

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 765 050**

(51) Int. Cl.:

C12P 5/02 (2006.01)
C12P 7/06 (2006.01)
C12P 7/64 (2006.01)
C12P 13/04 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.02.2013 PCT/ES2013/070064**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **14.08.2014 WO14122331**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.02.2013 E 13722787 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2019 EP 2966171**

(54) Título: **Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.06.2020

(73) Titular/es:

ALGAENERGY S. A. (50.0%)
Avda. de Europa 19, Parque Empresarial
La Moraleja
28108 Alcobendas (Madrid), ES y
UNIVERSIDAD DE ALMERIA (50.0%)

(72) Inventor/es:

ORTIZ MONTOYA, ERIKA YULIANA;
LLAMAS MOYA, BERNARDO;
MOLINA GRIMA, EMILIO;
GARCÍA CUADRA, FRANCISCO;
FERNANDEZ SEVILLA, JOSÉ y
ACIEN FERNANDEZ, FRANCISCO GABRIEL

(74) Agente/Representante:

LÓPEZ CAMBA, María Emilia

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 765 050 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

Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa

5

OBJETO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se incluye dentro del campo técnico de la producción de biocombustibles a partir de microorganismos fotosintéticos. En concreto, se enmarca en el área de la obtención de compuestos de interés comercial a partir de biomasa producida en sistemas masivos al exterior para el mercado de biocombustibles.

10 El objeto de la patente consiste en un proceso optimizado de obtención de productos de interés a partir de microorganismos fotosintéticos que comprende la secuencia de etapas y sus condiciones óptimas de operación para maximizar la cantidad y calidad de productos a obtener, consiguiendo un aprovechamiento íntegro de la biomasa, todo ello de una forma sostenible y económicamente viable.

15 El proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa de la invención caracterizado por que comprende las siguientes etapas:

- 20 - Una primera etapa en la que partiendo de una biomasa de microalgas (1) se introduce en un tanque de agitado en la que mediante el empleo de enzimas celulolíticas (2) se produce la licuefacción de los azúcares (3) que rompen la pared celular y liberan los carbohidratos solubles, permaneciendo el resto de componentes en la biomasa residual; la mezcla obtenida se debe separar mediante un proceso de filtración y/o centrifugación (4) dando un clarificado (5) rico en carbohidratos y un concentrado conteniendo la biomasa residual (9).
- 25 - Una etapa de producción de bioetanol y otros productos derivados, como el ácido láctico, a partir del clarificado (5) anterior mediante sacarificación (6) de los carbohidratos, seguido de una fermentación alcohólica (7) con levadura para transformar los monosacáridos en bioetanol (8) con un proceso de fermentación de alto rendimiento.
- 30 - Una etapa de producción de concentrados de péptidos y aminoácidos (10) de la biomasa residual (9) mediante el empleo de enzimas proteolíticas (12) que rompen las proteínas, solubilizándolas, en un proceso de hidrólisis enzimática (11), y transformando las proteínas en péptidos y aminoácidos de menor peso molecular que se pueden emplear en alimentación o como fertilizantes agrícolas de alto valor. La mezcla de reacción obtenida se debe separar mediante un proceso de filtración y/o centrifugación (13) dando un clarificado (14) rico en péptidos-aminoácidos y un concentrado conteniendo la biomasa residual (15).
- 35 - Una etapa de producción de biodiesel a partir del concentrado (15) anterior mediante la cual se realiza la transesterificación (17) de los ácidos grasos presentes en la biomasa con ácido sulfúrico como catalizador y metanol como reactivo (16), obteniéndose los respectivos ésteres metílicos que lo constituyen. Transcurrida la reacción el biodiesel (20) se extrae de la mezcla de reacción mediante hexano (18), el cual se evapora posteriormente para obtener el biodiesel (20) y
- 40 - Una etapa de producción de biogás, en la que la biomasa residual (21) de la etapa anterior se somete a un proceso de digestión anaerobia (22) por acción de bacterias metanogénicas, para la producción de biogás (23) a partir de la mezcla de reacción resultante (21), exenta de metanol y hexano, mediante la cual la materia carbonosa residual contenida en la misma se transforma en metano, hidrógeno y CO₂.
- 45 - Una etapa de producción de biogás, en la que la biomasa residual (21) de la etapa anterior se somete a un proceso de digestión anaerobia (22) por acción de bacterias metanogénicas, para la producción de biogás (23) a partir de la mezcla de reacción resultante (21), exenta de metanol y hexano, mediante la cual la materia carbonosa residual contenida en la misma se transforma en metano, hidrógeno y CO₂.

