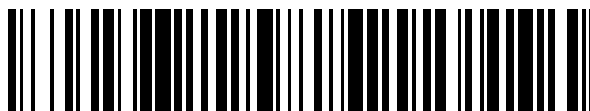


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 786 086**

51 Int. Cl.:

C12M 1/00 (2006.01)

C12N 1/06 (2006.01)

B02C 17/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.07.2014 PCT/FR2014/051704**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.01.2015 WO15001261**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.07.2014 E 14745206 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2020 EP 3017033**

54 Título: **Procedimiento optimizado de ruptura de las paredes de algas Chlorella mediante molienda mecánica**

30 Prioridad:

04.07.2013 FR 1356577

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

08.10.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**TOURSEL, BÉATRICE;
DELANNOY, FRANÇOIS y
PATINIER, SAMUEL**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 786 086 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 optimizado de ruptura de las paredes de algas *Chlorella* mediante molienda mecánica

La presente invención se refiere a un procedimiento optimizado de ruptura de las paredes celulares de las microalgas del género *Chlorella*, más particularmente *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana* o *Chlorella protothecoides* a escala industrial.

Antecedentes de la técnica

Es bien conocido por los expertos en la técnica que las algas *Chlorella* son una fuente potencial de nutrición porque son ricas en proteínas y otros nutrientes esenciales.

Dichas algas incluyen especialmente 45 % de proteínas, 20 % de materias grasas, 20 % de hidratos de carbono, 5 % de fibra y 10 % de minerales y vitaminas.

Para utilizar eficazmente el alga *Chlorella* en alimentación, a menudo es preciso recurrir a la "disrupción celular" para facilitar su digestibilidad y su tasa de absorción.

Esta "disrupción celular" de las microalgas está bien descrita en las publicaciones de patentes y no patentes mediante el empleo de tecnologías variadas:

- físicas (ultrasonidos, microbolas, choques térmicos, alta presión ...)
- químicas (ácidos, álcalis, disolventes orgánicos hidrófilos ...)
- enzimáticas (celulasa, lipasa ...).

Estas tecnologías están descritas, por ejemplo, en las solicitudes de patente o patentes KR 2012/0064786, CN 101756300, JPH 0568536, JPS 4971187 o US 5330913 o en artículos científicos como los de SANDER & MURTHY, 2009, en ANASABE Annual International Meeting, o ZHENG et al., 2011, en Applied Biochemistry, 164, 7,1215-1224.

Sin embargo, en general es de lamentar que estas diferentes vías mecánicas, químicas o enzimáticas sean poco extrapolables a la escala industrial.

Las dificultades son en efecto importantes cuando es necesario tratar la biomasa de microalgas:

- de densidad celular elevada (> 100 g/l), y/o
- cuya pared celular presenta una resistencia mecánica particularmente elevada.

Este es el caso de la gran mayoría de las microalgas del género *Chlorella*.

La elección tecnológica de los métodos de disrupción celular se vuelve aún más limitada cuando, a las dificultades relacionadas con la fisiología de las microalgas, se añaden restricciones industriales del tipo:

- alta capacidad de producción,
- fiabilidad,
- costes operacionales,
- costes de inversión ...

Finalmente, a escala industrial, los expertos en la técnica prefieren las tecnologías de molienda mecánica en detrimento de las vías químicas y enzimáticas, más particularmente con dos opciones:

- la molienda por microbolas, o
- la tecnología de ruptura a alta presión.

De todos modos, la molienda de microorganismos necesita un aporte energético importante y, por lo tanto, tiene un impacto no despreciable sobre el precio de coste.

Esto es particularmente cierto en las microalgas de tipo *Chlorella* que presentan una pared muy resistente.

La tecnología "Bead Mill" (molino de bolas horizontal) constituye una opción tecnológica capaz de responder a estas diferentes problemáticas. El documento WO 2012109642 A describe la molienda de microalgas en un molino de bolas.

Sin embargo, su impacto en cuanto a:

- gastos de inversión de capital, en particular en costes de desarrollo y de piezas no consumibles (acrónimo "CAPEX") y
- gastos de explotación, especialmente energéticos (acrónimo "OPEX"),

5 es importante y necesita una optimización para mejorar la eficacia de la instalación.

El conjunto de estas limitaciones tanto tecnológicas como financieras constituye un freno para el desarrollo de esta tecnología "Bead Mill" a escala industrial.

Objetivo de la invención

10 Para resolver estas limitaciones, la compañía solicitante ha optado por llevar a cabo sus trabajos sobre el control de la tecnología de molienda de bolas para conseguir optimizar los costes energéticos (OPEX), así como la capacidad de inversión necesaria para lograrlo (CAPEX).

Para ello, la compañía solicitante ha optado por llevar a cabo, a escala de laboratorio, un estudio de evaluación del impacto de los parámetros clave de comportamiento de esta tecnología de molienda de bolas, parámetros clave que condicionan a escala industrial la optimización de OPEX y de CAPEX.

15 Estos parámetros clave son:

- o la densidad de las bolas,
- o el diámetro de las bolas,
- o el factor de carga de la cámara de molienda,
- o el modo de pase,
- 20 o la velocidad periférica de los discos de molienda,
- o la concentración celular.

Estos trabajos han llevado a la compañía solicitante a proponer un procedimiento de molienda mecánica, a escala industrial, de células de microalgas del género *Chlorella*, siendo llevada a cabo la molienda mecánica en un sistema de tipo molino de bolas horizontal, caracterizado porque:

- 25
- las bolas presentan una densidad aparente comprendida entre 2 y 3,5 kg/l, y
 - el factor de carga de la cámara de molienda es superior al 80 %.

Preferiblemente, las microalgas del género *Chlorella* se eligen del grupo que consiste en *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana* y *Chlorella protothecoides*, y son más particularmente *Chlorella protothecoides*.

Preferiblemente, el procedimiento según la invención comprende:

- 30
- la utilización de bolas de silicato de circonio, y/o
 - un factor de carga superior o igual al 85 %.

Un primer modo de realización del procedimiento según la invención comprende la realización de la molienda en modo continuo, por pases sucesivos en serie.

