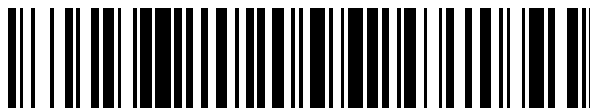


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 843**

21 Número de solicitud: 201500918

51 Int. Cl.:

G05D 21/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

21.12.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

22.06.2017

Fecha de concesión:

26.12.2017

45 Fecha de publicación de la concesión:

03.01.2018

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE CÁDIZ (100.0%)
C/ Ancha, 16
11001 Cádiz (Cádiz) ES**

72 Inventor/es:

**BORRERO SANTIAGO, Ana Rocío ;
RIBA LÓPEZ , Inmaculada y
DEL VALLS CASILLAS , Tomás Ángel**

54 Título: **Mejoras en sistema de inyección de CO₂ para estudios ecotoxicológicos, adaptación para su empleo con microorganismos**

57 Resumen:

Adición a la patente ES2438090, "Sistema de inyección de CO₂ para estudios ecotoxicológicos", adaptación para su empleo con microorganismos.

La finalidad es realizar ensayos microbiológicos relacionados con la toxicidad del dióxido de carbono debido a posibles fugas en el medio marino procedentes de zonas de almacenaje en técnica CCS (Carbon Capture and Storage) para su posterior evaluación de riesgos ambientales asociados a esta metodología y seguimiento de la implantación de la técnica usando los microorganismos del bentos como herramienta (monitoring).

Este modelo de integración de cámara aislante y sistema de inyección de CO₂ está diseñado para mantener controlada la temperatura durante los ensayos por medio de un climatizador y garantizar un ambiente aséptico, tanto del propio equipo de inyección de CO₂ introduciendo material autoclavables y filtros, como el uso de calzado y bata específicos para trabajar dentro.

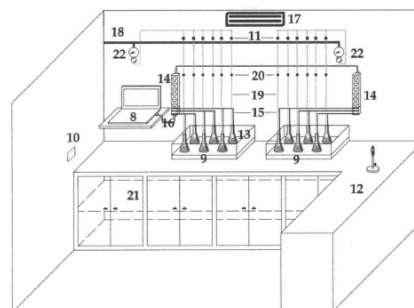


Fig. 3

ES 2 618 843 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP 11/1986.

DESCRIPCIÓN

ADICIÓN A LA PATENTE ES2438090, “SISTEMA DE INYECCIÓN DE CO₂ PARA ESTUDIOS ECOTOXICOLÓGICOS”, ADAPTACIÓN PARA SU EMPLEO CON MICROORGANISMOS.

5 SECTOR DE LA TÉCNICA

Realización de ensayos microbiológicos relacionados con la toxicidad del dióxido de carbono debido a posibles fugas en el medio marino procedentes de zonas de almacenaje en técnica CCS (Carbon Capture and Storage) para su posterior evaluación de riesgos ambientales asociados a esta metodología y seguimiento de
 10 la implantación de la técnica.

GENERALIDADES

Las actividades de origen antropogénico, especialmente las derivadas de la utilización de combustibles fósiles, están provocando que la concentración de CO₂
 15 en la atmósfera se incremente significativamente, contribuyendo al cambio climático del planeta, y, consecuentemente, al calentamiento del mismo. Estas emisiones de gas invernadero provocan de manera directa o indirecta, efectos negativos en el medio ambiente; y en algunos casos impactos sin precedentes (*Bruant, R., Guswa, A., Celia, M., Peters, C., (2002) Safe storage of CO₂ in deep*
 20 *saline aquifers. Environ Sci Technol, 36,11, 240-245A*). Por tanto, existe la urgente necesidad de reducir las emisiones de gas invernadero para mitigar el cambio climático y, en consecuencia, preservar la salud de nuestro planeta y sus recursos naturales. Este hecho ha influido en la toma de decisiones relacionadas con las estrategias globales de la reducción de gases invernadero a nivel
 25 planetario. La estabilización y reducción de emisiones de CO₂ va acompañada de una gran visión socioeconómica donde el objetivo común es la optimización del uso y del desarrollo de nuevas energías libres de emisiones de gases invernadero; y que de manera paralela el conjunto de la sociedad no vea afectado su estado de bienestar. En definitiva, las estrategias adoptadas deberán estar combinadas de

una forma adecuada donde la voluntad política, investigación y cooperación internacional son claves en este sentido.

