



# OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

**ESPAÑA** 



11) Número de publicación: 2 663 355

51 Int. Cl.:

**C12M 1/00** (2006.01)

(12)

# TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 17.05.2011 E 11004050 (8)
 Fecha y número de publicación de la concesión europea: 14.03.2018 EP 2388310

(54) Título: Fotobiorreactor

(30) Prioridad:

21.05.2010 DE 102010021154

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 12.04.2018

(73) Titular/es:

KARLSRUHER INSTITUT FÜR TECHNOLOGIE (KIT) (100.0%) Kaiserstrasse 12 76131 Karlsruhe, DE

(72) Inventor/es:

POSTEN, CLEMENS; JACOBI, ANNA; STEINWEG, CHRISTIAN; LEHR, FLORIAN y ROSELLO, ROSA

74) Agente/Representante: ELZABURU, S.L.P

#### **DESCRIPCIÓN**

#### Fotobiorreactor

15

35

40

45

50

55

La presente invención se refiere a un dispositivo y a un procedimiento para la multiplicación de microorganismos fotótrofos, en adelante el dispositivo también se designa como fotobiorreactor.

- Los biorreactores o fermentadores son dispositivos para cultivar microorganismos bajo condiciones a ser posible ideales, con el fin de lograr un rendimiento óptimo de células o de sustancias producidas por células. En los biorreactores convencionales, para el rendimiento son fundamentales sobre todo la aportación de nutrientes para los organismos, la temperatura y en caso dado la aireación.
- En el caso del cultivo de organismos fotótrofos en un fotobiorreactor hay que añadir otro factor de crecimiento decisivo, en concreto la aportación adicional de luz, que los microorganismos fotótrofos requieren como fuente de energía para desarrollarse.

Actualmente, la producción de microalgas todavía se limita a unos pocos miles de toneladas. El interés por la biomasa de algas es grande, ya que las microalgas son una materia prima prometedora para la producción de vectores energéticos tales como biodiésel, biometano o hidrógeno. Además, a la biomasa de algas se le puede dar un uso material, por ejemplo mediante ingredientes médicamente activos, o como alimento o pienso.

Los procedimientos conocidos para la obtención de biomasa de algas utilizan procedimientos en sistemas abiertos o en fotobiorreactores cerrados. Los fotobiorreactores cerrados ofrecen la ventaja de controlar los parámetros de reacción selectivamente, minimizar las contaminaciones y lograr productividades claramente mayores.

Para la producción de biomasa a partir de microorganismos fotótrofos se requieren luz como fuente de energía, CO<sub>2</sub>
u otras moléculas orgánicas como fuente de carbono, así como nutrientes adecuados en solución acuosa. Los microorganismos utilizados se cultivan y multiplican en primer lugar bajo condiciones estériles. Después se incorpora en el fotobiorreactor el, así llamado, inoculado junto con el medio nutriente. Para lograr la mejor multiplicación y obtención de biomasa posible se ajustan una gasificación, la temperatura óptima y el valor pH.

En este contexto, la aportación de gas tiene lugar frecuentemente desde arriba a través de la superficie del líquido de cultivo, que está expuesta al aire. Sin embargo, debido al pequeño tamaño de la superficie y la baja concentración de CO<sub>2</sub> del aire, la aportación de gas es reducida en este caso. Alternativamente se pueden aportar desde abajo, por medio de burbujas, mezclas de gases con contenidos de CO<sub>2</sub> enriquecidos. De este modo se aumentan la superficie de intercambio y el gradiente de concentración de CO<sub>2</sub>. Sin embargo, para ello se requieren energías de bombeo correspondientes, que influyen negativamente en el balance energético.