35 Un segundo modo de realización del procedimiento según la invención comprende la utilización de bolas que tienen un diámetro inferior a 1 mm, preferiblemente inferior a 0,8 mm.

La compañía solicitante ha encontrado por otra parte, que una combinación particular de los parámetros de realización de la molienda mecánica de microalgas del género *Chlorella*, en particular *Chlorella protothecoides*, podría permitir optimizar el OPEX en detrimento del CAPEX, y a la inversa.

40 La compañía solicitante ofrece así variantes de su procedimiento según la invención, que permiten a los expertos en la técnica elegir su configuración a la vista de sus especificaciones (ganancia en términos de energía de consumo o de coste de inversión en materiales) .

Por lo tanto, para optimizar el OPEX, la compañía solicitante ha encontrado que una primera variante puede ser moderar la densidad de las microalgas a moler, a un nivel por ejemplo, inferior a 250 g/l.

Una segunda variante puede ser la elección de una velocidad periférica de los discos de molienda moderada, por ejemplo, inferior a 10 m/s.

Sin que estas dos variantes sean mutuamente excluyentes. El procedimiento puede presentar estas dos variantes o una de las dos.

- 5 Para optimizar el CAPEX, la compañía solicitante ha encontrado que, por el contrario, era necesario aumentar la densidad celular de las microalgas a moler, a un nivel, por ejemplo, superior a 250 g/l.

Una segunda variante puede ser la elección de una mayor velocidad periférica de los discos de molienda, por ejemplo, superior a 10 m/s.

- 10 Aquí nuevamente, sin que estas dos variantes sean mutuamente excluyentes. El procedimiento puede presentar estas dos variantes o una de las dos.

Descripción detallada de la invención.

La compañía solicitante ha encontrado que el aprovechamiento razonado de la tecnología de molienda mecánica para romper la pared de las microalgas del género *Chlorella*, con ayuda de un molino de bolas horizontal, permite alcanzar la tasa de molienda deseada a la vez que optimiza los costes energéticos. (OPEX) y los costes de inversión (CAPEX).

- 15 La mejora del funcionamiento global de la instalación se basa así sobre la elección de los parámetros precisos que permiten optimizar el OPEX y el CAPEX o encontrar el mejor equilibrio.

Por lo tanto el procedimiento, según la invención, de molienda mecánica, a escala industrial, de células de microalgas del género *Chlorella*, molienda mecánica realizada en un sistema de tipo molino de bolas horizontal, se caracteriza porque:

- 20 - las bolas presentan una densidad aparente comprendida entre 2 y 3,5 kg/l, y
- el factor de carga de la cámara de molienda es superior o igual al 80 %.

Densidad aparente de las bolas

- 25 Como se ejemplificará a continuación, las bolas de silicato de circonio presentan las mejores características para esta aplicación al limitar la energía específica requerida para alcanzar la tasa de molienda deseada. Por lo tanto, la densidad aparente está comprendida entre 2 y 3,5 kg/l, preferiblemente entre 2 y 3,2 kg/l.

Factor de carga

El factor de carga se define como el volumen vacío de la cámara de molienda menos el volumen ocupado por el sistema de agitación (generalmente definido por el proveedor).

- 30 La energía específica con un factor de carga más bajo es ligeramente más elevada que con un factor de carga alto. Además, se mejora la productividad.

Por consiguiente, preferiblemente, el procedimiento según la invención comprende:

- la utilización de bolas de silicato de circonio, y/o
- un factor de carga superior o igual al 85 %.

Preferiblemente, el procedimiento utiliza bolas de silicato de circonio y un factor de carga superior al 85 %.

- 35 El factor de carga puede estar comprendido entre 80 y 95 %, especialmente entre 85 y 90 %

Un primer modo de realización del procedimiento según la invención comprende la realización de la molienda en modo continuo, por pases sucesivos en serie.

La operación de molienda de bolas se lleva a cabo convencionalmente según varios esquemas de funcionamiento: recirculación, pase único, pases múltiples...

- 40 En una configuración industrial, es preferible un sistema continuo e implica un modo de funcionamiento de un solo pase o de múltiples pases.

Como se ejemplificará a continuación, el rendimiento se mejora al aumentar el número de pases, ya que se obtiene una tasa de molienda mayor con un tiempo de permanencia equivalente y sin aumento significativo de la energía específica.

En el procedimiento según la invención, será preferible un modo de pases múltiples (varios molinos en serie) para la optimización del procedimiento a escala industrial. En particular, el procedimiento puede comprender 2, 3, 4, 5 pases o más.

- 5 Un segundo modo de realización del procedimiento según la invención comprende la utilización de bolas que tienen un diámetro inferior a 1 mm, preferiblemente inferior a 0,8 mm. En un modo de realización particular, las bolas tienen un diámetro comprendido entre 0,3 y 0,8 mm.

El impacto del diámetro de las bolas de molienda se estudia sobre una misma serie de silicato de circonio (bolas de la misma densidad) con un diámetro que varía de 0,3 mm a 1,7 mm.

- 10 Como se ejemplificará a continuación, las bolas de diámetro pequeño permiten un mejor rendimiento energético así como una mejor productividad.

Para permitir que los expertos en la técnica puedan elegir su configuración en virtud de sus especificaciones (potenciar el OPEX o el CAPEX), la compañía solicitante ofrece variantes de su procedimiento según la invención.

La compañía solicitante ha encontrado que se podrían proponer estas opciones actuando sobre:

- la densidad celular de las microalgas del género *Chlorella* a ser molidas,
- 15 - la velocidad periférica de los discos de molienda.

Densidad celular

El impacto de la concentración celular de la biomasa sobre la eficacia de la molienda se evalúa eligiendo una biomasa procedente de un mismo lote de producción, preparada a varias concentraciones (20 %, 25,2 % y 32,9 %).

- 20 La molienda se efectúa en las mismas condiciones y los resultados se comparan en relación con la materia seca de las muestras generadas de este modo.

La interpretación de los resultados se realiza desde dos puntos de vista diferentes:

- analizando el impacto de la concentración celular sobre la energía específica de molienda requerida para obtener una tasa de molienda definida,
 - analizando desde el punto de vista de la productividad, el caudal de introducción de la biomasa (con respecto a la biomasa seca) en comparación con la tasa de molienda deseada.
- 25

Velocidad periférica de los discos de molienda

La optimización de la molienda necesita definir también la velocidad periférica óptima de los discos de molienda.

