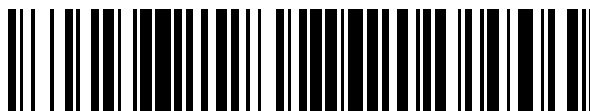


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 532**

51 Int. Cl.:

C12N 1/12 (2006.01)

A23J 3/20 (2006.01)

A23L 17/60 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.05.2016 PCT/FR2016/051163**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.11.2016 WO16185133**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2016 E 16727771 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2020 EP 3298126**

54 Título: **Procedimiento fermentativo de decoloración de la biomasa de Chlorella protothecoides**

30 Prioridad:

19.05.2015 FR 1554442

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.07.2020

73 Titular/es:

**CORBION BIOTECH, INC. (100.0%)
One Tower Place, Suite 600
South San Francisco, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**LE RUYET, MARIE;
SEGUEILHA, LAURENT y
DELAROCHE, SYLVAIN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 773 532 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

Procedimiento fermentativo de decoloración de la biomasa de *Chlorella protothecoides*

La presente invención se relaciona con un procedimiento fermentativo de decoloración de la biomasa de microalgas, más en particular del género *Chlorella*, más en particular aún de la especie *Chlorella protothecoides*.

- 5 Las algas, macro y micro, tienen una riqueza específica en gran parte inexplorada. Su explotación con fines alimentarios, químicos o bioenergéticos es aún muy marginal. Contienen, sin embargo, componentes de gran valor.

Las microalgas son, en efecto, fuentes de vitaminas, lípidos, proteínas, azúcares, pigmentos y antioxidantes.

Las algas y microalgas interesan así al sector industrial, que las utiliza para la fabricación de complementos alimentarios, de alimentos funcionales, de cosméticos, de medicamentos o para la acuicultura.

- 10 La utilización de las biomasa de microalgas (y principalmente sus proteínas) como alimentos tiene una consideración cada vez mayor para encontrar fuentes alternativas a la demanda creciente de proteínas animales a nivel mundial (como informa la FAO).

La Unión Europea, desde hace años, sufre además de un déficit estructural de proteínas vegetales, que se eleva, estos últimos años, a más de 20 millones de toneladas de equivalente de soja, hoy en día importadas de Sudamérica.

- 15 Se contempla entonces la producción de masa de ciertas microalgas ricas en proteínas como una posibilidad de compensar este « déficit de proteínas ».

Análisis exhaustivos y estudios nutricionales han mostrado que estas proteínas de algas son equivalentes a las proteínas vegetales convencionales, incluso de mejor calidad.

- 20 Sin embargo, debido a los elevados costes de producción, así como a las dificultades técnicas para integrar el material procedente de microalgas en preparaciones alimentarias organolépticamente aceptables, la amplia difusión de las proteínas de microalgas está aún en sus inicios.

En efecto, si se dispone comercialmente de polvos de algas, por ejemplo, fabricados con algas cultivadas fotosintéticamente en estanques exteriores o mediante fotobiorreactores, tienen un color verde oscuro (ligado a la clorofila) y un gusto fuerte, desagradable.

- 25 Incluso formulados en productos alimentarios o como complementos nutricionales, estos polvos de algas comunican siempre este color verde visualmente poco atractivo al producto alimentario o al complemento nutricional y tienen un gusto desagradable a pescado o el sabor de algas marinas.

Siempre existe, pues, una necesidad no satisfecha de disponer de composiciones de biomasa de microalgas del género *Chlorella* de calidad organoléptica conveniente que permitan la utilización de éstas en productos alimentarios más numerosos y diversificados.

- 30 Una primera solución propuesta ha sido seleccionar variantes de *Chlorellas* que presentan un bajo contenido o una ausencia de pigmentos clorofílicos. Es así que *Prototheca* se describe clásicamente como una *Chlorella* incolora.

Una segunda solución ha consistido en irradiar con rayos X o UV, en tratar mediante agentes químicos (NTG) o físicos (tratamiento térmico) una cepa parental con el fin de seleccionar mutantes despigmentados.

