



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 224 863**

21 Número de solicitud: 200301584

51 Int. Cl.:
C10G 1/10 (2006.01)
B09B 3/00 (2006.01)
C10B 49/14 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación: **07.07.2003**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **01.03.2005**

Fecha de la concesión: **29.11.2006**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **16.12.2006**

45 Fecha de publicación del folleto de la patente:
16.12.2006

73 Titular/es:
**Consejo Superior de Investigaciones Científicas
c/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES
Universidad de Granada**

72 Inventor/es: **Fernández Sánchez, Juan y
Ocampo Bote, Juan Antonio**

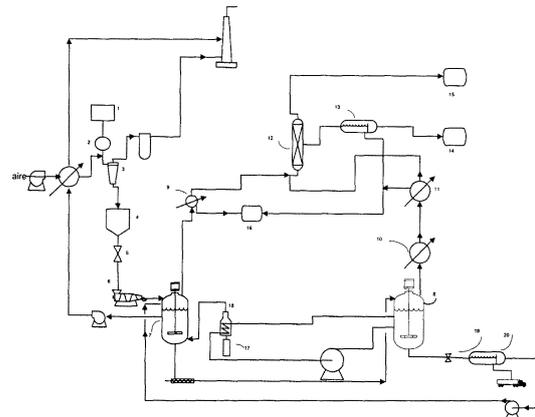
74 Agente: **No consta**

54 Título: **Procedimiento para la utilización de plásticos de desecho como fuente nutritiva carbonada de microorganismos de interés biotecnológico industrial.**

57 Resumen:

Procedimiento para la utilización de plásticos de desecho como fuente nutritiva carbonada de microorganismos de interés biotecnológico industrial.

La presente invención se refiere a un procedimiento que incluye el tratamiento pirolítico de polímeros plásticos de desecho y la utilización de los productos resultantes como fuente de carbono barata en el cultivo de microorganismos de interés industrial. En particular, la presente invención es de gran utilidad para convertir film de polietileno procedente de invernaderos agrícolas, degradado por el sol, en hidrocarburos líquidos lineales saturados e insaturados y su transformación en metabolitos microbianos, primarios y secundarios, de aplicación comercial.



ES 2 224 863 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la utilización de plásticos de desecho como fuente nutritiva carbonada de microorganismos de interés biotecnológico industrial.

5 **Objeto de la invención**

10 La presente invención se refiere a un procedimiento que incluye el tratamiento pirolítico de polímeros plásticos de desecho y la utilización de los productos resultantes como fuente de carbono barata en el cultivo de microorganismos de interés industrial. En particular, la presente invención es de gran utilidad para convertir film de polietileno procedente de invernaderos agrícolas, degradado por el sol, en hidrocarburos líquidos lineales saturados e insaturados y su transformación en metabolitos microbianos, primarios y secundarios, de aplicación comercial.

15 **Estado de la técnica**

Los plásticos obtenidos en la industria petroquímica contribuyen de una forma importante a la contaminación ambiental, no sólo de las zonas terrestres sino también de las aguas y de la atmósfera. A título de ejemplo, se puede citar el gravísimo problema que supone la eliminación de residuos industriales de mezclas de materiales termoplásticos con un alto contenido en policloruro de vinilo. Actualmente se están incinerando miles de toneladas y, como consecuencia, contaminando la atmósfera con hidrocarburos cancerígenos, ácido clorhídrico (aproximadamente el 60% de esas cantidades), derivados halogenados y, muy posiblemente, con dioxinas, sustancias altamente peligrosas cuyas dosis letales en animales de laboratorio son 500 veces la de la estricnina y más de 100000 la del cianuro sódico. Es embriotóxica, teratógena y se sospecha que provoca cáncer en los humanos. Muy recientemente, Octubre de 2002, el Tribunal de Justicia de las Comunidades Europeas, el máximo órgano jurídico de la Unión Europea, emitió un dictamen censurando la incineración de los plásticos. Actualmente no existen soluciones a estos hechos, ya que los procesos de reciclado no parecen suponer una alternativa global a este problema.

Una pequeña proporción de los plásticos petroquímicos se están reciclando, mediante procesos de regeneración que permiten su posterior utilización como polímeros de menor calidad. Sin embargo, no parece que este reciclado sea capaz de absorber, en un futuro, todos los desechos plásticos urbanos, industriales y los provenientes del "plasticultivo", fundamentalmente por tres razones:

30 a) No sólo los residuos urbanos, sino también muchos de los industriales suelen ser mezclas de diferentes polímeros, con la consiguiente dificultad de separación y clasificación.

