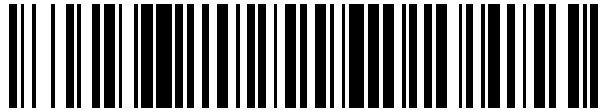


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 620 229**

51 Int. Cl.:

C12P 5/02 (2006.01)

A01K 61/00 (2006.01)

A01K 67/033 (2006.01)

C05F 1/00 (2006.01)

C05F 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.09.2010 PCT/SE2010/000215**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.03.2011 WO2011028163**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.09.2010 E 10814024 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.12.2016 EP 2473611**

54 Título: **Un sistema para producir una materia prima para la producción de biogás**

30 Prioridad:

04.09.2009 SE 0901154

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

28.06.2017

73 Titular/es:

**NORÉN, FREDRIK (100.0%)
Norra Kvarngatan 10
45330 Lysekil, SE**

72 Inventor/es:

NORÉN, FREDRIK

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 620 229 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 sistema para producir una materia prima para la producción de biogás

5 Antecedentes

En la producción industrial de biogás, la disponibilidad de materias primas es limitada. El biogás se define en la literatura como una mezcla de gas que consiste principalmente en metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂), que se produce por la descomposición bacteriana de un sustrato biológico. Las plantas de biogás industrial se ven obligadas a comprar biomasa, por ejemplo, praderas cultivadas y trigo, a los agricultores para producir biogás. Esto significa que el producto, el biogás, puede ser poco rentable de producir. El área de la tierra cultivable también es limitada ya que existe una situación de competencia entre los cultivos para alimentación y para producción de energía. La pérdida en la producción también depende en gran parte del clima, puesto que el mal tiempo está reduciendo los cultivos. Estos factores conducen a que el producto, el biogás, puede llegar a ser poco económico de producir.

Las ideas anteriores, sobre la biomasa marina alternativa para una digestión anaerobia, han analizado microalgas, macroalgas o mejillones del Atlántico. Todos estos factores tienen inconvenientes como materia prima para la producción de biogás. Las microalgas tienen un alto costo de cultivo teniendo en cuenta que el nutriente específico se ha de añadir en condiciones estériles, así como una necesidad de iluminación adicional ya que la luz del día es insuficiente. Las macroalgas han demostrado ser una buena materia prima para una digestión anaerobia, pero si se recogen de las playas, pueden contener altas concentraciones de metales pesados, tales como cadmio. Mediante el cultivo de macroalgas en mar, es posible mejorar los pre-requisitos económicos fertilizando el agua y, por tanto, potenciar la tasa de crecimiento. Los mejillones del Atlántico tienen una gran desventaja en que estos tienen conchas no orgánicas que hacen que una planta de biogás no quiera incluirlas en el proceso, ya que las conchas obstruyen las tuberías del proceso, así como aumentan la sedimentación de la materia no digerible.

Los productores de biogás siempre se esfuerzan por aumentar la producción de gas dada una cierta cantidad de biomasa para maximizar el rendimiento. El problema a resolver es cómo el productor puede aumentar la producción de gas. La solución más beneficiosa de la producción de biomasa es eficiente en el plano energético, aumenta el rendimiento de gas metano y proporciona otros efectos positivos ambientales al mismo tiempo.

El estado de la técnica que se destina a recoger biomasa procedente del mar ha discutido únicamente las macroalgas, obtenidas por cultivo o recogida (Boudewijn *et al.* 1983; Schramm y Lehnberg 1984; Gao y McKinley 1994; Yokoyam *et al.* 2007; *The Crown Estate* 2009), así como las macroalgas que se encuentran en tierra (Detox AB 2009). Se ha propuesto incluso una digestión anaerobia de microalgas tomadas de las floraciones de algas en el mar Báltico (Gröndahl 2009), así como una digestión anaerobia de mejillones del Atlántico cultivados en el mar Báltico (Hansson 2008; Radio Kalmar 2009). También se ha presentado una idea basada en el cultivo de microalgas en aguas residuales ricas en nutrientes de las plantas depuradoras (Nyberg 2008; *Clear Water Energy Nordic AB* 2009). Entre las varias solicitudes de patentes presentadas se pueden mencionar aquellas que reclaman el derecho exclusivo a utilizar biomasa basada en micro- o macroalgas, así como sus extractos (documentos US2008/0050800, CN101418316, US2009081744, EP2014759, CN101285075, CN101255075, UA24106, DE102007007131, WO2007014717, W09851814, PT100012, DE3607864, CN101418315).

El documento JP 2008 049273 A divulga un método de tratamiento para moluscos, en el que los moluscos se someten a un tratamiento anaerobio en un depósito de tratamiento con microorganismos anaerobios.

El documento JP H08 57462 A divulga un método para separar y tratar la carne de la concha y la concha de un molusco sumergiendo un molusco en una solución acuosa que contiene un grupo de bacterias anaerobias para licuar la carne de la concha como materia orgánica monomérica y descomponerla en gas metano mediante la fermentación de bacterias de metano para convertir las mismas en materia inorgánica.