50

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Las microalgas son organismos de gran utilidad debido a que presentan gran número de aplicaciones beneficiosas en áreas tan diferentes como la producción de compuestos farmacéuticos y nutracéuticos, la alimentación humana y animal, el tratamiento de aguas residuales, y la producción de biocombustibles (Spolaore, et al. 2006). Las ventajas del uso de microalgas como fuente de biocombustibles son numerosas tales como que los cultivos de microalgas pueden alcanzar productividades muy superiores a los cultivos tradicionales, dando como resultado una mayor fijación de CO₂ y una mayor cantidad de biomasa producida. Además, los cultivos de microalgas tienen menores necesidades de agua y no compiten con los cultivos tradicionales, puesto que no necesitan terreno ni agua fértil. Por último, son una fuente legalmente aceptada de biocombustibles y dada la fijación de CO₂ que conllevan presentan hoy día una de las fuentes más sostenibles de obtención de biocombustibles de tercera generación (Chisti 2007).

65 Para producir biocombustibles a partir de microalgas se necesitan sistemas de producción a gran escala, en grandes extensiones de cientos de hectáreas, que den sentido a las inversiones necesarias, además de instalaciones industriales de suficiente envergadura. En la etapa de producción se deben emplear materiales de bajo coste, tecnologías altamente eficientes, y emplearse residuos de otras industrias como CO₂ y efluentes contaminados con nitrógeno y fósforo, para

conseguir un proceso sostenible y económicamente viable de producción (Olguín 2012; Pittman, et al. 2011). Sin embargo, cualquiera que sea el proceso de producción instalado es imprescindible además disponer de un proceso de valorización de la biomasa que permita aprovechar por completo la misma y obtener la mayor cantidad posible de productos de calidad contrastada. Solo el aprovechamiento integral de la biomasa y su transformación en productos de valor puede hacer 5 económicamente viable el proceso global de producción + valorización (Acién, et al. 2012; Molina Grima, et al. 2003; Singh, et al. 2011).

Se ha descrito previamente que las microalgas pueden ser utilizadas para producir bioetanol dado su elevado contenido 10 en carbohidratos (Harun and Danquah 2011). Para ello es necesario realizar un proceso de licuefacción de los carbohidratos contenidos en la biomasa, y posteriormente una sacarificación de los mismos para obtener monosacáridos fermentables. Las condiciones propuestas para llevar a cabo este proceso de licuefacción y sacarificación son normalmente extremas, trabajando a pH entre 1 y 3, y temperaturas entre 100 y 250°C (Harun and Danquah 2011). Las 15 condiciones de fermentación con levaduras son más suaves, y deben adaptarse al óptimo de la levadura empleada, variando entre temperaturas de 20 a 50°C y pH entre 7 y 9 (Khaw, et al. 2006; Mesa, et al. 2010). El mayor inconveniente de estos procesos es que desaprovechan el resto de compuestos presentes en la biomasa ya que durante la licuefacción y sacarificación se destruyen tanto los lípidos como las proteínas presentes, produciendo intermedios de degradación que pueden resultar tóxicos para los procesos de producción de biogás en condiciones anaerobias.

20 También se ha descrito que las microalgas se pueden emplear para producir concentrados de aminoácidos (Romero García, et al. 2012). Las microalgas presentan elevados contenidos en proteína, de hasta el 50% p.s., con perfiles de aminoácidos de alto interés por su calidad nutricional (Rebolloso Fuentes, et al. 2000; Rebolloso-Fuentes, et al. 2001). Los hidrolizados de aminoácidos pueden aplicarse para alimentación humana y animal (Morris 2008), o como 25 biofertilizantes (Ördög, et al. 2004). Pueden obtenerse por vía química o enzimática, siendo recomendable la vía enzimática por mantener las propiedades óptimas de los aminoácidos contenidos en la biomasa. La rotura celular previa y liberación de aminoácidos conlleva la pérdida de carbohidratos por lo que mediante este tipo de procesos no es posible posteriormente producir bioetanol a partir de los carbohidratos contenidos en la biomasa.