- 35 Se realiza el cultivo de estos mutantes preferiblemente en condiciones heterotróficas (en la obscuridad y en presencia de una fuente nutritiva carbonada, como la glucosa) con el fin de mantener una presión de selección.

Sin embargo, estas soluciones técnicas no garantizan automáticamente la estabilidad de estas variantes despigmentadas, ni la preservación de la calidad, de la riqueza y/o de la diversidad de los otros componentes de interés de la biomasa.

- 40 Se ha constatado (WO 2014/117163) una reducción de pigmentación de una cepa de *Chlorella* cultivada en condiciones heterotróficas con una razón de oxígeno disuelto del 60-70%, en comparación con una razón de oxígeno disuelto del 30-40%.

Siempre existe, pues, una necesidad no satisfecha de disponer de composiciones de biomasa de microalgas del género *Chlorella* de calidad organoléptica conveniente, que presenten siempre la misma riqueza en componentes de interés, tales como las proteínas, que permitan la utilización de éstas en productos alimentarios más numerosos y diversificados.

- 45

Compendio de la invención

La presente descripción se relaciona con un procedimiento de decoloración de una biomasa de microalgas de tipo *Chlorella* rica en proteínas, caracterizado por que:

- se produce la biomasa de microalgas en condiciones heterotróficas y en condiciones de fermentación continua, y
- se disminuye la coloración de dicha biomasa por aumento de la razón de los índices de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$.

Preferiblemente, se decolora la biomasa de microalgas parametrando la realización de fermentación continua para que la razón de los índices de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$ sea superior o igual a 0,90, preferiblemente superior o igual a 0,95.

5 Preferiblemente, se realiza la fermentación continua en quimiostato.

Preferiblemente, la biomasa de microalgas rica en proteínas presenta un contenido en proteínas de más del 50% expresadas en N 6,25. Preferiblemente, la microalga de tipo *Chlorella* es *Chlorella protothecoides*.

Presentación detallada de la invención

10 La presente descripción se relaciona, pues, con un procedimiento de producción de una biomasa de microalgas de tipo *Chlorella* rica en proteínas controlando la coloración de la biomasa, caracterizado por que:

- se elige producir la biomasa de microalgas en condiciones heterotróficas y en condiciones de fermentación continua,
- se hace variar la coloración de dicha biomasa controlando la razón de los índices de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$.

15 En el sentido de la presente invención, se entiende por « biomasa rica en proteínas » una biomasa que presenta un contenido en proteínas de más del 50%, preferiblemente de más del 53%, aún más preferiblemente de más del 55%, expresadas en N 6,25.

20 Preferiblemente, se seleccionan las microalgas del género *Chlorella* del grupo constituido por *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana* y *Chlorella protothecoides*, y son más particularmente *Chlorella protothecoides*. En un modo de realización particular, la cepa es *Chlorella protothecoides* (cepa UTEX 250 - *The Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin* - EE.UU.). En otro modo de realización particular, la cepa es *Chlorella sorokiniana* (cepa UTEX 1663 - *The Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin* - EE.UU.).

Se ha constatado de manera totalmente sorprendente por los inventores que la coloración guarda una correlación inversa con la razón de los índices de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$: la coloración disminuye cuando la razón de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$ aumenta, y aumenta cuando la razón de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$ disminuye.

25 La biomasa de chlorellas ricas en proteínas de la invención es conocida por su color verde marcado, ligado a su contenido natural en clorofila.

En el sentido de la invención, « la decoloración de la biomasa » se entiende como el paso del color verde de base a un color amarillo, pasando por todas las tonalidades de verde a amarillo.

30 Se puede realizar la medición del color verde o amarillo por medio de cualquier modelo colorimétrico conocido como tal por el experto en la técnica.

Se puede elegir el modelo TSL (acrónimo de Tinción, Saturación, Luminosidad), que se basa en la sensación de la percepción humana, de ahí su nombre de modelo perceptual.

35 Los tres criterios que caracterizan el TSL son la tinción, la saturación y finalmente la luminosidad. La saturación refleja bien la noción intuitiva de coloración, ya que va de los colores vivos hacia el gris. La luminosidad se mide entre el negro (sin luz o valor 0) y el blanco (luz máxima o valor 1).