El documento JP 2000 033358 A divulga un método para la fermentación de metano por parte de los moluscos que efectúa el tratamiento de descomposición de la carne de marisco y recupera las conchas como carbonato de calcio.

LIM Y.-G. *ET AL*: "Solubilization and methanogenesis of blue mussels in saline mesophilic anaerobic biodegradation", *INTERNATIONAL BIODETERIORATION AND BIODEGRADATION*, vol. 61, n.º 3, 2007, páginas 251-260, divulgan la producción de biogás mediante una digestión anaerobia de los mejillones del Atlántico.

KELLY M.S. *ET AL*: "Marine Estate Research Report - The potential of marine biomass for anaerobic biogas production", 2008, divulgan la digestión anaerobia de las algas marinas y el uso del efluente de la digestión como fertilizante.

VERGARA-FERNANDEZ A. *ET AL*: "Evaluation of marine algae as a source of biogas in a two-stage anaerobic reactor system", *BIOMASS AND BIOENERGY*, vol. 32, n.º 4, abril de 2008, divulgan la digestión anaerobia de las algas marinas.

El documento US 4 975 106 A divulga un método de digestión anaerobia de desechos de los peces en el que los desechos de los peces se mezclan con un cultivo de microorganismos anaerobios.

BIOMASA MARINA - ASCIDIANOS

5 Las ascidias, *Ascidacea*, es una clase de tunicados con aproximadamente 2.300 especies en todo el mundo, de las cuales aproximadamente el 50 % se hallan en la costa oeste de Suecia. Son sésiles, solitarias o alimentadoras en suspensión que forman colonias. El cuerpo es similar a un saco y se encuentra completamente rodeado por la túnica. El género *Ciona* consiste en las siguientes especies: *Ciona edwardsi*, *Ciona fascicularis*, *Ciona gelatinosa*,
10 *Ciona imperfecta*, *Ciona intestinalis*, *Ciona mollis* y *Ciona savignyi*. Como ejemplo, se menciona que la ascidia *Ciona intestinalis* L. se produce con volúmenes muy altos y se ha notificado una densidad de más de 5.000 individuos por m² (Millar 1971). El peso de la biomasa se ha estimado en ~7 kg PS/m² (Gulliksen 1972) y en aguas canadienses a 200 kg de peso en húmedo/m² (Ramsay, Davidson *et al.* 2009). Si se utiliza la composición de materia seca del 4 % (Petersen *et al.* 1997), este valor corresponde a 8 kg PS/m². Viven filtrando plancton del agua y tienen un crecimiento muy rápido en comparación con muchos otros animales. Su crecimiento diario en longitud puede ser del 2-3 % y el tiempo de duplicación del peso es de 10 días (Petersen *et al.* 1995). *Ciona intestinalis* se reproduce en aguas boreales dos veces al año y en aguas más cálidas tres veces, posiblemente cuatro veces (Dybern 1965).

Definiciones

20 PS: abreviatura para peso en seco, que es el peso exento de agua que el organismo tiene después del secado (~80 °C, 1 día).

25 Peso en húmedo: el peso de la biomasa en condiciones húmedas que se pesa en el plazo de 1 hora después de la recogida cuando la biomasa se encuentra al menos la mitad del tiempo en un colador.

Marino/medio marino: se define como el medio acuático que no es agua pura de lago o consiste en agua dulce, es decir, todos los medios acuáticos que tienen una salinidad de NaCl de más de 0,5 %.

30 Mar: la misma definición que medio marino.

Organismo: definido como todos los organismos vivos de los grupos eucariota, arquea y procariota. Animal: un grupo de organismos pertenecientes al grupo *Animalia*.

35 Ascidia/ascidianos: animales pertenecientes al grupo *Ascidia*.

Siembra artificial: producción controlada por el hombre de óvulos y espermatozoides en los organismos cuyos cigotos (el óvulo fertilizado) se desarrollan en larvas que se depositan en las superficies duras en el agua antes de que se desarrollen en animales adultos.

40 Agua: todos los medios que consisten en H₂O que incluyen medio marino y lagos, ambos medios incluyen tanto los medios naturales como artificiales, por ejemplo, estanques y otras construcciones de agua.

45 Plancton: todos los organismos vivos suspendidos en el agua es la definición científica correcta que se utiliza en este texto. El plancton puede dividirse y abarcar, zooplancton, fitoplancton y bacterioplancton dependiendo del organismo que se esté denominando.

Settla: es una traducción sueca del término inglés *settle* que se traduce al sueco como *bli fast*, satta sig. El término *settla* (infinitivo - *att settla*) es utilizado por los biólogos marinos suecos.

50 Ascidia: el grupo de organismos se denomina *sjöpungrar* en sueco. Ascidia es sinónimo de *Ascidacea* y se define por el árbol de la vida (<http://tolweb.org/tree>) y sus referencias.

Anthozoa: el grupo de organismos se denomina "*koraller*" en sueco. Definido por el árbol de la vida y sus referencias.

