella salina*. Las células recolectadas se rompen, típicamente haciendo circular la suspensión de algas a alta presión a través de un lazo de bombeo. Las células pueden después desecarse mediante técnicas de separación adsortiva con burbujas, incluyendo un circuito de flotación de espuma que tiene una zona de desbaste y una zona de concentración. Si se desea una mayor concentración, el concentrado de algas puede ser filtrado mecánicamente en una unidad de microfiltración de flujo cruzado en ausencia de agentes floculantes con una

pérdida sustancialmente nula de carotenoides en el permeado. Se describen varios métodos para extraer carotenoides mixtos y otros componentes de las algas, incluyendo extracción con gas denso, y extracciones con aromatizantes naturales y sintéticos y aceites comestibles.

Sumario de la invención

- 5 Se describen métodos para la concentración de biomasa de microalgas mediante la rotura de dispersiones acuosas de células de microalgas por molienda, seguida por la separación adsortiva con burbujas, como se define en la reivindicación 1ª independiente y en las reivindicaciones 2ª a 9ª dependientes de la misma.

Breve descripción de los dibujos

10 La FIG. 1 es un diagrama de bloques de la invención que muestra las etapas para el acondicionamiento de una dispersión de alimentación de microalgas seguido de la separación adsortiva con burbujas.

15 La FIG. 2 es una vista frontal de una posible configuración de un molino vibratorio horizontal. La dispersión de alimentación de microalgas entra en el punto de alimentación 1 del molino vibratorio horizontal 5. El molino se hace vibrar por medio del motor de accionamiento 2 con pesos excéntricos 3 montados sobre los ejes del motor. El molino vibratorio horizontal 5 está unido a un bastidor 6 que está montado sobre los muelles 7. La acción rotatoria de los pesos excéntricos 3 hace que oscilen el molino vibratorio horizontal 5 y el bastidor 6, vibrando así la carga de medio de molienda 9, chocando con las microalgas y rompiéndolas. La dispersión de microalgas acondicionadas sale de la descarga del molino 4.

La FIG. 3 es una vista lateral de una posible configuración de un molino vibratorio horizontal. El montaje del motor de accionamiento 2 y de los pesos excéntricos 3 se muestra claramente en esta vista.

20 La FIG. 4 es una vista lateral de una posible configuración de un molino vibratorio vertical. La dispersión de alimentación de algas entra en el punto de alimentación 10 del molino vibratorio vertical 11. Este molino vibratorio vertical es activado por el motor de accionamiento 12 con el peso excéntrico 13 montado en el eje. El molino vibratorio vertical 11 está montado sobre muelles 14. La acción de rotación de los pesos excéntricos 13 hace que el molino vibratorio vertical 11 oscile, vibrando así la carga de medio de molienda 15 y chocando con las microalgas y rompiéndolas. La dispersión acuosa de microalgas acondicionada sale del molino en el punto de descarga 16.

La FIG. 5 es una vista lateral de un molino de bolas de alta velocidad 17. La dispersión de alimentación de microalgas entra en el punto de alimentación 18. El motor de accionamiento 19 hace girar los discos 20 que agitan el medio de trituración 21 y rompe las células de microalgas contenidas en la dispersión de alimentación. La dispersión acuosa de microalgas acondicionadas sale del molino en el punto de descarga 22.(Comparativo).

30 Descripción detallada de la invención

Se describen procedimientos para concentrar biomasa de microalgas rompiendo las células de microalgas mediante molienda seguida de separación adsortiva con burbujas. En tales procesos, la dispersión acuosa de la alimentación de microalgas se pasa primero a través de un molino de trituración. La dispersión de la alimentación de microalgas consiste en un líquido portador y las células de microalgas. El líquido portador puede ser agua, salmuera, agua de mar, soluciones acuosas, medio de cultivo para las microalgas o reactivos o una combinación de cualquiera de ellos. El líquido portador puede contener nitrógeno, fósforo, hierro, y otros fertilizantes usados en la técnica. La dispersión de la alimentación de microalgas puede ser suministrada directamente desde una zona de crecimiento o desde un proceso anterior. Esta zona de crecimiento puede ser natural o cultivada. Las microalgas se pueden cultivar en estanques abiertos o en biorreactores. Floraciones naturales de microalgas u otras pueden servir como fuente de alimentación de la dispersión. Algunos procesos pueden concentrar previamente las microalgas dentro de la zona de crecimiento, reduciendo así el volumen que se ha de acondicionar, y por tanto los costes.

45 Las microalgas pueden ser cualquier especie de microalgas que se desee separar del líquido de transporte. Entre estas especies se incluyen, pero sin limitarse a ellas, *Anabaena*, *Ankistrodesmus falcatus*, *Botryococcus braunii*, *Chaetoceros gracilis*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorococcum littorale*, *Cyclotella cryptica*, *Dunaliella salina*, *Dunaliella tertiolecta*, *Dunaliella viridis*, *Euglena gracilis*, *Isochrysis galbana*, *Nannochloris*, *Nannochloropsis salina*, *Navicula saprophila*, *Neochloris oleoabundans*, *Nitzschia laevis*, *Nitzschia alba*, *Nitzschia communis*, *Nitzschia paleacea*, *Nitzschia closterium*, *Pleurochrysis carterae*, *Porphyridium cruentum*, *Prymnesium*, *Pseudochoricystis ellipsoidea*, *Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus quadricauda*, *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus dimorphus*, *Skeletonema costatum*, *Spirogyra*, *Spirulina*, *Synechococcus*, *Amphora*, *Fragilaria*, *Schizochytrium*, *Rhodomonas*, y variedades de estas y otras especies de microalgas modificadas genéticamente. Se ha de entender que una razón para la separación de microalgas puede ser para limpiar el líquido portador en vez o además de la producción de biomasa de microalgas.

