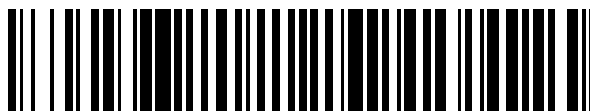


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 802 003**

51 Int. Cl.:

A01G 33/00 (2006.01)

C12N 1/12 (2006.01)

C12M 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.02.2012** **PCT/EP2012/052272**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.08.2012** **WO12107544**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.02.2012** **E 12704257 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020** **EP 2672807**

54 Título: **Método y biorreactor para el cultivo de microorganismos**

30 Prioridad:

11.02.2011 EP 11001124

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

15.01.2021

73 Titular/es:

LGEM B.V. (50.0%)

Rietpad 13

2215 GG Vorhout, NL y

GEORG FISCHER PIPING SYSTEMS LTD. (50.0%)

72 Inventor/es:

SCHUESSLER, STEPHAN;

ROEBROECK, EUGÈNE J. A.;

HAZEWINKEL, SANDER H. E. y

HAZEWINKEL, OBBO J. H.

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 802 003 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

Método y biorreactor para el cultivo de microorganismos

La invención se refiere a un método para el cultivo de organismos, especialmente microorganismos fototróficos en un fotobiorreactor tubular, en donde se añaden iones de bicarbonato y/o iones de carbonato en el medio de cultivo según la reivindicación 8. La invención también se refiere a un fotobiorreactor tubular según la reivindicación 1 en el que se puede lograr el método y el uso de fotobiorreactores tubulares en un método según la presente invención.

El cultivo de microorganismos fototróficos como algas y cianobacterias en estanques abiertos y canales de rodadura está bien desarrollado, pero solo unas pocas especies se pueden mantener en los sistemas abiertos tradicionales. Los fotobiorreactores completamente cerrados (PBR) brindan oportunidades para el cultivo monoséptico de los microorganismos con condiciones de cultivo específicamente adaptadas. Existen diferentes tipos de fotobiorreactores como los PBR de placa plana, los PBR anulares, p. ej. PBR de columna de burbuja y PBR tubular. Estos pueden clasificarse además según la orientación de los tubos o paneles, el mecanismo de circulación del cultivo, el método utilizado para proporcionar luz, el tipo de sistema de intercambio de gases, la disposición de las unidades de crecimiento individuales y los materiales de construcción empleados. En el fotobiorreactor, los microorganismos se suspenden en un medio líquido. Los fotobiorreactores permiten que los microorganismos sean iluminados por la luz solar natural o por fuentes de luz artificial. Un fotobiorreactor típico es un sistema trifásico, que consiste en una fase líquida, que es el medio de cultivo, las células como la fase sólida y una fase gaseosa. La luz, que es la característica única de los fotobiorreactores es un campo de radiación superpuesto, a veces se llama "la cuarta fase" (C. Posten; Ing. Life Sci. 2009, 9, No. 3, páginas 165-177).

De los muchos diseños de fotobiorreactores cerrados, los dispositivos con colectores solares tubulares son los sistemas comerciales más prometedores y más utilizados (E. Molina y col.; Journal of Biotechnology 92 (2001); páginas 113-131 y D. Briassoulis y col.: Bioresour. Technol. 101 (2010); páginas 6768-6777).

El cultivo de microorganismos fototróficos en fotobiorreactores para aplicaciones industriales depende en gran medida del control de las condiciones de cultivo. El diseño de los fotobiorreactores se refiere principalmente a una buena disponibilidad de luz para los microorganismos. Además, el pH es uno de los principales parámetros que afectan el rendimiento de la población microbiana. La producción o consumo de CO₂ por microorganismos tienen fuertes efectos sobre el pH del medio de cultivo.

Cuando se ilumina, la fotosíntesis ocurre en los microorganismos fototróficos, lo que permite la producción de carbohidratos a partir de CO₂ y H₂O. Los carbohidratos así formados permiten el crecimiento del organismo. Esto se llama crecimiento autotrófico. Debido al proceso de fotosíntesis, se consume CO₂ por el microorganismo suspendido, mientras que se produce O₂. La retirada de CO₂ por los microorganismos fototróficos de la fase líquida provoca un aumento del pH de la fase líquida, mientras que la producción de oxígeno provoca un aumento del nivel de oxígeno disuelto en la fase líquida.

En la oscuridad no tendrá lugar la fotosíntesis. Debido a la respiración, se consume O₂ por el microorganismo suspendido, mientras que se produce CO₂. La retirada de O₂ por los microorganismos de la fase líquida provocará una disminución del nivel de O₂ disuelto en la fase líquida, mientras que la producción de CO₂ provocará una disminución del pH.

Para controlar el pH y el nivel de oxígeno disuelto de la fase líquida, se requiere la transferencia de O₂ y CO₂ desde la fase líquida hasta la fase gaseosa y viceversa. Por lo tanto, los cultivos de microorganismos en fotobiorreactores están aireados. En el caso de recipientes de líquido verticales, esto se hace inyectando gas en el fondo del reactor. En los fotobiorreactores tubulares, la aireación y la desgasificación se logran en la parte de elevación de aire o, en los casos en que se usa una bomba para hacer circular el medio líquido, en un tanque que forma parte del circuito de líquido. Este tanque se conoce como tanque de compensación, tanque de recolección, tanque de circulación o tanque de desgasificación. El CO₂ se alimenta a recipientes de líquidos verticales rociando CO₂ o aire enriquecido en CO₂ directamente en el medio líquido en el fondo del reactor o en el flujo de gas de aireación. En reactores tubulares, el CO₂ comúnmente se inyecta en el circuito líquido, directamente después de la parte de elevación de aire o justo antes de la bomba de circulación. El documento DE 10 2005 062 726 A1 describe un fotobiorreactor que tiene dispositivos para hacer circular el gas en los sistemas. El documento WO 2010/109108 A1 describe un fotobiorreactor que establece un flujo bifásico de gas/líquido en tubos horizontales. Otros fotobiorreactores se describen en los documentos EP 2258463 A1, US 2010/0068779 A1 y WO 2009/051480 A2.

La formación de un gradiente de oxígeno disuelto y pH entre la entrada de gas y la salida de gas a lo largo del eje de flujo principal del medio es un problema, especialmente en reactores tubulares. Estos problemas aumentan con el aumento de las concentraciones de biomasa y el aumento de la intensidad de la luz, lo que conduce a productividades volumétricas altas. Sin embargo, se requieren altas productividades volumétricas en términos de gramos de biomasa formada por litro por día para mejorar la economía del proceso.

De igual importancia es mejorar la transferencia de masa a lo largo del eje principal del fotobiorreactor, que es la dirección axial en tubos o la dirección hacia arriba en reactores de panel o columnas. Sin embargo, el aporte de energía

mecánica por burbujeo o bombeo se limita para evitar el esfuerzo cortante y el daño celular y porque el suministro de energía es un problema importante en los costos de producción.

La invención se basa en el objetivo de proporcionar métodos y fotobiorreactores evitando las desventajas de los métodos y fotobiorreactores conocidos en el estado de la técnica.

- 5 La invención se basa también en el objetivo de proporcionar métodos y fotobiorreactores para cultivar microorganismos fototróficos que dan como resultado mayores rendimientos de biomasa y/o menores costos.

Según la invención, este objetivo se consigue particularmente mediante los métodos, fotobiorreactores tubulares y usos según las reivindicaciones.

- 10 Según la invención, este objetivo se logra particularmente mediante un método para el cultivo de organismos en un fotobiorreactor tubular, que incluye las etapas: a) proporcionar un medio de cultivo líquido que contiene los organismos en el fotobiorreactor y b) cultivar los organismos en el fotobiorreactor, en el que el medio de cultivo líquido contiene un sistema tampón de bicarbonato que contiene iones de bicarbonato y/o iones de carbonato en una cantidad de al menos 3 mM (referido a la suma de iones de bicarbonato e iones de carbonato) y en el que durante al menos un segmento de tiempo de la etapa b), se mueve el medio de cultivo líquido, caracterizado por que durante al menos un
15 segmento de tiempo de la etapa b), se introduce una fase gaseosa que contiene al menos 0,2% vol. de CO₂ en el medio de cultivo como flujo de taponamiento o flujo de tapón.