30 En el estado de la técnica se han descrito diferentes fotobiorreactores cerrados.

El documento DE 199 16 597 A1 describe un, así llamado, fotobiorreactor de agitación por aire. Este tipo de reactores tubulares se caracteriza por que logra una buena mezcla gracias a la gasificación vertical desde abajo, y adicionalmente se puede inducir un, así llamado, efecto de luz intermitente mediante un aumento de la superficie con ayuda de prolongaciones y componentes incorporados. El efecto de luz intermitente consiste en un efecto con el que se pueden lograr tasas de crecimiento elevadas mediante cambios rápidos de las intensidades de iluminación (ciclos de luz-oscuridad). Estos ciclos se producen porque las algas, debido a la geometría del reactor y la gasificación, experimentan una corriente turbulenta, con lo que fluctúan rápidamente entre lugares bien iluminados y lugares de sombra. En el documento de los EE.UU. 2009/0305389 A1 se describe la incorporación de CO<sub>2</sub> en fotobiorreactores a través de membranas. En este caso se trataba de un reactor de película, a diferencia de la presente invención. Las membranas no están integradas en la superficie del reactor, sino que están realizadas como membranas rígidas de cuerpo hueco en la suspensión.

En el documento DE 10 2008 311 769 A1 se propone una construcción plana, en la que las cámaras de crecimiento están en cada caso separadas entre sí y son alimentadas con agua y  $CO_2$  a través de cámaras de entrada o de salida. Por lo tanto no se trata de un reactor de flujo. La mezcla tiene lugar preferiblemente mediante rotación cilíndrica del líquido de cultivo a través de burbujas de gas. La estructura de estos fotobiorreactores es tal que los módulos individuales se pueden disponer en serie o en paralelo. La aportación de energía luminosa está asegurada únicamente en la medida en que los materiales utilizados son preferiblemente translúcidos y opcionalmente están hechos de un material que desplaza la longitud de onda. No se menciona ningún aumento de la superficie mediante las características de construcción para la irrupción de la luz. El documento WO 2008059111 A1 da a conocer un fotorreactor para el cultivo de algas con paredes transparentes.

Un problema fundamental del cultivo de microorganismos fotótrofos consiste en la escasa tolerancia de la mayoría de especies a altas intensidades luminosas. En la mayoría de las microalgas se producen fenómenos de saturación esencialmente por debajo de la intensidad máxima de la luz natural de aproximadamente 200 vatios/m². Por otro lado se ha de aprovechar la máxima cantidad posible de luz para alcanzar altas eficiencias de conversión de fotones. En los biorreactores publicados hasta la fecha no se produce ninguna homogeneización y degradación del campo de luz entrante. Las intensidades con las que son iluminados los microorganismos presentan en concreto

## ES 2 663 355 T3

gradientes no medidos, indefinidos y altos. Por ello, estos reactores no pueden desplegar productividades plenas.

En la mayoría de los casos, tanto en los sistemas abiertos como en los sistemas cerrados, la biomasa de algas se mueve mediante dispositivos adecuados (ruedas de paletas, bombas, corrientes de aire en el reactor, diseño del reactor) con el fin de evitar una sedimentación de la biomasa de algas y para realizar una mejor iluminación de las algas. Por ello se requiere una considerable aportación de energía a los sistemas, lo que merma el balance energético.

5

25

30

35

40

45

50

55

Además, por regla general se utilizan armazones costosos que estabilizan los reactores en la vertical, por ejemplo contra la presión del viento. Alternativamente también se utiliza un invernadero, pero esto ya ocasiona por sí mismo unos costes mayores.

Para trabajar de forma económica también en lo que respecta al procesamiento posterior, además de la productividad en función de la superficie también es decisiva en particular la concentración de microalgas en el medio. Hasta ahora se utilizan reactores cerrados con concentraciones no superiores a 2 g/l también para evitar que el propio cultivo produzca zonas de sombra en caso de altas densidades celulares.

A pesar de los recientes enfoques tecnológicos, en el estado actual de la técnica no se logra reducir el precio de los fotobiorreactores al ámbito de 25 €/m², en el que según estudios se puede dar un aprovechamiento energético económico de las microalgas. Además, el gasto en energía auxiliar para la gasificación y mezcla es con mucho demasiado alto. Los valores típicos, si es que se conocen, son superiores a 5 W/m² y, por lo tanto, ya consumen la producción de energía material esperable de las microalgas. Por consiguiente, los sistemas de reactor publicados hasta la fecha no son adecuados para ser utilizados en el campo de la energía. Para la obtención de hidrógeno se plantean otros problemas técnicos.