35 b) El film agrícola, sometido durante una o dos campañas a la acción intensa de la radiación UV, termina cristalizando y perdiendo, por tanto, sus propiedades plásticas.

40 c) El proceso de reciclado resulta ser laborioso y complejo, máxime bajo la premisa de producir materiales de baja calidad.

Una aplicación, ciertamente distinta a las antes mencionadas consiste en transformar a los plásticos en productos químicos que puedan ser aprovechados a otros niveles industriales. Así, existen actualmente procesos industriales en los que se usan plásticos de desecho para generar aceites combustibles que se utilizan "*in situ*" para producir energía.

45 Son conocidos en la técnica unos aparatos para la pirolisis de polímeros, en los cuales se introduce el plástico en hornos rotatorios calentados externamente. Un problema de estos hornos es el sellado del cilindro rotatorio caliente y el depósito de carbón en las paredes, que lo hacen cada vez menos conductor del calor, con los problemas que ello conlleva.

50 Se han empleado asimismo reactores verticales calentados externamente con vapor a alta presión o con eutécticos de sales fundidas (nitrato potásico/nitrato sódico/nitrito sódico) utilizando bombas mecánicas para su manipulación. El primer método presenta entre otros el inconveniente de las altas presiones y el segundo, además de los problemas de corrosión de la bomba, el desajuste de la misma en los cambios de fase (líquido y sólido) en los arranques y paradas del proceso, el gravísimo riesgo de explosiones si, accidentalmente, se pusieran en contacto el eutéctico y la masa hidrocarbonada de reacción, ambos a altas temperaturas.

60 Igualmente conocidos son los lechos fluidos para la pirólisis de termoplásticos a altas temperaturas. Estos tienen el inconveniente del alto requerimiento de calor, dificultad en la separación de las impurezas que acompañan al termoplástico, así como la eliminación del carbón producido en el proceso.

También son conocidos reactores tubulares y extrusoras que presentan aún mayores inconvenientes que los anteriores en cuanto a la separación de las impurezas, depósitos de carbón, partes móviles a altas temperaturas, etc.

65 Últimamente, se han descrito procedimientos en los que se suministra el calor necesario para la pirolisis haciendo uso de agua supercrítica (EP-0814143) o arena caliente (EP-0823469). Ambos procesos presentan serias dificultades

des, tales como altas presiones de trabajo o el empleo de arena caliente en movimiento, con problemas de abrasión, transporte, calentamiento, mantenimiento de la atmósfera inerte, etc.

Es conocida la idea de utilizar plomo fundido para la conversión térmica de polímeros, introduciendo trozos del polímero sólido en un baño de plomo fundido. Las patentes US 4925532, US 5085738 y WO 96/00268 describen aparatos para procesos de pirólisis sobre un baño de metal fundido. Sin embargo todos estos procesos tienen demasiados problemas operacionales para ser comercialmente viables. Tales problemas incluyen dificultad en la separación y aislamiento del policloruro de vinilo, el cual produciría HCl durante el proceso en el baño de plomo fundido, en el mantenimiento de la atmósfera inerte durante la introducción del polímero en dicho baño, que ocasionaría consumo de plomo originando los correspondientes óxidos que a su vez habría que eliminar y, en lo que se refiere a la patente WO 96/00268, además, poca efectividad en el proceso de intercambio de calor entre el metal fundido y el termoplástico, debido a la pequeña superficie de calentamiento como consecuencia del mezclado poco eficaz entre ambos materiales. Hasta la fecha ninguno de los procesos descritos en bibliografía ha alcanzado importancia comercial. Solamente se han construido plantas piloto, debido a que los métodos conocidos, teniendo en cuenta los precios actuales del petróleo, no son económicamente rentables.

Por otra parte, desde antiguo y en la actualidad se emplean microorganismos para producir industrialmente productos comerciales, a partir de nutrientes minerales y carbohidratos como materia prima carbonada en el caldo de cultivo. Pero los carbohidratos son relativamente caros y en muchos casos de más alto precio que los productos producidos mediante el proceso de fermentación. Es por eso por lo que se pensó en otra fuente carbonada más barata.