30 En cuanto a la producción de biodiesel, las microalgas se pueden emplear para producir aceites y posteriormente transesterificarlos como se hace habitualmente con aceites vegetales, o alternativamente se puede realizar una transesterificación directa de la biomasa completa (Belarbi, et al. 2000). La extracción de aceites y posterior 35 transesterificación está dificultada por la presencia de agua en la biomasa de microalgas, por lo que se deben emplear disolventes muy polares y condiciones de extracción agresivas, quedando además unos lípidos complejos por la naturaleza polar de la mayor parte de los lípidos contenidos en la biomasa de microalgas. Por otro lado, la transesterificación directa se realiza en condiciones de alta temperatura y acidez, a temperaturas entre 100 y 300°C y 40 pH entre 2 y 4, en presencia de metanol y ácido sulfúrico como catalizador, lo que provoca una desnaturalización completa de todos los compuestos presentes en la biomasa. Al igual que en el caso de la licuefacción y sacarificación de azúcares esto conlleva el no aprovechamiento del resto de compuestos presentes en la biomasa y un posible perjuicio para la producción de biogás por la formación de compuestos tóxicos.

40 Cualquiera que sea el proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos hay que tener en cuenta las siguientes consideraciones para lograr un máximo rendimiento:

- 45 • La biomasa de microorganismos fotosintéticos es un material heterogéneo, compuesto de biomasa y agua, ya que los procesos de cosechado disponibles consiguen concentraciones máximas de materia seca del 20-30%, siendo el resto agua.
- La presencia de agua se puede eliminar mediante operaciones de secado, pero esto repercute negativamente, tanto en el consumo de energía como en la viabilidad económica, por el coste asociado al secado. Por tanto, los procesos de valorización deben hacerse por vía húmeda.
- 50 • Las células de microorganismos fotosintéticos constan de una pared celular dura que se debe romper para liberar el contenido intracelular y poder obtener los productos de interés. El empleo de productos químicos agresivos o condiciones extremas de presión y temperatura están penalizados ya que reducen la sostenibilidad y viabilidad económica de cualquier proceso.
- La realización de cualquier proceso de extracción o transformación de los compuestos presentes en la biomasa 55 afecta al resto de compuestos por lo que el rendimiento o calidad de los productos siguientes se verá siempre afectado por los tratamientos a los que se ha sometido previamente a la biomasa.
- La realización de cualquier proceso de obtención de compuestos a partir de la biomasa dará siempre lugar a unos residuos, cuya composición y condiciones vendrán determinadas por la secuencia de etapas previas. El aprovechamiento de dicho residuo y su eliminación como un objetivo simultáneo es imprescindible para mejorar 60 la viabilidad completa del proceso desarrollado.

REFERENCIAS

65 Acién FG, Fernández JM, Magán JJ, Molina E. 2012. Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. Biotechnol Adv 30:1344-1353