Con el fin de superar las desventajas del estado de la técnica, la invención tiene por objetivo proponer un biorreactor para el cultivo de microorganismos fotótrofos, así como un procedimiento para el funcionamiento del mismo. Además, la invención tiene por objetivo proponer una utilización del biorreactor para la producción de vectores energéticos. El biorreactor ha de asegurar en particular una irrupción optimizada de la luz, de modo que sea posible un cultivo con alta densidad celular. La aportación de energías de bombeo para la agitación, la gasificación y la mezcla se ha de mantener lo más baja posible. Gracias a su estructura, el biorreactor se puede fabricar y utilizar de forma económica, con lo que resulta una producción económicamente conveniente de biomasa o vectores energéticos.

La presente invención resuelve dicho objetivo mediante el biorreactor reivindicado en la reivindicación 1, el procedimiento reivindicado en la reivindicación 8 y la utilización reivindicada en la reivindicación 11. En las reivindicaciones subordinadas se describen formas de realización preferentes del biorreactor. La reivindicación 7 se refiere a una disposición de varios biorreactores según las reivindicaciones 1 a 6.

Se trata de un biorreactor para el cultivo de microorganismos fotótrofos. La estructura del biorreactor incluye dos placas, una placa translúcida superior y una placa inferior. Las dos placas están dispuestas una sobre otra en posición esencialmente paralela, de modo que entre las placas queda disponible un volumen de cultivo continuo. La distancia entre las dos placas, que corresponde a la altura del volumen de cultivo, es pequeña, preferiblemente de 0,1 mm a 40 mm, de forma especialmente preferente de 1 mm a 10 mm. Como el espesor es pequeño, la probabilidad de que los organismos se den sombra entre sí es menor que en caso de espesores mayores.

Para que la distancia entre las dos placas sea constante en toda la superficie del biorreactor, entre la placa superior y la inferior se pueden instalar opcionalmente separadores que impiden que la placa se combe debido a su naturaleza, ya que con ello disminuiría la distancia entre las dos placas. Esta "combadura" depende del tamaño de placa, de su espesor y, sobre todo, de los materiales utilizados. La cantidad y la distribución de los separadores se deberían ajustar en función de estos factores.

La forma de las dos placas se caracteriza por múltiples elevaciones y depresiones presentes en la placa superior y en la inferior, de tal modo que el volumen de cultivo tiene el mismo espesor en toda la superficie. Las elevaciones y depresiones son paralelas entre sí y se extienden a todo lo ancho del reactor en una geometría que se repite regularmente. Esta geometría confiere al biorreactor o al volumen de cultivo preferiblemente una forma ondulada o en zigzag. A diferencia de los reactores de placas planos del estado de la técnica, que tienen una superficie de cultivo en gran medida plana, esta forma ondulada o en zigzag permite una degradación de la aportación de luz. En particular en el caso del funcionamiento de los biorreactores a la luz del sol, cuya intensidad luminosa es muy superior a la intensidad de saturación de los organismos fotótrofos, se puede iluminar una superficie de cultivo mayor con una intensidad luminosa al mismo tiempo moderada.

El biorreactor incluye al menos una entrada y una salida a través de las cuales se pueden manejar funciones centrales. Por un lado, el biorreactor se puede cargar con un cultivo; por otro lado, el cultivo se puede agitar mediante mecanismos de transporte correspondientes en el volumen del cultivo; y, finalmente, el cultivo se puede evacuar o cosechar.

En una realización preferente, las entradas y las salidas están dispuestas de tal modo que la dirección de la

corriente del cultivo dentro del biorreactor se extiende paralela a lo largo de las elevaciones o depresiones. Esta dirección de la corriente tiene la ventaja de que la resistencia al flujo es menor que cuando la corriente de líquido discurre sobre las elevaciones y depresiones. De este modo, el biorreactor puede funcionar con una menor energía de bombeo. Una presión de bombeo demasiado alta puede conducir a una deformación del biorreactor debido a sus características de construcción, lo que ha de ser evitado.

A través de las entradas y las salidas se pueden conectar entre sí varios de estos biorreactores, con lo que se obtiene un mayor volumen de cultivo. En este contexto es posible una interconexión de los biorreactores en serie o en paralelo.

En una realización preferente, las elevaciones y depresiones tienen una altura total de 0,5 cm a 30 cm, de forma especialmente preferente de 2 cm a 10 cm.