Existe una considerable documentación acerca del empleo del petróleo o alguna de sus fracciones de hidrocarburos como sustrato en la fermentación de microorganismos y, de hecho, han funcionado varias plantas comerciales en el mundo que producían miles de toneladas por año de proteínas unicelulares utilizadas en alimentación. Pero hace unos años esas instalaciones cayeron en desuso por varias razones: unas a consecuencia del alto precio alcanzado por el petróleo y otras debidas a que no todos los hidrocarburos contenidos en el mismo son metabolizados por los microorganismos con igual facilidad. Así, los de cadena lineal son más fácilmente atacados que los ramificados o los cíclicos. Una tercera razón, asimismo de gran importancia, fue el peligro de toxicidad en el uso de estas proteínas unicelulares como productos alimentarios debido a que podrían arrastrar sustancias tóxicas procedentes de los restos de hidrocarburos aromáticos procedentes del sustrato, por lo que era necesario un proceso laborioso de purificación.

Problema técnico planteado

No existen antecedentes sobre la utilización de sustratos procedentes de la degradación de plásticos no biodegradables para cultivo de microorganismos.

Los hidrocarburos casi exclusivamente lineales, saturados e insaturados, procedentes de la degradación de la mayoría de los plásticos (excluyendo los que contienen anillos aromáticos como el poliestireno, por ejemplo) pueden suponer una fuente importante para su aprovechamiento como materia prima carbonada barata para el cultivo industrial de microorganismos de alto interés biotecnológico (en la producción de fitohormonas, vitaminas, antibióticos, grasas insaturadas, proteínas, aminoácidos, etc.).

De esta manera se resuelven dos graves problemas: uno de naturaleza económica y otro de tipo ecológico.

Explicación de la invención

A la vista del problema técnico planteado, la presente invención tiene por objeto:

- 1) Retirar los desperdicios plásticos del medio ambiente, dándole una utilidad más noble que su combustión.
- 2) Establecer un procedimiento para convertir el material plástico de desecho sólido en un líquido reduciendo los problemas derivados de las altas presiones, carbonización parcial que ocurre al suministrar calor al polímero, evitar productos abrasivos, corrosivos u oxidantes como las sales indicadas anteriormente, así como el empleo de partes móviles a altas temperaturas.
- 3) Seleccionar los microorganismos adecuados capaces de metabolizar los hidrocarburos resultantes del proceso y establecer las condiciones idóneas para que esto tenga lugar. De esta forma se obtendría biomasa a partir de hidrocarburos líquidos procedentes de fuentes diferentes al petróleo, que se diferencian de ellos en que son lineales en su totalidad, ausentes de productos aromáticos y por un alto contenido en olefinas y, por supuesto, de más bajo precio.

Constituye por tanto el objeto de la presente invención un procedimiento para la utilización de plásticos de desecho como fuente nutritiva carbonada de microorganismos de interés biotecnológico industrial que incluye las siguientes etapas:

- eliminación manual de impurezas del plástico de desecho.
- trituración del plástico de desecho

ES 2 224 863 B1

- eliminación de humedad y de minerales finos del plástico de desecho

- fusión del plástico de desecho a una temperatura comprendida entre 250°C y 350°C

5 - pirólisis del plástico fundido a una temperatura comprendida entre 400 y 550°C, utilizando metal fundido, en particular plomo líquido, a una temperatura comprendida entre 500 y 600°C como fluido de transferencia de calor

- condensación en dos etapas de los vapores procedentes de la etapa anterior utilizándose el aceite condensado para el cultivo de microorganismos, en particular bacterias, hongos y levaduras capaces de metabolizar hidrocarburos.

10 La fusión del plástico se lleva a cabo aprovechando el calor de los gases exhaustos procedentes del calentamiento del metal fundido utilizado en la etapa de pirólisis y los gases procedentes de dicha etapa de fusión se enfrían, lavándose los incondensables en contracorriente para retener el ácido clorhídrico y los hidrocarburos gaseosos que se emplean como combustible.

15 La condensación se realiza en dos etapas:

- condensación de todos los compuestos con punto de ebullición superior a 350°C y reciclado del condensado al reactor de pirólisis.

20 - condensación hasta temperatura ambiente de los gases procedentes de la etapa inicial utilizándose los gases incondensables después de lavados como combustible del proceso de pirólisis.

25 En general, los compuestos resultantes de aplicar cualquier proceso de craqueo a los plásticos de desecho se pueden utilizar para el cultivo de microorganismos, en particular bacterias, hongos y levaduras capaces de metabolizar hidrocarburos.