55 Porifera: el grupo de organismos se denomina "*svampdjur*" en sueco. Definido por el árbol de la vida y sus referencias.

60 Macroalgas: algas visibles. Un término unificador para los grupos de organismos de algas rojas (*rhodophyta*), algas verdes (*chlorophyta*) y algas marrones (*phaeophyta*).

Microalgas: organismos unicelulares que no son visibles a simple vista y viven en suspensión en el mar. No están relacionados con las macroalgas pero pertenecen a varios grupos de organismos diferentes, tales como dinoflagelados, diatomeas, etc.

65

Breve descripción de las figuras

Figura 1: cultivo a gran escala de ascidianos en el mar para la producción de biomasa. Los ascidianos están creciendo en líneas de cultivo (a) que están sumergidas en el agua. Una cuerda horizontal (b) fijada a los flotadores (c) sostiene las líneas de cultivo. Las líneas horizontales se asurcan hacia el exterior por una cuerda (d), que es sostenida por amarres y anclajes (d).

Figura 2: descripción de un método para la siembra artificial de larvas ascidianas en líneas de cultivo sumergidas en agua. Los individuos maduros de ascidias (a) están fijados en una red (b) en el interior del depósito de agua (c). El agua se introduce por medio de una tubería (d) y sale por medio de una tubería (e). Las líneas de cultivo (f) se cuelgan sobre un poste (g) que puede retirarse del depósito.

Sumario

La invención consiste en un procedimiento compuesto por una digestión anaerobia de organismos vivos en el agua que se utiliza como materia prima para la producción de biogás. Dicho procedimiento también puede incluir el cultivo y la recogida de los organismos antes de una digestión anaerobia. Un organismo muy adecuado para esto se encuentra en aguas suecas y es el organismo ascidiano, *Ciona intestinalis*, basado en 1. Posee un crecimiento muy rápido que permite varias recogidas al año, incluso durante el invierno 2. No tiene estructuras duras internas, tales como conchas o huesos que evitan que la biomasa sea bombeada 3. Se ha demostrado que la biomasa aumenta la producción de biogás durante una digestión anaerobia con múltiples biomosas 4. Posibilidad de cultivarse en sistemas de cultivo existentes para mejillones del Atlántico 5. Garantía de la producción ya que es posible evitar pérdidas de biomasa debido a los climas severos que se producen en tierras con base para la agricultura 6. La temporada de cultivo y recogida continua se describe por un procedimiento, en la presente patente, que permite a las ascidias depositarse en las cuerdas de cultivo en condiciones controladas, lo que permite una recogida continua 7. El cultivo no entra en competencia con la agricultura 8. El cultivo y la recogida en el mar proporciona mucha más biomasa por área y exige menos energía para el cultivo y la recogida en comparación con la agricultura.

En otros países y aguas, otras especies de ascidianos (o corales o esponjas) pueden ser más adecuadas para el cultivo y la recogida para lograr beneficios por medio de cultivabilidad, crecimiento rápido y la posibilidad de utilizar bombas industriales en combinación con un sistema energético para producir biogás por medio de una digestión anaerobia. Ejemplos de tales organismos son *Ascidia sydneiensis*, salpas, apendicularias y desmospojas. Mediante el uso de la experiencia y las técnicas de cultivo industrial de mejillones, la presente invención asegura la producción industrial de ascidias. Además se han incorporado nuevas soluciones técnicas para asegurar una producción industrial de ascidias durante todo el año y no solo durante el periodo ordinario de reproducción de ascidias.

La invención se refiere a un procedimiento para la producción de biogás, que comprende una digestión anaerobia de organismos que viven en el agua que pertenecen al grupo *ascidiacea*.

El procedimiento para la producción de biogás comprende una digestión anaerobia y la utilización del gas producido durante la digestión anaerobia. El gas digestor (llamado gas bruto) consiste en metano y dióxido de carbono, para esta mezcla, el metano se purifica para la producción de biogás.

En una realización, el procedimiento incluye el cultivo y la recogida de ascidias antes de que se digieran anaeróticamente.

El cultivo de ascidias puede realizarse mediante el uso de un número de superficies sumergidas en el agua, en las que en dichas superficies, las ascidias pueden cultivarse antes de la recogida.

De acuerdo con una realización preferente, el procedimiento incluye la fijación de ascidias en fase larvaria en superficies de cultivo, almacenando dichas superficies sumergidas en depósitos de agua junto con individuos adultos de ascidias, regulando la temperatura del agua en el depósito, para hacer que los individuos adultos comiencen a desovar, y las larvas que son producidas por la fusión de gametos, se depositan en las superficies sumergidas que son colocadas a partir de ahí al sitio de cultivo.

Además, el cultivo también puede lograrse de acuerdo con los métodos descritos por Aypa (1990); cultivo en estantes, método de suspensión, cultivo bitin, cultivo tulus, cultivo en estacas, cultivo en bandejas, cultivo wig-wam, cultivo de entramados de cuerdas, cultivo en bouchout, cultivo en bateas y cultivo en línea larga.