5

30

35

40

45

50

55

En otra realización preferente del biorreactor según la invención, éste presenta una superficie de base de 0,5 m² a 50 m², de forma especialmente preferente de 1 m² a 25 m². En este contexto, la superficie de base del biorreactor no se ha de equiparar con la superficie del volumen de cultivo que, debido a las elevaciones y depresiones, es correspondientemente más grande.

La relación entre la superficie de base del biorreactor y la superficie del volumen de cultivo está preferiblemente dentro del intervalo de 1:2 a 1:10.

En una realización preferente del reactor según la invención, éste presenta de 10 a 100 elevaciones y depresiones por metro de anchura del reactor.

Preferiblemente, la placa superior translúcida del biorreactor está provista de un revestimiento que refleja los IR. En comparación con la luz en el rango de longitudes de onda visibles, que es utilizada para la fotosíntesis de los organismos fotótrofos, la luz infrarroja ha de ser considerada principalmente como una radiación térmica, que puede calentar mucho el reactor durante su funcionamiento a la luz del sol a determinadas horas del día. Mediante el revestimiento que refleja los IR se puede eliminar una gran parte de la radiación térmica.

Para optimizar la iluminación del volumen de cultivo, en una realización preferente del biorreactor, la luz transmitida a través del volumen de cultivo puede ser reflejada de vuelta al volumen de cultivo por medio de un revestimiento que refleja la luz en la placa inferior. De este modo, una gran parte de la luz transmitida también está disponible para los organismos fotótrofos, que son iluminados por la reflexión de la luz desde la parte inferior del reactor. El revestimiento que refleja la luz minimiza la pérdida de radiación.

Otro aspecto decisivo para la eficiencia de un fotorreactor consiste en la alimentación óptima de CO<sub>2</sub>. La gasificación tiene lugar a través de membranas permeables integradas en la placa inferior. Una ventaja consiste en que la aportación de energía para la gasificación se minimiza mediante el uso de membranas de gasificación en las que la transición de fase tiene lugar en solución gaseosa ya en el material de membrana. La forma de las membranas de gasificación es variable. Por ejemplo, la membrana puede ser tubular y pasar por el medio de cultivo (por ejemplo a lo largo de las depresiones), estando las membranas dispuestas en la placa inferior. Alternativamente se puede tratar de una membrana plana que hace que la placa inferior sea parcialmente permeable para el paso de CO<sub>2</sub>. En este caso resulta ventajoso cerrar el biorreactor herméticamente mediante una cubierta inferior adicional en la parte inferior. De este modo es posible conducir una corriente de gas, que en caso dado ha sido enriquecida con CO<sub>2</sub>, entre la cubierta inferior y la placa inferior, pudiendo el CO<sub>2</sub> difundirse en el cultivo a través de la membrana. La gasificación a través de membranas resulta ventajosa para minimizar la utilización de energía auxiliar hidráulica y neumática. La formación de gas se aprovecha para el transporte de sustancias, con lo que se minimiza la energía de bombeo necesaria. Idealmente, la alimentación de CO<sub>2</sub> funciona mediante una mayor presión parcial de CO<sub>2</sub>, que se logra a través del enriquecimiento de la alimentación de gas con CO<sub>2</sub>.

Además, en otra realización del biorreactor según la invención, la placa inferior puede estar provista de sensores, o los sensores pueden estar integrados en la placa inferior, que sirven para registrar diversos parámetros de cultivo. Entre los parámetros de cultivo se encuentran, por ejemplo, las concentraciones de soluto de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, el valor pH, la densidad óptica y sobre todo la temperatura. El registro de parámetros de cultivo sirve para controlar el biorreactor de tal modo que se pueden preparar unas condiciones de cultivo óptimas. En particular, el biorreactor controlado por sensores puede trabajar de forma autónoma, lo que posibilita un funcionamiento descentralizado económico.

Opcionalmente, el biorreactor según la invención se puede equipar con una cubierta superior. Ésta puede servir como protección frente a factores meteorológicos extremos, como por ejemplo granizo o similares.