- En este contexto, se han estudiado diversas opciones para poder reducir considerablemente las concentraciones de CO₂ en la atmósfera, sin embargo la
- 5 comunidad científica considera que la captura y almacenaje de CO₂ en formaciones geológicas estables subterráneas (CCS), que albergaron en su momento petróleo o gas, es una de las técnicas más viables (IPPC (2013) *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on*
- 10 *Climate Change. Intergov. Panel Clim. Chang. Work. Gr. I Contrib. to IPCC Fifth Assess. Rep. (AR5)*(Cambridge Univ Press. New York) 1535; DOE, (2010), *DOE/NETL Advanced Carbon Dioxide Capture R&D Program: Technology Update. US DOE, 257, Rubin E., (2010), The outlook for advanced CCS technology. CAPD Energy Systems Initiative Seminar. CMU. Pittsburgh. USA).*
- 15 De hecho muchos países ya se han interesado en estas tecnologías de captación y almacenamiento de carbono, donde algunos proyectos han sido propuestos y otros en funcionamiento. En España, también se han propuesto concretamente once áreas diferentes para este tipo de técnica (BOE, (2008) *Resolución de 28 de noviembre de 2007, de la Dirección General de Política Energética y Minas, del*
- 20 *Ministerio de Industria, Turismo y Comercio por la que se publica la inscripción de propuesta de reserva provisional a favor del Estado para recursos de la sección B), estructuras subterráneas susceptibles de ser un efectivo almacenamiento de dióxido de carbono en diversas áreas (10 Almacenes).* BOE 34 de 8 febrero 2008, pp. 7099-7102). A pesar de que el uso de este tipo de
- 25 tecnologías haya obtenido el respaldo y el consenso de la comunidad científica acerca de su potencial económico, social y ambiental; es considerado como un proceso complejo en su globalidad con un alto grado de incertidumbre y con posibles riesgos asociados (Damen, K., Faaij, A., & Turkenburg, W. (2006). *Health, safety and environmental risks of underground CO₂ storage—overview of*
- 30 *mechanisms and current knowledge. Climatic Change, 74(1-3), 289-318).* Uno de los riesgos asociados a esta nueva técnica es el posible escape de CO₂ desde la

- zona de almacenaje. El 80% de las localizaciones de CCS están ubicadas en plataformas marinas. Y en caso de fuga provocaría una reducción del pH asociado al aumento de la concentración de CO₂. Y por consiguiente, cambios fisico-químicos del medio que repercutirá de manera muy directa en el ecosistema y en los organismos de la zona. Dichos organismos podrían quedar expuestos a cambios bruscos donde la estabilidad socioeconómica de recursos naturales pesqueros y/o marítimos podría verse comprometida.

ESTADO DE LA TÉCNICA

- La evaluación de riesgos asociados a la toxicidad del CO₂ debido a las fugas se ha llevado a cabo en los últimos años utilizando diversas metodologías y técnicas. De manera general los ensayos de toxicidad se dividen en dos categorías: estudios con el uso de microcosmos/mesocosmos bajo condiciones controladas de laboratorio o in situ. Trabajar in situ requiere mucho tiempo de preparación de material, altos conocimientos técnicos y, sobretudo un enorme esfuerzo económico, ya sea por parte de las administraciones públicas como por parte de los propios institutos de investigación, y por tanto en muchos casos son imposibles de abordar. Sin embargo, trabajar con mesocosmos/microcosmos permite obtener resultados muy fiables de bajo coste económico aunque sean a una escala menor. Esta estrategia es valorada por la “Guide to best practices for ocean acidification research and data reporting of the European Commission” (Riebesell, U., Fabry, V.J., Hansson, L., Gattuso, J.-P., (2010) Guide to Best Practices in Ocean Acidification Research and Data Reporting, Report of international research workshop on best practices for ocean acidification research (19-21 November 2008 in Kiel, Germany). doi:10.2777/58454) donde a su vez indica buenos resultados utilizando un equipo de inyección de CO₂. Hoy día, el grupo de Contaminación de Ecosistemas del Departamento de Química Física de la Facultad de Ciencias del Mar de Puerto Real (Cádiz) ha desarrollado un sistema que simula el escape de CO₂ el cual utiliza macrofauna (mejillones, poliquetos, larvas de peces, almejas, anfípodos, microalgas, cangrejos, etc) como herramienta

para evaluar la toxicidad del dióxido de carbono y posibles riesgos asociados a la movilidad de metales (Patente Concedida, Ref: ES2438090) utilizando mesocosmos/microcosmos. Sin embargo, hasta ahora no se había desarrollado una nueva estrategia donde los microorganismos del sedimento sirvieran como
 5 herramienta de evaluación y/o monitoring una vez implantada la técnica de CCS.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