Según una realización preferida de la invención, los organismos son microorganismos.

- 20 Según una realización preferida de la invención, los organismos son organismos autótrofos. Según una realización preferida de la invención, los organismos son microorganismos autótrofos. Según una realización preferida de la invención, los organismos son organismos heterotróficos. Según una realización preferida de la invención, los organismos son microorganismos heterotróficos.

Según una realización alternativa de la invención, los organismos son una mezcla de organismos autótrofos y heterótrofos, especialmente microorganismos autótrofos y heterotróficos.

Según una realización preferida de la invención, los organismos son organismos fototróficos.

- 25 Según una realización preferida de la invención, los organismos fototróficos son microorganismos. Según una realización preferida de la invención, los organismos fototróficos son algas o cianobacterias, particularmente algas, especialmente microalgas. Según una realización preferida de la invención, los organismos fototróficos son algas del género *Nannochloropsis*

- 30 Según una realización preferida de la invención, los organismos fototróficos, especialmente las algas o cianobacterias, se cultivan para producir biomasa, para fijar CO₂ y/o para producir sustancias específicas, por ejemplo ácido eicosapentaenoico o ácido docosahexaenoico.

El biorreactor utilizado en el método según la presente invención puede ser cualquier fotobiorreactor tubular.

- 35 El fotobiorreactor tubular puede tener cualquier geometría de los tubos. El fotobiorreactor tubular puede tener, por ejemplo, tubos horizontales o tubos verticales o variaciones de estos tipos. El fotobiorreactor tubular también puede ser un fotobiorreactor tubular helicoidal.

Según una realización preferida de la invención, el fotobiorreactor tubular usado en el método según la invención es un fotobiorreactor descrito a continuación, preferiblemente un fotobiorreactor tubular según la presente invención.

El medio de cultivo líquido se puede mover mediante métodos conocidos en el estado de la técnica, por ejemplo mediante un tornillo, una bomba o un sistema de elevación por aire.

- 40 Según una realización preferida de la invención, el medio de cultivo se mueve mediante una bomba o mediante un sistema de elevación por aire a través de al menos un tubo de un fotobiorreactor tubular.

Según una realización preferida de la invención, el medio de cultivo se mueve a lo largo de la etapa b).

- 45 Se puede usar cualquier medio de cultivo líquido adecuado para cultivar microorganismos, especialmente algas o cianobacterias. Un experto en la materia conoce los requisitos de los medios de cultivo para microorganismos específicos. El medio de cultivo puede contener ya antes de la adición de cationes en una concentración de al menos 1 mM de cationes en una cantidad adaptada a los requisitos del microorganismo a cultivar. Por ejemplo, un medio de cultivo para algas de agua salada contiene más cationes que un medio de cultivo para algas de agua dulce.

- 50 Según una realización preferida de la invención, el medio de cultivo tiene un pH de al menos pH 6 a como máximo pH 10, preferiblemente de al menos pH 7 a como máximo pH 9. Según una realización preferida de la invención, el medio de cultivo tiene un pH de alrededor de pH 8.4. Preferiblemente, el medio de cultivo tiene dicho pH durante la etapa b).

El medio de cultivo contiene un sistema tampón bicarbonato conocido en el estado de la técnica. El sistema tampón bicarbonato está regulado por bicarbonato y carbonato presentes en el medio de cultivo y el CO₂ presente en la fase gaseosa.

- 5 La fase gaseosa puede ser cualquier fase gaseosa adecuada, por ejemplo, aire, siempre que contenga al menos 0.2% vol. de CO₂. Según una realización preferida de la invención, la fase gaseosa contiene al menos 0,5% vol. de CO₂. Según una realización preferida de la invención, la fase gaseosa contiene al menos 1% en volumen de CO₂. Según una realización preferida de la invención, la fase gaseosa contiene al menos 0,2% vol. de CO₂ y como máximo 50% vol. de CO₂, más preferiblemente al menos 0,5% vol. de CO₂ y como máximo 10% vol. de CO₂. Según una realización preferida de la invención, la fase gaseosa contiene al menos 1% vol. de CO₂ y como máximo 5% vol. de CO₂. Según una realización preferida de la invención, la fase gaseosa contiene alrededor de 2% vol. de CO₂.

Según una realización preferida de la invención, la fase gaseosa se introduce en el medio de cultivo a lo largo de la etapa b).

Según la invención, el medio de cultivo contiene carbonato (CO₃²⁻) y bicarbonato (HCO₃⁻) en una cantidad de al menos 3 mM. La cantidad se refiere a la suma de carbonato y bicarbonato contenido en el medio de cultivo.

- 15 Según una realización preferida de la invención, el carbonato y el bicarbonato están presentes en el medio de cultivo líquido en una concentración de al menos 10 mM. Según una realización preferida de la invención, el carbonato y el bicarbonato están presentes en el medio de cultivo líquido en una concentración como máximo de 1000 mM. Según una realización preferida de la invención, el carbonato y el bicarbonato están presentes en el medio de cultivo líquido en una concentración de como máximo 100 mM. Según una realización preferida de la invención, el carbonato y el bicarbonato están presentes en el medio de cultivo líquido en una concentración de al menos 3 mM a como máximo 1000 mM, más preferiblemente de al menos 10 mM a como máximo 100 mM. Según una realización preferida de la invención, el carbonato y el bicarbonato están presentes en el medio de cultivo líquido en una concentración de alrededor de 40 mM. La concentración se refiere a la suma de carbonato y bicarbonato contenidos en el medio de cultivo.

- 25 Según una realización preferida de la invención, el carbonato y el bicarbonato se añaden antes de la etapa b). El carbonato y el bicarbonato pueden incluso añadirse antes de que los microorganismos se inoculen en el medio de cultivo. Según una realización preferida de la invención, el carbonato y el bicarbonato se añaden durante la etapa b).

- 30 Según una realización preferida de la invención, el carbonato y el bicarbonato se añaden en forma de sales de bicarbonato y/o sales de carbonato. Según una realización preferida de la invención, el carbonato y el bicarbonato se añaden junto con Na⁺, K⁺, Mg²⁺ y/o Ca²⁺.

Según una realización preferida de la invención, el carbonato y el bicarbonato se añaden mediante la adición de NaOH, Na₂CO₃ y/o NaHCO₃. Según una realización preferida de la invención, los cationes se agregan mediante la adición de NaHCO₃.

- 35 Según una realización preferida de la invención, al menos 10 mM a como máximo 100 mM Na₂CO₃ y/o NaHCO₃, más preferiblemente solo NaHCO₃ se añade para tener una concentración de excedente de carbonato y bicarbonato.

La adición del carbonato y/o bicarbonato da como resultado una concentración de excedente catiónico.

- 40 Según una realización preferida de la invención, se añaden cationes al medio de cultivo líquido en una concentración de al menos 10 mM. Según una realización preferida de la invención, se añaden cationes al medio de cultivo líquido en una concentración como máximo de 1000 mM. Según una realización preferida de la invención, se añaden cationes al medio de cultivo líquido en una concentración de como máximo 100 mM. Según una realización preferida de la invención, se añaden cationes al medio de cultivo líquido en una concentración de al menos 1 mM a como máximo 1000 mM, más preferiblemente de al menos 10 mM a como máximo 100 mM. Según una realización preferida de la invención, se añaden cationes al medio de cultivo líquido en una concentración de aproximadamente 40 mM.

- 45 Según una realización preferida de la invención, los cationes se añaden antes de la etapa b). Los cationes pueden incluso añadirse antes de que los microorganismos se inoculen en el medio de cultivo. Según una realización preferida de la invención, los cationes se añaden durante la etapa b).