55 Una etapa inicial en un proceso de este tipo es el acondicionamiento de las microalgas rompiendo mecánicamente las células. Sin desear vincularse a ninguna teoría, se cree que la rotura celular expone las partículas o superficies hidrófobas que las hacen susceptibles de recolección y extracción de agua mediante un proceso de separación adsortiva con burbujas. El método de rotura mecánica del proceso no utiliza ni introduce productos químicos en el

proceso de acondicionamiento y recolección ni requiere calentamiento, enfriamiento ni congelación de la dispersión de microalgas. La rotura de las microalgas por el proceso del presente texto utiliza tecnologías de molienda en presencia de un medio de molienda abrasivo. Debido a la naturaleza de la molienda, hay muchos parámetros para el control que permiten una molienda precisa.

- 5 Los molinos de trituración se utilizan comúnmente para reducir los tamaños de partículas de materiales sólidos. Estos tipos de materiales pueden variar desde minerales a pigmentos en colorantes, a sólidos químicos y polvos. Las células de microalgas no son duras como son los minerales, y por tanto la energía requerida para romperlas es comparativamente baja. El tamaño físico de las células de microalgas es también bastante uniforme a diferencia de las suspensiones o lodos minerales, en los que es normal una amplia variación en el tamaño de las partículas.
- 10 También se prefiere que los cuerpos de algas sean solamente rotos, y no se desintegren, porque partículas más pequeñas son capturadas menos eficientemente por el proceso de separación adsorptiva con burbujas.

En la industria de los minerales, la mena se tritura para liberar los minerales de interés de la roca de transporte. Por lo general, son grandes tambores giratorios con el medio de molienda levantado y rodado dentro de los molinos. Las suspensiones de líquido portador y partículas de mineral se introducen en un extremo del tambor y fluyen a través del mismo de manera que chocan por el volteo y la rotación de la carga de medio de molienda. El tiempo de residencia y la probabilidad de choque con suficiente energía de rotura suministrada por el impacto determina el grado de trituración que tiene lugar. Estos son dispositivos de impacto de alta energía, de molienda de baja frecuencia. Estos dispositivos son útiles para el procesamiento de grandes volúmenes de material que típicamente se encuentran en aplicaciones mineras. En el área de la molienda fina, en vez de usar choques de baja frecuencia y alta energía para realizar la molienda (miles de impactos por minuto) se usan impactos de baja energía. En este método de molienda, se controlan las características de los medios de molienda, la frecuencia, la amplitud y el tiempo de residencia del material a moler. Con estos controles, se puede evitar el exceso de molienda de las partículas, que puede hacer que el material sea difícil de recuperar.

Del mismo modo, mediante un control preciso, las células de microalgas se pueden romper sin una desintegración celular excesiva por la acción de los medios de molienda, haciendo así hidrófobos a los cuerpos de microalgas, pero suficientemente grandes como para ser capturados de manera eficiente por las burbujas. De esta manera, se pueden recolectar sobre las burbujas y desecarlas con un proceso adsorptivo con burbujas. Los controles precisos ofrecidos por las tecnologías de molienda en medios evita la molienda en exceso que crea partículas extremadamente pequeñas de contenido de células que son más difíciles de recuperar. También pueden minimizarse las células rotas, ya que pueden representar una pérdida si no se rompen en otra parte.

Las tecnologías de molienda se limitan a molinos vibratorios que contienen medios de molienda.

Este proceso de molienda es eficiente energéticamente, ya que utiliza una frecuencia armónica para hacer vibrar el molino y su carga de alimentación y medio de trituración. Los molinos vibratorios tienen la ventaja de generar mucho mayor impacto o fuerzas de molienda que los molinos de bolas u otros molinos similares que se basan en la fuerza de gravedad generada al caer las bolas o varillas que chocan con el material que se ha de moler. Los molinos vibratorios no están limitados por la gravedad y pueden generarse fuerzas de impacto mucho mayores por la rápida vibración de una cámara de trituración accionada por un motor. Unos impactos mucho mayores y más frecuentes en el material se traducen en una molienda más rápida y más fina. Debido a la alta eficiencia de la rotura celular, el tamaño del equipo necesario para procesar una dispersión de alimentación es mucho menor que un sistema que utiliza un rotor accionado por motor.

Sorprendentemente, los grandes sistemas de molienda vibratorios destinados a la molienda por vía húmeda de material grande, irregular, en partículas sólidas, tales como minerales y menas metálicas, pueden ser modificados para moler dispersiones líquidas de microalgas microscópicas. Además, se observó con sorpresa que el uso de sistemas de molienda vibratorios con algas produjo simplemente algas rotas en vez de algas completamente desintegradas, usando un equipo que fue diseñado para moler partículas sólidas de mena. Por lo tanto, la distribución del tamaño de partículas de las microalgas rotas es suficientemente uniforme de forma que la separación adsorptiva con burbujas es un proceso efectivo para concentrar las células rotas y el contenido de la célula. Este nuevo uso de este equipo vibratorio de molienda se ha hecho posible por la modificación del equipo para acomodar medios de molienda más finos y para permitir la alimentación líquida continua y la recolección del producto líquido. La separación de la dispersión de microalgas acondicionada a partir de medios de molienda se lleva a cabo de una o más formas. Se puede utilizar una pantalla o filtro para confinar el medio en el molino de trituración (como se hace comúnmente con la molienda de sólidos) permitiendo al mismo tiempo que pase a su través el líquido de microalgas acondicionado. A diferencia de la molienda de sólidos, la gravedad específica de las partículas de microalgas es próxima a la del líquido de transporte, mientras que el medio de molienda es mucho más pesado, y por lo tanto se puede utilizar un tubo de descarga vertical o inclinado hacia arriba en el puerto de salida del molino vibratorio para permitir la sedimentación del medio y el rebose del líquido. Esta sección de descarga del molino está diseñada de forma que el flujo de líquido hacia arriba es más lento que el flujo necesario para flotar o llevarse el medio de molienda más denso. De esta manera los sólidos del medio se sedimentan de nuevo en el molino de trituración mientras que el producto de microalgas acondicionado menos denso se descarga del molino. Cualquiera o ambos de estos métodos para la separación de medio y de producto líquido pueden utilizarse con el aparato de molino vibratorio modificado descrito en el presente texto. Adicionalmente, se puede dejar que algunos o

todos los medios salgan del molino para ser separados en una o más piezas del equipo y después reciclados al lado de la alimentación del molino. Tal equipo de separación podría ser un filtro, un tanque de sedimentación, un hidrociclón, una centrífuga, y similares.