La principal ventaja del modelo TSL es separar claramente el componente luminosidad de los componentes cromáticos. Tinciones y saturación están en un mismo plano en conformidad con la sensación coloreada del ojo y la luminosidad, por su parte, se sitúa en un eje perpendicular.

40 Es también posible utilizar el sistema L,a,b establecido por la Comisión Internacional de la Iluminación, que consiste en una coordenada cartesiana tridimensional (L, a, b) en donde el eje de las « L » representa la claridad, el eje de las « a » representa una tonalidad de color entre el rojo y el verde, y el eje de las « b » representa una tonalidad de color entre el amarillo y el azul.

45 A título ilustrativo, las tablas siguientes presentan las mediciones realizadas según el modelo TSL y según el sistema L,a,b para los dos colores verdes y amarillos en el extremo de la cadena de color clásicamente medidos para las biomasas según la invención (medidas realizadas por triplicado).

Tabla 1

Verde				Amarillo			
T				S			
L				L			
49				237			
68				188			
51				223			
68				187			
51				217			
68				192			
Desviación estándar				1			
10				4			
0				3			
Media				38			
50				231			
226				189			
68							

Verde				Amarillo			
L				a			
b				b			
49				-26			
52				56			
55				-26			
54				48			
53				-26			
54				48			
Desviación estándar				3			
0				2			
2				1			
Media				97			
52				-9			
-26				49			
54							

- 5 Como se ejemplificará más adelante, la sociedad Solicitante ha elegido expresar el color de la biomasa producida con ayuda del modo TSL, estando el modelo L, a, b más bien adaptado a la medida de las variaciones colorimétricas de los polvos blancos a amarillos (medida del equilibrio de los amarillos, eje « b » o « Yellow index »).
- En cuanto al procedimiento de fermentación continua, hay que entenderlo aquí más particularmente como una realización de fermentación con adición del medio estéril y trasiego realizados en el interior de un mismo ciclo de fermentación.
- 10 Sin embargo, el recurso a este procedimiento de fermentación continua no está destinado aquí a aumentar la productividad de biomasa, sino a controlar el color de la biomasa producida.
- La sociedad Solicitante ha descubierto, en efecto, que, de manera sorprendente e inesperada, era posible hacer variar la coloración de dicha biomasa mediante el control de la razón de los índices de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$.
- 15 Para ilustrar este resultado, la sociedad Solicitante recomienda realizar esta fermentación continua en quimiostato: se suministra entonces el medio fresco a un caudal constante (F), y luego se retira del fermentador al mismo caudal, manteniendo así un volumen de cultivo constante (V).
- En el estado estable, el índice de crecimiento « μ » del cultivo es igual al índice de dilución « D », y se define por la relación $D = F/V$.
- 20 La concentración de biomasa y otros parámetros se estabilizan a valores dependiendo de la dinámica de la fermentación.
- Fundamentalmente, el cultivo en quimiostato permite al experto en la técnica controlar el índice de crecimiento (μ) a un valor inferior a un valor máximo denominado el índice de crecimiento máximo ($\mu_{\text{máx}}$).
- 25 Esto contrasta con los cultivos en modo de lote, en donde la concentración de la biomasa y las condiciones medioambientales (en términos de pH, concentración de nutrientes, etc.) cambian de manera significativa en el curso de la duración (limitada) de la fermentación, y el experto en la técnica no tiene ningún control sobre el índice de crecimiento.
- El factor que determina el índice de crecimiento de una población de células en un quimiostato es el índice de dilución, es decir, el caudal de alimentación del elemento nutritivo limitante.
- En el procedimiento según la descripción, se trata aquí de la glucosa.

En un quimiostato que funciona a un índice de dilución bajo, la glucosa está presente a concentraciones muy bajas en el estado estacionario.

Por consiguiente, la mayoría de los elementos nutritivos se transforman en células y la concentración de la biomasa es elevada (próxima a la concentración celular de un cultivo de lotes equivalente al final de la fase exponencial).