Además, dicha cubierta superior puede servir como un cierre hermético del biorreactor. Si el biorreactor se utiliza por ejemplo para la producción de hidrógeno con ayuda de microalgas, el hidrógeno gaseoso formado se puede difundir a través del material de la placa superior. En este caso, la placa superior no puede estar hecha de vidrio o de un material igualmente impermeable al hidrógeno. En cambio, la cubierta superior ha de estar hecha de vidrio o de otro material impermeable al hidrógeno, de modo que el gas se recoge entre la cubierta superior y la placa superior. Debido a su tamaño y sus propiedades, el hidrógeno se puede difundir a través de la mayoría de los materiales poliméricos.

## ES 2 663 355 T3

La invención se refiere también a un procedimiento para el funcionamiento de un biorreactor, que incluye las siguientes etapas de procedimiento:

- a) preparación de un biorreactor según la invención tal como se describe en los párrafos precedentes;
- b) el volumen de cultivo del biorreactor se llena de un cultivo líquido que contiene microorganismos fotótrofos;
- 5 c) los microorganismos reciben un suministro de nutrientes, que se distribuyen en el medio de cultivo esencialmente por difusión y convección;
  - d) el cultivo se incuba a la luz del día;

10

15

30

35

45

50

e) los microorganismos se cosechan si las células han de ser utilizadas como biomasa o si se han de extraer sustancias que se encuentran en las células, o los metabolitos difundidos en el medio, como por ejemplo hidrógeno, se separan.

El cultivo funciona como cultivo estático (cultivo por lotes) o como cultivo continuo.

Preferiblemente, el biorreactor funciona en orientación horizontal, es decir, esencialmente paralelo a la superficie terrestre.

Por un cultivo por lotes se entiende un procedimiento de cultivo discontinuo, en el que el biorreactor se carga una vez con un cultivo, que permanece dentro del mismo hasta la cosecha. Aquí también se requiere una agitación del cultivo o el suministro de sustancias esenciales como CO<sub>2</sub>.

Un cultivo continuo funciona en servicio permanente. El crecimiento, la multiplicación y la cosecha del cultivo o de los metabolitos tienen lugar de forma continua. Esto significa también que los microorganismos reciben un suministro continuo de nutrientes.

En una realización preferente del procedimiento, en la etapa c) se suministra dióxido de carbono al cultivo a través de membranas permeables al gas. En el procedimiento según la invención, gracias al espesor reducido del biorreactor, el suministro de nutrientes se puede asegurar en suficiente medida esencialmente mediante difusión y mediante una ligera convección (convección por temperatura y agitación ligera del medio de cultivo). Se deberían evitar las energías de bombeo demasiado altas, ya que el reactor se puede hinchar debido a sus características de construcción.

Siempre que el procedimiento según la invención se utilice para la producción de metabolitos gaseosos, los gases formados se separan en la etapa e) preferiblemente por medio de membranas adecuadas. Para ello, por ejemplo una parte de la superficie del reactor se puede sustituir por materiales de membrana. Esta construcción posibilitaría una separación de los gases a través de la placa superior o inferior. No obstante, para ello se requiere otra cubierta por encima y por debajo de las dos placas de reactor, ya que si no los gases se escapan.

Durante la producción de metabolitos gaseosos y la carga simultánea del reactor con CO<sub>2</sub> se pueden formar mezclas de gases. Sin embargo, esto se puede resolver mediante una separación de CO<sub>2</sub>, muy conocida por los expertos.

El biorreactor que aquí se presenta y el procedimiento para su funcionamiento son particularmente adecuados para poder producir microorganismos fotótrofos de forma autónoma y económica. La construcción cerrada de un biorreactor de este tipo permite por ejemplo un funcionamiento en superficies descentralizadas con clima árido y soleado. Los biorreactores según la invención pueden ser utilizados para la producción de hidrógeno con ayuda de microorganismos fotótrofos adecuados.

La invención se explica a continuación con ejemplos de realización y las siguientes figuras.

Figura 1Representación esquemática de un biorreactor según la invención.

40 Figura 2Dibujo esquemático en sección transversal a través del biorreactor según la invención.

En la **Figura 1** está representada esquemáticamente la estructura del biorreactor en construcción en zigzag. El volumen de cultivo **3** se encuentra entre la placa superior **1** y la placa inferior **2**. En este volumen de cultivo **3** se encuentra el cultivo con microorganismos fotótrofos. La irrupción de la luz tiene lugar desde arriba. Se puede ver que la superficie del cultivo es mayor que la superficie total ocupada por el reactor. Debido a la estructura en zigzag, la radiación luminosa incide siempre en ángulo sobre la superficie del cultivo, con lo que la intensidad de la radiación disminuye y la superficie total irradiada aumenta.

