

(19) OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 259 548**

(21) Número de solicitud: **200500374**

(51) Int. Cl.:

**C12N 1/12 (2006.01)**

(12)

SOLICITUD DE PATENTE

A1

(22) Fecha de presentación: **18.02.2005**

(71) Solicitante/s: **Universidad de Almería  
Cañada San Urbano, s/n  
04120 Almería, ES  
CAJA RURAL INTERMEDITERRÁNEA SCC**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **01.10.2006**

(72) Inventor/es: **Fernández Sevilla, José María;  
Molina Grima, Emilio;  
Pérez Parra, Jerónimo;  
Acien Fernández, Francisco Gabriel;  
Magán Cañadas, Juan José y  
Friedl, Thomas**

(44) Fecha de publicación del folleto de la solicitud:  
**01.10.2006**

(74) Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

(54) Título: **Nueva especie de microalga y su aplicación para consumo animal, humano y en la obtención de carotenoides.**

(57) Resumen:

Nueva especie de microalga y su aplicación para consumo animal, humano y en la obtención de carotenoides. Una nueva cepa de *Scenedesmus* ha sido aislada en la estación experimental "Las Palmerillas-CAJAMAR", siendo identificada como "microorganismo no previamente registrado" por la Universidad de Gottinghem, y depositada en la Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP) como *Scenedesmus almeriensis*. La nueva cepa puede ser utilizada para consumo animal y/o humano, y produce elevadas cantidades de carotenoides, especialmente luteína y betacaroteno. *Scenedesmus almeriensis* crece adecuadamente en un amplio rango de temperaturas de 10°C a 40°C, a un pH de 7,0 a 9,5, y es tolerante a elevadas concentraciones de cobre, de hasta 1 mg/L. La cepa microalgal, cultivada en un fotobioreactor de 4000 L en el que el cultivo se impulsa mecánicamente, produce luteína en una cantidad de al menos 4 mg por gramo de materia seca. Esta cepa es muy adecuada para la producción de carotenoides de aplicación en el tratamiento de desórdenes de la macula ocular.

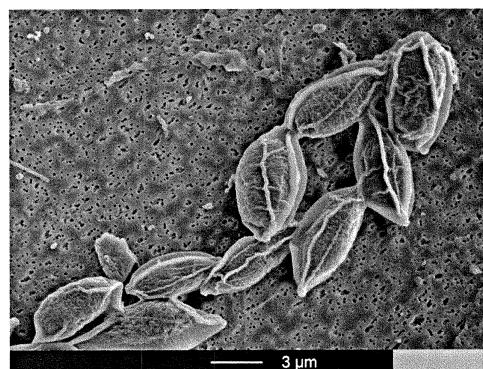


FIG. 1

## DESCRIPCIÓN

Nueva especie de microalga y su aplicación para consumo animal, humano y en la obtención de carotenoides.

### Objeto de la invención

La presente invención se refiere a una nueva especie de microalga, aislada y verificada como nueva especie no anteriormente descrita, de importantes aplicaciones tanto para acuicultura como para consumo humano, e incluso en la obtención de carotenoides o extractos de carotenoides para uso animal y/o humano.

La microalga es una especie del género *Scenedesmus* registrada como *Scenedesmus almeriensis* y depositada en la colección oficial legalmente reconocida (Culture Collection of Algae and Protozoa, CCAP). Una imagen al microscopio electrónico de esta microalga se muestra en la figura 1. Esta microalga se caracteriza por una elevada velocidad de crecimiento, de  $0.08 \text{ h}^{-1}$ , gran tolerancia a amplios rangos de temperatura, de  $10^\circ\text{C}$  a  $40^\circ\text{C}$ , y alto contenido en carotenoides, especialmente luteína.

### Antecedentes de la invención

Existen miles de especies de microalgas catalogadas, aunque sólo unas pocas de ellas son explotadas comercialmente. Los principales requisitos que debe cumplir una especie de microalga para ser susceptible de utilización industrial son un adecuado crecimiento y una composición bioquímica diferente que le haga tener un valor añadido lo más elevado posible. En este sentido, las especies de microalga explotadas comercialmente en la actualidad van desde *Chlorella* y *Nannochloropsis* para acuicultura (Borowitzka, Journal of Biotechnology, 70(1-3), (1999) 313-321), a *Spirulina* para consumo humano (Morist *et al.*, Process Biochemistry, 37(5), (2001), 535-547), o *Dunaliella* y *Haematococcus* para la producción de carotenoides como betacaroteno y astaxantina, respectivamente (Guerin *et al.*, Trends in Biotechnology, 21 (5), (2003) 210-216).