5 Los ejemplos de grandes molinos vibratorios adecuados y sus fabricantes incluyen los molinos VIBRO-ENERGY™ de Sweco, Florence, KY; los molinos VIBRA-DRUM™ de General Kinematics, Crystal Lake, IL; tecnologías vibratorias de Carrier Vibrating Equipment, Inc., Louisville, KY; y el molino vibratorio de energía cinética de Micro Grinding Systems, Little Rock, Arkansas.

10 El molino vibratorio puede orientarse bien sea verticalmente o bien horizontalmente. En un diseño horizontal típico, una o varias cámaras tubulares que contienen el medio de trituración se montan en muelles en un bastidor de soporte. Un motor con uno o varios pesos excéntricos está unido de manera que la vibración causada por la rotación del peso o los pesos se transfiere al molino y la carga de alimentación y de medio de molienda. La carga de medio de molienda puede cambiarse en tamaño o cantidad para cambiar las características de la molienda, aunque típicamente la carga podría rellenar la mitad del volumen de la cámara en el molino. Además, la velocidad del motor y la masa del peso de rotación se pueden cambiar para modificar el movimiento del molino. En una operación diseñada apropiadamente, la carga de medio de molienda gira alrededor del eje del tubo, trepando por un lado del tubo y cayendo en cascada volviendo a la parte inferior del tubo.

15 Un molino vibratorio vertical es típicamente un tambor vertical, montado sobre muelles que se activa mediante un motor y uno o varios pesos excéntricos montados en el tambor vertical. En un molino adecuadamente diseñado la carga de medio de trituración circulará de una manera vertical, hundiéndose en el centro y elevándose en el perímetro del tambor. La dispersión de alimentación podría entrar en la parte inferior, y la dispersión acondicionada puede ser extraída de la parte superior, habiendo atravesado el molino y por lo tanto la carga de medio de molienda vibratoria. Los molinos vibratorios pueden también ser diseñados con cámaras que utilizan por ejemplo configuraciones toroidales o en espiral.

20 La molienda vibratoria es muy efectiva, ya que utiliza una frecuencia armónica para hacer vibrar el molino y su carga de alimentación y medio de trituración. El movimiento del medio en un molino vibratorio es muy pequeño, de forma que un alto porcentaje de la energía se dirige al esfuerzo de molienda. Una vez que el generador de movimiento está a la velocidad de funcionamiento, la inercia de los pesos excéntricos rotatorios reduce en gran medida el consumo de potencia requerida para mantener esta velocidad. En consecuencia, se requiere un consumo de energía muy bajo por unidad de producto molido producido. Por tanto el tamaño del equipo necesario para procesar una dispersión de alimentación es mucho menor que un sistema que utiliza un impulsor rotatorio de alta velocidad. Un bajo consumo de energía es imprescindible en la producción de biomasa de microalgas para la fabricación de biocombustibles.

25 Las vibraciones en el molino vibratorio pueden ser generadas por un dispositivo de momento o eléctricamente o acústicamente. La frecuencia de vibración del molino se puede variar desde 50 ciclos por minuto hasta miles de ciclos por minuto. Alternativamente, pueden utilizarse ondas ultrasónicas para generar las vibraciones.

30 El molino vibratorio comprende una cámara llena de un medio de molienda sólido que se hace vibrar. La cámara puede ser de cualquier forma y puede estar hecha de cualquier material de construcción aceptable. Los materiales de construcción adecuados incluyen poli(cloruro de vinilo) ("PVC"), polietileno de alta densidad ("HDPE"), acero, otros metales, vidrio, cerámica, etc. Además, la cámara puede estar forrada con materiales resistentes al desgaste reemplazables tales como, pero sin limitarse a ellos, HDPE, cerámica, acero o caucho.

35 El molino vibratorio puede hacerse funcionar por tandas o de modo continuo, aunque se prefiere una operación continua. La rotura de las células es función de la probabilidad de que las células choquen con el medio de molienda, y esta es función de la cantidad y tamaño del medio de molienda y del tiempo de residencia o tiempo que las células están en el molino. Para una operación continua, el tiempo de residencia en el molino vibratorio se puede variar controlando la velocidad de alimentación al molino y el volumen de la cámara. Si se hace funcionar en modo por tandas, el tiempo de residencia es función del tiempo de funcionamiento para una tanda.

40 El medio de molienda es la sustancia a través de la cual se transmite la fuerza del molino al sustrato que se ha de moler. La energía cinética almacenada en el medio cuando se está moviendo se convierte en energía mecánica cuando alcanza al sustrato. El medio de molienda puede comprender uno o más tipos de sólidos que incluyen, pero sin limitarse a ellos, arena, sal, cuarzo, diamantes o esferas, bolas, varillas o cilindros de cualquier material tal como, pero sin limitarse a ellos, vidrio, material plástico, cerámica, granate, corindón, sílice, alúmina, circonia (incluyendo óxido de circonio fundido, silicato de circonio sinterizado, óxido de circonio de alta densidad, óxido de circonio de tierras raras estabilizado, y óxido de circonio estabilizado con itrio), titanía, carburo de tungsteno, carburo de boro, ágata, carburo de silicio, nitruro de silicio, zafiro, rubí, circonio, acero, hierro, partículas magnéticas o cualquier material que se encuentra que consigue el grado de rotura deseado. El tamaño de partícula del medio de molienda puede ser muy específico o variar sobre una distribución de tamaños. El tamaño del medio puede variar desde esferas muy pequeñas de malla 140/230 (63 - 105 micras) a bolas grandes de 30 mm. El tamaño depende de las características de las microalgas que se han de romper, y el tipo de molino utilizado. Como ejemplo, las *diatomeas* son más duras que las microalgas sin paredes celulares, y por lo tanto pueden requerir diferentes medios de

molienda. La *Dunaliella salina* tiene una membrana celular pero no tiene pared celular, por lo que es más fácil de romper. Se requiere que el medio de molienda choque con las células con energía suficiente para romperlas. Los propios medios de molienda pueden erosionarse, y por lo tanto se reducirán de tamaño, por lo que a menos que toda la carga de medio de molienda se sustituya periódicamente, habrá una gama de tamaños dentro del molino en cualquier momento dado. Una vez que el medio de molienda se haya convertido en suficientemente pequeño como para que pueda pasar a través del tamiz o para ser arrastrado por el líquido portador, fluirá con la descarga.