A diferencia del uso de macrofauna, los cambios en las comunidades de los microorganismos ante un episodio de escape de CO₂ se hacen de manera más
 10 rápida debido a sus características genéticas y adaptativas, por lo que permite obtener de manera rápida resultados fidedignos que resulten de bajo coste económico y que permite realizar una evaluación precisa.

Por tanto, en base a la patente con Ref (ES2438090), para poder llevar a cabo ensayos de toxicidad con microorganismos se han introducido novedades tales
 15 como una cámara aislante con climatizador que permite, no sólo que mantenga la temperatura constante deseada, si no poder garantizar condiciones de esterilidad con fácil acceso para la recogida diaria de muestras. También se han incorporado filtros de 0.2 µm de poro en cada salida de las dos tuberías provenientes de los manómetros que direcciona el gas hacia los acuarios. Esto minimiza aún más los
 20 posibles errores en los datos finales provocados por polvo, otros microorganismos o agentes externos retenidos en el tubo que transporta el CO₂ desde la botella hasta los acuarios. El 80% del material del equipo se puede esterilizar en autoclave o en estufa a 80°C durante el tiempo necesario. También se ha incorporado válvulas FBS en cada inyector hacia al acuario que actúan como
 25 regulador de flujo de CO₂ y así poder manipular mejor el burbujeo en los acuarios ya que en función del objetivo se usarán volúmenes muy pequeños y así se evitan turbulencias excesivas que afecten a los resultados finales por rotura de células etc. Además, se ha incorporado agitadores con termostato para que las células bacterianas o microalgas que necesiten luz reciban la misma cantidad. A
 30 diferencia del otro equipo para ensayos con microalgas la agitación debe ser de

- manera manual pudiendo no llegar la luz a todas las células del cultivo, pudiendo ser éste un factor limitante en el crecimiento, y por tanto afectando a los resultados finales. El termostato asociado al agitador podrá ser utilizado en caso de que se pretenda mantener una temperatura dentro del acuario distinta a la de la
- 5 cámara. Por otro lado, se han incorporado válvulas anti retorno para que no interfiera agua de los cultivos en el sistema de inyección por capilaridad y pueda afectar o estropear las válvulas solenoides. Y por último, se ha añadido un temporizador en la cámara que simule ciclos de día-noche para estudiar las variaciones solares.
- 10 En definitiva, la estrategia de integrar el sistema de CO₂ en la cámara climatizada de ambiente aséptico posee una versatilidad en su uso que, no sólo permitiría realizar ensayos microbiológicos relacionados con fugas de CO₂, si no también experimentos asociados a los riesgos de acidificación oceánica en la columna de
- 15 agua debido a intercambios atmósfera-océano de dióxido de carbono. Incluso las características de la cámara permite la realización de ensayos de toxicidad con microorganismos de carácter general ya que la cámara está caracterizada por una zona de trabajo bajo ambiente estéril.

DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO DE LAS FIGURAS

- 20 La **figura 1** corresponde con las dimensiones 350X150x240 cm y vista desde un lateral. Comprende con los siguientes elementos:
1. Botellas de CO₂
 2. Puerta de acceso a la cámara con cristalera y llave
 3. Ventanal
 - 25 4. Cableado del climatizador hacia el interior de la cámara
 5. Central semiautomática de suministro de CO₂

La **figura 2** corresponde con la cámara vista desde fuera donde se pueden ver los siguientes elementos:

- 6. Ubicación del climatizador dentro de la cámara
- 7. Botella de gas para el mechero bunsen. Podría estar ubicada interior de la cámara.