30 Para ello, los microorganismos capaces de metabolizar hidrocarburos se cultivan en un medio con los compuestos resultantes de la pirólisis o craqueo de los plásticos de desecho hasta que alcanzan un desarrollo adecuado, según se detallará más adelante en la presente memoria.

Breve descripción de las figuras

35 La figura 1 es una representación esquemática de una instalación para obtener hidrocarburos líquidos a partir de materiales termoplásticos.

La figura 2 representa el reactor 8 en donde tiene lugar la pirólisis.

Descripción detallada de la invención

40 Es preceptivo que se concrete detalladamente en este apartado la presente invención, sin embargo debe entenderse que ésta puede realizarse de diferentes maneras en cuanto a materiales, dimensiones, formas o posiciones relativas de los componentes aquí descritos, por lo que el alcance de la invención no debe limitarse a lo que se va a concretar, ya que esta explicación debe tomarse como ejemplo. Se describirá la invención haciendo referencia a las figuras.

45 La figura 1 muestra una representación esquemática de una instalación para obtener hidrocarburos a partir de plásticos de desecho. El plástico de desecho procedente fundamentalmente de invernaderos agrícolas, 1, está constituido en un 85% de film de polietileno siendo el 15% restante de composición variada (alambre, arena, polvo, etc.). Durante la etapa de alimentación del triturador, 2, se eliminan manualmente las impurezas de mayor tamaño y por transporte neumático con aire caliente se lleva al tanque de almacenamiento 4, a través del ciclón 3, quitando la humedad y parte de los minerales más finos en este proceso. Este material se introduce a través de la válvula dosificadora 5 en el sistema de alimentación 6 que puede ser un tomillo sin fin, prensa de pistón o cualquier otro artefacto análogo. A través de este sistema entra el material en el recipiente 7 y se funde a 250-350°C, calentando externamente con los gases exhaustos procedentes del horno de calentamiento del plomo líquido utilizado como agente de transferencia de calor en el reactor de pirólisis 8. De esta manera se descompone también el PVC que ocasionalmente pueda acompañar al polietileno. Los gases procedentes de esta operación se enfrían con el condensador 9 llevando el líquido al tanque 16 y los incondensables se lavan en contracorriente con agua o disolución de hidróxido sódico en las torres 12, para retener el ácido clorhídrico en el tanque 14 y los hidrocarburos gaseosos en el depósito 15, los cuales se emplearán como combustible en el hogar 17.

60 Por gravedad, o bien con ayuda de una bomba mecánica, se lleva el plástico fundido junto a finos no pirolizables remanentes al reactor de pirólisis 8. Este consiste en un depósito que en el ejemplo hemos considerado cilíndrico (figura 2), lleno hasta el nivel V del líquido a pirolizar. Por la parte superior se introduce plástico fundido calentado a 250-350°C procedente del recipiente 7. En este reactor se piroliza el plástico a 400-550°C, calentando con metal fundido, en particular plomo líquido, que circula a través de un serpentín interior o exterior o por una camisa que envuelve al reactor. El metal se hace recircular hacia la caldera 18 para su calentamiento. Este trasvase podría llevarse a cabo con ayuda de una bomba mecánica aunque es mucho mejor aún hacerlo mediante una bomba de inducción electromagnética, de mucha mayor durabilidad y menor costo de mantenimiento, debido a la ausencia de partes móviles, juntas,

ES 2 224 863 B1

etc., sometidas a tan altas temperaturas. El uso de este sistema de bombeo es aquí posible con ayuda de un campo magnético variable debido a la conductividad eléctrica del líquido a bombear.

5 El reactor 8 (ver figura 2) está provisto de un agitador y solidario a su eje vertical se dispone un sistema de rascado para separar las partículas que puedan depositarse en las paredes. En el ejemplo que ilustra este invento se ha considerado un agitador de ánclora y unas cadenas 22 que rascan dichas paredes durante el giro.

10 La condensación de los vapores procedentes de la pirólisis se lleva a cabo en dos etapas. En la primera se condensa en el intercambiador de calor 10 todo lo que hierve por encima de 350°C y se recicla al reactor 8. El segundo condensador 11 enfría a temperatura ambiente los gases que salen por el condensador 10. El líquido condensado se lleva al tanque 16 y los gases incondensables, después de lavados, se llevan al depósito 15 para ser utilizados como combustible del proceso de pirólisis.