- Belarbi E-, Molina E, Chisti Y. 2000. A process for high yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil. *Process Biochem* 35:951-969.
- 5 Chisti Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnol Adv* 25:294-306.
- Harun R, Danquah MK. 2011. Influence of acid pre-treatment on microalgal biomass for bioethanol production. *Process Biochem* 46:304-309.
- 10 Khaw TS, Katakura Y, Koh J, Kondo A, Ueda M, Shioya S. 2006. Evaluation of performance of different surface-engineered yeast strains for direct ethanol production from raw starch. *Appl Microbiol Biotechnol* 70:573-579.
- Mesa L, González E, Cara C, Ruiz E, Castro E, Mussatto SI. 2010. An approach to optimization of enzymatic hydrolysis from sugarcane bagasse based on organosolv pretreatment. *J Chem Technol Biotechnol* 85:1092-1098.
- 15 Molina Grima E, Belarbi E-, Acién Fernández FG, Robles Medina A, Chisti Y. 2003. Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics. *Biotechnol Adv* 20:491-515.
- Morris HJ. 2008. Cuba: Protein hydrolysates derived from green microalgae. *Ind. Bioprod* 30:7-14.
- 20 Olguín EJ. 2012. Dual purpose microalgae-bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a Biorefinery. *Biotechnol Adv* 30:1031-1046.
- Ördög V, Stirk WA, Lenobel R, Bancíková M, Strnad M, Van Staden J, Szigeti J, Németh L. 2004. Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. *J Appl Phycol* 16:309-314.
- Pittman JK, Dean AP, Osundeko O. 2011. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresour Technol* 102:17-25.
- 30 Rebolloso Fuentes MM, Acién Fernández GG, Sánchez Pérez JA, Guil Guerrero JL. 2000. Biomass nutrient profiles of the microalga *Porphyridium cruentum*. *Food Chem* 70:345-353.
- Rebollos-Fuentes MM, Navarro-Pérez A, García-Camacho F, Ramos-Miras JJ, Guil-Guerrero JL. 2001. Biomass nutrient profiles of the microalga *Nannochloropsis*. *J. Agri Food Chem* 49:2966-2972.
- 35 Romero García JM, Acién Fernández FG, Fernández Sevilla JM. 2012. Development of a process for the production of l-amino-acids concentrates from microalgae by enzymatic hydrolysis. *Bioresour Technol* 112:164-170.
- Singh A, Nigam PS, Murphy JD. 2011. Mechanism and challenges in commercialisation of algal biofuels. *Bioresour Technol* 102:26-34.
- 40 Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. 2006. Commercial applications of microalgae. *J. Biosc Bioeng* 101:87-96.
- 45 **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN**
- La presente invención se refiere a un proceso optimizado de obtención de productos de interés a partir de microorganismos fotosintéticos que comprende la secuencia de etapas y sus condiciones óptimas de operación para maximizar la cantidad y calidad de productos a obtener, consiguiendo un aprovechamiento integral de la biomasa, todo ello de una forma técnicamente realizable y escalable, pero sobre todo sostenible y económicamente viable.
- 50 El proceso propuesto comprende las siguientes etapas:
- 55 - Una primera etapa de extracción de carbohidratos mediante el empleo de enzimas celulolíticas que rompen la pared celular y liberan los carbohidratos solubles, permaneciendo el resto de componentes en la biomasa residual. Se consigue con ello la licuefacción de gran parte de los carbohidratos presentes en la biomasa, que servirán como materia prima en procesos posteriores, como por ejemplo ácido láctico o bioetanol. Para ello la mezcla obtenida se debe separar mediante un proceso de filtración y/o centrifugación dando un clarificado rico en carbohidratos y un concentrado conteniendo la biomasa residual.
- 60 - Una etapa de producción de bioetanol a partir del clarificado anterior mediante sacarificación de los carbohidratos en condiciones de acidez ($\text{pH} = 1.5 - 2.5$) y temperatura ($95 - 115^\circ\text{C}$) moderados, seguido de una fermentación con levadura del género *Saccharomyces*, durante 24 h para transformar los monosacáridos en bioetanol con elevados rendimientos. La levadura se puede recuperar mediante filtración y/o centrifugación para su reutilización, mientras que en la fase líquida quedan contenidos el bioetanol y restos de azúcares sin metabolizar. El bioetanol producido se puede separar por destilación a vacío y posterior desecado mediante tamices moleculares.
- 65 - Una etapa de producción de concentrados de péptidos y aminoácidos mediante el empleo de enzima

proteolíticas que rompen las proteínas, solubilizándolas y transformándolas en péptidos y aminoácidos de menor peso molecular que se pueden emplear en alimentación o como fertilizantes agrícolas de alto valor.

El proceso se lleva a cabo a partir de la biomasa residual de la etapa anterior en un tanque agitado a pH y temperatura controlados ($\text{pH} = 7.7 - 8.1$, $T= 40 - 55^\circ\text{C}$), durante 4 h, en condiciones suaves y sin emplear productos tóxicos ni condiciones agresivas. La mezcla de reacción obtenida se debe separar mediante un proceso de filtración y/o centrifugación dando un clarificado rico en péptidos-aminoácidos y un concentrado contendiendo la biomasa residual. La solución de aminoácidos - péptidos debe ser estabilizada mediante ajuste a pH ácido o alcalino para evitar su descomposición.

- Una etapa de producción de biodiesel a partir del concentrado anterior mediante la cual se realiza la transesterificación de los ácidos grasos presentes en la biomasa con ácidos sulfúrico como catalizador y metanol como reactivo, obteniéndose los respectivos ésteres metílicos que constituyen. La reacción se realiza en condiciones suaves sin el previo secado de la biomasa, empleando ácido sulfúrico al 2% y temperatura entre $90 - 110^\circ\text{C}$, durante 2 h. Transcurrida la reacción el biodiesel se extrae de la mezcla de reacción mediante hexano, el cual se evapora posteriormente para obtener el biodiesel. Del mismo modo el metanol no empleado se retira de la mezcla de reacción mediante destilación a vacío. De esta forma se recuperan ambos disolventes, se minimiza el consumo de los mismos, y se incrementa tanto la sostenibilidad como la viabilidad económica del proceso.