De acuerdo con otro aspecto, el método incluye la utilización de digestatos sólidos y fluidos. El método puede incluir además la utilización de digestatos sólidos y fluidos para producir un fertilizante.

La invención también se refiere a un método para la producción de fertilizantes, que comprende una digestión anaerobia de los organismos vivos en el agua pertenecientes a los grupos de ascidias y, posteriormente, el uso de digestatos sólidos y fluidos para la producción de fertilizantes.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método que comprende el cultivo de ascidias junto con macroalgas de

los grupos *rhodophyta*, *chlorophyta* y *phaeophyta*. El cultivo combinado conduce a una mayor tasa de crecimiento de las macroalgas debido a los nutrientes disueltos excretados por el metabolismo ascidiano.

Este método puede referirse además a la digestión anaerobia de las macroalgas junto con dichas ascidias.

La invención también se refiere a un método para la producción de fertilizantes, que comprende el cultivo y la digestión anaerobia de ascidias y macroalgas conjunta, y al uso de digestatos sólidos para producir fertilizantes.

En una forma de práctica, dichos métodos son animales que se alimentan por filtración de organismos de los grupos *anthozoa* y *porifera*.

La invención también se refiere a un método de fijación de ascidias en fase larvaria en superficies de cultivo, almacenando dichas superficies sumergidas en depósitos de agua junto con individuos adultos de ascidias, regulando la temperatura del agua en el depósito, para hacer que los individuos adultos comiencen a desovar, y las larvas que son producidas por la fusión de gametos, se depositan en las superficies sumergidas que son colocadas a partir de ahí al sitio de cultivo.

Otro aspecto de la invención comprende una biomasa digerida de forma anaerobia a partir de una digestión anaerobia de animales vivos en el agua del grupo *Ascidia*.

En una realización, la invención se refiere a una biomasa digerida de forma anaerobia de las ascidias derivada por cualquiera de los métodos mencionados anteriormente.

Descripción detallada

En lo sucesivo, la presente invención se describirá con detalle con referencia a realizaciones específicas de la invención. Esta descripción se proporciona para aumentar la comprensión de dichas realizaciones específicas, y en ningún caso tiene como objeto limitar el alcance de la presente invención. El alcance de la presente invención se define por las reivindicaciones anexas.

Eficacia como materia prima para una digestión anaerobia

Los antecedentes de la invención para utilizar ascidias como biomasa en una digestión anaerobia radica en el hecho de que los productores suecos de biogás utilizan residuos de la industria pesquera, en forma de salmuera y productos de desecho, y por lo tanto, se aumenta la producción de biogás, tanto en volumen producido de biogás, así como un mayor porcentaje de metano en el gas. Se considera que los residuos de la industria pesquera son un muy buen complemento de biomasa en una digestión anaerobia combinada con lodos de desechos, una posible explicación para esto podría ser que dicho residuo sea rico en nitrógeno que favorece la digestión anaerobia total si la biomasa combinada tiene una mayor composición de carbono. En una digestión anaerobia, una regla general es que la cuota molar entre el carbono y el nitrógeno estará comprendida entre 30:1 y 20:1 (C:N). Las ascidias tienen una cuota de carbono-nitrógeno de 4:1, que es demasiado baja para una digestión anaerobia óptima utilizando solo ascidias. Solo la biomasa de ascidia es muy adecuada para una digestión anaerobia en combinación con biomasa más ricas en carbono, tales como los lodos de desechos de las plantas de tratamiento de depuración o los cultivos de la agricultura. Los residuos de la industria pesquera tienen una cuota de carbono-nitrógeno de 5:1, que es un argumento de que la cuota baja en carbono-nitrógeno de ascidias no es un problema en los procesos industriales de digestión anaerobia.

La salinidad de la biomasa de ascidias recién recogidas es más o menos la misma que el agua circundante. Esto es causado por el hecho de las ascidias cierran sus orificios corporales y contienen un volumen de agua. En ascidias del mar fuera de Lysekil, Suecia, utilizadas en los ensayos de digestión anaerobia, la salinidad ha oscilado entre el 20 y el 30 %, pero puede variar entre un 10 y un 35 % en estas aguas. Los residuos de la industria pesquera tienen una salinidad de 60-70 % y no se ha demostrado que esta salinidad disminuya la eficacia de una digestión anaerobia si el digestor dispone de tiempo para ajustar la cantidad de biomasa salina. Se conoce el hecho de que un proceso de digestión anaerobia acepta cantidades razonables de biomasa salina (Schramm y Lehnberg 1984; *The Crown State* 2009). También es conocido que un pequeño grado de salinidad potencia la producción de biogás. Una regla general es que la comunidad bacteriana puede manejar un amplio intervalo de diferentes biomasa al disponer de un periodo de adaptación. Las bacterias productoras de metano provienen de la evolución del mar, pero se producen en los estómagos de los animales, así como en las aguas marinas y salobres.