La rotura de células de microalgas por los métodos de molienda descritos en el presente texto produce dispersiones de microalgas acondicionadas que son especialmente aptas para la concentración por los métodos de separación adsorptiva con burbujas conocidos en la técnica. Dado que estos métodos de molienda y procesos de separación adsorptiva con burbujas se pueden realizar con altas velocidades de flujo, la invención es útil en la producción económica de biomasa de microalgas. La invención hace uso de un aparato para la separación adsorptiva con burbujas conocido generalmente como una celda de flotación.

Las patentes de EE. UU. n° 4.938.865 y 5.332.100 describen un proceso de separación adsorptiva con burbujas y un aparato (comúnmente conocido como una "celda de Jameson") en donde una alimentación de dispersión acuosa de partículas entra en la parte superior de un conducto vertical (tubo de descenso) y pasa a través de una placa de orificios para formar un chorro de líquido a alta velocidad. Un gas, normalmente aire introducido en el espacio de cabeza del tubo de descenso, se dispersa en la mezcla a medida que el chorro de líquido choca con una columna de espuma dentro del tubo de descenso. El volumen dentro del tubo de descenso se denomina zona de recogida, en la que la mayor parte de las partículas se adsorben en la superficie de las burbujas. La dispersión de gas-líquido-partículas resultante sale por la parte inferior del tubo de descenso a la zona de separación (tubería de ascenso), donde las burbujas se separan de las colas (agua y materiales no adsorbidos). En la zona de separación, la dispersión de gas-líquido-partículas tiene un tiempo de residencia suficiente para permitir la coalescencia de las burbujas diminutas con las partículas recogidas (permitir que se combinen y aumenten) y que asciendan a la superficie del líquido formando una espuma flotante rica en partículas en la zona de espuma. La espuma se recoge dejándola flotar lo que la permite flotar al exterior al perímetro del aparato y rebosar en una artesa abierta (través de recolección). En estas patentes se hacen provisiones para incorporar el lavado de la espuma en la zona de espuma mediante la introducción de un líquido sobre la espuma desde arriba creando así un flujo de líquido hacia abajo neto y lavando la ganga arrastrada (materia sólida no deseada) y las partículas no adsorbidas fuera de la espuma. Este lavado produce una espuma más pura, y por tanto una separación más selectiva. La utilidad de la celda de flotación de Jameson para la concentración de microalgas se describió en las patentes de EE. UU. n° 5.776.349 y 5.951.875. En esta técnica anterior las dispersiones de microalgas se rompieron mediante el empleo de bombas de alta presión.

En las celdas de flotación en columna tales como MICROCEL™, patentes de EE. UU. n° 4.981.582 y 5.167.798, la celda de columna Deister, patente de EE.UU. n° 5.078.921, y en la columna de flotación de flujo en lazo en etapas múltiples (MSTLFLO), patente de EE. UU. n° 5.897.772, las zonas de recolección, de separación y de espuma y lavado de la espuma se combinan en un tanque cilíndrico alto, que es menos eficaz y de construcción más costosa. En estas celdas de flotación en columna, la espuma de la parte superior de la columna rebosa a un canalizo exterior que rodea la columna.

Las celdas mecánicas de flotación emplean normalmente un mecanismo de rotor y estator para la inducción de gas, generación de burbujas, y circulación de líquido proporcionando así la burbuja y la colisión de partículas. La relación de altura a diámetro del depósito, denominada "relación de aspecto", varía por lo general de aproximadamente 0,7 a 2. Generalmente, están dispuestas en serie cuatro o más células cada una de las cuales tiene un mecanismo de rotor y estator montado en el centro. La dispersión de líquido y partículas se alimenta en la celda y el aire es aspirado en ella por medio de un agitador de eje hueco. La corriente de aire se rompe por el impulsor de rotación, de modo que se emiten pequeñas burbujas desde el extremo de las palas del impulsor. También puede utilizarse una soplante auxiliar para proporcionar un flujo de gas suficiente a la celda. Las burbujas en ascenso junto con partículas unidas forman una capa de espuma en la parte superior de la superficie del líquido. La capa de espuma rebosa o se retira mecánicamente de la parte superior. Los componentes que no estaban a flote se retiran de la parte inferior de la celda. Las celdas de flotación mecánicas se utilizan a menudo en sistemas de procesamiento de mineral, no obstante tienen la desventaja de los grandes requerimientos de espacio y del elevado consumo de energía.

Por ejemplo, las patentes de EE. UU. n° 4.425.232 y 4.800.017 describen la separación por flotación mecánica utilizando una celda de flotación provista de un conjunto de rotor-estator sumergido en una suspensión y en el que las palas del rotor agitan la suspensión mezclando intensamente los sólidos y el líquido, e introduciendo aire en la mezcla para la aireación y la generación de espuma en la superficie del líquido. Las partículas de minerales se adhieren a las burbujas de aire portadoras que flotan de forma natural y forman la espuma, siendo este el mecanismo eficaz para la recuperación de mineral. La espuma flotante se retira de la parte superior de la suspensión junto con las partículas de mineral añadidas, que se recuperan a medida que la espuma se colapsa y se deshidrata.

Los procesos que se acaban de describir son aplicables a la acuicultura de microalgas, así como a las floraciones de algas de origen natural que pueden ocurrir en océanos, lagos u otros cursos de agua. Los ejemplos de las floraciones de algas que se presentan en el océano incluyen, pero sin limitarse a ellos, las microalgas que producen la marea roja.

Los procesos para el acondicionamiento y la concentración de microalgas se describen con más detalle con ayuda de los siguientes Ejemplos ilustrativos.

Ejemplos

Ejemplo 1: Rotura continua de microalgas usando un molino vibratorio.