- Una etapa de producción de biogás a partir de la mezcla de reacción resultante, exenta de metanol y hexano, mediante la cual la materia carbonosa residual contenida en la misma se transforma en metano, hidrógeno y CO_2 por acción de bacterias metanogénicas. El proceso se realiza en tanques cerrados en condiciones anaerobias a temperaturas entre $30-40^\circ\text{C}$, con un tiempo de residencia de aproximadamente 5-8 días,

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCIÓN

El proceso propuesto puede ser realizado en todas o algunas de sus partes pero siempre respetando el orden y las condiciones de operación identificadas como óptimas para maximizar el aprovechamiento de la biomasa y todos sus componentes. La realización o no de una etapa vendrá determinada por la cantidad de compuesto a valorizar presente en la biomasa (carbohidratos, proteínas, lípidos) y el interés o valor del producto a obtener (bioetanol, péptidos y aminoácidos, biodiesel, biogás, ácido láctico, ácidos grasos de alto valor). Cabe resaltar sin embargo que la no realización de una etapa lejos de facilitar las etapas posteriores las dificulta ya que la retirada de los diversos compuestos presentes en la biomasa reduce por un lado la presencia de compuestos que puedan interferir en las reacciones siguientes, y por otro incrementa la riqueza en los productos restantes contenidos en la biomasa, incrementando así el rendimiento de las etapas posteriores.

La realización preferente de la invención se muestra en la Figura 1. En la misma la biomasa de microorganismos fotosintéticos (1) procedente del sistema de cultivo y cosechado es acondicionada para obtener una concentración de materia seca entre el 15-20%. El lodo de microorganismos fotosintéticos disponible se introduce en un tanque agitado donde se ajusta la temperatura a las condiciones óptimas de operación de las enzimas celulolíticas a emplear Celulasa y se añade una cantidad de enzima (2%) (2), dejando actuar durante 2 h. En este tiempo se produce la licuefacción de los azúcares (3), liberándose los carbohidratos contenidos en la biomasa al medio. En función del contenido en carbohidratos de la biomasa la concentración de carbohidratos en el medio puede llegar hasta 60 g/l aunque raramente sobrepasa los 30 g/l. Al cabo de este tiempo de reacción el lodo se retira del tanque agitado y se filtra/centrifuga (4) para separar el clarificado contenido los carbohidratos de la biomasa restante. El clarificado (5) se somete entonces a un proceso de sacarificación mediante tratamiento acido-térmico a $\text{pH}= 1.5 - 2.5$ y $T= 95 - 115^\circ\text{C}$ durante 2 h (6). Ello se lleva a cabo en el mismo tanque u otro adicional, con agitación. Al cabo de este tiempo se enfriá dicho concentrado hasta 30°C y se ajusta el pH (7), a las condiciones óptimas de operación de la levadura del género *Saccharomyces*. Una vez estabilizadas las condiciones se añade un 2% de levadura y se deja fermentar con agitación y sin aireación, en condiciones anoxicas durante aproximadamente 24 h. Al cabo de este tiempo los azúcares libres se han transformado en CO_2 y bioetanol (8), quedando la levadura en suspensión. La levadura se puede recuperar mediante filtración/centrifugación y recircularse al proceso de un nuevo lote. El clarificado contiene el bioetanol que se debe recuperar mediante destilación a vacío, ($P=10-20$ mbar, $T=30 - 40^\circ\text{C}$) obteniéndose un azeótropo que contiene un 4% de agua y 96% de bioetanol. El agua se puede eliminar si es necesario mediante tamices moleculares para su empleo como biocombustible directo en mezcla con gasolinas.