Aunque otras muchas especies han sido descritas como potencialmente interesantes por su perfil bioquímico valioso, su reducida velocidad de crecimiento o la dificultad en su producción por sensibilidad al estrés y/o facilidad de contaminación, han impedido dicha explotación comercial. Este el caso de las microalgas *Isochrysis galbana* (Molina *et al.*, Process Biochemistry, 30(8), (1995) 711-719) o *Mondus subterraneus* (Belarbi *et al.*, Process Biochemistry, 35(9), (2000) 951-969). Respecto a la producción de luteína, la microalga *Murielopsis* sp. ha sido cultivada adecuadamente en fotobiorreactores tubulares de pequeña escala, 50 L, a nivel de laboratorio, con productividades de hasta  $180 \text{ mg luteína/m}^2 \text{ día}$ , aunque la eficiencia fotosintética es muy reducida, del 4% (José A. Del Campo *et al.*, Journal of Biotechnology 85 (2001) 289-295). Los resultados obtenidos con la nueva cepa aislada llegan a duplicar dicha capacidad de producción, estando aún por ser optimizada.

### Descripción de la invención

La presente invención presenta una nueva especie de microalga caracterizada por una elevada capacidad

de crecimiento y gran tolerancia a condiciones de cultivo extremas, que posee además un contenido en carotenoides muy poco usual, por lo que es una fuente útil de obtención tanto de biomasa como de estos carotenoides, y en especial de luteína, en cualquiera de sus formas.

La microalga *Scenedesmus almeriensis*, objeto de la presente invención, se caracteriza por velocidades de crecimiento de hasta  $0.08 \text{ h}^{-1}$ , tolerancia a amplios rangos de pH (entre  $7.0$  y  $9.5$ ) y temperatura (entre  $10^\circ\text{C}$  y  $40^\circ\text{C}$ ), y elevados contenidos en luteína, de hasta el 0.5% del peso seco de la biomasa. Las condiciones más adecuadas para el crecimiento de la microalga *Scenedesmus almeriensis* son una temperatura de  $30^\circ\text{C}$ , un pH de 8.0, y sin adición de vitaminas. Además, la microalga *Scenedesmus almeriensis* puede crecer en una gran variedad de medios de cultivo, habiéndose determinado un crecimiento adecuado en las soluciones nutritivas utilizadas en agricultura intensiva bajo plástico. De acuerdo con observaciones al microscopio electrónico llevadas a cabo dicha microalga posee una pared celular muy resistente que la protege frente a fenómenos de estrés mecánico, soportando así su impulsión mediante bombas centrifugas de hasta 2.0 CV de potencia.

La microalga *Scenedesmus almeriensis* se caracteriza además por una elevada eficiencia fotosintética, alcanzando valores del 12% en su cultivo a gran escala en reactores tubulares de 4000 L de volumen, instalados en el interior de un invernadero. La productividad de biomasa máxima obtenida en estas condiciones ha sido de  $0.8 \text{ g/L día}$ . Sin embargo, el dato más interesante es su elevada productividad de luteína, que ha alcanzado valores máximos de  $480 \text{ mg luteína/m}^2 \text{ día}$ . Dichos valores han sido obtenidos mediante el cultivo en modo continuo, siendo este el mejor modo de producción de esta microalga. Operando de esta forma, se obtiene una biomasa homogénea y de alta calidad, con un perfil bioquímico muy adecuado tanto para su uso en nutrición de larvas de peces y moluscos, como nutrición de animales y ganado, complemento nutricional y en nutrición humana, en la obtención de aceites ricos en ácidos grasos poli-insaturados y carotenoides, y especialmente para la obtención de aceites ricos en luteína, con hasta un 30% en peso de luteína.

La microalga *Scenedesmus almeriensis* ha sido cultivada en condiciones controladas de pH y temperatura, con valores de 8.0 y  $30^\circ\text{C}$  respectivamente, en reactores tubulares de 4000 L obteniéndose una biomasa homogénea y de alta calidad, con un elevado contenido en luteína de hasta el 0.5% sobre biomasa seca. Esta biomasa es susceptible de ser utilizada en la obtención de extractos o aceites ricos en luteína. Así, mediante métodos químicos se han obtenido aceites enriquecidos en luteína con hasta el 50% en peso de luteína. Estos extractos son potencialmente utilizables para consumo humano en la prevención y tratamiento de diversos trastornos, especialmente relacionados con la degeneración macular senil.

### Breve descripción de los dibujos

Figura 1.- Imagen al microscopio electrónico de la microalga *Scenedesmus almeriensis*.

## REIVINDICACIONES

1. Una cepa de la microalga *Scenedesmus*, denominada *Scenedesmus almeriensis*, productora de luteína, depositada en la Culture Collection of Algae and Protozoa (CCAP) con el número de depósito CCAP 276/24 o un mutante o variante de la misma.

2. Una cepa de *Scenedesmus almeriensis*, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque crece en un intervalo de temperatura comprendido entre 10°C y 40°C, preferentemente a 30°C.

3. Una cepa de *Scenedesmus almeriensis*, según la reivindicación 1, **caracterizada** porque crece en un intervalo de pH comprendido entre 7.0 y 9.5, preferentemente a un pH de 8.0.

4. Uso de la cepa de *Scenedesmus almeriensis*, según las reivindicaciones anteriores, en la nutrición de larvas de peces y moluscos.

5. Uso de la cepa de *Scenedesmus almeriensis*, se-

gún las reivindicaciones anteriores, en la nutrición de animales y ganado.

6. Uso de la cepa de *Scenedesmus almeriensis*, según las reivindicaciones anteriores, como complemento nutricional y en nutrición humana.