El biorreactor de la **Figura 1** está provisto además de una entrada **4** y una salida **5**. La dirección preferente de la corriente en el volumen de cultivo **3** es paralela a las elevaciones y depresiones.

La Figura 2 muestra una sección transversal a través del biorreactor de la Figura 1, que adicionalmente está provisto de una placa de cubierta superior 7 y una placa de cubierta inferior 8. En esta representación se puede ver

# ES 2 663 355 T3

cómo llega el suministro de  $CO_2$  desde el espacio de gas inferior  $\bf 9$  al volumen de cultivo  $\bf 3$  a través de una membrana  $\bf 6$ . Este tipo de aportación de  $CO_2$  se basa esencialmente en la difusión y por lo tanto no requiere ninguna sobrepresión elevada.

#### Listado de referencias numéricas

- 5 1 Placa superior
  - 2 Placa inferior
  - 3 Volumen de cultivo
  - 4 Entrada
  - 5 Salida
- 10 6 Membrana
  - 7 Placa de cubierta superior
  - 8 Placa de cubierta inferior
  - 9 Espacio de gas para el suministro de CO<sub>2</sub>

#### REIVINDICACIONES

- 1. Biorreactor para el cultivo de microorganismos fotótrofos, que incluye un volumen de cultivo continuo con una entrada y una salida que está situado entre dos placas superpuestas a una distancia entre sí, una placa translúcida superior y una placa inferior, estando integradas en la placa inferior membranas, tiras de membrana y/o tubos de membrana permeables al gas, caracterizado por que las dos placas, paralelas entre sí, presentan en cada caso múltiples deformaciones con elevaciones y depresiones en una geometría que se repite regularmente, siendo constante la distancia entre las dos placas en toda la superficie del biorreactor.
- 2. Biorreactor según la reivindicación 1, en el que las múltiples deformaciones con elevaciones y depresiones tienen una forma ondulada o en zigzag.
- 10 3. Biorreactor según las reivindicaciones 1 a 2, en el que las elevaciones y deformaciones tienen una altura total de 1 cm a 20 cm.
  - 4. Biorreactor según las reivindicaciones 1 a 3, en el que la distancia entre la placa superior y la inferior es de 0.1 mm a 40 mm.
  - 5. Biorreactor según las reivindicaciones 1 a 4, en el que la placa superior translúcida está provista de un revestimiento que refleja los IR.
    - 6. Biorreactor según las reivindicaciones 1 a 5, en el que la placa inferior presenta un revestimiento que refleja la luz.
    - 7. Disposición de varios biorreactores según las reivindicaciones 1 a 6, en la que los biorreactores está conectados entre sí en serie o en paralelo a través de las entradas y salidas.
- 20 8. Procedimiento para el funcionamiento de un biorreactor, que incluye las siguientes etapas de procedimiento:
  - a) preparación de un biorreactor según las reivindicaciones 1 a 6,
  - b) preparación de un cultivo líquido con microorganismos fotótrofos que se encuentra en el volumen de cultivo del biorreactor,
- c) suministro de nutrientes para los microorganismos mediante difusión y convección de las sustancias en el medio de cultivo,
  - d) incubación del cultivo a la luz del día,

5

15

- e) cosecha de los microorganismos o de los metabolitos difundidos en el medio, funcionando el cultivo como cultivo estático (cultivo por lotes) o como cultivo continuo.
- 9. Procedimiento según la reivindicación 8, en el que en la etapa c) se suministra dióxido de carbono al cultivo a través de membranas permeables al gas.
  - 10. Procedimiento según la reivindicación 8 o 9, en el que en la etapa de procedimiento e) se transportan metabolitos gaseosos sobre la superficie del líquido, y éstos se separan mediante membranas o materiales de reactor permeables al gas.
- 35 11. Utilización de biorreactores según una de las reivindicaciones 1 a 6 para la producción de hidrógeno mediante microorganismos fotótrofos.