En la realización preferente la biomasa resultante (9) tras el proceso de extracción de azúcares se puede emplear para la obtención de concentrados de péptidos y aminoácidos (10). Si no se ha llevado a cabo la etapa anterior igualmente la biomasa se puede emplear directamente para la obtención de concentrados de péptidos y aminoácidos, pero en este caso los carbohidratos irán acompañando a dicha solución y no serán valorizados. Para la obtención de concentrados de péptidos y aminoácidos la biomasa húmeda, con entre un 15-20% de materia seca se añade a un tanque agitado dotado de control de pH y temperatura. Se ajusta el pH y la temperatura a las condiciones óptimas de la enzima (12) a utilizar, preferentemente endo y exo-proteasas, de $\text{pH}= 7.7 - 8.1$ y $T= 40 - 55^\circ\text{C}$, en un proceso de hidrólisis enzimática (11). Se añade la primera enzima y a las 2 h se añade la segunda enzima, ambas en la misma cantidad del 2%. El proceso se completa aproximadamente en 4 h tras las cuales la mayor parte de la fracción proteica se ha hidrolizado y los péptidos y aminoácidos resultantes se encuentran disueltos en la fase líquida. Para separarlos la mezcla de reacción se centrifuga (13) quedando un clarificado (14) contenido dichos péptidos y aminoácidos (10), y una biomasa residual (15). El clarificado (14) debe ser estabilizado para evitar su rápida descomposición ya que es un caldo de cultivo perfecto para bacterias y levaduras. Para ello lo más sencillo es ajustar el pH del clarificado a valores que no permiten el crecimiento de bacterias y levaduras, obteniéndose buenos resultados tanto a pH ácido como alcalino. No se recomienda estabilizar a

valores extremos de pH ya que además de resultar más costoso y peligroso, al tratarse de materiales más corrosivos, los propios péptidos y aminoácidos se pueden desnaturalizar perdiendo parte de sus propiedades.

En la realización preferente, tras el proceso de obtención de bioetanol y concentrados de azúcares, la biomasa residual (15) resultante se puede emplear para producir biodiesel. Si no se han realizado previamente las etapas anteriores la biomasa puede ser igualmente sometida al proceso de producción de biodiesel, si bien el rendimiento del proceso será inferior y la calidad de los productos también, por lo que se recomienda hacer las etapas anteriores y con ello ampliar la cantidad de productos obtenidos de la misma biomasa. Para llevar a cabo este proceso la biomasa húmeda, con un contenido en materia seca del 15-20%, se introduce en un reactor agitado donde se añade ácido sulfúrico como catalizador al 2%, y metanol (16) como reactivo a razón de 1 L por cada litro de biomasa húmeda, se somete la mezcla a un proceso de transesterificación (17). Se calienta la mezcla hasta una temperatura entre 90 - 110°C y se deja reaccionar durante 2 h. Ya que en este caso se trabaja con disolventes orgánicos el reactor a emplear debe ser cerrado y cumplir con las normas ATEX aplicables. Tras este tiempo a la mezcla resultante se le añade hexano y se agita (18) durante 0.5 h para conseguir la transferencia de los esteres metílicos formados de la fase acuosa-metanólica a la fase hexánica. Se retira la fase hexánica y se recupera el hexano mediante destilación a vacío (19) ($P=10-20$ mbar, $T=30-40^{\circ}\text{C}$) resultando el biodiesel líquido (20). La fase acuosa-metanólica se debe tratar para recuperar el metanol en exceso añadido, para lo cual se somete también a destilación a vacío ($P=10-20$ mbar, $T=30-40^{\circ}\text{C}$) hasta recuperación completa del metanol. De esta forma tanto el metanol como el hexano se recuperan y son recirculados al proceso. Queda de esta forma la biomasa residual (21) en fase líquida, junto con los restos de reacción de todas las etapas anteriores. Dicha biomasa se puede emplear para producir biogás.

En la realización preferente, después de las etapas de producción de bioetanol (8), péptidos-aminoácidos (10) y biodiesel (20), la biomasa residual (21) resultante se somete a un proceso de digestión anaerobia (22) para la producción de biogás (23). Si no se realizan las etapas anteriores la biomasa puede someterse a digestión anaerobia para producir biogás pero el rendimiento del proceso es más bajo ya que la biomasa no está lo suficientemente rota, el contenido en nitrógeno es excesivamente alto, y la estructura química de los compuestos presentes es excesivamente compleja para que las bacterias metanogénicas puedan degradar eficientemente la materia orgánica. La producción de biogás se lleva a cabo introduciendo la biomasa húmeda, con un contenido en materia seca del 15-20%, en un digestor anaerobio en continuo, con un tiempo de residencia de entre 5-8 días. El digestor anaerobio es un reactor cerrado que debe estar previamente estabilizado a una temperatura y pH adecuados, sin entrada de aire, y con una flora bacteriana adaptada al sustrato a metabolizar. El biogás formado se extrae por la parte superior del tanque retirándose por la parte inferior el digestato (24), de mínimo volumen y que puede emplearse también como producto fertilizante por su elevado contenido en amonio y fósforo, y baja DQO.