5

Y en la **figura 3** quedan representados todos los elementos dentro de la cámara climatizada:

- 8. Ordenador con software instalado donde se controla el pH deseado.
- 9. Baño termostatzado-agitador.
- 10 10. Sensor de escape de CO₂ en caso de que haya un escape excesivo.
- 11. Válvulas solenoides
- 12. Mesa de tratamiento de muestras provista con mechero bunsen.
- 13. Erlenmeyer con función de acuario.
- 14. Regleta alargadera de enchufes y conexiones USB donde van conectados los
- 15 sensores de pH y válvulas solenoides.
- 15. Sensores de pH.
- 16. Controlador electrónico de pH. Conecta el ordenador con el equipo de inyección.
- 17. Emisor de la luz fluorescente con posibilidad de regulación para simulación de
- 20 ciclos día-noche.
- 18. Tubería que distribuye el gas puro.
- 19. Tubos de silicona que sirven de inyectores de CO₂ en los acuarios. Autoclavables.
- 20. Válvulas FBS reguladoras de flujo de CO₂.
- 25 21. Armarios con puertas donde guardar reactivos y mantener todo el material limpio y estéril sin necesidad de salir de la cámara.

22. Manómetros que regulan la presión de salida del CO₂. A la salida de cada manómetro están ubicados los filtros

MODO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

5 El tamaño de la invención puede venir condicionado por las características del lugar donde lo queramos ubicar, por la cantidad de acuarios y tratamientos que queramos testar. (Figura 1, 2 y 3).

Este sistema de inyección está controlado por un software conectado a un ordenador (Figura 3, 8), el cual controla la adicción del gas. El equipo consta de
 10 sensores de pH (figura 3, 15) y válvulas solenoides (figura 3, 11) independientes para cada acuario conectadas al software (figura 3, 16). Los rangos ácidos pueden ir desde valores de 8 hasta valores de 5.0 simulando los escenarios más extremos posibles. Con la ayuda del software, se inyectará CO₂ o no, por medio de la apertura o cierre de dichas válvulas solenoides. Por medio de las válvulas FBS
 15 (Figura 3, 20) el flujo podrá ser regulado en función de las necesidades de burbujeo. Cuando los sensores de pH detecten un pH más alto del elegido en el software se dará la orden al equipo para que de manera automática se abran las válvulas solenoides y deje pasar el gas.

Este tipo de ensayos se realizan con el uso de cultivos cerrados que otorga mayor
 20 independencia al técnico y/o investigador responsable del experimento pudiendo dedicarse de manera completa a la recogida diaria y tratamiento de datos, ya que no necesita control nutricional una vez planteado el ensayo. Además, para estudios a nivel de población, trabajar con cultivos cerrados consigue de manera natural alcanzar la fase exponencial del crecimiento, pudiendo así obtener datos
 25 como la velocidad de crecimiento (μ), n° máximo de células, concentración de exopolisacáridos disueltos, el ratio de inhibición (RI_{CO2}) derivado por la exposición de CO₂ y la proporción de población inhibida, que con equipos de otras características donde se utilizan cultivos semicontinuos no se conseguirían. El tamaño de los acuarios vendrá determinado por nuestro objetivo y del volumen
 30 de muestra que tengamos que analizar.

En función de los objetivos que nos planteemos se podrán utilizar dos rutas de exposición diferentes:

51. Inyección de CO₂ en agua de mar: el CO₂ puro será inyectado directamente en el agua que se desea analizar con el objetivo de evaluar el efecto directo de los cambios de pH provocados por los escapes de CO₂ tanto a nivel población, comunidades y /o simbiosis entre microorganismos. Esta ruta no sólo serviría para evaluación de riesgos en fugas de CO₂ si no que se podría utilizar para efectos de acidificación oceánica en la columna de agua.

Ejemplo 1: evaluación de efectos en las comunidades de microorganismos de la columna de agua debido a cambios de pH por intercambio de CO₂ atmósfera-oceano.