Biomasa marina - otras especies de ascidianos, corales y esponjas

Al igual que el cultivo de las especies que se han elegido como ejemplo, *Ciona intestinalis*, que es adecuada para el cultivo en aguas de Suecia, otras especies de *Ciona* u otras ascidias pueden cultivarse en lugares en el que las condiciones ambientales así lo exijan o si *Ciona intestinalis* no es de origen natural. Véase la tabla 1 para una visión general filogenética de la clase *Ascidia*.

En el género *Ciona*, como se ha mencionado anteriormente, se incluyen las siguientes especies: *Ciona edwardsi*, *Ciona fascicularis*, *Ciona gelatinosa*, *Ciona imperfecta*, *Ciona intestinalis*, *Ciona mollis* y *Ciona savignyi*, todas adecuadas para su uso similar a *Ciona intestinalis*.

5 Tabla 1 Visión general filogenética de la clase de ascidianos (*Ascidiacea*), todas tienen un posible uso como biomasa para una digestión anaerobia.

Reino:	<u>Animalia</u>	
Filo:	<u>Chordata</u>	
Subfilo:	<u>Tunicata</u>	
Clase:	<u>Ascidiacea</u>	
Orden	<u>Enterogona</u>	
	Suborden <u>Aplousobranchia</u>	Familia <u>Clavelinidae</u>
		Familia <u>Didemnidae</u>
		Familia <u>Polycitoridae</u>
		Familia <u>Polyclinidae</u>
		Familia <u>Agnesiidae</u>
		Familia <u>Asciidae</u>
		Familia <u>Cionidae</u>
		Familia <u>Corellidae</u>
		Familia <u>Diazonidae</u>
		Familia <u>Hypobythiidae</u>
		Familia <u>Perophoridae</u>
		Género <u>Didemnum</u>
Orden	<u>Pleurogona</u>	
	Suborden <u>Stolidobranchia</u>	
		Familia <u>Pyuridae</u>
		Familia <u>Styelidae</u>
		Género <u>Eusynstyela</u>
		Género <u>Styela</u>
		Familia <u>Botryllidae</u>
		Género <u>Botrylloides</u>
		Género <u>Botryllus</u>

10 Otras especies de rápido crecimiento de corales y esponjas también pueden cultivarse en el mar o en lagos, con los mismos métodos que se describen en la presente memoria, con miras a la producción de biogás para una digestión anaerobia o la producción de bioetanol. Algunos de estos animales pueden ser adecuados para el cultivo en mar a profundidades mayores. Expandiendo los ejemplos dados en este caso, se señala la alta abundancia y productividad de animales alrededor de las llamadas "fumarolas" (volcanes submarinos), en las que muchas formas de vida están utilizando bacterias quimiótrofas como productores primarios. En la presente solicitud de patente se ha optado por utilizar ascidias como ejemplos. La invención, por lo tanto, no se limita a la utilización de ascidias, sino que incluye animales corales y esponjas que no se cultivan de forma industrial para la producción de biomasa.

Cultivo de organismos en el agua

20 Un sistema general para el cultivo de organismos sésiles en el mar, ya sea en aguas marinas o salobres, es aquel que consiste en una superficie sumergida en agua en la que los organismos del agua ambiente se depositan como larvas o aquel en el que las larvas o las esporas se depositan sobre las superficies en depósitos de agua en tierra mediante la manipulación de la generación parental. En general, en la recogida, las superficies, como cuerdas, líneas, postes, redes, etc., se retiran del agua por lo que los organismos pueden ser recogidos en un barco o en tierra. Otro método que ocurre es cultivar organismos en sustratos naturales y fondos que también ofrecen la posibilidad para producir biomasa.

25 Para los cultivos de ascidias, corales o esponjas, el sistema general de cultivo mencionado anteriormente, es suficiente si la superficie sumergida tiene las propiedades adecuadas para que los organismos puedan depositarse, crecer y no caer de la superficie. El tiempo adecuado para la inmersión de las superficies es importante con respecto

a la temperatura del agua, salinidad u otros parámetros físicos que aseguran un buen crecimiento de los animales. El tiempo de inmersión es también importante con respecto a la presencia de larvas en el agua debido a su ciclo de vida. A continuación se presentan una serie de métodos de cultivo dados como ejemplos para métodos adecuados para el cultivo de ascidias que también es adecuado para el cultivo de corales y esponjas. Varios de estos métodos se dan en la literatura de acuicultura (véase, por ejemplo Aypa 1990).