5 Se llevaron a cabo una serie de pruebas con ambos tipos de molino vibratorio, horizontal y vertical. Los molinos fueron construidos de tubo de PVC de 1,27 cm, 1,90 cm y 2,54 cm. Las longitudes variaron de 30,48 cm a 45,72 cm para variar los tiempos de residencia. Se utilizó una bomba de engranajes de velocidad variable, para alimentar el molino con dispersiones acuosas de microalgas. Las velocidades de alimentación variaron de 100 mL por minuto a 300 mL por minuto para variar así los tiempos de residencia. La especie de microalgas utilizada fue *Dunaliella salina*,
 10 y la población de la alimentación varió de 110.000 a 240.000 células por mL. La configuración horizontal fue similar a la FIG. 2 y la FIG. 3. La velocidad del motor de 1/40 caballos de fuerza que acciona el peso excéntrico se podía variar entre 200 RPM y 5000 RPM. Los pesos excéntricos se variaron de 20 gramos a 70 gramos. La arena de sílice de grano 30 fue utilizada como medio de molienda.

15 La dispersión de alimentación entra por un extremo del tubo y, a medida que se desplaza por la longitud del tubo, es sometida a la carga de vibración y al mezclado del movimiento en cascada. La dispersión de entrada procesada sale por el otro extremo del tubo. Como ejemplo de la eficiencia, un tiempo de residencia de 30 segundos con una frecuencia de vibración de 5.000 ciclos por minuto da como resultado 2.500 impactos para cada partícula de medio de molienda contenido en el molino.

20 Se obtuvieron los recuentos de células de microalgas usando un hemacitómetro y un microscopio en la alimentación al tubo y la descarga del tubo. En esta serie de pruebas, la rotura de las células varió de 11% a 43% en un solo paso. Los tiempos de residencia dentro de los tubos varió de 7,5 segundos a 54 segundos. Aunque había numerosas variables posibles, la velocidad de alimentación y el diámetro del molino fueron los de mayor influencia en el cambio de la tasa de rotura de las microalgas. Estos resultados (Tabla 1) indican que un molino vibratorio de bolas funcionando a tiempos de residencia optimizados puede lograr la eficiencia de rotura celular deseada. La dispersión de microalgas rotas se concentró de manera efectiva mediante la separación adsorptiva con burbujas en una celda de flotación por espuma.
 25

Tabla 1.

Nº de prueba	Configuración del molino	Veloc. de alim. (mL/min)	Volumen del molino (cm ³)	RPM	Tiempo de residencia (s)	Rotura de células
1	Horiz.	300	140	5.000	18,1	11%
2	Horiz.	220	309	5.000	54,8	13%
3	Horiz.	200	245	5.000	47,7	14%
4	Horiz.	300	57	5.000	7,5	33%
5	Horiz.	200	245	5.000	47,7	43%
6	Horiz.	175	38	5.000	8,5	26%
7	Vert.	170	175	5.000	18,5	36%
8	Vert.	120	100	5.000	15,0	11%

Ejemplo 2: Rotura continua de microalgas usando un molino de esferas agitado. (Comparativo)

30 Se construyó un molino utilizando el diseño de rotor - estator de la FIG. 5 usando catorce discos de polipropileno de 18 cm de diámetro y 0,95 cm de espesor. Los discos fueron espaciados en el rotor a intervalos de 3,8 cm. La cámara del molino fue construida a partir de tubo de PVC Schedule-40 de 20 cm de diámetro interior, con una longitud de acabado de 102 cm. La cámara de molienda se cargó con 4,5 kg de medio de molienda (esferas de vidrio nº 6, malla 50/70, 210 - 297 micras) que le dan un volumen de líquido efectivo de 9,2 litros. Los discos se hicieron girar mediante un motor eléctrico a 200 RPM. La especie de microalgas utilizada fue *Dunaliella salina*, y la población de la alimentación varió de 460.000 a 650.000 células por mL. Los resultados (Tabla 2) indican que un molino de esferas agitado que funciona a tiempos de residencia optimizados puede conseguir el grado deseado de rotura celular necesaria para la separación adsorptiva con burbujas.
 35

Tabla 2

Número de prueba	Veloc. de alim. (mL/s)	Tiempo de residencia (min)	Rotura de células
1	74	2,1	55%
2	128	1,2	49%
3	202	0,76	11%

Ejemplo 3: Molienda por tandas de microalgas usando un molino de esferas vibratorio.

5 Este ejemplo muestra el efecto del tamaño de las esferas en la molienda de microalgas con molino de esferas vibratorio. A un tubo de ensayo de material plástico de 15 mL se añadieron 3 mL de esferas de vidrio con 6 mL de cultivo acuoso salino de microalgas *Dunaliella salina*. El recuento inicial de células para el cultivo fue de 1.540.000 de células por mL. El tubo se tapó y se hizo vibrar en un mezclador de vórtice en el ajuste alto durante un determinado período de tiempo, y entonces se tomó un recuento de células para evaluar la rotura celular. Los resultados del recuento de células frente al tiempo se resumen en la Tabla 3. No se produjo rotura de células en ausencia de esferas. Los datos sobre los tamaños de las esferas se dan en la Tabla 4. Este ejemplo muestra la ventaja de utilizar esferas más pequeñas para obtener una molienda de las microalgas más rápida bajo estas condiciones.

Tabla 3

Tiempo (min)	Esfera nº 5	Esfera nº 6	Esfera nº 8	Esfera nº 10	Esfera nº 12
0,0	1.540.000	1.540.000	1.540.000	1.540.000	1.540.000
0,5	1.010.000	950.000	730.000	270.000	250.000
1,0	700.000	520.000	390.000	20.000	70.000
1,5	310.000	400.000	250.000	10.000	0
2,0	170.000	120.000	80.000	0	0
2,5	160.000	140.000	70.000	0	0
3,5	40.000	20.000	0	0	0

15 Tabla 4

Esfera nº	Malla	Tamaño	Micras	Milímetros	Pulgadas
5	40/50	Grande	297 - 420	0,297 - 0,420	0,0117 - 0,0165
6	50/70	Medio	210 - 297	0,210 - 0,297	0,0083 - 0,0117
8	70/100	Medio	149 - 210	0,149 - 0,210	0,0059 - 0,0083
10	100/170	Fino	88 - 149	0,088 - 0,149	0,0035 - 0,0059
12	149/230	Extra fino	63 - 105	0,063 - 0,105	0,0025 - 0,041

Ejemplo 4: Molienda por tandas de microalgas usando un molino vibratorio.