- En este tipo de ensayos se evalúa la respuesta del conjunto de microorganismos propios de la muestra de la columna de agua. Para simular diferentes condiciones, el baño termostatzado se programa para imitar temperaturas del océano (dentro del acuario) y el climatizador de la cámara se programa para obtener escenarios de temperatura de la atmosfera (temperatura dentro de la cámara). Esta estrategia de cambios de temperaturas permite simular tantos escenarios de cambio climático como se deseen. El agitador asociado al baño con el termostato permite movimiento de la masa de agua para evitar sedimentación de las células e imitar el movimiento que pueda existir en la columna de agua debido a las mareas y oleaje. La integración del equipo con la cámara, además, permite el procesado de muestras casi en el momento de coger la muestra de agua evitando así contaminaciones y/o cambios bruscos de temperatura. La comunidad de la columna de agua se estudiará con técnicas de identificación de grupos de especies lo que aportará información de cómo cambia la comunidad en función de los distintos tratamientos de pH, junto con datos físico-químicos relevantes. Los resultados se comparan con aquellos acuarios que no han tenido inyección de CO₂.

Ejemplo 2: *evaluación de respuestas de una determinada población de microorganismos ya sean bacterias, virus o microalgas debido a cambios de pH por intercambio de CO₂ atmósfera-océano y/o fugas de CO₂*

En este caso, se estudia los efectos en una población determinada ya sea característica del sedimento (para estudios de fugas de CO₂) o de la columna de agua (intercambio atmósfera- océano). Una vez que se elige la población que se quiere estudiar (por ejemplo: una especie en concreto típica del sedimento, o una especie típica de la columna de agua), se inocula una concentración celular conocida en agua o medio de cultivo filtrada por un poro de 0.2 µm y autoclavada para evitar cualquier contaminación y se someten a los distintas concentraciones de CO₂ que se deseen testar. En este tipo de ensayo se obtendrán resultados sobre periodos de aclimatación, ratios de crecimiento, efectos inhibitorios de CO₂, número máximo de células, etc, que aportarán información de cómo una población de una especie en concreto se ve afectada por distintas concentraciones de CO₂. Los resultados también se comparan con los obtenidos en los acuarios donde no haya inyección de CO₂.

Inyección de CO₂ a través de sedimento: se utilizará cuando el objetivo sea estudiar de manera integrada el efecto que podría existir en la comunidad microbiológica (bacterias, virus y microalgas bentónicas) cuando el sedimento en cuestión esté bajo análisis y existe una acidificación de éste debido al escape de CO₂.

Ejemplo: los tubos de silicona estériles con pequeñas aperturas se colocan en forma de espiral en el suelo del acuario, se colocará el sedimento bajo estudio encima una vez tamizado y después agua de mar limpia y estéril para que ésta no interfiera con la propia comunidad autóctona del sedimento. Una vez que los acuarios estén preparados y colocados, se someterán a las distintas concentraciones de CO₂ que se quieran estudiar. La comunidad del sedimento se estudiará con técnicas de identificación de grupos de especies que junto con datos físico-químicos (flujos de nutrientes, alcalinidades, etc.) aportará información de cómo cambia la comunidad en función de los distintos tratamientos de pH comparando los resultados de aquellos acuarios que no han sido inyectados con

CO₂. Datos físico-químicos (flujos de nutrientes, contaminantes, materia orgánica, etc.) servirán de apoyo para una evaluación completa de los resultados.

APLICACIÓN INDUSTRIAL

- 5 Los datos resultantes a partir de esta invención serán susceptibles de aplicación en la toma de decisiones de las instituciones legales que trabajan en el marco del cambio climático y su mitigación conociendo de manera fiable los efectos potenciales que podrían suceder a corto-medio debido a un escape de CO₂ utilizando los microorganismos del bentos como herramienta de evaluación con
- 10 resultados rápidos y fiables. En caso de una implantación de la técnica de inyección en estructuras geológicamente estables en el subsuelo marino, esta invención permitirá un control o *monitoring* usando las comunidades de microorganismos del bentos como herramienta para diagnosticar posibles fugas de CO₂