15 Accionando la válvula 19 se eliminan periódicamente las impurezas no pirolizables que se depositan en el fondo del reactor y se recuperan para recircular al reactor los hidrocarburos de alto peso molecular que puedan acompañar a los sólidos, por ejemplo mediante un hidrociclón o por cualquiera de los procedimientos conocidos de separación líquido-sólido, 20. Así, no es necesario lavar previamente los plásticos para eliminar el polvo adherido.

20 Finalmente, todas las tuberías, bombas, válvulas, etc. Por donde deben circular productos que solidifiquen a temperatura ambiente están provistos de un sistema de calentamiento eléctrico o mediante fluido, al objeto de fluidificarlo en los arranques. Asimismo el reactor 8 puede ser calentado a estos efectos mediante los gases procedentes del horno 17, a través de la entrada 21.

25 En el proceso de fermentación se pueden utilizar los aceites obtenidos por cualquiera de los métodos de pirólisis de plásticos descritos en bibliografía o, mejor aún, por el descrito en este invento, ya que en muchos de los otros procesos las sustancias resultantes presentan impurezas tóxicas que las podrían hacer inviables como materias primas en la obtención de metabolitos para consumo humano o animal.

30 En la presente invención se pueden utilizarse especies de bacterias, hongos y levaduras capaces de metabolizar hidrocarburos.

35 De entre las bacterias se ha comprobado que crecen varias especies pertenecientes a los géneros: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Cellulomonas*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Sarcina*, *Achromobacter*, *Nocardia* y *Aerobacter*.

Con respecto a las levaduras se han crecido especies de: *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Oidium*, *Neurospora* y *Rhodotorula*.

40 También se ha comprobado el crecimiento de hongos pertenecientes a los géneros: *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Talaromyces*, *Chaetonium*, *Wardomyces*, *Gliocladium*, *Paecilomyces*, *Trychoderma*, *Pleurotus*, *Cladosporium* y *Mortierella*.

45 Las especies se han identificado de acuerdo con las claves pertinentes y se encuentran depositadas en la Universidad de Buenos Aires (Argentina) y en la Estación Experimental del Zaidin del CSIC(Granada).

50 La presente invención, en cuanto a la capacidad de emplear el aceite procedente de la pirólisis de los plásticos, se describe con más detalle con referencia a los ejemplos que se dan a continuación, los cuales, sin embargo, no tratan de limitar el alcance de la misma. En estos ejemplos se ha empleado una fracción de aceite obtenida por el procedimiento aquí reivindicado, con la siguiente destilación ASTM 1160:

vol %	Eb(°C)	vol%	Eb(°C)	vol(%)	Eb(°C)	vol(%)	Eb(°C)
inicio Eb	181.5	20	288.0	50	322.5	80	345.5
5	230.0	30	303.0	60	329.5	90	365.0
10	245.0	40	312.5	70	337.0	95	396.5

55 y con la siguiente composición:

65

ES 2 224 863 B1

<i>Compuesto</i>	%	<i>Compuesto</i>	%	<i>Compuesto</i>	%	<i>Compuesto</i>	%
n-octano	0.15	1-trideceno	1.59	1-heptadeceno	0.98	1-eneicoseno	0.16
1-noneno	0.47	n-tridecano	5.64	n-heptadecano	6.70	n-eneicosano	3.83
n-nonano	1.42	otros C-13 alif.	1.39	otros C-17 alif.	0.93	1-doeicoseno	0.14
1-deceno	1.24	1-tetradeceno	1.38	1-octodeceno	0.78	n-doeicosano	2.93
n-decano	2.74	n-tetradecano	7.92	n-octodecano	6.60	n-trieicosano	2.04
otros C-10 alif.	0.98	otros C-14 alif.	1.32	otros C-18 alif.	0.60	n-tetraeicosano	1.43
1-undeceno	1.57	1-pentadeceno	1.36	1-nonadeceno	0.36	n-pentaeicosano	0.88
n-undecano	4.67	n-pentadecano	6.89	n-nonadecano	5.72	n-hexaeicosano	0.52
otros C-11 alif.	0.66	otros C-15 alif.	1.21	C ₁₉ H ₃₈ .	0.33	n-heptaeicosano	0.28
1-dodeceno	1.69	1-hexadeceno	0.98	1-eicoseno	0.19	n-octoeicosano	0.14
n-dodecano	5.48	n-hexadecano	6.59	n-eicosano	4.75	Total	100
otros C-12 alif.	0.65	otros C-16 alif.	1.38	C ₂₀ H ₄₀	0.18		