Según una realización preferida de la invención, los cationes se añaden como Na⁺, K⁺, Mg²⁺ y/o Ca²⁺. Según una realización preferida de la invención, los cationes se añaden en forma de sales de bicarbonato y/o sales de carbonato. Los cationes también se pueden añadir en forma de bases como NaOH o KOH.

- 50 Según una realización preferida de la invención, los cationes se añaden mediante la adición de NaOH, Na₂CO₃ y/o NaHCO₃. Según una realización preferida de la invención, los cationes se añaden mediante la adición de NaHCO₃.

Según una realización preferida de la invención, al menos 10 mM a como máximo 100 mM Na₂CO₃ y/o NaHCO₃, más preferiblemente se añade sólo NaHCO₃ para tener una concentración de excedente catiónico.

Sorprendentemente, se descubrió que el control del pH y la transferencia de masa se puede mejorar drásticamente aumentando tanto la concentración de excedente catiónico como la concentración de carbonato y bicarbonato en la fase líquida y el CO₂ concentración en la fase gaseosa, al cultivar microorganismos fototróficos en un fotobiorreactor.

Por ejemplo, cuando se elige Na⁺, la concentración de excedente catiónico de la fase líquida se puede aumentar mediante la adición de NaOH, Na₂CO₃ o NaHCO₃ al medio. Cuando se airea con un gas con una concentración de CO₂ establecida/elegida de al menos 0,2% vol., el pH del medio de cultivo líquido en equilibrio estará determinado por la concentración de Na⁺ en la fase líquida y la concentración de CO₂ en la fase gaseosa. Entonces, al aumentar la concentración de excedente catiónico en la fase líquida y el CO₂ concentración en la fase gaseosa, se puede mantener un punto de ajuste de pH elegido, mientras aumenta la capacidad de amortiguación del sistema de amortiguación de bicarbonato. Cuanto mayor sea la concentración de exceso catiónico, mayor será la capacidad de amortiguación del sistema de amortiguación de bicarbonato, y también mayor será la concentración de CO₂ en la fase gaseosa que se requiere para mantener un nivel de pH elegido.

La amortiguación del pH en el medio de cultivo mediante la elevación tanto de la concentración de excedente catiónico en el medio de cultivo como de la concentración CO₂ en la fase gaseosa se puede aplicar fácilmente a todo tipo de biorreactores y fotobiorreactores, por ejemplo, fotobiorreactores tubulares, de panel plano y columnas de burbujas. El pH en equilibrio puede establecerse configurando el CO₂ concentración del gas de aireación mediante el uso de dos rotámetros. Un rotámetro puede controlar el caudal de aire comprimido y un rotámetro puede controlar el caudal de CO₂ puro a un cierto porcentaje del caudal de aire.

El método según la presente invención se usa en un fotobiorreactor tubular y la fase gaseosa se introduce en el medio de cultivo líquido durante la etapa b) como flujo de taponamiento o flujo de tapón. En una realización preferida de la invención, el método según la presente invención se usa en un fotobiorreactor tubular y la fase gaseosa se introduce en el medio de cultivo líquido durante la etapa b) como flujo de taponamiento.

La combinación de la alta concentración de CO₂ en la fase gaseosa y la concentración de excedente catiónico según la invención con un régimen de flujo de gas-líquido específico, es decir, un flujo de taponamiento o flujo de tapón, más preferiblemente un flujo de taponamiento, en al menos un tubo de un biorreactor tubular, especialmente resultados de fotobiorreactor en ventajas sorprendentes y sinérgicas:

- se mejora la transferencia de ambos, oxígeno (O₂) y dióxido de carbono (CO₂) de la fase líquida a la fase gaseosa y viceversa,
- y al mismo tiempo se mejora la capacidad de amortiguación de pH del sistema.

Además, debido al flujo de taponamiento de dos fases, la relación superficie a volumen del medio de cultivo aumenta en comparación con los tubos que contienen solo fluido y la turbulencia del fluido aumenta especialmente en la interfase líquido-gas. El aumento de la relación superficie a volumen de la fase líquida significa una trayectoria de luz promedio más pequeña, lo que permite mayores productividades volumétricas.

Dado que el dióxido de carbono y el oxígeno compiten en el sitio activo de la importante enzima Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO) de los organismos fototróficos, la fijación de carbono mediante RuBisCO puede mejorarse aumentando la relación entre las especies de carbono inorgánico disuelto y oxígeno disuelto en el medio de cultivo. Por lo tanto, el efecto inhibitorio de altas concentraciones de oxígeno disuelto en el medio sobre la fijación de carbono y, por lo tanto, contrarresta el crecimiento.

Debido a estos efectos, las velocidades del fluido del medio de cultivo movido en un tubo pueden limitarse a alrededor de 0.2 a 0.3 metros por segundo, limitando así el consumo de energía para la bomba de circulación o el sistema de elevación de aire del fotobiorreactor.

Según una realización preferida de la invención, la velocidad del fluido del medio de cultivo movido es como máximo 0,5 metros por segundo, más preferiblemente como máximo 0,3 metros por segundo, o incluso como máximo 0,2 metros por segundo. Según una realización preferida de la invención, la velocidad del fluido del medio de cultivo movido es de aproximadamente 0,2 metros por segundo a 0,3 metros por segundo. Preferiblemente, la velocidad máxima del fluido del medio de cultivo movido se relaciona con la velocidad en un tubo de un fotobiorreactor tubular.

La capacidad de aplicar bajas velocidades de fluido en los tubos también conduce a una disminución de la caída de presión en todo el circuito. La presión más alta en el sistema que ocurre al comienzo de un tubo en el lado de presión de una bomba de circulación y una bomba de aire/soplador puede mantenerse por debajo de 0,2 bar. Esto permite la aplicación de tubos transparentes con un grosor de pared más pequeño y técnicas simples de unión de baja presión, reduciendo así los costos de inversión.

Según una realización preferida de la invención, la presión en al menos un tubo durante la etapa b) es como máximo de 0,5 bares, más preferiblemente como máximo de 0,3 bares, lo más preferiblemente como máximo de 0,2 bares.

Además, el flujo de taponamiento de dos fases evita la suciedad en la pared interna de los tubos transparentes. Por consiguiente, se evita la formación de una biopelícula de células microbiológicas unidas a la pared interna de los tubos.

La formación de tal biopelícula es perjudicial ya que dicha biopelícula evitará que la luz incidente penetre en el medio de cultivo líquido y, por lo tanto, inhiba el crecimiento de los microorganismos fototróficos.

En una realización preferida de la presente invención, el medio de cultivo líquido no contiene partículas plásticas que se usan en el estado de la técnica para evitar la suciedad.

- 5 En una realización preferida, los métodos y medios según la presente invención se usan para evitar la suciedad mediante el uso de flujo de taponamiento de dos fases.

Sorprendentemente, se ha descubierto que el método según la presente invención no solo es ventajoso si se usa para el crecimiento autotrófico de microorganismos bajo la luz, sino que también es ventajoso si se usa para el crecimiento heterotrófico de microorganismos fototróficos que crecen en la oscuridad, p. ej. por la noche, o para microorganismos que crecen per se heterotróficos.

En la oscuridad no se producirá la fotosíntesis. Debido a la respiración, se consumirá O_2 será por los microorganismos, mientras que se producirá CO_2 . La retirada de O_2 por los microorganismos de la fase líquida provocará una disminución del nivel de O_2 disuelto en la fase líquida, mientras que la producción de CO_2 causará una disminución del pH. En el caso del crecimiento heterotrófico de microorganismos, se suministra una fuente de carbono a la fase líquida en forma de moléculas orgánicas solubles, p. ej. azúcares, ácidos orgánicos, alcoholes, etc. También en este caso se produce respiración y se consumirá O_2 por el microorganismo suspendido, mientras que se producirá CO_2 es producido.