La interpretación de los resultados se realiza también desde dos puntos de vista diferentes.

- analizando la energía específica de molienda en función de la velocidad periférica,
- 30 - analizando desde el punto de vista de la productividad, según la velocidad periférica, el caudal necesario para alcanzar la tasa de molienda deseada.

Por otra parte, se debe considerar la problemática de abrasión de los discos y de la cámara de molienda, así como la problemática de desgaste de las bolas, ya que pueden tener un impacto económico no despreciable sobre el procedimiento.

- 35 La compañía solicitante recomienda entonces limitar la velocidad periférica a un valor inferior a 15 m/s (o incluso 13 m/s) para evitar una abrasión excesiva.

Ha sido de esta manera como, en el caso de la molienda de una *Chlorella*, en particular del tipo *Chlorella protothecoides*, para optimizar el OPEX, la compañía solicitante ha encontrado que una primera variante puede ser:

- moderar la densidad de las microalgas a moler a un nivel inferior a 250 g/l y/o
- 40 - elegir una velocidad periférica de los discos de molienda inferior a 10 m/s.

Preferiblemente, la densidad de las microalgas a moler está comprendida entre superior o igual a 150 g/l e inferior a 250 g/l. Preferiblemente, la velocidad periférica de los discos de molienda es superior o igual a 6 m/s e inferior a 10 m/s.

Para optimizar el CAPEX, en el caso de la molienda de una *Chlorella*, en particular del tipo *Chlorella protothecoides*, la compañía solicitante ha encontrado que, por el contrario, era necesario:

- aumentar la densidad celular de las microalgas a moler hasta un nivel superior a 250 g/l y/o
- elegir una velocidad periférica de los discos de molienda superior a 10 m/s.

- 5 Preferiblemente, la densidad de las microalgas a moler está comprendida entre superior a 550 g/l e inferior o igual a 350 g/l. En particular, la velocidad periférica de los discos de molienda puede estar comprendida entre 10 m/s y 15 m/s, preferiblemente entre 11 m/s y 13 m/s.

Por supuesto, la presente invención se refiere a cualquier combinación de modos de realización descritos en la presente solicitud.

- 10 Por "escala industrial" se entiende preferiblemente un procedimiento en el que:

- el volumen de la cámara de molienda es superior o igual a 100 litros, preferiblemente a 500 litros; y/o
- el caudal es superior a 1 m³/h; y/o
- un lote de 1 a 200 m³.

- 15 La invención se comprenderá mejor con ayuda de los ejemplos que siguen, los cuales pretenden ser ilustrativos y no limitativos.

Ejemplos

Ejemplo 1. Preparación de una biomasa de microalgas *Chlorella protothecoides* y presentación de las herramientas utilizadas

El protocolo de fermentación es una adaptación del descrito en general en la solicitud de patente WO 2010/120923.

- 20 El fermentador de producción es inoculado con un precultivo de *Chlorella protothecoides*. El volumen después de la inoculación alcanza los 9.000 L

La fuente de carbono empleada es un jarabe de glucosa al 55 % p/p esterilizado mediante la aplicación de un baremo de tiempo/temperatura.

- 25 La fermentación es una fermentación alimentada ("fed-batch") durante la cual se ajusta el caudal de glucosa para mantener una concentración de glucosa residual de 3 a 10 g/L.

La duración del fermentador de producción es de 4 a 5 días.

Al final de la fermentación, la concentración celular alcanza 185 g/L.

Durante la fase de alimentación de glucosa, el contenido de nitrógeno en el medio de cultivo está limitado para permitir la acumulación de lípidos hasta un total de 50 % (en peso de biomasa).

- 30 La temperatura de fermentación se mantiene a 28 °C.

El pH de la fermentación antes de la inoculación se ajusta a 6,8 y después se regula a este mismo valor durante la fermentación.

El oxígeno disuelto se mantiene en un mínimo del 30 % controlando la aireación, la contrapresión y la agitación del fermentador.

- 35 El mosto de fermentación se trata térmicamente sobre una zona HTST con un baremo de 1 min a 75 °C y se enfría a 6 °C.

La biomasa se lava después con agua potable descarbonatada con una relación de dilución de 6 a 1 (agua/mosto) y se concentra a 250 g/L (25 % DCW "Peso de célula seca") mediante centrifugación utilizando una Alfa Laval FEUX 510 .

- 40 Tecnología de molienda de bolas

La biomasa de fermentación así preparada se utiliza para realizar un cribado de los parámetros de molienda sobre un molino de bolas de laboratorio tipo "Bead Mill":

Tipo de máquina	LabStar LS1
Equipo	LME
Volumen de la cámara (litros)	0,7
Velocidad periférica (m/s)	8 a 12
Caudal de alimentación (kg/h)	10 a 90
Materiales de las bolas	Vidrio Sílice de circonio Óxido de circonio
Diámetro de las bolas (mm)	0,3 a 1,7
Factor de carga (%)	80 a 90 %

Los resultados de los parámetros estudiados se caracterizan por varios puntos obtenidos por varios pases sucesivos a caudal constante.

- 5 Las curvas así obtenidas para cada serie de parámetros analizados se comparan entonces de forma relativa entre ellas en términos de energía específica o de productividad.

Por otra parte, para el estudio de un parámetro específico, la biomasa utilizada para el ensayo procede del mismo lote para obviar la variabilidad de la composición de un lote a otro.

Medida de la tasa de disrupción celular:

- 10 La medida de la tasa de molienda se efectúa por recuento microscópico de las células residuales después de la molienda en relación con la muestra inicial de referencia.

Las muestras se diluyen a 1/800. El análisis se efectúa por recuento sobre una célula de Malassez según el método de utilización estándar bajo un microscopio óptico con un aumento de 10×40 .

La tasa de disrupción celular se determina mediante el cálculo del porcentaje de células residuales en relación con la muestra inicial de referencia.

- 15 Ejemplo 2. Optimización de los parámetros de molienda.