20 Este ejemplo muestra la utilidad del molino vibro-energía de baja amplitud SWECO M 18/5 de cámara múltiple, que utiliza un generador de movimiento de ¼ de HP y ángulo de avance de 30 grados. A una cámara de 473 mL se añadieron 910 gramos de esferas de vidrio secas y la cantidad especificada de cultivo acuoso salino de microalgas *Dunaliella salina*. Los resultados del recuento de células frente al tiempo se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5

Tiempo (min)	Esfera nº 5 cultivo 276 g	Esfera nº 8 cultivo 292 g	Esfera nº 12 cultivo 347 g
0	200.000	168.000	198.000
0,5	110.000	110.000	190.000
1,0	89.000	71.000	163.000
1,5	40.000	35.000	
2,0			89.000
2,5	35.000	38.000	
3,0			78.000
3,5	26.000	23.000	
4,0			30.000

Ejemplo 5: Flotación con espuma de la dispersión de microalgas acondicionada.

5 Una salmuera que contiene una dispersión de 0,02% de *Dunaliella salina* se procesó en un molino de esferas agitado como se describe en el Ejemplo 2 para romper las células y después se trataron en una celda de flotación de Jameson. La celda de Jameson tenía una relación de diámetro de tubo de descenso a diámetro del orificio de 8,6 y una relación de diámetro de la celda global al diámetro del tubo de descenso de 5. La Jg de la celda era 0,44 cm/s. La velocidad del chorro era 21,5 m/s. La velocidad superficial del tubo de descenso era de 0,20 m/s y el tiempo de residencia del descenso era 15,1 s. La relación de aire a alimentación era 0,52. La fracción de productos de células de algas en la espuma era 0,4% sobre una base libre de gas.

10 La espuma generada durante el experimento se recolectó y se volvió a procesar en la misma celda de Jameson para concentrar aún más los materiales hidrófobos. El Jg de la célula era 0,29 cm/s. La velocidad del chorro era de 11,9 m/s. La velocidad superficial en el tubo de descenso era 0,14 m/s y el tiempo de residencia en el tubo de descenso era 21,7 s. La relación de aire a alimentación era 0,49. La fracción de productos de células de algas en la espuma fue el 8,3% sobre una base libre de gas.

Ejemplo 6: Molienda continua de microalgas usando un molino vibratorio.

20 Este ejemplo muestra la utilidad del diseño del molino VibroKinetic Energy Grinding Mill de Micro Grinding Systems. La prueba se realizó en un molino de laboratorio Modelo 624 con una cámara de molienda de acero inoxidable, tubular, de 15,2 cm por 66 cm, que usa un motor vibratorio de 5/8 HP operando a un 60% de potencia. La frecuencia vibracional era 1.750 RPM y la amplitud orbital era 4,8 mm, dando como resultado una fuerza de molienda de 586 kg. A la cámara de molienda de 12 litros se añadió la cantidad especificada de medio de molienda (varillas de acero, esferas de vidrio, arena o cilindros de circonia). Aproximadamente 9 litros de cultivo salino de microalgas *Dunaliella salina* se bombearon en la parte superior de un extremo del molino de vibración a una velocidad de 900 mL/min y se dejaron salir a través de un tamiz desde la parte inferior del extremo opuesto por gravedad. Se tomaron muestras representativas del material de alimentación y el producto de molienda combinado. La alimentación se pasó a través del molino un total de tres veces. El recuento de células de microalgas frente a los pases a través del molino se resume en la Tabla 6. Este ejemplo muestra la eficacia de un molino vibratorio de baja energía para la rotura de las células de microalgas consiguiendo por ejemplo un 95% de rotura de células en tres pases usando medio de molienda de esferas de vidrio esmerilado.

30 Tabla 6

Pases por el molino	Varillas de acero (45,4 kg)	Esferas de vidrio malla 20/30 (13,6 kg)	Arena, malla 20 (12,26 kg)	Circonia, cilindros de 6,35 mm (25 kg)
0 (alimentación)	1.250.000	860.000	759.000	880.000
1	520.000	200.000	250.000	540.000
2	250.000	70.000	105.000	460.000
3	150.000	40.000	10.000	330.000

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento continuo para recuperar y concentrar componentes valiosos de las microalgas, comprendiendo el procedimiento:
 - a. obtener microalgas de una fuente de las mismas,
- 5 b. romper las microalgas mediante agitación en presencia de partículas sólidas para dar una suspensión de microalgas acondicionadas, y
- c. tratar la suspensión de microalgas acondicionadas resultante con un procedimiento de separación adsortiva con burbujas para formar una corriente rica en biomasa de algas y una corriente empobrecida en biomasa de algas,
10 en donde la rotura de las algas comprende poner en contacto íntimamente las microalgas y las partículas sólidas mediante vibración.
2. El procedimiento continuo según la reivindicación 1ª, en el que la suspensión de microalgas acondicionada se trata mediante flotación por espuma.
3. El procedimiento continuo según la reivindicación 2ª, en el que la flotación por espuma se realiza en una celda de Jameson.
- 15 4. El procedimiento continuo según la reivindicación 1ª, que comprende además, después de (b) pero antes de (c), separar las partículas sólidas para producir una suspensión de microalgas acondicionada.
5. El procedimiento continuo según la reivindicación 4ª, en el que la suspensión de microalgas acondicionada se trata mediante flotación por espuma.
6. El procedimiento continuo según la reivindicación 5ª, en el que la flotación por espuma se realiza en una celda de Jameson.
- 20 7. El procedimiento continuo según la reivindicación 1ª, en el que las microalgas son *Dunaliella*.
8. El procedimiento continuo según la reivindicación 1ª, en el que la rotura de las microalgas ocurre en un molino vibratorio.
9. El procedimiento continuo según la reivindicación 1ª o 4ª, en el que las microalgas entran en el proceso a una velocidad superior a 1.850 litros por minuto de dispersión de microalgas.
- 25