El método en línea larga es muy utilizado para el cultivo de mejillones en Suecia y el método que nos planteamos, en aguas de Suecia, es el más adecuado. Esto se basa en que el método se utiliza a escala industrial para el cultivo y la recogida de aprox. 3.000 toneladas al año de mejillones del Atlántico y los métodos son, por lo tanto, confiables. Todo el equipo se dispone comercialmente y las embarcaciones para la recogida son posibles alquilarlas, así como personal con experiencia. El método en línea larga consiste en una banda de polipropileno, con una anchura de 5 cm, que se sumerge en el agua en una larga cadena ininterrumpida. En un cultivo en línea larga sueco con unas dimensiones de 20*200 metros, la longitud total de las líneas de cultivo es de 24 kilómetros. Las líneas se fijan con intervalos regulares en una cuerda transportadora que a su vez es sostenida por medio de flotadores, véase la Figura 1. Los extremos de las cuerdas transportadoras se anclan para mantener el cultivo extendido. El método también se denomina "un método de dragón" en China. Mediante la colocación de las líneas de cultivo colgadas en el fondo, los animales que viven en el fondo se ven obstaculizados de manera eficiente para llegar a las líneas y alimentarse, para *Ciona intestinalis* esto es válido para, por ejemplo, *Asterias rubens* que se alimenta de las citadas especies.

Otros métodos que pueden utilizarse para el cultivo y la recogida eficientes pueden incluir (de acuerdo con Aypa 1990): cultivo en estantes, método de suspensión, cultivo bitin, cultivo tulus, cultivo en estacas, cultivo en bandejas, cultivo wig-wam, cultivo de entramados de cuerdas, cultivo en bouchout, cultivo en bateas y cultivo en línea larga.

Cultivo integrado

Una realización específica del método para cultivar ascidias en el mar con el fin de producir biomasa para una digestión anaerobia es tener un cultivo integrado de ascidias y macroalgas. Diferentes técnicas para el cultivo de macroalgas son bien conocidas y se describen adecuadamente en la literatura especializada (Lucas y Southgate 2003; Pillay y Kutty 2005). También se sabe que las macroalgas tienen una mayor tasa de crecimiento cuando hay altas concentraciones de nutrientes en el agua, en su mayoría compuestos de nitrógeno y fósforo. También se sabe que los animales excretan nutrientes como subproductos de su metabolismo en forma de, por ejemplo orina, urea o sustancias con fines similares para eliminar el exceso de metabolitos de los organismos. Estas excreciones son ricas en sustancias nitrogenadas fácilmente disponibles; por ejemplo, comparan el uso de estiércol como fertilizante en la agricultura. Con este conocimiento de fondo, se afirma que hay un efecto potenciador en el cultivo integrado de ascidias, o los organismos se eligen para la producción de biomasa para una digestión anaerobia con macroalgas. Las ascidias excretan nutrientes que hacen que las macroalgas crezcan más rápido, lo que resulta preferente para los productores industriales. En una perspectiva ambiental, dicho cultivo integrado aumenta la capacidad para extraer los nutrientes del mar para el conjunto de cultivos que es positivo si los créditos de emisión se venden en base a la cantidad de facto de nitrógeno y fósforo que se extrae del mar. Nadie ha utilizado previamente un cultivo integrado de ascidias con macroalgas como biomasa para una digestión anaerobia para lograr dicho efecto.

El cultivo integrado se obtiene mediante la siguiente descripción: 1. Las ascidias y las macroalgas se cultivan en diferentes cuerdas/bandas dentro de la misma unidad de cultivo por lo que las macroalgas están próximas a liberar los nutrientes de las ascidias y las ascidias no compiten por los alimentos planctónicos 2. Las ascidias y las macroalgas se cultivan en unidades separadas pero ubicadas estrechamente.

La distancia máxima entre las unidades de cultivo, cuando se cultivan por separado, se determina por el tamaño de las unidades de cultivo, así como las corrientes de agua y la hidrografía del área de modo que las macroalgas pueden utilizar los nutrientes que las ascidias excretan.

Siembra artificial

Ciona intestinalis se está reproduciendo a temperaturas comprendidas entre 8 ° y 23 ° (Dybern 1965) y libera larvas en aguas de Suecia y Noruega, entre mayo y septiembre con unos máximos de producción de larvas en junio (Dybern 1965; Gulliksen 1972).

El método de siembra artificial es utilizado hoy en día para el cultivo de macroalgas, tales como especies de *Porphyra* entre las cuales una es la popular alga Nori japonesa utilizada para sushi (Kelly y Dworjanyn 2008). La siembra artificial significa que mediante la realización de un determinado procedimiento técnico, tal como la manipulación de la cantidad, la calidad y la temperatura de la luz, el ciclo de vida de las macroalgas se puede regular para producir órganos reproductivos (esporas). Para un experto en la materia es posible llevar a cabo tal método.

Sin embargo, nadie ha utilizado el método mencionado para asegurarse de depositar en las superficies de cultivo en el mar las ascidias. El conocimiento de las propiedades físicas del agua que se necesita para que las ascidias liberen sus óvulos y espermatozoides en el laboratorio es bien conocido. Este conocimiento se ha utilizado para criar

nuevos individuos de ascidias para fines de investigación. Pero puesto que nadie ha tenido la idea de cultivar ascidias a gran escala en el mar, nadie ha tenido la idea de mejorar dicho método por siembra artificial.