40 **Modo de realización de la invención**

Ejemplo 1

Preparación del inóculo

45 Se parte de una cepa de *Rhodotorula mucilaginosa* que es necesario adaptar previamente para que pueda asimilar carbono procedente de hidrocarburos como única fuente carbonada. En este sentido, se cultiva la levadura en un matraz erlenmeyer que contiene 75 mL del medio mineral estéril al que se añaden 0.150 mL de la mezcla de hidrocarburos procedente de la pirólisis del plástico y cuya composición se indica anteriormente. El medio de cultivo tiene la siguiente composición: fosfato monopotásico, 7 g/L; sulfato magnésico, 0.2 g/L; cloruro sódico, 0.1 g/L; cloruro amónico, 2.5 g/L; agua del grifo (que contiene cantidades traza de elementos minerales), 100 mL/L; extracto de levadura, 1 mg/L y agua destilada hasta completar 1L. Se cultiva durante tres días con agitación mecánica a 30°C. Se toman 5 mL de este cultivo y se añaden a otro erlenmeyer que contiene las mismas cantidades que el anterior de medio mineral y de hidrocarburos. Se mantiene otros tres días con agitación. Se repite la operación varias veces, por ejemplo 4 ó 5. 55 A un matraz erlenmeyer que contiene 1L de medio mineral esterilizado se añaden 2 mL de mezcla de hidrocarburos y se siembra con 20 mL de inóculo procedente del cultivo anterior. Se incuba durante 36 horas a 30°C con agitación mecánica. Se centrifuga a 30°C y las levaduras colectadas constituyen el inóculo que vamos a utilizar.

Cultivo de Rhodotorula mucilaginosa

60 Se toman 150 mL de medio de cultivo anteriormente citado y se introducen 1.2 g de la mezcla de hidrocarburos procedente de la pirólisis y cuya composición hemos descrito antes y se esteriliza a 121°C durante 15 minutos. Se añade el inóculo de levadura, el cual equivale a 125 mg de peso seco, y se mantiene la suspensión con una corriente de aire con un caudal capaz de mantener una agitación vigorosa a 30°C, compensando la evaporación con adiciones periódicas de agua destilada. Al cabo de 9 horas se añaden 40 mg de agente tensioactivo, por ejemplo Tween 80. 65 Se ajusta el pH a 8, se centrifuga y la fase sólido-pastosa se lava con agua que contiene 0.25% del mismo agente tensioactivo, se centrifuga y la parte sólida se vuelve a lavar y centrifugar, con lo que se obtienen levaduras libres de

ES 2 224 863 B1

hidrocarburos. Finalmente se lava con agua pura a 60°C para eliminar los restos del agente tensioactivo. El producto así obtenido pesó 186 mg, después de secarlo a 70°C hasta pesada constante.

Ejemplo 2

5

Preparación del inóculo

En un erlenmeyer de 0.5 L se prepararon 100 mL de un medio de cultivo con la siguiente composición: fosfato dipotásico, 5 g; fosfato diamónico, 1 g; sulfato sódico, 0.05 g; sulfato magnésico hidratado, 0.04 g; sulfato ferroso hidratado, 0.002 g; sulfato manganoso hidratado, 0.002 g; cloruro sódico, 0.002 g y agua hasta 100 mL. Se regula el pH entre 7.2 y 7.7; se introducen 0.5 g de aceite procedente de la pirólisis y se esterilizó a 121°C durante 15 minutos. Se inocula con aproximadamente 0.0001 g de *Pseudomonas putida*. Se cultivó bajo agitación a 30°C durante 48 horas, manteniendo el pH entre 6 y 7.5. Después de este tiempo se toman 5 mL de cultivo y se llevan a otro erlenmeyer que contiene las mismas cantidades que el anterior de medio mineral y de hidrocarburos, se mantiene otras 48 horas con agitación y se repite la operación varias veces (4-5).

15

Cultivo de Pseudomonas putida

En un erlenmeyer de 0.5 L se vierten 100 mL del medio mineral anterior y se introducen 2 g de aceite de pirólisis, se regula el pH entre 7.2 y 7.7 y se esteriliza. Se inocula con 5 mL de cultivo de *Pseudomonas putida* anteriormente preparado y se cultiva con agitación a 30°C durante 48 horas. Después de este tiempo y tras sucesivas centrifugaciones, lavados y secado de manera análoga a lo indicado en el ejemplo 1, se obtienen 630 mg de biomasa seca.