Densidad de las bolas

El impacto de la densidad de las bolas de molienda se estudia a partir de una selección de bolas de materiales que tienen densidades diferentes pero del mismo diámetro (0,6 mm):

Bolas	Vidrio		ZS (Silicato de circonio)		ZO (Óxido de circonio)	
Densidad (kg/L)	2,5		4		6	
Densidad aparente (kg/L)	1,5		2,5		3,6	
Composición química	SiO ₂ (%)	72,5	ZrO ₂ (%)	55-65	ZrO ₂ + HfO ₂ (%)	95
	Na ₂ O (%)	13	SiO ₂ (%)	35-40	Y ₂ O ₃ (%)	5
	CaO (%)	9				
	MgO (%)	4				

- 20 La comparación de los resultados obtenidos, presentados en la figura 1, a una tasa de molienda equivalente según el material de las bolas utilizadas en las mismas condiciones operatorias, pone de relieve una diferencia importante en la energía específica consumida.

Las bolas de alta densidad (ZO - óxido de circonio) dan lugar a un consumo de energía específica claramente más importante que las bolas de silicato de circonio.

- 25 Aunque las bolas de vidrio tienen una densidad más baja, los rendimientos obtenidos son peores, porque necesitan un mayor número de pases para alcanzar la tasa de molienda deseada, lo que genera un consumo superior de energía específica.

Las bolas de silicato de circonio presentan los mejores rendimientos para esta aplicación al limitar la energía específica requerida para lograr la tasa de molienda deseada.

- 30 Diámetro de las bolas

El impacto del diámetro de las bolas de molienda se estudia sobre una misma serie de silicato de circonio (bolas de la misma densidad) con un diámetro que varía de 0,3 mm a 1,7 mm.

Los resultados obtenidos, presentados en la figura 2, en las mismas condiciones operatorias variando solamente el diámetro de las bolas, ponen de relieve un fuerte impacto de este parámetro sobre la eficacia de molienda.

- 5 Con diámetro alto (aquí 1,7 mm), el número de pases, así como la energía específica requerida para alcanzar la tasa de molienda deseada, es significativamente más elevado que con diámetro pequeño.

La diferencia entre las bolas de 0,3 mm y 0,6 mm es menos significativa. Las bolas de diámetro pequeño permiten un mejor rendimiento energético, así como una mejor productividad.

Factor de carga de la cámara

- 10 Como se muestra en la figura 3, la energía específica con factor de carga bajo es ligeramente más elevada que cuando el factor de carga es alto.

Además, se mejora la productividad (en las mismas condiciones operatorias, la tasa de molienda obtenida en el primero y segundo pases es más elevada al 90 % que al 80 % de factor de carga).

Esquema de funcionamiento - impacto del modo de pase

- 15 Como se muestra en la figura 4, en términos de tiempo de permanencia en la cámara de molienda, los tres esquemas de funcionamiento ensayados (pase único, pases múltiples) son equivalentes (1 pase a 30 kg/h / 2 pases a 60 kg/h / 3 pases a 90 kg/h).

Por otra parte, la energía específica de molienda es casi equivalente para estos tres esquemas.

- 20 Sin embargo, se mejora el rendimiento aumentando el número de pases puesto que se obtiene una tasa de molienda más alta con un tiempo de permanencia equivalente y sin aumento significativo de la energía específica.

Será preferible por lo tanto, un modo de pases múltiples (varios molinos en serie) para la optimización del procedimiento a escala industrial.

Velocidad periférica de los discos de molienda

- 25 Según la figura 5: analizando relativamente la energía específica de molienda en función de la velocidad periférica, la posición relativa de las curvas entre ellas pone en evidencia que a una tasa de molienda definida, un funcionamiento a alta velocidad periférica necesita una energía específica significativamente más elevada.

La molienda a velocidad periférica moderada permite, por lo tanto, alcanzar mejores rendimientos energéticos.

Según la figura 6: analizando desde el punto de vista de la productividad, a una velocidad periférica más alta, se obtiene un caudal superior para alcanzar la tasa de molienda deseada.

- 30 La productividad de una instalación será más elevada cuando se aumente la velocidad periférica.

Para optimizar una instalación industrial, se debe definir un equilibrio entre los costes operacionales (OPEX) optimizados a velocidad periférica moderada y los gastos de inversión (CAPEX) minimizados a velocidad periférica alta.

- 35 Por otra parte, se debe considerar la problemática de abrasión de los discos y de la cámara de molienda, así como la problemática de desgaste de las bolas, ya que pueden tener un impacto económico no despreciable sobre el procedimiento.

Es preferible limitar la velocidad periférica a un valor inferior a 15 m/s (o incluso 13 m/s) para evitar una abrasión excesiva.

Densidad celular

- 40 Además de los parámetros físicos de la instalación de molienda de bolas, ciertos criterios sobre la biomasa a moler pueden tener un impacto no despreciable sobre la eficacia de la molienda.

De esta manera, se evalúa el impacto de la concentración celular de biomasa sobre la eficacia de la molienda.

Se prepara una biomasa procedente del mismo lote de producción en varias concentraciones (20 %, 25,2 % y 32,9 %).

- 45 La molienda se efectúa en las mismas condiciones y los resultados se comparan en relación con la materia seca de las muestras generadas de este modo.

Según la figura 7: analizando relativamente el impacto de la concentración celular sobre la energía específica de molienda requerida para obtener una tasa de molienda definida, se ponen de relieve diferencias importantes.

A una concentración celular alta, la energía específica consumida a una tasa de molienda dada es claramente superior a la de una concentración celular más baja.

- 5 La molienda de una biomasa celular a una concentración moderada permite por lo tanto alcanzar mejores rendimientos energéticos que a una concentración alta.

Según la figura 8: analizando desde el punto de vista de la productividad, a una concentración celular alta, una instalación equivalente permitirá pasar un caudal superior logrando así la tasa de molienda deseada.

En otras palabras, la productividad de una instalación será más alta cuando se aumente la concentración celular.

10 **Descripción de las figuras**

Figura 1: Impacto de la densidad de las bolas (diámetro 0,6 mm) sobre la eficacia de la molienda

Figura 2: Impacto del diámetro de las bolas (ZS) sobre la eficacia de la molienda

Figura 3: Impacto del factor de carga de la cámara sobre la eficacia de la molienda

Figura 4: Impacto del modo de pase sobre la eficacia de la molienda

- 15 Figura 5: Impacto de la velocidad periférica sobre la energía específica de molienda

Figura 6: Impacto de la velocidad periférica sobre la productividad de la operación de molienda.