Se ha encontrado que el método según la presente invención da como resultado una mejor relación CO_2/O_2 durante un crecimiento en la oscuridad y durante el crecimiento heterotrófico. También en estos casos, se mejora la transferencia de ambos, oxígeno (O_2) y dióxido de carbono (CO_2) desde la fase líquida hasta la fase gaseosa y viceversa, y al mismo tiempo también se mejora la capacidad de amortiguación del pH del sistema. Los microorganismos obtienen suficiente O_2 de la fase líquida y no son inhibidos por altas cantidades de CO_2 en la fase líquida.

Por consiguiente, la presente invención se refiere también al método utilizado para organismos autótrofos en la oscuridad y para organismos heterótrofos.

- 25 En una realización preferida, la presente invención se refiere también al método usado para un cultivo de organismos autotróficos y heterotróficos en la oscuridad. En una realización preferida, la presente invención se refiere también al método utilizado para un cultivo de organismos autotróficos y heterotróficos a la luz.

Mediante el uso del método según la presente invención, es posible mejorar los fotobiorreactores tubulares en características específicas.

- 30 En vista de estos efectos, la longitud del al menos un tubo en un fotobiorreactor tubular se puede aumentar hasta diez veces, sin la acumulación de oxígeno disuelto en la fase líquida a niveles inhibitorios, por ejemplo, a más de 25 mg/l o la aparición de un aumento del pH. El gradiente de pH en todo el circuito se puede mantener en un intervalo de pH designado, por ejemplo, entre 8,0 y 8,4. Las longitudes aumentadas del al menos un tubo se pueden aplicar sin aumentar la velocidad promedio del fluido.

- 35 Por consiguiente, la presente invención también se refiere a un fotobiorreactor tubular, que comprende al menos un tubo, un tanque de circulación y un suministro de gas, en el que el al menos un tubo está conectado como un bucle al tanque de circulación, en el que el suministro de gas está conectado a al menos un tubo, caracterizado por que el bucle del al menos un tubo tiene una longitud de al menos 100 metros según la reivindicación 1.

- 40 Por consiguiente, la presente invención también se refiere a un fotobiorreactor tubular, que comprende al menos un tubo, un tanque de circulación y un suministro de gas, en el que el al menos un tubo está conectado como un bucle al tanque de circulación, en el que al menos una parte del al menos un tubo es translúcido y en el que el suministro de gas está conectado a al menos un tubo, caracterizado por que el circuito del al menos un tubo tiene una longitud de al menos 100 metros según la reivindicación 1.

- 45 El fotobiorreactor tubular según la presente invención permite la construcción de sistemas más grandes a costos relativamente más bajos, lo que significa menores costos de inversión por m^3 del volumen del sistema y por m^2 de superficie del suelo requerida.

La capacidad de aplicar bajas velocidades de fluido en los tubos y la capacidad de disminuir la presión en los tubos permite la aplicación de tubos, preferiblemente tubos transparentes con menor espesor de pared y técnicas simples de unión a baja presión, reduciendo así los costos de inversión.

- 50 Una realización preferida de la presente invención se refiere a un fotobiorreactor tubular, que comprende al menos un tubo, un tanque de circulación y un suministro de gas, en el que el al menos un tubo está conectado como un bucle al tanque de circulación, en el que al menos una parte del al menos un tubo es translúcido y en el que el suministro de gas está conectado a al menos un tubo, caracterizado por que el bucle del al menos un tubo tiene una longitud de al

menos 100 metros, en el que el al menos un tubo es un tubo de plástico con un grosor de pared de como máximo 1 mm.

Una realización preferida de la presente invención se refiere a un fotobiorreactor tubular, que comprende al menos un tubo, un tanque de circulación y un suministro de gas, en el que el al menos un tubo está conectado como un bucle al tanque de circulación, en el que al menos una parte del al menos un tubo es translúcido y en el que el suministro de gas está conectado a al menos un tubo, caracterizado por que el bucle del al menos un tubo tiene una longitud de al menos 100 metros, en el que el al menos un tubo es un tubo de plástico que tiene un grosor de pared de como máximo 1 mm y en el que el al menos un tubo contiene al menos dos tubos, en el que los tubos están conectados por un accesorio de ajuste a presión.

Al usar el método según la presente invención se permite una disminución de la presión en los tubos y el uso de tubos más largos. Estas ventajas permiten sorprendentemente el uso de tubos que están hechos de tuberías de una longitud dada. Debido a la menor presión en los tubos, las tuberías se pueden conectar entre sí sin usar pegamento ni mecanismos complicados, pero con accesorios de ajuste fácil de manejar. Los accesorios de ajuste a presión pueden hacerse, por ejemplo, mediante termoformado de una mufla o manguito que se ajusta con precisión en uno y de una tubería en la que se puede insertar el extremo de otra tubería que no tiene mufla o manguito termoformado. Las tuberías están hechas preferiblemente de plástico, por ejemplo, cloruro de polivinilo, especialmente PVC-U. La conexión entre las dos tuberías es hermética debido a la fuerza de fricción entre las dos tuberías. Además, la conexión entre las tuberías permanece libre de gérmenes. Las ventajas de los tubos hechos de tubos que están conectados por un accesorio de ajuste a presión son, por ejemplo, que los tubos se pueden construir de manera económica sin usar herramientas de la longitud deseada, que el accesorio es desmontable, p. ej. para limpiar el tubo, que el accesorio también pueda ser translúcido, que se puedan conectar diferentes componentes y/o materiales, que el tubo se endurezca con el accesorio y que se minimice el volumen libre del lado interno de los tubos.

Preferiblemente no se usa pegamento, sin embargo, si se desea, se puede usar un pegamento o una masa de sellado adicionalmente al accesorio de ajuste a presión.

Preferiblemente, el fotobiorreactor es un fotobiorreactor y en el que el al menos un tubo es translúcido.

Según una realización preferida de la invención, el fotobiorreactor tubular tiene varios tubos, cada uno conectado como un bucle al tanque de circulación. Por consiguiente, el fotobiorreactor tubular tiene preferiblemente varios bucles paralelos de tubos.

Preferiblemente, el bucle del al menos un tubo tiene una longitud de al menos 500 metros. Preferiblemente, el bucle del al menos un tubo tiene una longitud de alrededor de 1000 metros. Preferiblemente, el bucle del al menos un tubo tiene una longitud de al menos 500 metros y como máximo 5000 metros, más preferiblemente de al menos 700 metros y como máximo 2000 metros.

Preferiblemente, los bucles de todos los tubos del fotobiorreactor tubular tienen una longitud de al menos 100 metros, preferiblemente de al menos 500 metros, incluso más preferiblemente de alrededor de 1000 metros. Preferiblemente, los bucles de todos los tubos del biorreactor o fotobiorreactor tubular tienen una longitud de al menos 500 metros y como máximo 5000 metros, más preferiblemente de al menos 700 metros y como máximo 2000 metros.

Preferiblemente, el al menos un tubo es un tubo de plástico que tiene un espesor de pared de como máximo 600 μm , más preferiblemente de como máximo 500 μm . El al menos un tubo también puede ser un tubo de plástico que tiene un espesor de pared de alrededor de 150 μm . El al menos un tubo también puede ser un tubo de plástico que tiene un espesor de pared de al menos 100 μm , más preferiblemente de al menos 125 μm y como máximo 550 μm .

Preferiblemente, el al menos un tubo tiene un diámetro interno de al menos 25 mm, más preferiblemente de al menos 40 mm. Preferiblemente, el al menos un tubo tiene un diámetro interno de aproximadamente 6 cm. Preferiblemente, el al menos un tubo tiene un diámetro interno de como máximo 150 mm, más preferiblemente de como máximo 100 mm.

Según una realización preferida de la invención, el al menos un tubo, más preferiblemente todos los tubos del fotobiorreactor tubular son translúcidos.