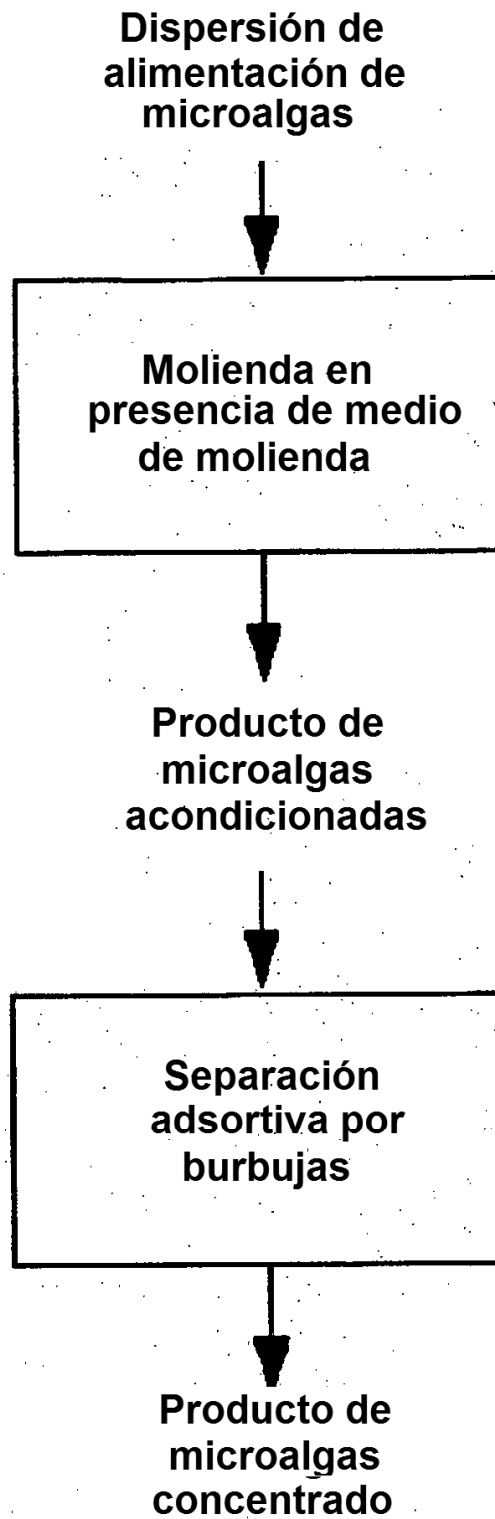


FIG. 1

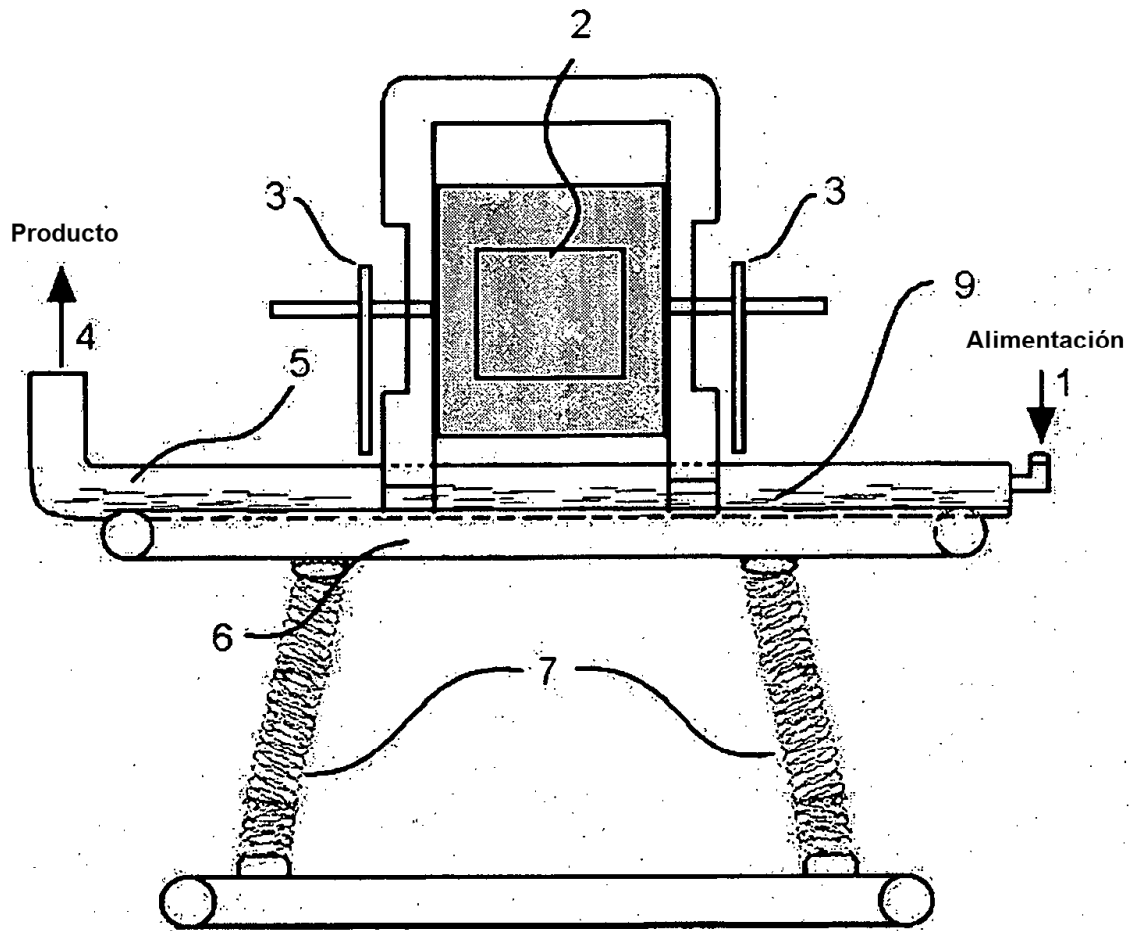


FIG. 2

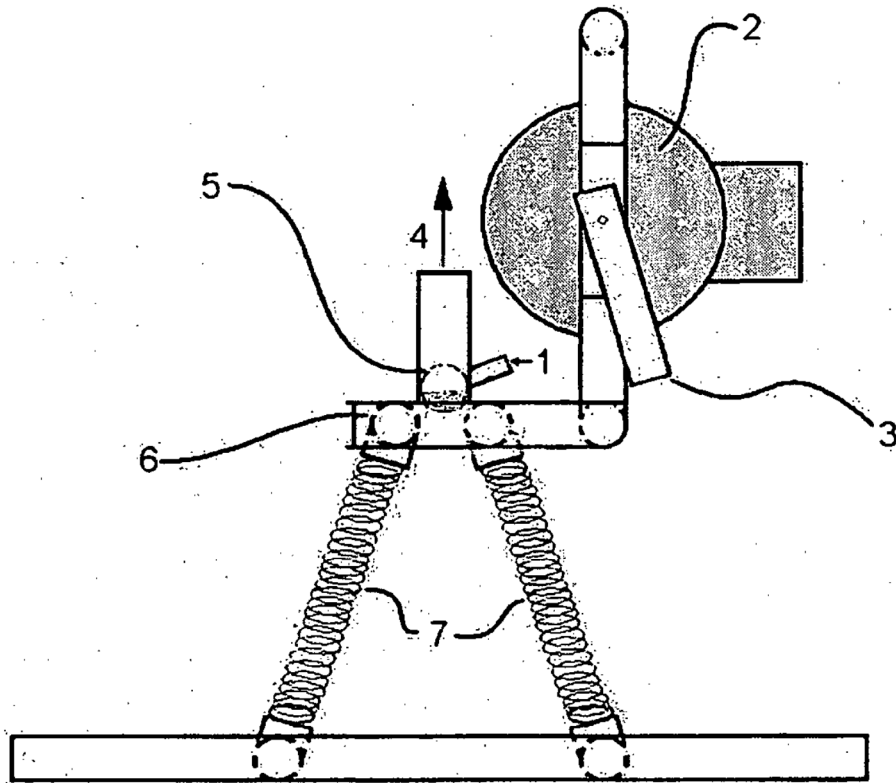