- 5 Cuando el índice de dilución aumenta, la disponibilidad de la glucosa aumenta; sin embargo, la velocidad de eliminación de las células del fermentador es también más elevada y así la concentración de la biomasa cae.

A valores de D próximos a $\mu_{\text{máx}}$, la limitación de nutrientes desaparece por completo, ya que hay demasiadas pocas células en el cultivo que utilizan los nutrientes disponibles.

- 10 Las células que quedan en el fermentador crecen a sus índices de crecimiento máximo, puesto que incluso el nutriente limitante está presente en exceso.

Finalmente, a D superior a $\mu_{\text{máx}}$, ya no se puede mantener un estado de equilibrio y el número de células en los fermentadores comienza a bajar, ya que la velocidad a la cual se producen nuevas células es insuficiente para evitar la dilución por medio de la adición de medio fresco, lo que conduce al lavado de las células del fermentador.

- 15 Estos datos permiten explicar la razón por la cual, si se recomienda la fermentación en quimiostato para aumentar la productividad en glucosa residual nula, el experto en la técnica elegirá conducir el quimiostato de manera que D sea inferior al $\mu_{\text{máx}}$ con el fin de obtener la concentración más elevada en biomasa.

Por su parte, la sociedad Solicitante ha visto que cuanto más se aumentaba μ hacia el valor del $\mu_{\text{máx}}$, más se aumentaba la productividad, pero también más se decoloraba la biomasa producida.

- 20 Como se ejemplificará más adelante, los parámetros utilizados en esta fermentación en continuo son, en función de las condiciones ejemplificadas más adelante, los siguientes:

- pH = 5,2 regulado con amoníaco al 10% (v/v),
- pO_2 = 30% regulado en cascada sobre la agitación,
- aireación: 1 vvm (1,5 l/min).

En el equilibrio:

- 25
- caudal de alimentación = caudal de salida = 0,120 l/h a 0,180 l/h
 - índice de dilución = μ = 0,02 h⁻¹ a 0,12 h⁻¹
 - concentración de biomasa = 50 g/l a 100 g/l
 - concentración de glucosa = 100 g/l a 200 g/l

- 30 En un ejemplo, se equilibra el quimiostato durante 5 renovaciones (62,5 h si D = 0,08 h⁻¹). Se realizan extracciones al final de las 5 renovaciones y más de 7 h después, con el fin de verificar el estado de equilibrio del quimiostato.

Se ha visto así que la biomasa de *Chlorella protothecoides* de base, de color verde, se va a decolorar progresivamente hacia el color amarillo si se aumenta el μ de 0,08 h⁻¹ a 0,1 h⁻¹.

A la inversa, si se reduce el μ de 0,08 h⁻¹ a 0,06 h⁻¹, la coloración de la biomasa se refuerza hacia los tonos verdes.

- 35 Además, y esto es lo primordial en el procedimiento conforme a la descripción, esta realización de fermentación en quimiostato no altera la composición de la biomasa producida.

Como se ejemplificará más adelante, ya sea el índice de crecimiento bajo (0,06 h⁻¹) o alto (0,1 h⁻¹), no se ha constatado ningún efecto importante sobre la composición de la biomasa de *Chlorella protothecoides* producida.

Las principales diferencias son más bien a nivel de las velocidades de producción, que mejoran globalmente con un μ alto.

- 40 A modo de ejemplo, para *Chlorella protothecoides*, los mejores resultados obtenidos permiten alcanzar una productividad de más de 9,5 g de biomasa/l/h conservando un contenido en proteínas expresadas en % de N6,25 de más del 55%.

Una vez más, es más sorprendente constatar que la variación del μ tiene un impacto importante en el color de la biomasa producida.

Sin inclinarse por una teoría cualquiera, la sociedad Solicitante considera, en vista de los resultados obtenidos (en base a la representación por el modelo TSL del tono T de la biomasa en función de la luminosidad L para cada medida), que:

- 5 - las variaciones del tono podrían corresponder a la disminución progresiva de la producción de clorofila que enmascara los otros pigmentos (carotenoides),
- la luminosidad, por su parte, podría ventajosamente corresponder a la disminución de la concentración global de pigmentos.