El método se lleva a cabo mediante el almacenamiento de individuos adultos de ascidias en un depósito de agua en el que la temperatura del agua se mantiene por debajo de 8 °, en cuya temperatura de ascidias consiguen la madurez sexual si se supera la temperatura. En esos depósitos, la banda de cultivo, las cuerdas de cultivo u otras superficies de cultivo, en las que las ascidias se depositarán como una nueva generación de larvas, están sumergidas. A partir de ahí, la temperatura se eleva por encima de 8 ° y los individuos adultos de ascidias tras un periodo de tiempo liberan los óvulos y los espermatozoides que se conjugan en larvas. Las larvas a partir de entonces se depositan en la banda del cultivo, cuerdas de cultivo u otras superficies de cultivo sumergidas.

Las ascidias pueden contenerse en el mismo depósito que las bandas de cultivo o contenerse en un depósito con comunicación de conexión de agua.

Tras la deposición de larvas en la banda sumergida, las larvas crecen durante un tiempo delimitado adecuado hasta que hayan tenido un crecimiento suficiente para soportar el transporte al nuevo medio de agua, en el que deberán crecer hasta la edad adulta antes de la recogida.

Resultados

La tasa de crecimiento de *Ciona intestinalis* ha sido medida por el solicitante y se halló que era de 8,5 cm (n = 350, d.e. = 3,2 cm) durante 93 días y un aumento de la biomasa, medido como el peso en húmedo por m², de 33 kg durante el mismo periodo de tiempo (ubicación: Lysekil, Suecia, tiempo mayo de 2009 a agosto de 2009, profundidad 1-2 metros en una construcción de hormigón vertical, salinidad aproximada 20-34 psu, temperatura aproximada 10-20°).

El inventor ha llevado a cabo más ensayos de digestión anaerobia, en los que la producción de biogás después de 10 días era de 600 ml CH₄/g VS con biomasa procedente de ascidia mezclada con 30 % de biomasa rica en carbono (peso).

El inventor también ha llevado a cabo el ensayo para la recogida de ascidias (*Ciona intestinalis*) en un cultivo de ascidias en Ljungskile en la costa oeste de Suecia durante abril de 2010. El cultivo utilizó el método de líneas largas. Durante el ensayo de recogida, un barco ordinario utilizado para la recogida del mejillón del Atlántico recogió 10m³ de ascidias por hora.

El inventor ha llevado a cabo un ensayo para una digestión anaerobia de 10m³ de ascidias durante abril de 2010. La biomasa de ascidia se digirió en combinación con lodos residuales procedentes de una planta de aguas residuales. Los resultados mostraron que la producción de biogás después de la mezcla con un 5 % de *Ciona intestinalis* se mantuvo a niveles anteriores como antes de la adición. La concentración de metano se mantuvo sin cambios y varió entre 58 y 64 %.

Referencias

Radio Kalmar (2009). Blåmuslor ska rädda Östersjön. Radio P4 - Kalmar. Kalmar, Suecia.

Aypa, M. S. (1990). *Selected papers on mollusc culture. Regional Seafarming Development and Demonstration Project. Project reports - SFWP/90/2*. FAO, FAO (Organización para la Alimentación y la Agricultura).

Boudewijn, H. B., A. B. Valeria, et al. (1983). "NEW YORK MARINE BIOMASS PROGRAM: CULTURE OF *Laminaria saccharina*". *Journal of the World Mariculture Society* 14(1-4): 360-379.

Clear Water Energy Nordic AB. (2009). "Resurs i vatten med näring". Recuperado 25-08-2009, 2009, de <http://www.cwenordic.se/index.htm>].

Detox AB. (2009). "Exempel på projekt - Biogas". Recuperado 25-08-2009, 2009, de <http://www.detox.se/>.

Dybern, B. I. (1965). "The life cycle of *Ciona intestinalis* (L.) f. *typica* in relation to the environmental temperature". *Oikos* 16:109-131.

Gao, K. y K. R. McKinley (1994). "Use of macroalgae for marine biomass production and CO₂ remediation: a review". *Journal of Applied Phycology* 6: 45-60.

Gröndahl, F. (2009). *Sustainable use of Baltic Sea natural resources based on ecological engineering and biogas production. Interdisciplinary Workshop: Effects of climate change: coastal systems, policy implications, and the role of statistics*. Sliema, Malta.

Gulliksen, B. (1972). "Spawning, larval settlement, growth, biomass and distribution of *Ciona intestinalis* L. (*tunicata*) in Borgensfjorden, north-Trøndelag, Noruega" *Sarsia* 51: 83-96.

Hansson, L.-A. (2008). *Kan Östersjön restaureras? Utvärdering av erfarenheter från sjöarna*. Rapport 5860. Naturvårdsverket, Swedish Environmental Protection Agency.

Kelly, M. S. y S. Dworjanyan (2008). *The potential of marine biomass for anaerobic biogas production: a feasibility study with recommendations for further research, The Crown Estate on behalf of the Marine Estate*.

Lucas, J. S. y P. C. Southgate, Eds. (2003). *Aquaculture. Farming Aquatic Animals and Plants* Fishing News Books.