Según una realización preferida de la invención, al menos un tubo, más preferiblemente todos los tubos del fotobiorreactor tubular son tubos de plástico, por ejemplo tubos de polietileno, por ejemplo con un espesor de pared de aproximadamente 150 μm o cloruro de polivinilo, por ejemplo con una pared espesor de al menos 125 μm y como máximo 550 μm , preferiblemente de alrededor de 500 μm . Un cloruro de polivinilo preferido utilizado para los tubos es el cloruro de polivinilo no plastificado (PVC-U),

Según una realización preferida de la invención, el al menos un tubo, más preferiblemente todos los tubos del fotobiorreactor tubular, son tubos de polietileno con un espesor de pared de al menos 100 μm a un máximo de 200 μm , por ejemplo de aproximadamente 150 μm .

Según una realización alternativa de la invención, el al menos un tubo, más preferiblemente todos los tubos del fotobiorreactor tubular, son tubos de cloruro de polivinilo sin plastificar con un espesor de pared de al menos 150 μm a un máximo de 600 μm , por ejemplo de aproximadamente 500 μm .

5 Según una realización preferida de la invención, el al menos un tubo, más preferiblemente todos los tubos del fotobiorreactor tubular pueden tener cualquier perfil, especialmente circular, ovalado, triangular, rectangular, por ejemplo cuadrado, pentagonal, hexagonal, octagonal u otro perfil simétrico o asimétrico.

Según una realización preferida de la invención, el fotobiorreactor tubular según la invención se usa en un método según la presente invención.

10 Según una realización preferida de la invención, el fotobiorreactor tubular según la invención se usa en un método para el cultivo de microorganismos fototróficos, preferiblemente algas o cianobacterias, en el fotobiorreactor, en el que una fase gaseosa que contiene al menos 0,2% vo. de CO_2 se introduce en un medio de cultivo líquido que contiene los organismos fototróficos, en el que la fase gaseosa y el medio de cultivo líquido forman un flujo de taponamiento en al menos un tubo, preferiblemente en todos los tubos del fotobiorreactor, en el que el medio de cultivo contiene iones de bicarbonato y/o carbonato iones en una cantidad de al menos 3 mM, más preferiblemente al menos 10 mM (referido a la suma de iones de bicarbonato e iones de carbonato).

15 Según una realización preferida de la invención, el fotobiorreactor tubular según la invención se usa en un método para el cultivo de microorganismos fototróficos, preferiblemente algas o cianobacterias, en el fotobiorreactor, en el que una fase gaseosa que contiene al menos 0,2% vol. de CO_2 se introduce en un medio de cultivo líquido que contiene los organismos fototróficos, en el que la fase gaseosa y el medio de cultivo líquido forman un flujo de taponamiento en al menos un tubo, preferiblemente en todos los tubos del fotobiorreactor, en el que el medio de cultivo contiene al menos 1 mM, más preferiblemente al menos 10 mM de una sustancia seleccionada del grupo que consiste en NaOH , Na_2CO_3 , Na-HCO_3 , KOH , K_2CO_3 , KHCO_3 y mezclas de los mismos.

Preferiblemente, el medio de cultivo contiene al menos 10 mM de NaHCO_3 , más preferiblemente al menos 20 mM de NaHCO_3 , por ejemplo, alrededor de 40 mM NaHCO_3 .

25 Una ventaja del fotobiorreactor tubular según la invención utilizado para los métodos descritos es que una medición y control de la concentración de O_2 automatizados, se puede omitir en reactores fototubulares de última generación aplicados.

En una realización preferida de la invención, el fotobiorreactor tubular no tiene elementos de control para la concentración de oxígeno, especialmente la concentración de oxígeno en el medio de cultivo.

30 La invención permite el reemplazo de la medición y el control automatizados del pH, en el que el CO_2 extra se inyecta en el suministro de gas cuando el valor de pH aumenta por encima de un punto de ajuste determinado, mediante un ajuste manual del CO_2 -nivel del suministro de gas estableciendo la velocidad de flujo de una fase gaseosa, por ejemplo aire y CO_2 puro en la ración deseada usando dos rotámetros.

35 Según una realización preferida de la invención, el fotobiorreactor tubular tiene dos rotámetros para ajustar el caudal de la fase gaseosa y el CO_2 que se añade a la fase gaseosa.

Según una realización preferida de la invención, el fotobiorreactor tubular tiene una bomba de aire, un soplador de aire o un ventilador para introducir una fase gaseosa en al menos un tubo.

40 Según una realización preferida de la invención, el fotobiorreactor tubular tiene un dispositivo para hacer circular un líquido, especialmente un medio de cultivo a través del al menos un tubo. Según una realización preferida de la invención, el fotobiorreactor tubular tiene una bomba o un sistema de elevación de aire para hacer circular un líquido, especialmente un medio de cultivo a través del al menos un tubo. Preferiblemente, el fotobiorreactor tubular tiene una bomba para hacer circular un líquido a través del al menos un tubo.

45 En los fotobiorreactores que usan un escape de gas convencional en el tanque de separación, el gas de escape desde la parte superior del tanque de separación a la atmósfera conducirá a grandes pérdidas de CO_2 aplicado. Esto no es deseable y puede evitarse haciendo circular la fase gaseosa por medio de una bomba de aire. Para mantener el nivel de carbono en el sistema suficientemente alto, el flujo de aireación circulado se alimenta con aire enriquecido en CO_2 o con CO_2 puro en un punto del circuito de gas justo antes de que el gas se inyecte en el medio de cultivo. La desgasificación puede realizarse a través de una válvula de seguridad en un punto del circuito de gas en la parte superior del fotobiorreactor. El caudal del suministro de CO_2 puede ser mucho menor que el de la fase gaseosa circulada y normalmente estará en el intervalo de 1-5%.

50 Según la invención, el fotobiorreactor tubular es un sistema cerrado, en el que el suministro de gas no solo está conectado a al menos un tubo, sino también a la parte superior del tanque de circulación y tiene un suministro de CO_2 .

Según una realización preferida de la invención, el fotobiorreactor tubular es un sistema cerrado, en el que el suministro de gas no solo está conectado a al menos un tubo sino también a la parte superior del tanque de circulación y tiene un suministro de CO₂ y en el que el tanque de circulación tiene un escape de gas.

5 En una realización preferida de la invención, la fase gaseosa se introduce en el cultivo líquido como flujo de taponamiento al comienzo del al menos un tubo y se recircula a través del al menos un tubo al tanque de circulación. Preferiblemente, una parte de la fase gaseosa en el tanque de circulación se introduce en el suministro de gas, donde se puede enriquecer preferiblemente con CO₂ y de nuevo introducido en el cultivo líquido como flujo de taponamiento al comienzo del al menos un tubo.

10 Según una realización preferida de la invención, el suministro de gas está diseñado para poder introducir una fase gaseosa en una fase líquida en el al menos un tubo creando un flujo de taponamiento. La formación de un flujo de taponamiento depende principalmente del diámetro de los tubos y la velocidad y la cantidad resultante de la fase gaseosa y la fase líquida. Un experto en la materia sabe cómo formar un flujo slug eligiendo las velocidades apropiadas para un diámetro dado. Una persona experta en la técnica también sabe cómo adaptar y conectar el suministro de gas a al menos un tubo para que se pueda formar un flujo de taponamiento en el tubo.

15 La presente invención también se refiere al uso de un fotobiorreactor tubular en un método según la invención. Preferiblemente, el fotobiorreactor tubular es un fotobiorreactor tubular según la presente invención.