Como se ejemplificará más adelante, el nivel de color considerado « correcto » es aquél para el cual (para una gama de tono comprendida entre 30 y 60 y una gama de luminosidad comprendida entre 50 y 230):

- 10 - el valor de tono es inferior a 40,
- el valor de luminosidad es superior a 135, preferiblemente superior a 150 y aún más preferiblemente superior o igual a 170.

Se comprenderá mejor la invención con ayuda de los ejemplos.

Descripción de las figuras

- 15 Figura 1: Evolución del O₂ consumido y del CO₂ producido en función del índice de dilución impuesto.
- Figura 2: Evolución de la absorbancia, de la glucosa y del contenido en biomasa en función del índice de dilución impuesto.
- Figura 3: Evolución del tono y de la luminosidad en función del índice de dilución impuesto.
- Figura 4: Evolución del tono en función de la razón de los índices de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$.
- 20 Figura 5: Evolución de la luminosidad en función de la razón de los índices de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$.
- Figura 6: Evolución del tono y de la luminosidad en función de la razón de los índices de dilución D/D_{máx}.

Ejemplos

Ejemplo 1: Determinación del valor de $\mu_{\text{máx}}$ y evolución del color de la biomasa en función de la razón $u/\mu_{\text{máx}}$ en acelerostato

- 25 La cepa utilizada es *Chlorella protothecoides* UTEX250 (*The Culture Collection of Algae at the University of Texas at Austin* - EE.UU.).
- Se realiza la fermentación en acelerostato, variante del quimiostato donde el fermentador no entra nunca en equilibrio dinámico estacionario. De hecho, el D aumenta de manera lineal y progresiva partiendo de un valor bajo.
- El interés de esta técnica es el estudio de una gran gama de índices de dilución, así como el acceso rápido y preciso al $\mu_{\text{máx}}$ de la cepa en las condiciones utilizadas.
- 30 Las condiciones de fermentación son las siguientes, para la producción de 100 g/l de biomasa:

Medio de alimentación

- Glucosa: 200 g/l
- (NH₄)₂SO₄: 1 g/l
- 35 - NH₄H₂PO₄: 8 g/l
- MgSO₄, 7 H₂O: 4,8 g/l
- FeSO₄, 7 H₂O: 0,020 g/l
- CaCl₂, 7 H₂O: 0,050 g/l
- ZnSO₄, 7 H₂O: 0,025 g/l
- 40 - MnSO₄, 1 H₂O: 0,020 g/l
- CuSO₄, 5 H₂O: 0,001 g/l

- Tiamina.HCl: 0,020 g/l
- Biotina: 0,001 g/l
- Piridoxina: 0,010 g/L

Realización de fermentación:

- 5
 - Llevar a pH 5,2 con NH_4OH al 10% (p/v)
 - Temperatura de incubación: 28°C
 - Inóculo: 0,5 l de un Erlen de precultivo que presenta una $\text{DO}_{750 \text{ nm}} = 15$ en un fermentador de 2 l (1,5 l de medio sin agitación antes de la adición)
 - Pulso de antiespumante SIGMA S208 50% etanol (v/v) al ritmo de un pulso de 1 segundo por hora
- 10
 - Agitación: 300 rpm al inicio
 - Aireación: 1,5 l/min de aire
 - Regulación pO_2 : 30%

El análisis de los gases (O_2/CO_2), la absorbancia a 750 nm, la concentración de glucosa y el peso de células son los parámetros medidos con el fin de determinar el valor del $\mu_{\text{máx}}$.

- 15 La figura 1 presenta la evolución del O_2 consumido y del CO_2 producido en función del índice de dilución impuesto. Parece ser que el O_2 y el CO_2 evolucionan progresivamente hasta $0,05 \text{ h}^{-1}$, y luego las curvas se invierten bruscamente.

En paralelo, se siguen de manera cinética medidas de gases y la evolución de la absorbancia, de la glucosa y del contenido en biomasa.