Figura 7: Impacto de la concentración celular sobre la energía específica de molienda

Figura 8: Impacto de la concentración celular sobre la productividad de la operación de molienda

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de molienda mecánica, a escala industrial, de células de microalgas del género *Chlorella*, siendo realizada la molienda mecánica en un sistema de tipo molino de bolas horizontal, caracterizado porque:
- las bolas de silicato de circonio presentan una densidad aparente comprendida entre 2 y 3,5 kg/l,
- 5 - el factor de carga de la cámara de molienda es superior al 80 %, preferiblemente superior o igual al 85 %,
- la molienda mecánica se realiza en modo continuo por pases sucesivos en serie.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado porque las microalgas del género *Chlorella* se eligen del grupo que consiste en *Chlorella vulgaris*, *Chlorella sorokiniana* y *Chlorella protothecoides*, y son más particularmente *Chlorella protothecoides*.
- 10 3. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, caracterizado porque las bolas presentan un diámetro inferior a 1 mm, preferiblemente inferior a 0,8 mm.
4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para optimizar los costes energéticos de una instalación industrial de molienda de microalgas del tipo *Chlorella*, en particular *Chlorella protothecoides*, caracterizado porque comprende:
- 15 - la moderación de la densidad de las microalgas a moler a un nivel inferior a 250 g/l y/o
- la elección de una velocidad periférica de los discos de molienda inferior a 10 m/s.
5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para optimizar la capacidad de inversión de una instalación industrial de molienda de microalgas del tipo *Chlorella*, en particular *Chlorella protothecoides*, caracterizado porque comprende:
- 20 - el aumento de la densidad celular de las microalgas a moler a un nivel superior a 250 g/l y/o
- la elección de una velocidad periférica de los discos de molienda superior a 10 m/s.