FIG. 3

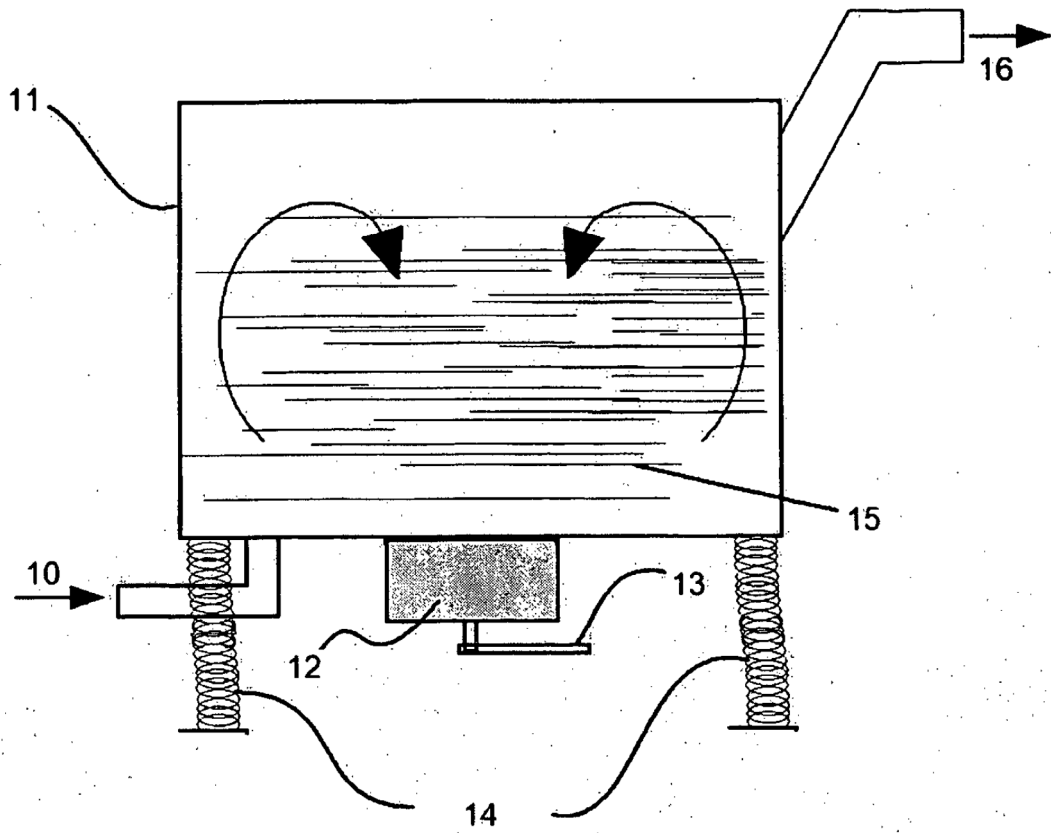


FIG. 4

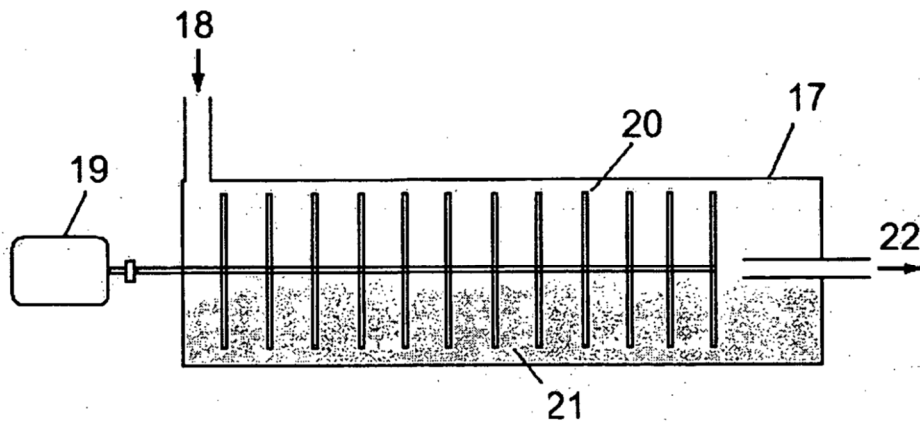


FIG. 5