20 El aumento de la turbulencia, especialmente en la interfaz líquido-gas permite una mezcla completa del medio de cultivo que contiene los microorganismos fototróficos a lo largo del gradiente de luz y, por lo tanto, los ciclos de luz/oscuridad pueden ser inferiores a uno por segundo, es decir, inferiores a 1 Hz. Este nivel de turbulencia/mezcla/ciclos de luz-oscuridad se puede lograr a velocidades de fluido más bajas y en tubos con diámetros internos más grandes y, por lo tanto, a un suministro de energía auxiliar mucho más bajo que en los reactores tubulares monofásicos de última generación. Los fotobiorreactores tubulares de última generación requieren un suministro de energía auxiliar de más de 2000 vatios por m³ medio de cultivo, mientras que la aplicación de un flujo de babosas en combinación con un sistema de amortiguación de carbonato aumentado, lo que permite bucles más largos, mientras se mantienen bajas velocidades de fluido conduce a una reducción de la entrada de energía auxiliar a aproximadamente 200 vatios por m³ de medio de cultivo.

25 Se prefiere el uso de un fotobiorreactor tubular, preferiblemente un fotobiorreactor tubular según la presente invención en un método según la invención, en el que el fotobiorreactor tiene una entrada de energía auxiliar de como máximo 500 W/m³, más preferiblemente de como máximo 300 W/m³ relacionado con el volumen del medio de cultivo líquido en el fotobiorreactor.

30 La presente invención también se refiere al uso de un tubo o una tubería que tiene un espesor de pared de como máximo 1 mm en un fotobiorreactor tubular según la presente invención. La presente invención también se refiere al uso de un tubo o una tubería que tiene un espesor de pared de como máximo 1 mm en un método según la invención. Preferiblemente, el tubo o tubería es un tubo o tubería con las características preferidas para tubos y tuberías descritos en este documento, por ejemplo, un tubo de cloruro de polivinilo translúcido no plastificado con un grosor de pared de al menos 150 µm a como máximo 600 µm, por ejemplo de alrededor de 500 µm.

35 También se describe un fotobiorreactor tubular según la presente invención, que comprende al menos un tubo, un tanque de circulación y un suministro de gas, en el que el al menos un tubo está conectado como un bucle al tanque de circulación, en el que el suministro de gas está conectado a al menos un tubo, caracterizado por que el al menos un tubo es un tubo de plástico que tiene un grosor de pared de 1 mm como máximo y que el al menos un tubo construye al menos una sección de reacción que es sustancialmente horizontal o tiene una inclinación de al menos 0,1 grado a como máximo 3,0 grados.

40 La presente invención también se refiere a un fotobiorreactor tubular, según la presente invención, que comprende al menos un tubo, un tanque de circulación y un suministro de gas, en el que el al menos un tubo está conectado como un bucle al tanque de circulación, en el que el suministro de gas es conectado a al menos un tubo, caracterizado por que el bucle del al menos un tubo tiene una longitud de al menos 100 metros y que el al menos un tubo construye al menos una sección de reacción que es sustancialmente horizontal o tiene una inclinación de al menos 0,1 grados a como máximo 3,0 grados.

45 La presente invención también se refiere a un fotobiorreactor tubular, según la presente invención, que comprende al menos un tubo, un tanque de circulación y un suministro de gas, en el que el al menos un tubo está conectado como un bucle al tanque de circulación, en el que el suministro de gas es conectado a al menos un tubo, caracterizado por que el al menos un tubo contiene al menos dos tubos, en el que los tubos están conectados por un accesorio de ajuste por presión y que el al menos un tubo construye al menos una sección de reacción que es sustancialmente horizontal o tiene una inclinación de al menos 0,1 grados a como máximo 3,0 grados.

50 En una realización preferida, la al menos una sección de reacción es sustancialmente horizontal.

En una realización preferida, la al menos una sección de reacción tiene una ligera inclinación. En una realización preferida, la al menos una sección de reacción tiene una inclinación de al menos 0,1 grados a como máximo 3,0

grados. En una realización preferida, la al menos una sección de reacción tiene una inclinación de al menos 0,1 grados a como máximo 2,5 grados. En una realización preferida, la al menos una sección de reacción tiene una inclinación de al menos 0,1 grados, más preferiblemente de al menos 0,2 grados, incluso más preferiblemente de al menos 0,5 grados. En una realización preferida, la al menos una sección de reacción tiene una inclinación de como máximo 3,0 grados, más preferiblemente de como máximo 2,5 grados, incluso más preferiblemente de como máximo 2,0 grados, incluso más preferiblemente de 1,5 grados. Los grados se refieren al ángulo medido en relación con la horizontal.

En una realización preferida, la mayoría o la totalidad del al menos un tubo construye la al menos una sección de reacción.

Los inventores descubrieron sorprendentemente que una ligera inclinación de la sección de reacción conduce a un flujo de taponamiento más regular. Esto conduce a una transferencia mejorada de CO₂ y O₂ entre gas y líquido y en sentido contrario. Además, debido a la transferencia mejorada de CO₂ y O₂ es posible usar solo inyección de gas para mover el líquido. Por lo tanto, se puede omitir una bomba de líquido, y esto permitirá el cultivo de organismos frágiles, p. ej. algas frágiles

Por consiguiente, los fotobiorreactores tubulares que tienen al menos un tubo que construye al menos un tubo construyen al menos una sección de reacción que tiene una inclinación de al menos 0,1 grados a como máximo de 3, grados, no tienen bomba y más preferiblemente tampoco un sistema de elevación de aire para circular un líquido a través del al menos un tubo.

La inclinación no debe ser demasiado alta, ya que esto conduce a un aumento de la energía necesaria para el movimiento del líquido.

Como realizaciones preferidas, los fotobiorreactores tubulares que tienen al menos un tubo que construye al menos una sección de reacción que es sustancialmente horizontal o tiene una inclinación de al menos 0,1 grados a como máximo 2,5 grados, pueden tener algunas o todas las características preferidas descrito en esta descripción para fotobiorreactores.

La presente invención también se refiere al uso de estos fotobiorreactores en un método descrito en la presente descripción, preferiblemente en un método para el cultivo de organismos en un biorreactor, que incluye las etapas: a) proporcionar un medio de cultivo líquido que contiene los organismos en el biorreactor y b) cultivar los organismos en el biorreactor, en el que el medio de cultivo líquido contiene un sistema tampón de bicarbonato que contiene iones de bicarbonato y/o iones de carbonato en una cantidad de al menos 3 mM (referido a la suma de iones de bicarbonato e iones de carbonato) y en el que durante al menos un segmento de tiempo de la etapa b) el medio de cultivo líquido se mueve, caracterizado por que durante al menos un segmento de tiempo de la etapa b) una fase gaseosa que contiene al menos 0,2% vol. de CO₂ se introduce en el medio de cultivo.

La invención se describirá con más detalle, sin limitar el alcance de la invención, en las figuras y los siguientes ejemplos:

– La figura 1 muestra esquemáticamente un fotobiorreactor tubular según la presente invención.

– La figura 2 muestra esquemáticamente un fotobiorreactor tubular según el estado de la técnica utilizado en el ejemplo comparativo 3.

La figura 1 muestra esquemáticamente un fotobiorreactor tubular 1 según la presente invención que se usa en un método descrito en este documento. El fotobiorreactor 1 comprende un tubo 2 y un tanque de circulación 3.

El tubo puede estar hecho de un material plástico, que tiene un espesor de pared delgada de, por ejemplo, al menos 100 µm y como máximo 600 µm y un diámetro interno de aproximadamente 6 cm. El tubo puede ser más largo que los tubos de fotobiorreactores conocidos, p. ej. al menos 180 metros. Por supuesto, el fotobiorreactor 1 puede tener varios tubos 2. El tubo 2 está dispuesto como un bucle, en el que un medio de cultivo líquido 8 puede circular desde el fondo del tanque de circulación 3 a través del tubo 2 de regreso al tanque de circulación 3.

El tanque de circulación 3, también conocido como tanque de recolección o tanque de desgasificación, contiene medio de cultivo 8 con microorganismos y una fase gaseosa 10, preferiblemente aire atmosférico comprimido. El tanque de circulación 3 tiene una superficie de gas líquido que es lo suficientemente grande como para permitir la separación gas-líquido a velocidades de flujo de gas y líquido dadas.