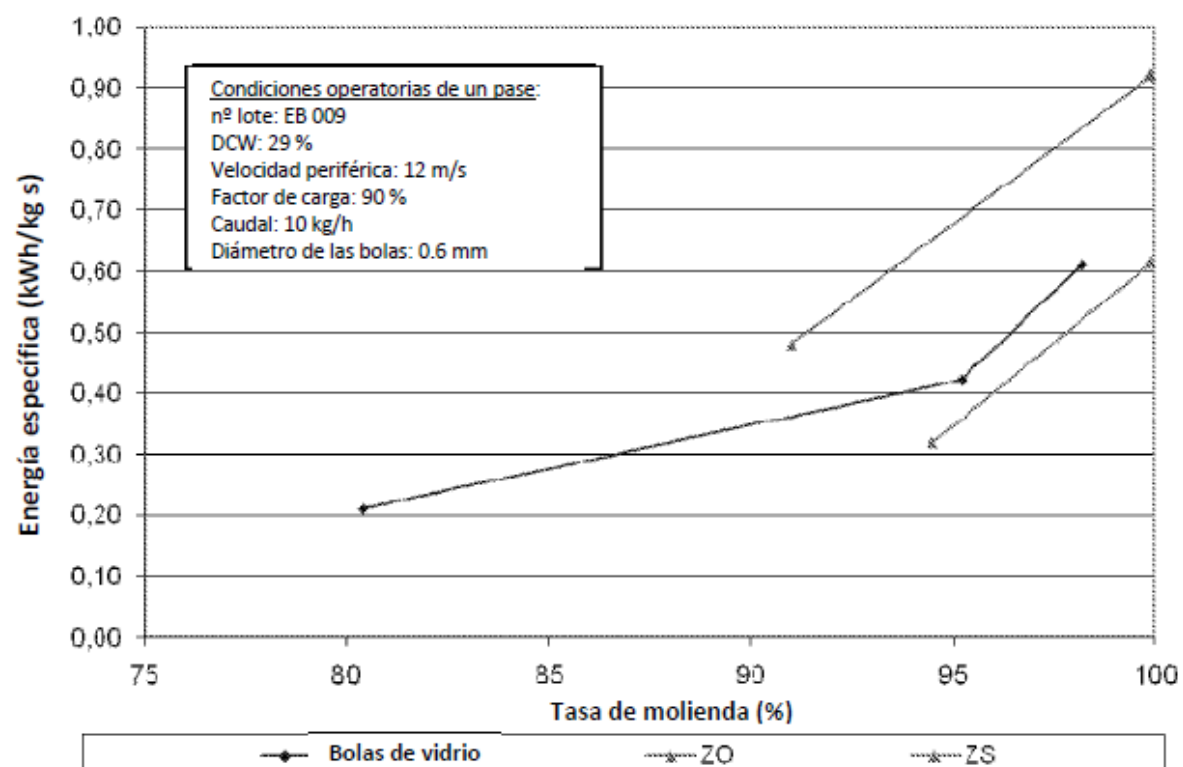


FIGURA 1

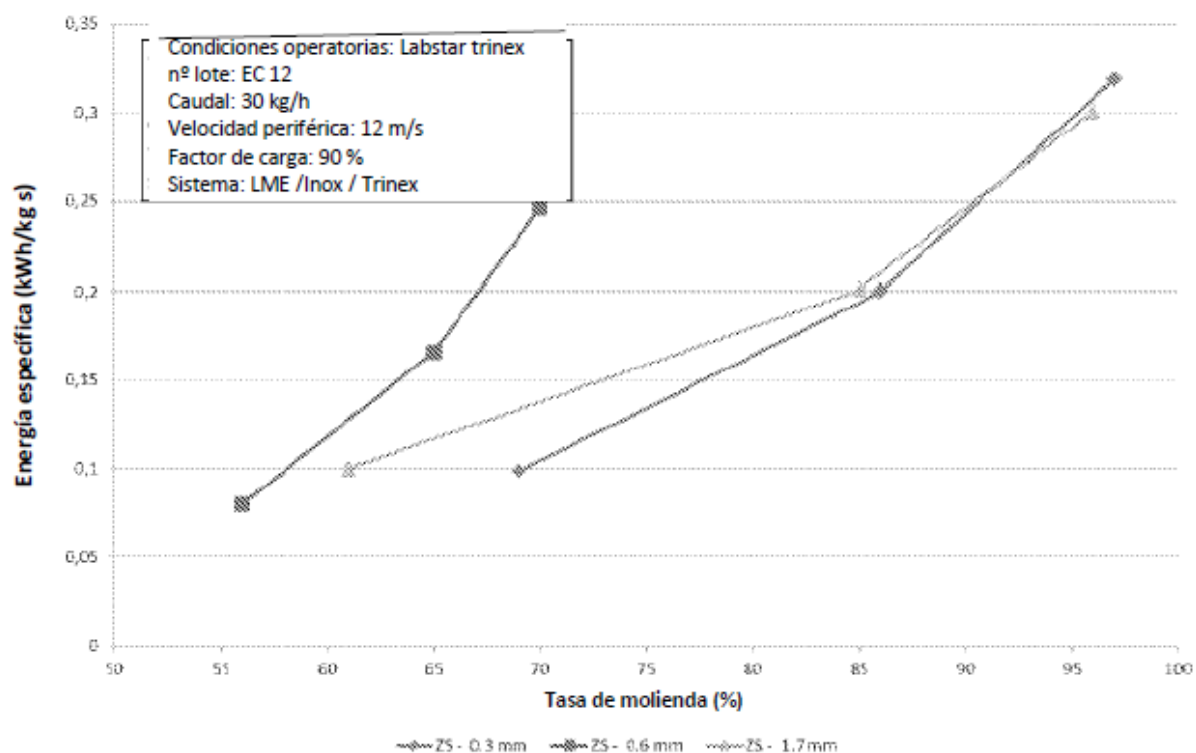


FIGURA 2

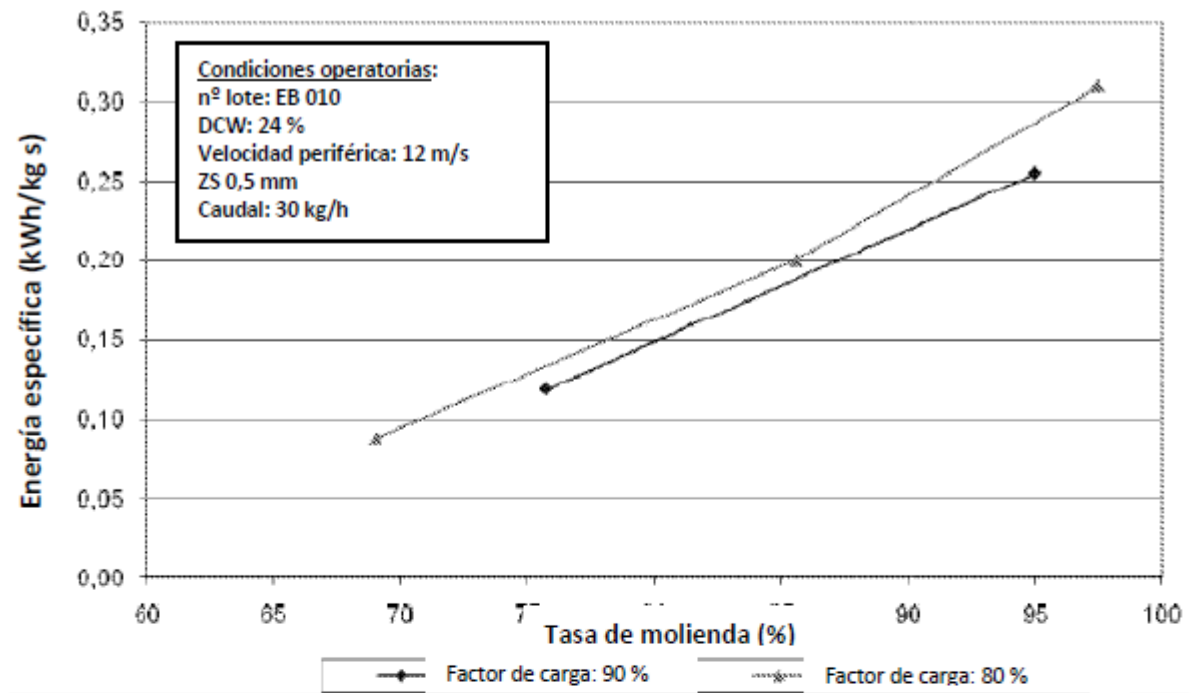