20

Ejemplo 3

25

Se utilizó el mismo medio de cultivo que en el ejemplo 1 y el inóculo de *Penicillium chrysogenum* se adaptó también de manera similar. En un erlenmeyer de 0.5 L se colocan 10 mL del medio, 2 g de aceite de pirólisis, se esteriliza y a continuación se introducen 5 mL de inóculo. Se agitó a 30°C durante 7 días. Después de elaborar de manera similar a los ejemplos 1 y 2, se obtienen 581 mg de biomasa seca.

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Procedimiento para la utilización de plásticos de desecho como fuente nutritiva carbonada de microorganismos de interés biotecnológico industrial que incluye las siguientes etapas:

- eliminación manual de impurezas del plástico de desecho.

- trituración del plástico de desecho

10 - eliminación de humedad y de minerales finos del plástico de desecho

- fusión del plástico de desecho a una temperatura comprendida entre 250°C y 350°C

15 - pirólisis del plástico fundido a una temperatura comprendida entre 400 y 550°C, utilizando metal fundido, en particular plomo líquido, a una temperatura comprendida entre 500 y 600°C como fluido de transferencia de calor

- condensación en dos etapas de los vapores procedentes de la etapa anterior

20 **caracterizado** porque el aceite condensado se utiliza para el cultivo de microorganismos, en particular bacterias, hongos y levaduras capaces de metabolizar hidrocarburos.

25 2. Procedimiento para la utilización de plásticos de desecho como fuente nutritiva carbonada de microorganismos de interés biotecnológico industrial según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la fusión del plástico se lleva a cabo aprovechando el calor de los gases exhaustos procedentes del calentamiento del metal fundido utilizado en la etapa de pirólisis.

30 3. Procedimiento para la utilización de plásticos de desecho como fuente nutritiva carbonada de microorganismos de interés biotecnológico industrial según las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizado** porque los gases procedentes de la etapa de fusión se enfrían, lavándose los incondensables en contracorriente para retener el ácido clorhídrico y los hidrocarburos gaseosos que se emplean como combustible.

35 4. Procedimiento para la utilización de plásticos de desecho como fuente nutritiva carbonada de microorganismos de interés biotecnológico industrial según las reivindicaciones 1-3, **caracterizado** porque la condensación se realiza en dos etapas:

- condensación de todos los compuestos con punto de ebullición superior a 350°C y reciclado del condensado al reactor de pirólisis.

40 - condensación hasta temperatura ambiente de los gases procedentes de la etapa inicial utilizándose los gases incondensables después de lavados como combustible del proceso de pirólisis.

45 5. Procedimiento para la utilización de plásticos de desecho como fuente nutritiva carbonada de microorganismos de interés biotecnológico industrial, **caracterizado** porque los compuestos resultantes de aplicar cualquier proceso de craqueo a dichos plásticos de desecho se utilizan para el cultivo de microorganismos, en particular bacterias, hongos y levaduras capaces de metabolizar hidrocarburos.

50 6. Procedimiento para la utilización de plásticos de desecho como fuente nutritiva carbonada de microorganismos de interés biotecnológico industrial según las reivindicaciones 1-5, **caracterizado** porque los microorganismos capaces de metabolizar hidrocarburos se cultivan en un medio con los compuestos resultantes de la pirólisis o craqueo de los plásticos de desecho hasta que alcanzan un desarrollo adecuado.