15

REIVINDICACIONES

1. Adición a la patente ES2438090, "Sistema de inyección de CO₂ para estudios ecotoxicológicos", adaptación para su empleo con microorganismos, que además de los componentes básicos del sistema comprende:
 - Una cámara aislante con climatizador que permite, no sólo que mantenga la temperatura constante deseada, si no poder garantizar condiciones de esterilidad con fácil acceso para la recogida diaria de muestras.
 - Filtros de 0.2 µm de poro en cada salida de las dos tuberías provenientes de los manómetros que direcciona el gas hacia los acuarios.
 - Válvulas FBS en cada inyector hacia al acuario, que actúan como regulador de flujo de CO₂, para mejorar el burbujeo en los acuarios.
 - Agitadores con termostato para que las células bacterianas o microalgas que necesiten luz reciban la misma cantidad y poder establecer una temperatura dentro del acuario distinta a la de la cámara.
 - Válvulas anti retorno para que el agua de los cultivos no interfiera en el sistema de inyección por capilaridad y pueda afectar o estropear las válvulas solenoides.
 - Un temporizador en la cámara que simule ciclos de día-noche para estudiar las variaciones solares.
2. Uso del sistema, según reivindicación 1, en experimentos asociados a los riesgos de posibles escapes de CO₂ derivados de las técnicas CCS.
3. Uso del sistema, según reivindicación 1, en experimentos asociados a los riesgos de acidificación oceánica en la columna de agua debido a intercambios atmósfera-océano de dióxido de carbono.

4. Uso del sistema, según reivindicación 1, de ensayos de toxicidad con microorganismos de carácter general, ya que la cámara proporciona una zona de trabajo bajo ambiente estéril.