- Millar, R. H. (1971). "*The biology of ascidians*". *Adv. mar. Biol.* 9:1-100.
- Nyberg, M. (2008). "Så ska de rädda Ostersjön och tjäna miljoner". Recuperado 25-08-2009, 2009, de <http://miljoaktuellt.idg.se/2.1845/1.192579/sa-ska-de-radda-ostersjon-och-tjana-miljoner>.
- 5 Petersen, J. K., O. Shou, et al. (1995). "Growth and energetics in the ascidian *Ciona intestinalis*". *Marine Ecology Progress Series* 120:175-184.
- Petersen, J. K., O. Shou, et al. (1997). "IN situ growth of the ascidian *Ciona intestinalis* (L.) and the blue mussel *Mytilus edulis* in an eelgrass meadow". *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 218:1-11.
- Pillay, T. V. R. and M. N. Kutty (2005). *Aquaculture. Principles and Practices*, 2^a ed. Blackwell Publishing Ltd.
- 10 Ramsay, A., J. Davidson, et al. (2009). "Recruitment patterns and population development of the invasive ascidian *Ciona intestinalis* in Prince Edward Island, Canada". *Aquatic Invasions* 4(1):169-176.
- Schramm, W. y W. Lehnberg (1984). "Mass culture of brackish-water-adapted seaweeds in sewage-enriched seawater. II: Fermentation for biogas production". *Hydrobiologia* 116/117: 282-287.
- 15 The Crown Estate. (2009). "Aquaculture research". Recuperado 25-08-2009, 2009, de http://www.thecrownestate.co.uk/mrf_aquaculture.
- Tree of life. (2009). "Tree of life web project". Recuperado 25-08-2009, 2009, de <http://tolweb.org/tree/>.
- Yokoyama, S., K. Jonouchi, et al. (2007). "Energy Production from Marine Biomass: Fuel Cell Power Generation Driven by Methane Produced from Seaweed". *World Academy of Science. Engineering and Technology* 28: 320-323.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para la producción de biogás, que comprende la digestión anaerobia de organismos vivos en el agua de la especie *Ciona intestinalis* y *Ciona savignyi* en combinación con una biomasa más rica en carbono.
2. El método según la reivindicación 1, que comprende además el cultivo y la recogida de la especie *Ciona intestinalis* y *Ciona savignyi* antes de la digestión anaerobia.
- 10 3. El método según la reivindicación 2, que comprende un cultivo utilizando un número de superficies que están sumergidas en el agua, sobre cuyas superficies se cultivan los organismos antes de la recogida.
- 15 4. El método según la reivindicación 2 o 3, que comprende la fijación de la especie *Ciona intestinalis* y *Ciona savignyi* en fase larvaria en superficies de cultivo, almacenando dichas superficies sumergidas en depósitos de agua junto con individuos adultos de la especie *Ciona intestinalis* y *Ciona savignyi*, para controlar la temperatura del agua en el depósito, haciendo que los individuos adultos comiencen a desovar, y se permite que las larvas que son producidas por la fusión de gametos, se depositen en las superficies sumergidas que son transportadas posteriormente al sitio de cultivo.
- 20 5. El método según cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en el que el cultivo se realiza utilizando cualquiera de los siguientes métodos; cultivo en estantes, método de suspensión, cultivo bitin, cultivo tulus, cultivo en estacas, cultivo en bandejas, cultivo wig-wam, cultivo de entramados de cuerdas, cultivo bouchout, cultivo en bateas y cultivo en línea larga.
- 25 6. El método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende la utilización de digestatos sólidos y fluidos.
7. El método según la reivindicación 6, que comprende la utilización de digestatos sólidos y fluidos para la producción de fertilizantes.
- 30 8. Un método para la producción de fertilizantes, que comprende una digestión anaerobia de los animales vivos en el agua de la especie *Ciona intestinalis* y *Ciona savignyi* y el uso de digestatos sólidos y fluidos para la producción de fertilizantes.
- 35 9. El método según cualquiera de las reivindicaciones 2-5, que comprende un cultivo integrado de la especie *Ciona intestinalis* y *Ciona savignyi* y macroalgas de cualquiera de los grupos *rhodophyta*, *chlorophyta* y *phaeophyta*.
10. El método según la reivindicación 9, que comprende una digestión anaerobia de las macroalgas junto con la especie *Ciona intestinalis* y *Ciona savignyi*.
- 40 11. El método según la reivindicación 10, que comprende además la utilización de digestatos sólidos y fluidos.
12. El método según la reivindicación 11, que comprende además la utilización de digestatos sólidos y fluidos para producir fertilizantes.
- 45 13. El método según la reivindicación 8, que comprende además el cultivo y la digestión de forma anaerobia de la especie *Ciona intestinalis* y *Ciona savignyi* y macroalgas conjuntamente y la utilización de digestatos sólidos y fluidos para la producción de fertilizantes.
- 50 14. Biomasa digerida de forma anaerobia obtenida por una digestión anaerobia de organismos vivos en el agua procedentes de la especie *Ciona intestinalis* y *Ciona savignyi*.

Fig 1