7. Uso de la cepa de *Scenedesmus almeriensis*, según las reivindicaciones anteriores, en la obtención de aceites ricos en ácidos grasos poli-insaturados.

8. Uso de la cepa de *Scenedesmus almeriensis*, según las reivindicaciones anteriores, en la obtención de aceites ricos en carotenoides.

9. Uso de la cepa de *Scenedesmus almeriensis*, según las reivindicaciones anteriores, en la obtención de aceites ricos en luteína.

10. Un procedimiento para la obtención de un aceite rico en luteína que comprende cultivar la microalga *Scenedesmus almeriensis* a una T<sup>a</sup> de 30°C y un pH de 8.0 en un fotobiorreactor tubular de 4.000 L, y aislar el aceite rico en luteína.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 259 548 A1

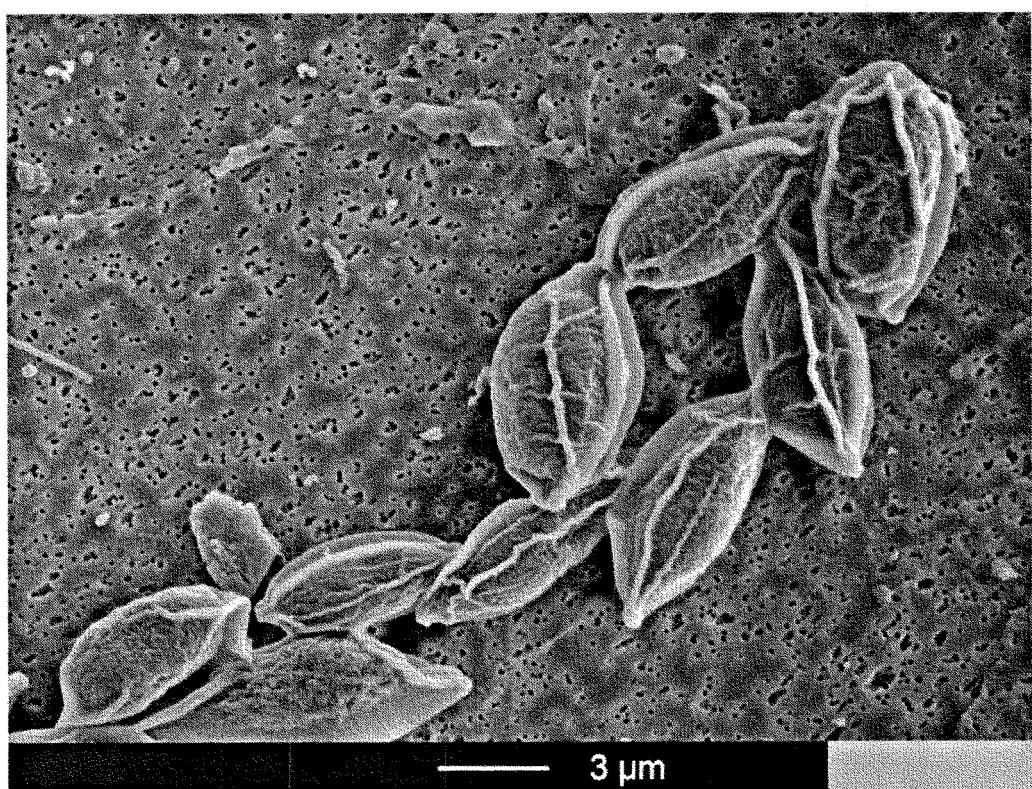


FIG. 1



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA

- (11) ES 2 259 548  
(21) N° de solicitud: 200500374  
(22) Fecha de presentación de la solicitud: 18.02.2005  
(32) Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

(51) Int. Cl.: C12N 1/12 (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	TUKAJ, Z. et al. Changes in the pigment patterns and the photosynthetic activity during a light-induced cell cycle of the green alga Scenedesmus armatus. Plant Physiology and Biochemistry. 2003. Vol. 41, páginas 337-344. Elsevier.	1-3,6-8, 13-15
Y		9,10,11,12
Y	GB 1318463 A (ASAHI CHEMICAL IND) 31.05.1973, reivindicaciones.	9
Y	GB 1157135 A (YAKULT HONSHA KK) 02.07.1969, página 1, columnas 9-19.	10,11
Y	DE 4018820 A1 (VIELBERTH INST ENTW & FORSCH) 19.12.1991, reivindicaciones 1,2.	12
X	KRASNOVSKA, E. et al. Pigment composition of six xanthophycean algae and Scenedesmus quadricauda. Biologia Bratislava 49. 1994, vol. 49, nº 4, páginas 501-509.	1-3,6-8, 13-15
X	DEVENTER, B & HECKMAN, C. W. Effects of prolonged darkness on the relative pigment content of cultured diatoms and green algae. Aquatic Sciences, 1996, volumen 58, nº 3, páginas 241-252.	1-3,6,8, 13-15

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia  
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría  
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita  
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud  
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe 07.09.2006	Examinador Fco. J. Haering Pérez	Página 1/1
--	-------------------------------------	---------------