REIVINDICACIONES

1.-Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa caracterizado por que comprende las etapas de:

- 5 - Una primera etapa en la que partiendo de una biomasa de microalgas (1) se introduce en un tanque de agitado en la que mediante el empleo de enzimas celulolíticas (2) se produce la licuefacción de los azúcares (3) que rompen la pared celular y liberan los carbohidratos solubles, permaneciendo el resto de componentes en la biomasa residual; la mezcla obtenida se debe separar mediante un proceso de filtración y/o centrifugación (4) dando un clarificado (5) rico en carbohidratos y un concentrado contendiendo la biomasa residual (9).
- 10 - Una etapa de producción de bioetanol y otros productos derivados, como el ácido láctico, a partir del clarificado (5) anterior mediante sacarificación (6) de los carbohidratos, seguido de una fermentación alcohólica (7) con levadura para transformar los monosacáridos en bioetanol (8) con un proceso de fermentación de alto rendimiento.
- 15 - Una etapa de producción de concentrados de péptidos y aminoácidos (10) de la biomasa residual (9) mediante el empleo de enzimas proteolíticas (12) que rompen las proteínas, solubilizándolas, en un proceso de hidrólisis enzimática (11), y transformando las proteínas en péptidos y aminoácidos de menor peso molecular que se pueden emplear en alimentación o como fertilizantes agrícolas de alto valor. La mezcla de reacción obtenida se debe separar mediante un proceso de filtración y/o centrifugación (13) dando un clarificado (14) rico en péptidos-aminoácidos y un concentrado contendiendo la biomasa residual (15).
- 20 - Una etapa de producción de biodiesel a partir del concentrado (15) anterior mediante la cual se realiza la transesterificación (17) de los ácidos grasos presentes en la biomasa con ácido sulfúrico como catalizador y metanol como reactivo (16), obteniéndose los respectivos ésteres metílicos que lo constituyen. Transcurrida la reacción el biodiesel (20) se extrae de la mezcla de reacción mediante hexano (18), el cual se evapora posteriormente para obtener el biodiesel (20).
- 25 - Una etapa de producción de biogás, en la que la biomasa residual (21) de la etapa anterior se somete a un proceso de digestión anaerobia (22) por acción de bacterias metanogénicas, para la producción de biogás (23) a partir de la mezcla de reacción resultante (21), exenta de metanol y hexano, mediante la cual la materia carbonosa residual contenida en la misma se transforma en metano, hidrógeno y CO₂.
- 30 -
- 35 - 2.- Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa, según la reivindicación 1 caracterizado por que en la etapa de producción de bioetanol (8) la sacarificación (6) de los carbohidratos se produce en condiciones de acidez dentro de un pH moderado de 1.5-2.5 y un rango de temperatura de 95-115 ° C.
- 40 - 3.- Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa, según la reivindicación 1 ó 2 caracterizado por que la levadura empleada en la fermentación pertenece al género *Saccharomices* y tiene lugar durante 24 h.
- 45 - 4.- Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa, según la reivindicación 1, 2 ó 3 caracterizado por que la etapa de fermentación alcohólica (7) empleado en la etapa de obtención de bioetanol (8) se realiza enfriando el concentrado hasta 30°C y ajustando el pH hasta 8.
- 50 - 5.- Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que la levadura se recupera mediante filtración y/o centrifugación para su reutilización, mientras que en la fase líquida quedan contenidos el bioetanol y restos de azúcares sin metabolizar.
- 55 - 6.- Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa, según la reivindicación 1 caracterizado por que el bioetanol (8) producido se separa por destilación a vacío y posterior desecado mediante tamices moleculares.
- 60 - 7.- Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa, según la reivindicación 1 caracterizado por que el proceso de hidrólisis enzimática (11) se lleva a cabo a partir de la biomasa residual (9) en un tanque agitado a un pH controlado de 7.7-8.1 y temperatura de 40-55 ° C durante aproximadamente 4 h, en condiciones suaves y sin emplear productos tóxicos ni condiciones agresivas
- 65 - 8.- Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa, según la reivindicación 1 caracterizado por que el concentrado de péptidos y aminoácidos (10) se estabiliza mediante ajuste a pH ácido o alcalino para evitar su descomposición.

9.- Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa, según la reivindicación 1 caracterizado por que la transesterificación (17), se realiza en condiciones suaves sin el previo secado de la biomasa, empleando ácido sulfúrico al 2% y temperatura entre 90 – 110°C, durante 2 h.