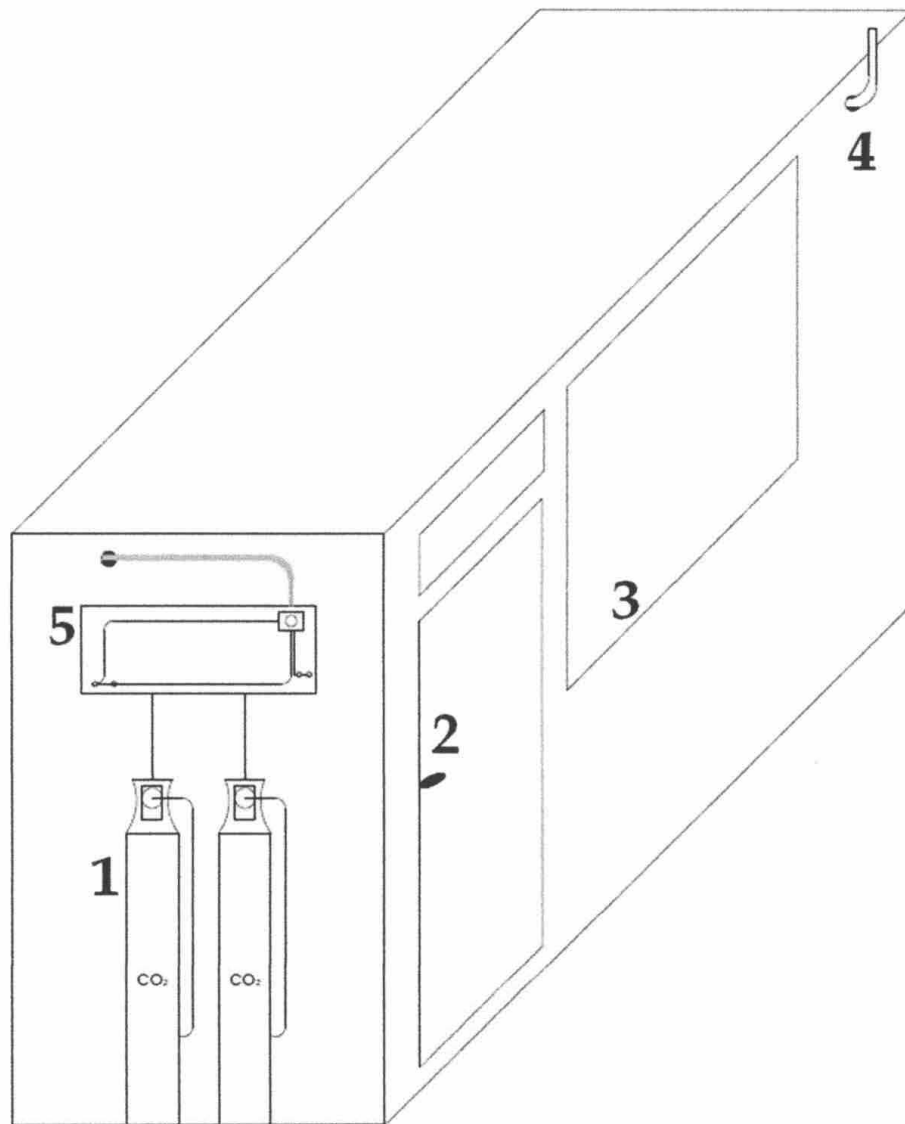


Fig. 1

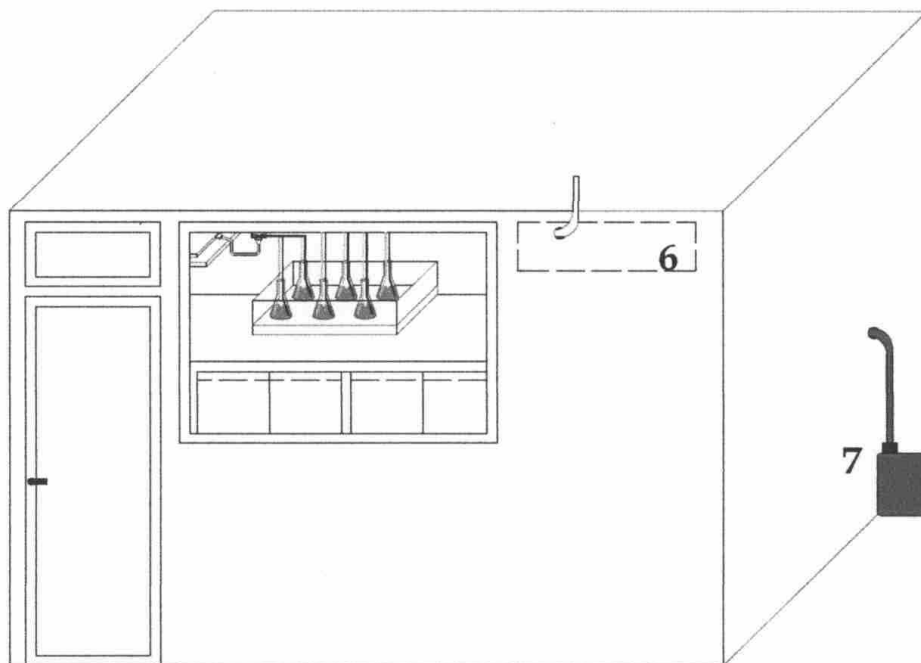


Fig. 2

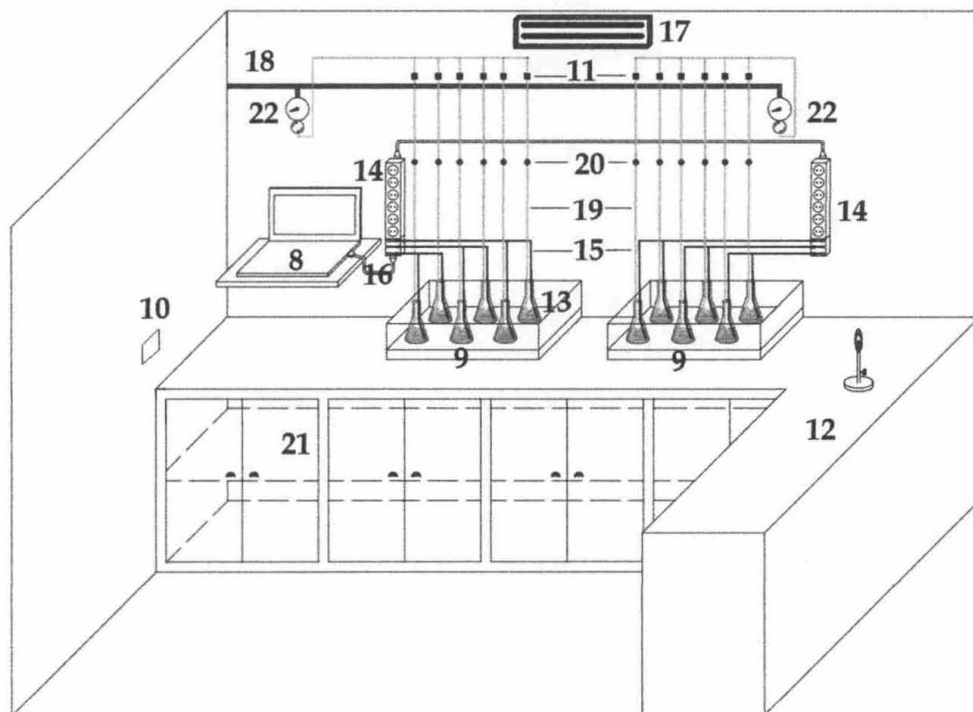


Fig. 3



- ②① N.º solicitud: 201500918
②② Fecha de presentación de la solicitud: 21.12.2015
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **G05D21/00** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 2010047414 A1 (TERRANOVA ANTHONY JOSEPH) 25/02/2010, Descripción; figuras 1 - 3.	1-4
A	EP 1421988 A1 (MITSUBISHI RAYON CO) 26/05/2004, Descripción; figuras 1 - 8.	1-4
A	US 5487835 A (SHANE TOMMY J) 30/01/1996, Descripción; Figuras 1 - 4.	1-4
A	US 6287471 B1 (DE RIGAUD JEAN-MATHIEU) 11/09/2001, Descripción; figuras 1 - 2.	1-4
A	US 2013319230 A1 (PATEL DHANSUKHBHAI V) 05/12/2013, Descripción; figuras 1 - 9.	1-4
A	US 2014047975 A1 (MAZUMDAR ANINDRA et al.) 20/02/2014, Descripción; figuras 1 - 3.	1-4

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
20.12.2016

Examinador
J. C. Moreno Rodriguez

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G05D

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 20.12.2016

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-4	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-4	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 2010047414 A1 (TERRANOVA ANTHONY JOSEPH)	25.02.2010
D02	EP 1421988 A1 (MITSUBISHI RAYON CO)	26.05.2004
D03	US 5487835 A (SHANE TOMMY J)	30.01.1996
D04	US 6287471 B1 (DE RIGAUD JEAN-MATHIEU)	11.09.2001
D05	US 2013319230 A1 (PATEL DHANSUKHBHAI V)	05.12.2013
D06	US 2014047975 A1 (MAZUMDAR ANINDRA et al.)	20.02.2014

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la invención recogido en la reivindicación independiente 1 es la adición a la patente Sistema de inyección de CO₂ para estudios eco toxicológicos, adaptación para su empleo con microorganismos, que además de los componentes básicos del sistema comprende una cámara aislante con climatizador que permite, no solo que mantenga la temperatura constante deseada, sino poder garantizar condiciones de esterilidad con fácil acceso para la recogida diaria de muestra, filtros de 0.2 micrómetros de poro en cada salida de las dos