55

60

65

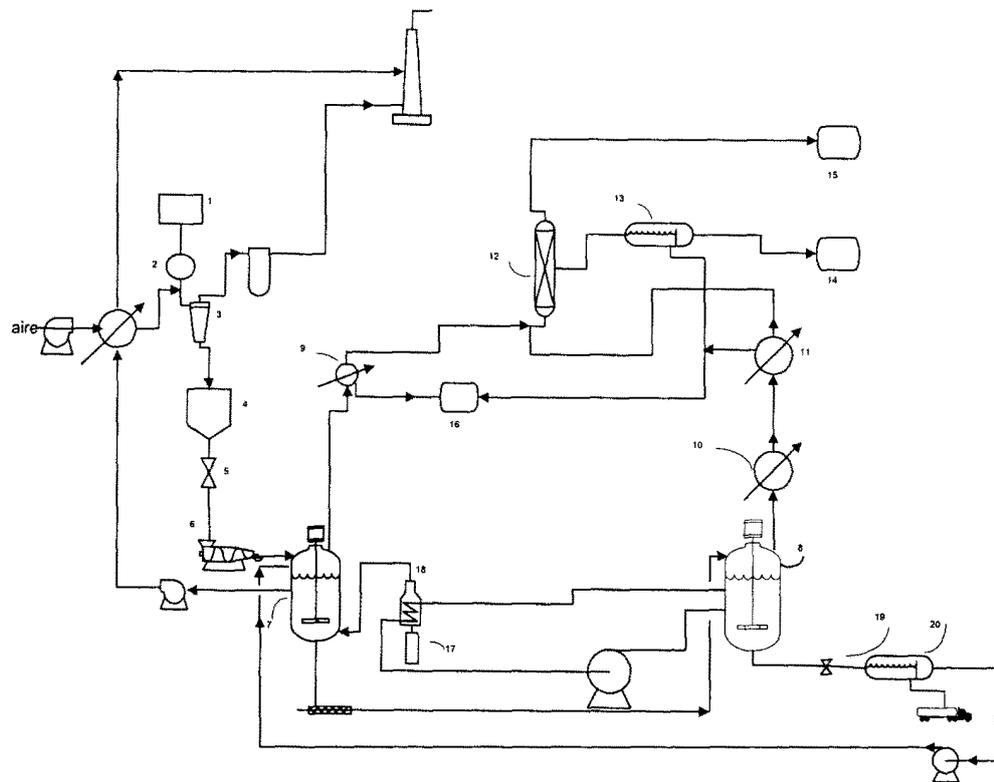


Figura 1

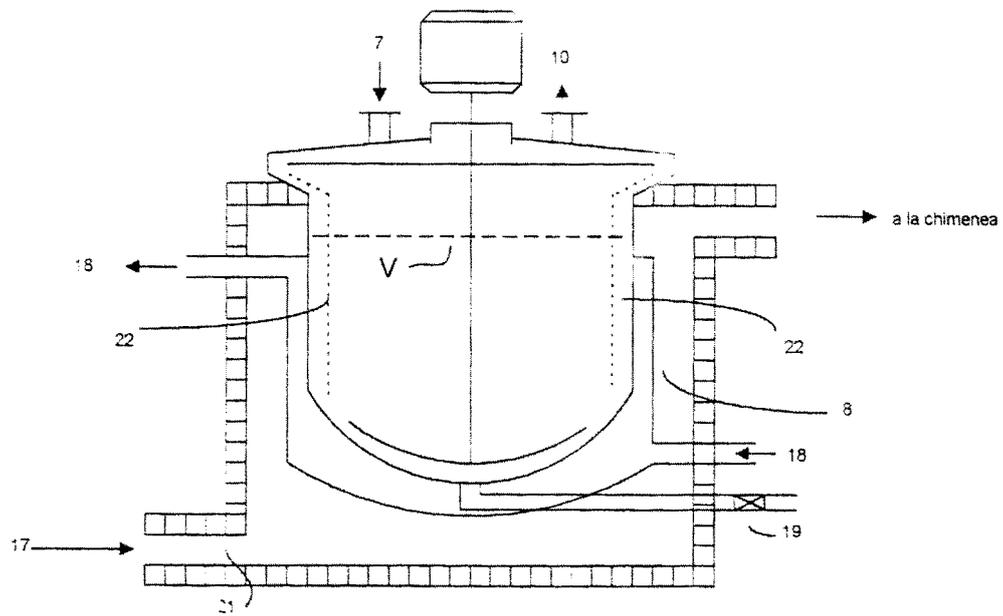


FIGURA 2



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 224 863

② Nº de solicitud: 200301584

③ Fecha de presentación de la solicitud: **07.07.2003**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ **Int. Cl.7:** C10G 1/10, B09B 3/00, C10B 49/14

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 5085738 A (HARRIS WINDEL L.; DONNOHUE JAMES R.) 04.02.1992, todo el documento.	1,4
A	SHARMA V.K. et al. "Disposal of waste tyres for energy recovery and safe environment-review". Energy Conversion and Management, Marzo 1998, Vol. 39, páginas 511-528. ISSN 0196-8904.	1,4
A	ES 2120770 T3 (VEBA OEL AG) 01.11.1998, todo el documento.	1-3
A	JP 07-331251 A (KUBOTA KK) 19.12.1995, todo el documento [en línea] [recuperado el 24.01.2005]. Recuperado de Internet: < http://www4ipdl.ncipi.go.jp/cgi-bin/tran_web_cgi_ejje >	1,4

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

31.01.2005

Examinador

E. Ulloa Calvo

Página

1/1