La figura 2 presenta los resultados obtenidos.

- 20 Una vez más, a partir de $0,05 \text{ h}^{-1}$ hay:
 - comienzo de acumulación de glucosa residual,
 - inflexión de la curva de biomasa (inicialmente estable a 75 g/l de células secas),
 lo que indica que el quimiostato comienza a entrar en fase de lavado, es decir, que el μ impuesto se vuelve más elevado que el $\mu_{\text{máx}}$ de la cepa en las condiciones impuestas.

- 25 El sistema elimina, pues, más deprisa las células para que no se reproduzcan, lo que provoca la disminución de la carga de células del reactor, la subida del O_2 no consumido y la disminución del CO_2 producido.

La bajada de la absorbancia traduce igualmente la bajada del contenido en biomasa a partir de un μ de $0,05 \text{ h}^{-1}$.

Resulta de todos estos análisis que el $\text{Dmáx} = \mu_{\text{máx}} = 0,05 \text{ h}^{-1}$, en las condiciones de fermentación elegidas.

Se efectúan las mediciones de color de la biomasa producida según el modelo TSL.

- 30 La figura 3 presenta la evolución del color (tono y luminosidad) en función de los índices de dilución.

La evolución de las curvas de tono y de luminosidad es directamente dependiente del $\mu_{\text{máx}}$.

Tres representaciones gráficas permiten ilustrar la evolución del color en función de la razón $\mu/\mu_{\text{máx}}$:

- evolución del tono en función de la razón $\mu/\mu_{\text{máx}}$ (figura 4),
- evolución de la luminosidad en función de la razón $\mu/\mu_{\text{máx}}$ (figura 5),

- 35 Se deduce de ello que:

- El color evoluciona muy fuertemente a lo largo de todo el acelerostato (es decir, en función del valor del D),
- La biomasa más amarilla y decolorada se obtiene cuando el μ tiende hacia el $\mu_{\text{máx}}$, en las condiciones operativas escogidas.

Ejemplo 2: Evolución del color de la biomasa en función del índice de dilución (y, por lo tanto, del valor de u) de puntos de equilibrio en quimiostato

Se realizan quimiostatos en condiciones idénticas al ejemplo 1, pero con un medio dos veces menos concentrado, de forma que la concentración de biomasa en el equilibrio es de 50 g/l. El $\mu_{\text{máx}}$ en este medio es $0,104 \text{ h}^{-1}$.

- 5 Se realizaron las mediciones siguientes a diferentes índices de dilución una vez obtenido el equilibrio (5 renovaciones). Confirman el efecto de la razón $\mu/\mu_{\text{máx}}$ sobre la coloración:

Tabla 2

Ensayos	1	2	3	4
D (h^{-1})	0,102	0,028	0,088	0,064
$\mu/\mu_{\text{máx}}$	0,98	0,27	0,85	0,61
Tono	36	52	47	48
Luminosidad	171	68	86	81

- 10 Por el contrario, la composición de la biomasa no se modifica significativamente, como lo muestran los contenidos en proteínas (N 6.25 y Aminoácidos Totales), ácidos grasos y azúcares totales que se dan a continuación.

Tabla 3

Ensayos	1	2	3	4
N 6.25 (% sec)	60,0	56,1	54,2	57,2
Aminoácidos totales (% sec)	37,6	40,6	39,5	40,6
Ácidos grasos totales (% sec)	8,4	7,0	7,2	7,6
Azúcares totales (% sec)	31,2	24,8	30,1	26,2