FIGURA 3

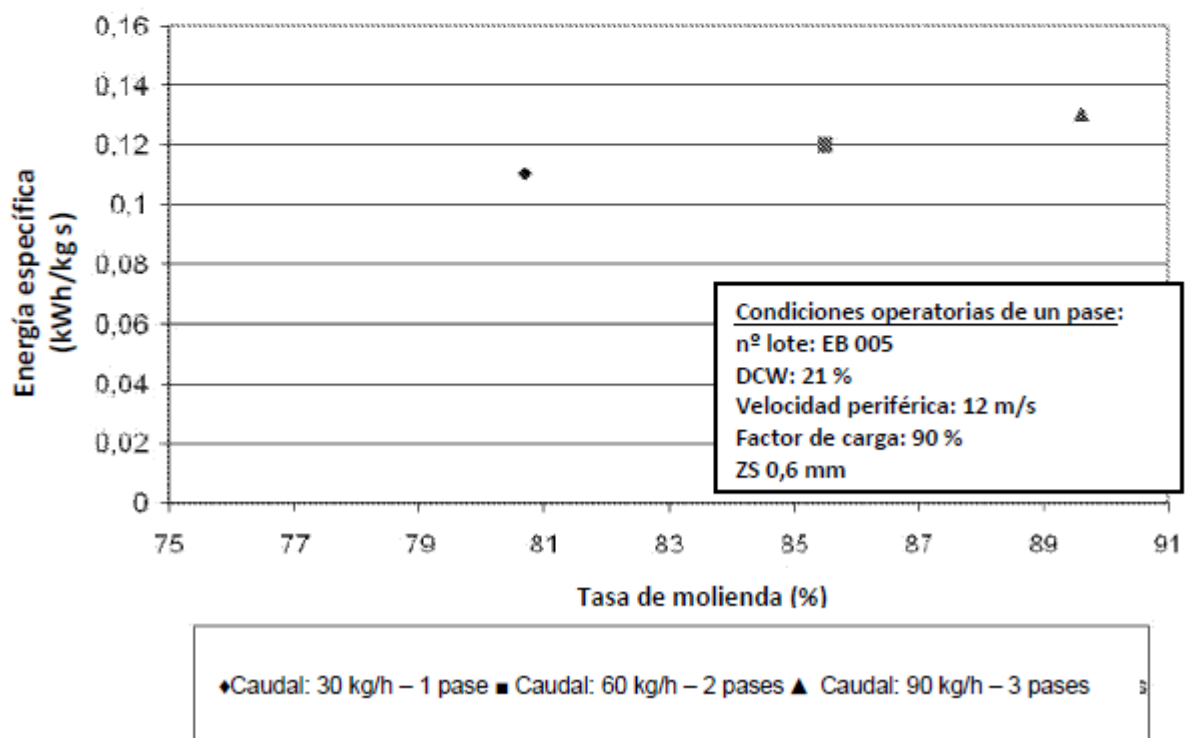


FIGURA 4

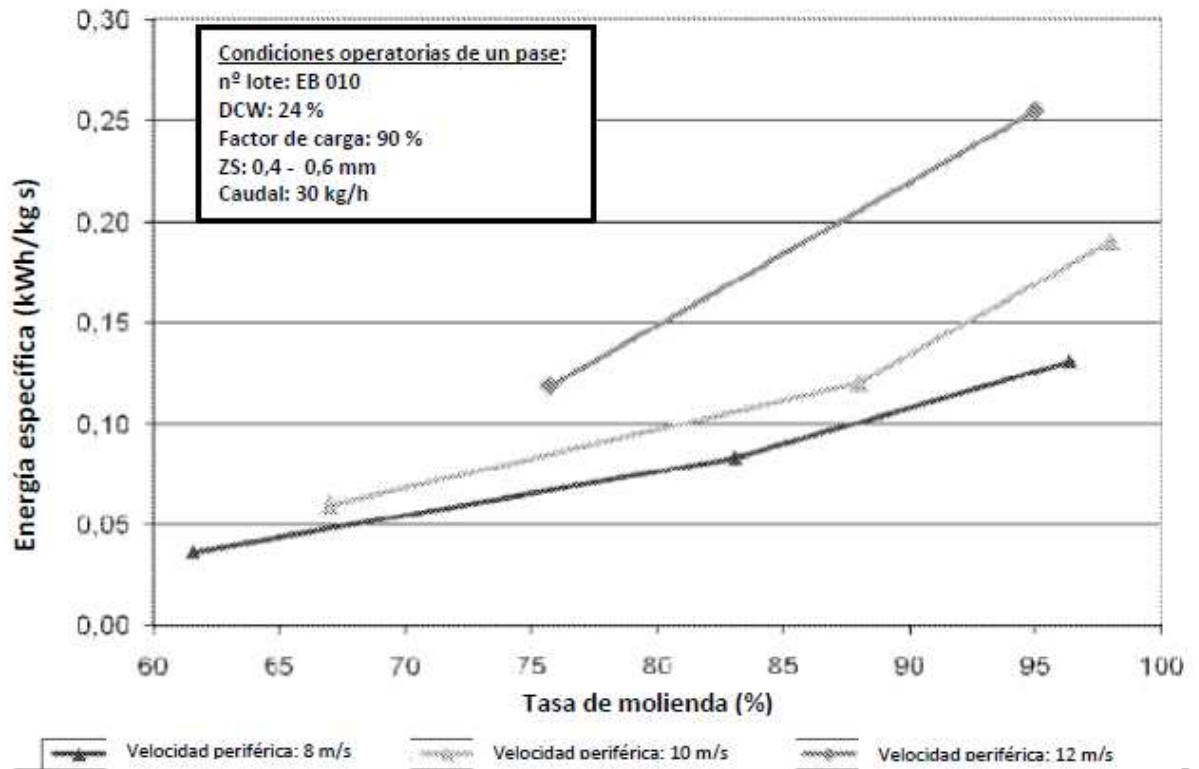


FIGURA 5