Cada bucle puede tener al menos una vuelta, pero también puede tener 3, 5 o un mayor número de vueltas desde una estructura tipo serpentina antes de que el tubo termine en el tanque de separación gas-líquido. Los tubos se pueden montar horizontalmente o en una pendiente (leve). Los giros se pueden montar en el plano horizontal o en un plano inclinado. Cuando los giros se montan en un plano inclinado, el tubo después del giro, o después de cada giro en el caso de que cada bucle contenga más de un giro, se puede montar en un plano elevado al plano en el que se monta el tubo antes del giro.

Por supuesto, el biorreactor puede tener características adicionales conocidas por un experto en la materia, por ejemplo, un escape de líquido y un suministro de líquido en el tanque de circulación 3.

El medio de cultivo circula desde el tanque de circulación 3 a través del tubo 2 a través de una bomba de líquido 4.

La fase gaseosa 10 puede salir del tanque de circulación 3 a través de un escape de gas 11. Sin embargo, al menos parte de la fase gaseosa 10 se bombea a través de una bomba de aire 7 a través de un suministro de gas 5 al medio de cultivo 4. La fase gaseosa 10 puede ser enriquecida con CO₂, p.ej. a una concentración de CO₂ de al menos 0,2% vol. a través de un suministro 6 para CO₂ puro o para aire enriquecido con CO₂. Dado que la fase gaseosa 10 en el tanque de circulación 3 ya contiene CO₂ que no fue utilizado por los microorganismos y se evapora del medio de cultivo 8 en el tanque de circulación 3, las cantidades de CO₂ que debe proporcionar el suministro 6 se pueden reducir para obtener una fase gaseosa que contenga al menos 0,2% vol. de CO₂.

La fase gaseosa 10 se introduce en la primera sección del tubo 2, en vista de la dirección de circulación del medio de cultivo 8 en una cantidad y una velocidad para obtener un flujo de taco que consiste en el medio de cultivo 8 y burbujas de gas 9, que contiene cantidades de CO₂ aumentadas. El medio de cultivo contiene una concentración de excedente catiónico, p. ej. mediante la adición de al menos 1 mM o preferiblemente al menos 10 mM de NaHCO₃. Esto resulta junto con la concentración de CO₂ en las burbujas de gas y la formación de un flujo de babosas a las ventajas descritas en el presente documento, que permiten el uso de tubos 2 más largos que los tubos del estado de la técnica y de tubos 2 con un espesor de pared más delgado que el de los tubos utilizados en el estado de la técnica.

Las burbujas de gas 9 salen del medio de cultivo 8 al final del tubo 2 y se difunden en la fase gaseosa 10 del tanque de circulación 3.

La figura 2 muestra esquemáticamente un fotobiorreactor tubular 21 según el estado de la técnica tal como se usó en el ejemplo comparativo 3.

El fotobiorreactor 21 comprende de nuevo un tubo 22 y un tanque de circulación 23. El medio de cultivo 28 circula a través del tubo 22 a través de una bomba de líquido 24.

Sin embargo, la fase gaseosa 30 no circula a través del tubo 22 del reactor. La aireación para establecer la transferencia de masa entre la fase líquida y gas tiene lugar en el tanque de circulación 23 a través de un suministro 26, una bomba de aire 25 y un burbujeador 27 que proporciona aire como burbujas 33. Además, la fase de gas 30 puede salir del tanque de circulación 23 a través de un escape de gas 32. El CO₂ se inyecta directamente en el medio de cultivo 28 a través de un suministro 29 al comienzo del tubo 22 del reactor 21 cuando el pH medido por un medidor de pH 31 excede un punto de ajuste dado. No se forma flujo de taponamiento, pero el tubo 22 está completamente lleno con medio de cultivo 28. Tal modo de operación convencional elimina el O₂ disuelto del medio de cultivo 28 por aireación del tanque de circulación 23. Esto conduce a niveles de O₂ disuelto en el medio de cultivo 28 en el tubo 22 de, por ejemplo, más de 50 mg/L. Estos altos niveles de O₂ disuelto inhibe el proceso de fotosíntesis y, por lo tanto, el crecimiento de organismos fototróficos.

Ejemplo 1:

Se añadieron 40 mM de NaHCO₃ al medio de cultivo de columnas de burbujas de 3 litros colocadas verticalmente en incubadoras con temperatura controlada. El diámetro de estas columnas cilíndricas es de 6 cm; La altura del nivel del líquido en cada columna es de aproximadamente 0,7 m. El volumen del líquido es de 2 litros. El medio se airea desde el fondo de cada columna con aire enriquecido con 2% de CO₂. La velocidad de aireación es de 0,5 litros/min. Después del equilibrio del gas y la fase líquida, se alcanza un pH 8,4 en la fase líquida. Las columnas de burbujas se inoculan con células de las microalgas *Nannochloropsis*. Las columnas de burbujas se iluminan continuamente desde dos lados usando tubos fluorescentes con una intensidad de luz de cada lado de alrededor de 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. En aproximadamente 2 semanas, el cultivo crece de manera autotrófica y la biomasa de algas aumenta de 0,1 a 3 g/l. Durante el cultivo, el pH solo aumenta lentamente a aproximadamente pH 8,6 cuando el cultivo se ilumina. En la oscuridad, el pH no cae por debajo del pH 8,4. Por lo tanto, en esta configuración no se requiere control de pH regulado activamente (midiendo el pH con una sonda y rociando el sistema con CO₂ cuando el pH aumenta por encima de un punto de ajuste dado). Este método también se puede aplicar a plantas de producción a gran escala con conjuntos de columnas de burbujas o reactores de panel plano.

Ejemplo 2

Se usó un PBR tubular convencional como se muestra en la figura 2 para cultivar *Nannochloropsis*. Esto se comparó con el cultivo de *Nannochloropsis* en un modo operativo alternativo utilizando un bicarbonato/carbonato elevado en la fase líquida y concentraciones de CO₂ elevado en la fase gaseosa y la aplicación de un flujo de taponamiento en la parte tubular del PBR como se muestra en la figura 1. En comparación con la operación convencional, el tampón de bicarbonato/carbonato se incrementó mediante la adición de 40 mM de NaHCO₃ en la fase líquida. La fase gaseosa aplicada en la operación convencional era aire atmosférico y contenía en el modo alternativo 2% de CO₂. En la operación convencional no se formó flujo de taponamiento en la parte tubular del PBR.

Los niveles de iluminación por luz solar natural fueron similares en ambos casos.

Mientras que en el modo de operación convencional, los niveles de O_2 disuelto aumentan durante el día a niveles máximos de 45 mg/L, el nivel de O_2 oxígeno disuelto no excedió 22 mg/L cuando se aplicó el modo alternativo.

Además, en el modo de operación convencional, la aireación de la fase líquida en el tanque de circulación para eliminar el O_2 disuelto, se acompaña de una eliminación no deseada de CO_2 . La cantidad diaria total de pérdida CO_2 del PBR fue de entre 10 y 30 kg cuando se opera en el modo convencional y solo de 1 a 3 kg cuando se opera en el modo alternativo.

Ejemplo 3

En los fotobiorreactores tubulares, el método de control del pH según la presente invención puede aplicarse cuando la fase gaseosa también circula a través de la parte tubular del reactor. La configuración esquemática de un fotobiorreactor tubular utilizado en este ejemplo se muestra en la figura 1.

Se añadieron 40 mM de $NaHCO_3$ al medio de cultivo de un fotoreactor tubular de 600 litros. Los bucles tubulares de este sistema consisten en un tubo con un diámetro de 6 cm y una longitud de aproximadamente 180 m. El volumen del asa tubular es, por consiguiente, de unos 500 litros. El volumen del tanque de circulación es de 100 litros. El volumen de la fase líquida es de aproximadamente 400 litros y el de la fase gaseosa de 200 litros.

El caudal de la bomba de aire es de 4 m³ por hora. El caudal de la bomba de líquido es de 2,5 m³ por hora.