- 5 10.- Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa, según la reivindicación 1 caracterizado por que en la etapa de obtención del biodiesel (20), el metanol no empleado se retira de la mezcla de reacción mediante destilación a vacío.
- 10 11.- Proceso de valorización de microorganismos fotosintéticos para el aprovechamiento integral de la biomasa, según la reivindicación 1 caracterizado por que el proceso de digestión anaerobia (22) de la etapa de obtención de biogás se realiza en tanques cerrados en condiciones anaerobias a temperaturas entre 30-40°C, con un tiempo de residencia de aproximadamente 5-8 días,

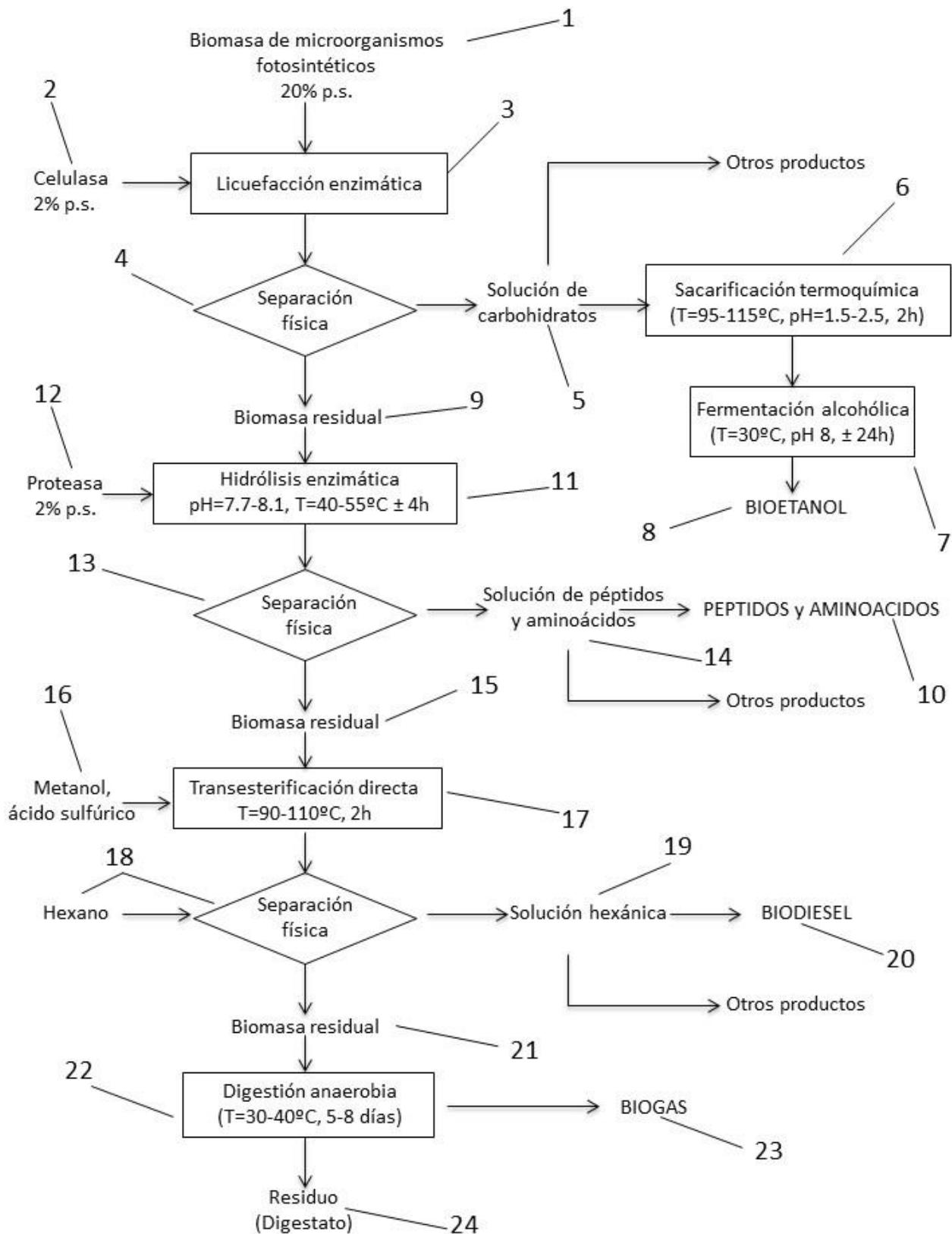


FIG. 1