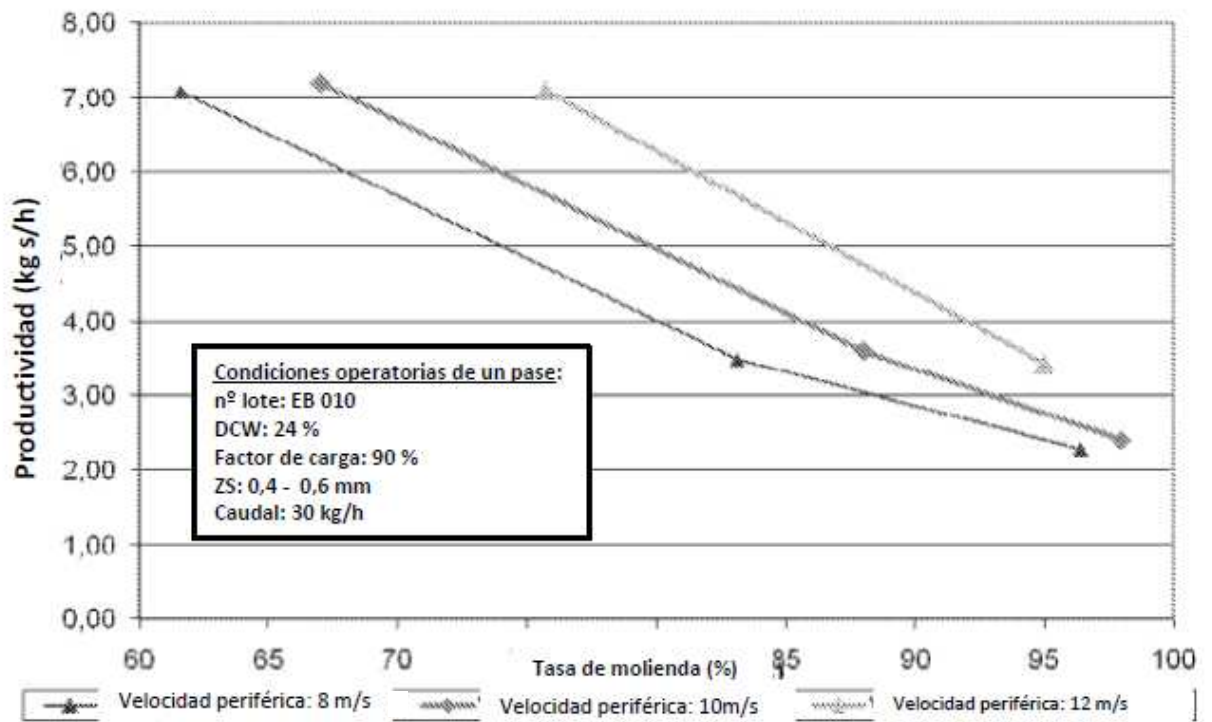


FIGURA 6

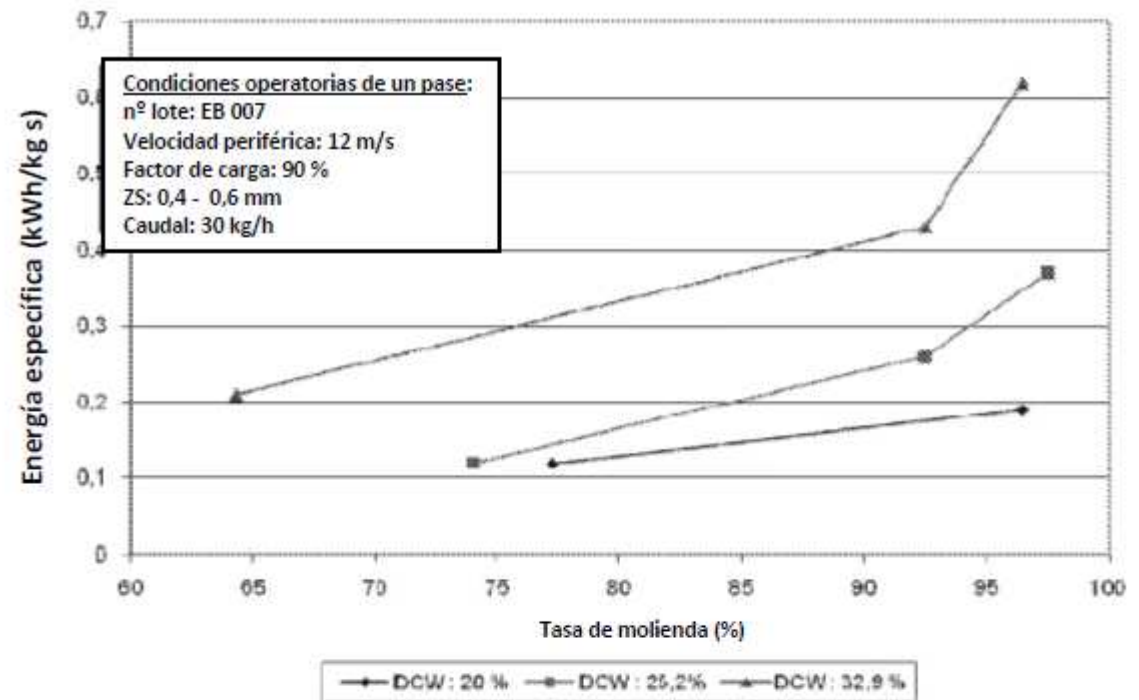


FIGURA 7

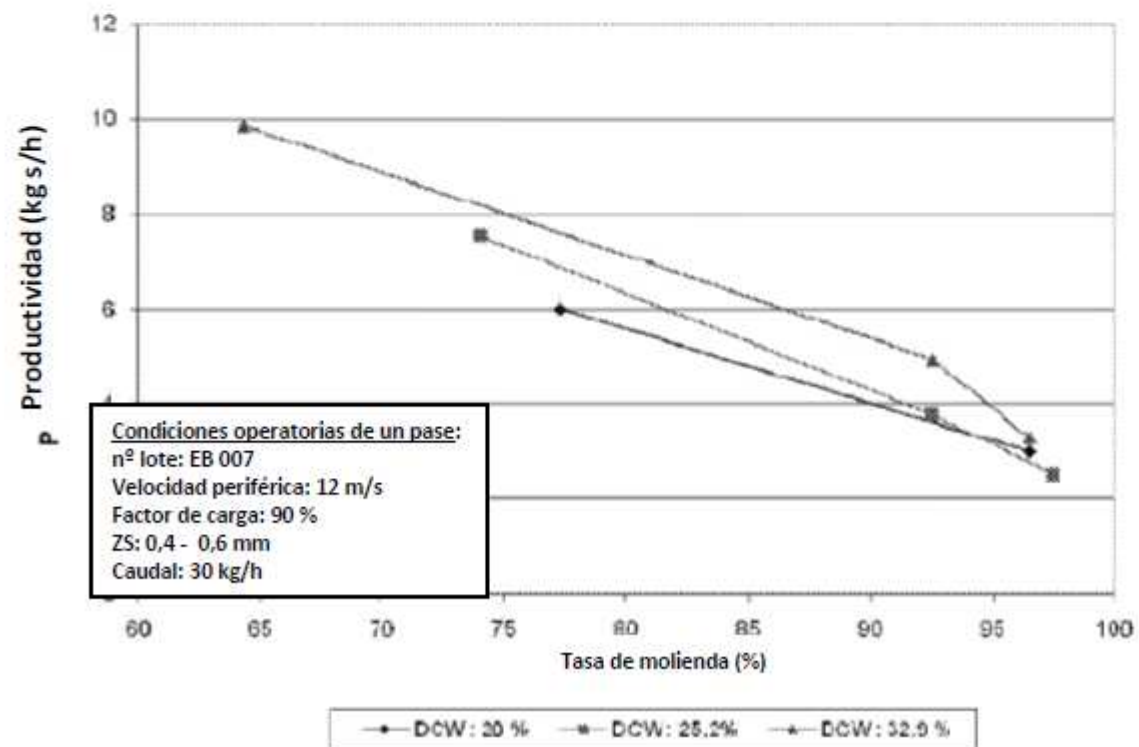


FIGURA 8