La concentración de CO_2 del suministro de gas se controla mediante dos rotámetros y se ajusta al 2%. El caudal del suministro de gas es de 0,2 m³ por hora. En combinación con un exceso catiónico de 40 mM, esto da como resultado un valor de pH en el equilibrio de pH 8,4.

También en esta configuración, el pH del medio líquido en todo el reactor se mantiene muy bien al aumentar tanto la concentración de catión excedente de la fase líquida como el CO_2 concentración en la fase gaseosa y, por lo tanto, aumenta la capacidad de amortiguación del sistema de bicarbonato.

El comportamiento de la fase gaseosa y líquida en el circuito tubular en este caso puede describirse como un "flujo de taponamiento" típico. Este "flujo de taponamiento" de dos fases permite una mezcla completa de la fase líquida a lo largo del gradiente de luz (que es vertical, perpendicular en el eje tubular) y, por lo tanto, ciclos de luz/oscuridad de menos de 1 Hz, mientras que el suministro de energía auxiliar es de solo 200 W por m³ de cultivo. En comparación con el suministro de energía auxiliar de PBR tubulares de última generación de más de 2000 W por m³, esta es una gran mejora en la economía del proceso en términos de costos de energía. Debido al flujo de taponamiento, la trayectoria de la luz es en promedio mucho más pequeña que el diámetro del tubo de 6 cm, lo que permite una mayor productividad volumétrica.

Además, el "flujo de taponamiento" también permite la prevención de incrustaciones y la formación de una biopelícula en el interior del tubo por la ausencia de una capa laminar cerca de la superficie del tubo que existe en los reactores tubulares que funcionan normalmente.

La estabilización del pH del medio líquido aumentando tanto la concentración de excedente catiónico de la fase líquida como la concentración CO_2 de la fase gaseosa también conduce a la estabilización de la concentración de oxígeno disuelto en el medio líquido.

REIVINDICACIONES

1. Un fotobiorreactor tubular (1), que comprende al menos un tubo (2), un tanque de circulación (3) y un suministro de gas (5,6), en el que el al menos un tubo (2) está conectado como un bucle al tanque de circulación (3), en el que el suministro de gas (5) está conectado a al menos un tubo (2), caracterizado por que el bucle del al menos un tubo (2) tiene una longitud de al menos 100 metros y que el al menos un tubo (2) construye al menos una sección de reacción que es sustancialmente horizontal o tiene una inclinación de al menos 0,1 grados a como máximo 3,0 grados, caracterizado por que el fotobiorreactor (1) es un sistema cerrado, en el que el suministro de gas (5) está conectado a la parte superior del tanque de circulación (3) y a un suministro de CO₂ (6), en el que el fotobiorreactor tubular tiene una bomba de aire (7), un soplador de aire o un ventilador para introducir una fase gaseosa (10) a través del suministro de gas (5) en el al menos un tubo (2).
2. El fotobiorreactor tubular según cualquiera de las reivindicaciones 1, que tiene una bomba (4) o un sistema de elevación de aire para hacer circular un líquido (8) a través del al menos un tubo (2).
3. El fotobiorreactor tubular según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que el fotobiorreactor no tiene elementos de control para la concentración de oxígeno.
4. El fotobiorreactor tubular según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el suministro de gas (5) está diseñado para poder introducir una fase gaseosa (10) en una fase líquida (8) en el al menos un tubo (2) creando un flujo de taponamiento (9).
5. El fotobiorreactor tubular según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el al menos un tubo (2) es translúcido.
6. El fotobiorreactor tubular según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el al menos un tubo (2) es un tubo de plástico que tiene un grosor de pared de como máximo 1 mm.
7. El fotobiorreactor tubular según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el al menos un tubo (2) contiene al menos dos tubos, en el que los tubos están conectados por un accesorio de ajuste a presión.
8. Un método para el cultivo de organismos en un fotobiorreactor tubular, que incluye las etapas:
 - a. proporcionar un medio de cultivo líquido que contiene los organismos en el fotobiorreactor y
 - b. cultivar los organismos en el fotobiorreactor,en el que el medio de cultivo líquido contiene un sistema tampón de bicarbonato que contiene iones de bicarbonato y/o iones de carbonato en una cantidad de al menos 3 mM (referido a la suma de iones de bicarbonato e iones de carbonato) y en el que durante al menos un segmento de tiempo de la etapa b) el medio de cultivo líquido se mueve, caracterizado por que durante al menos un segmento de tiempo de la etapa b) una fase gaseosa que contiene al menos 0,2% vol. CO₂ se introduce en el medio de cultivo como flujo de taponamiento o flujo de tapón, en el que el fotobiorreactor tubular es un fotobiorreactor tubular según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
9. El método según la reivindicación 8, en el que los organismos son organismos fototróficos, preferiblemente son algas.
10. Uso de un fotobiorreactor tubular en un método para el cultivo de organismos en un fotobiorreactor, que incluye las etapas:
 - a. proporcionar un medio de cultivo líquido que contiene los organismos en el fotobiorreactor y
 - b. cultivar los organismos en el fotobiorreactor,en el que el medio de cultivo líquido contiene un sistema tampón de bicarbonato que contiene iones de bicarbonato y/o iones de carbonato en una cantidad de al menos 3 mM (referido a la suma de iones de bicarbonato e iones de carbonato) y en el que durante al menos un segmento de tiempo de la etapa b) el medio de cultivo líquido se mueve, caracterizado por que durante al menos un segmento de tiempo de la etapa b) una fase gaseosa que contiene al menos 0,2% vol. de CO₂ se introduce en el medio de cultivo como flujo de taponamiento o flujo de tapón, en el que el fotobiorreactor tubular es un fotobiorreactor tubular según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
11. Uso según la reivindicación 10, en el que el método es un método según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 9

Fig. 1

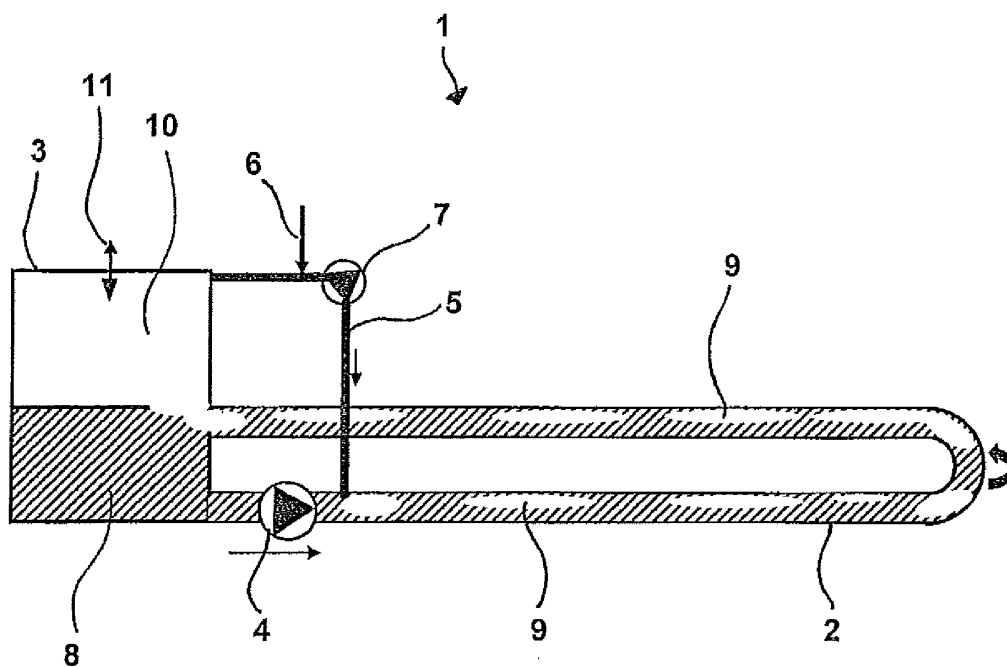


Fig. 2