tuberías provenientes de los manómetros que direccionan el gas hacia los acuarios, válvulas FBS en cada inyector hacia el acuario, que actúan como regulador de flujo de CO₂, para mejorar el burbujeo en los acuarios, agitadores con termostato para que las células bacterianas o micro algas que necesiten luz reciban la misma cantidad y poder establecer una temperatura dentro del acuario distinta a la de la cámara, válvulas antirretorno para que el agua de los cultivos no interfiera en el sistema de inyección por capilaridad y pueda afectar o estropear las válvulas solenoides y un temporizador en la cámara que simule ciclos de día-noche para estudiar las variaciones solares.

El objeto de la invención recogido en la reivindicación independiente 2 es el uso del sistema según la reivindicación 1 en experimentos asociados a los riesgos de posibles escapes de CO₂ derivados de las técnicas de CCS.

El objeto de la invención recogido en la reivindicación independiente 3 es el uso del sistema según la reivindicación 1 en experimentos asociados a los riesgos de acidificación oceánica en la columna de agua debido a intercambios atmosfera océano de dióxido de carbono.

El objeto de la invención recogido en la reivindicación independiente 4 es el uso del sistema según la reivindicación 1 en ensayos de toxicidad con microorganismos de carácter general, ya que la cámara proporciona una zona de trabajo bajo ambiente estéril.

Los documentos D01- D06 divulgan diversos sistemas en los que, con diferentes fines, se emplean sistemas de bajada del pH del agua mediante la introducción en el medio de corrientes de CO₂. Además, en estos sistemas se controla la cantidad de CO₂ proporcionado mediante la medida del pH alcanzado en el medio.

Sin embargo ninguno de estos documentos de manera aislada, ni ninguna combinación de los mismos, anticipan en conjunto el sistema reivindicado en la reivindicación 1, por lo que la reivindicación 1 presenta novedad, actividad inventiva y aplicabilidad industrial.

Del mismo modo, las reivindicaciones 2-4 que recogen usos de dicho sistema, presentan novedad, actividad inventiva y aplicabilidad industrial.