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de decoloración de una biomasa de microalgas de tipo *Chlorella* rica en proteínas, caracterizado por que se produce la biomasa de microalgas en condiciones heterotróficas y en condiciones de fermentación continua, disminuyendo la coloración de dicha biomasa mediante el aumento de la razón de los índices de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$, de forma que el valor de tono es inferior a 40 y el valor de luminosidad es superior a 135, definiéndose el tono (T) y la luminosidad (L) en el modelo perceptual colorimétrico TSL.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que se decolora la biomasa de microalgas parametrando la realización de fermentación continua de manera que la razón de los índices de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$ sea superior o igual a 0,90.
3. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que se decolora la biomasa de microalgas parametrando la realización de fermentación continua de manera que la razón de los índices de crecimiento $\mu/\mu_{\text{máx}}$ sea superior o igual a 0,95.
4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que el elemento nutritivo limitante del medio de alimentación de la biomasa de microalgas es la glucosa.
5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que se realiza la fermentación continua en quimiostato.
6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que la biomasa de microalgas rica en proteínas presenta un contenido en proteínas de más del 50% expresadas en N 6,25.
7. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que la microalga de tipo *Chlorella* es *Chlorella protothecoides*.

Figura 1

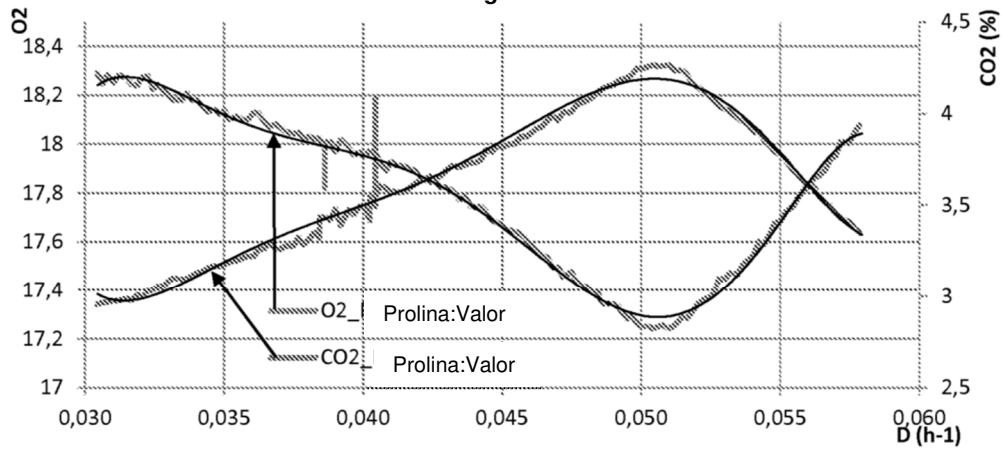


Figura 2

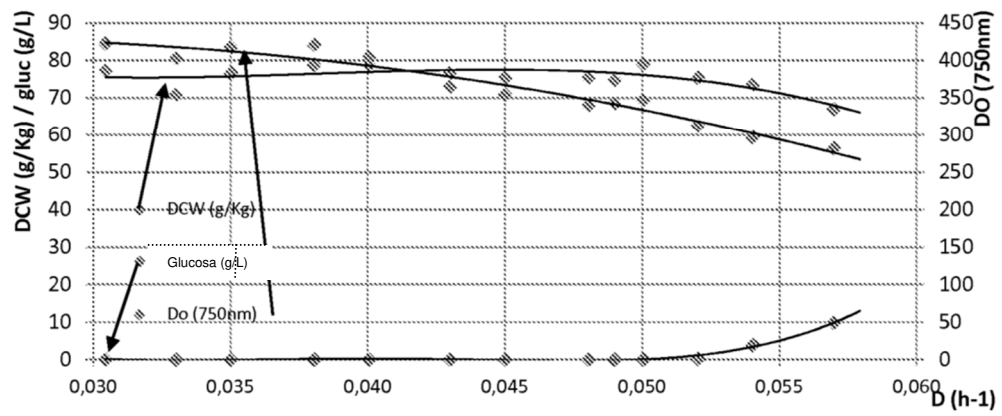


Figura 3

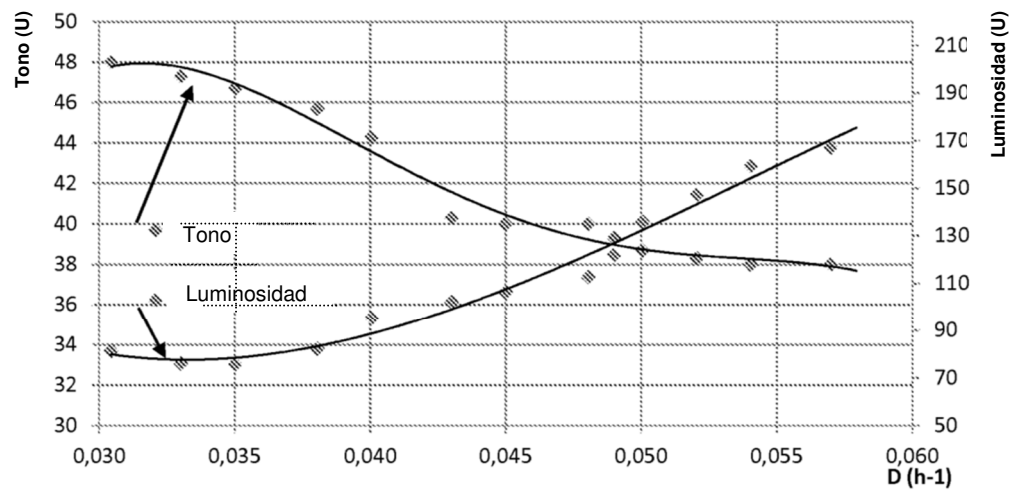


Figura 4

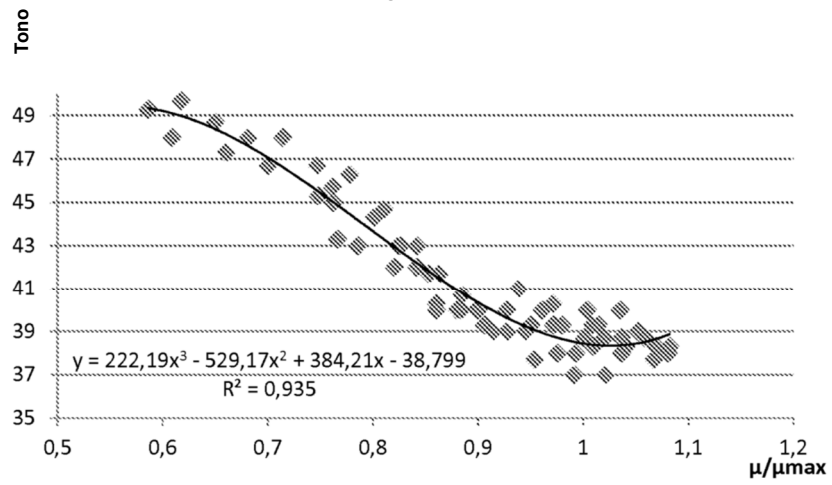


Figura 5

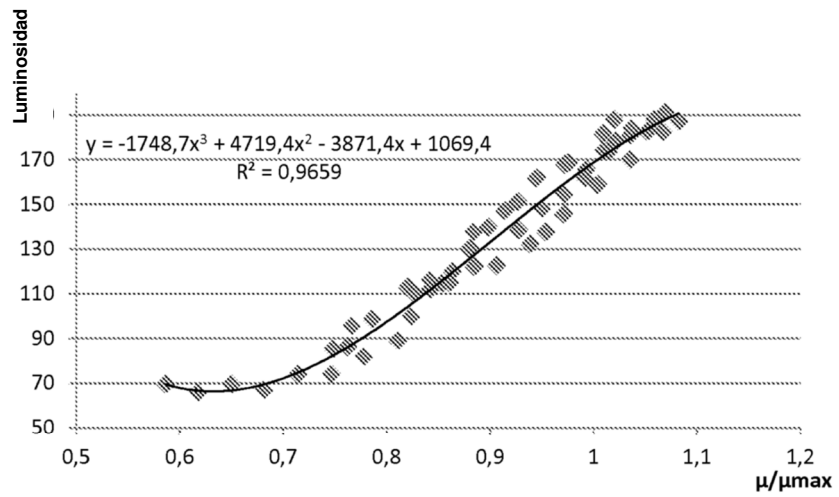


Figura 6

