



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 N.º de publicación: **ES 2 059 228**

21 Número de solicitud: 9200315

51 Int. Cl.⁶: C12M 1/36
G05D 7/06

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación: **14.02.92**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **01.11.94**

Fecha de concesión: **29.03.95**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **16.05.95**

45 Fecha de publicación del folleto de patente:
16.05.95

73 Titular/es:
**Universidade de Santiago de Compostela y
en su nombre y representación El Rector.
Centro de Transferencia de Tecnología
Avda. das Ciencias S/n
15706 Santiago de Compostela, Coruña, ES**

72 Inventor/es: **Lema Rodicio, Juan M.;
Núñez García, M. José;
Sanromán Braga, M. Angeles y
Roca Bordello, Enrique**

74 Agente: **No consta**

54 Título: **Dispositivo de pulsación para ser acoplado a equipos de fermentación, reactores enzimáticos o reactores químicos.**

57 Resumen:

Dispositivo de pulsación para ser acoplado a equipos de fermentación, reactores enzimáticos o reactores químicos.

Se caracteriza este dispositivo por permitir la introducción de una masa líquida en forma pulsante en un sistema en donde se produzca una transformación debida a una acción microbiana (fermentador), enzimática (reactor enzimático) o química (reactor químico). Esta pulsación genera una perturbación en forma de onda cuadrada en la fase líquida del equipo sin originar retomezcla. El dispositivo pulsante, o pulsador, consta de una electroválvula, un tubo de membrana flexible y un temporizador cíclico que controla los tiempos de cierre y apertura de la válvula. Por el empleo de este dispositivo se puede aumentar la eficacia (velocidad y rendimiento) de la transformación química que tiene lugar en los reactores mencionados por lo que tiene aplicaciones en la industria de fermentación (alimentación, farmacéutica) y en la industria química.

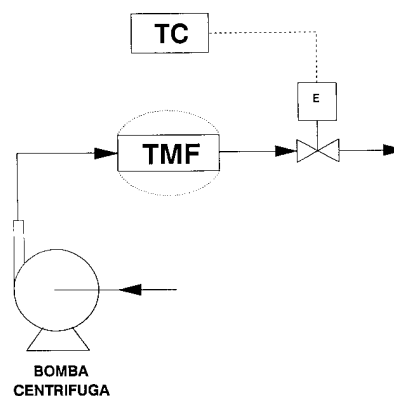


FIGURA 1

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

DESCRIPCION

Dispositivo de pulsación para ser acoplado a equipos de fermentación, reactores enzimáticos o reactores químicos. Se caracteriza este dispositivo por permitir la introducción en forma pulsante de una fase líquida alimentada a un equipo en donde se produzca una transformación debida a una acción microbiana (fermentación), enzimática o química. La introducción de pulsos en equipos es una práctica frecuentemente utilizada en procesos de separación, en particular en extracción (líquido-líquido o sólido-líquido)

Estado de la técnica

El empleo de técnicas de pulsación en reactores químicos, enzimáticos o fermentadores es, hasta el momento, muy limitado (Dimenstein, D.M. and Ng, K.M. (1986); "A model for pulsing flow in cocurrente down-flow trickle-bed reactors"; Chem. Eng. Comm. 41 : 215-235. Goma, G., Donde, M. and Minier, M. (1980); "Fermenteurs pulsés: Nouvelles technologies d'agitation-aeration; Nouvelles potentialites de mise en oeuvre de fermentations"; Colloque Soc. Fr. Microbiol., Toulouse, 97-117) si bien se empieza ya a considerar como uno de los más prometedores desarrollos futuros en el campo de equipos de alta eficacia (Brauer, H. (1987); "Development and efficiency of a new generation of bioreactors: Part 2", Bioprocess Eng. 3: 11-21. Etzold, M. and Stadbauer, E.A. (1990); "Design and operation of pulsed anaerobic digesters"; Bioprocess Eng. 5: 7-12).

La eficacia de los equipos de transformación está directamente condicionada por dos hechos:

- a) La velocidad de reacción aparente del proceso que depende de: i) la velocidad intrínseca; ii) La presencia de posibles efectos de inhibición, iii) La actividad y concentración del catalizador, complejo enzimático o masa microbiana.
- b) El rendimiento y la selectividad de producto que se logran. En los últimos años ha tenido lugar el desarrollo de equipos más eficaces, basados en el empleo de catalizadores en fase sólida y de microorganismos o enzimas inmovilizados, tratando de confinar en un espacio reducido una elevada actividad transformadora. De entre estos equipos es el reactor de lecho fijo aquel que ha conseguido una mayor implantación, dadas sus características operacionales.

En estos equipos se presentan, entre otros, dos tipos de problemas relacionados con la propia estructura del sistema: a) Problemas de transferencia de materia, debido fundamentalmente a un contacto deficiente sustrato-biocatalizador y b) Una utilización poco eficaz del volumen completo del equipo, debido a la aparición de caminos preferenciales o a la aparición de zonas muertas.

Se han propuesto por otros autores tres tipos de sistemas de pulsación para ser acoplados a equipos en donde se produzca una transformación química, enzimática o fermentativa:

i) Pulsadores hidroneumáticos: Su acción consiste en la introducción por la zona inferior de la

columna de una masa de gas a intervalos regulares que provoca el movimiento pulsante a lo largo de la columna. ii) Columnas pulsantes: Consta de una columna de platos perforados las cuales están unidas a un eje que es movido en sentido ascendente y descendente. iii) Pulsador pistón: Generalmente se provoca mediante la introducción al sistema de la alimentación con una bomba de desplazamiento positivo.

Estos equipos, debido a que la pulsación introducida genera una fluctuación sinusoidal en el sistema, provocan una retromezcla en el sistema, lo cual resulta altamente perjudicial en aquellos procesos que presenten inhibición por producto, ya que las características del flujo se alejan de las correspondientes al deseado modelo de flujo pistón.

Se refiere la presente invención al desarrollo de un pulsador que permite la generación de una perturbación en forma de onda cuadrada en la masa líquida presente en un equipo en donde se produzca una transformación microbiana, enzimática o química.

En la figura 1 se presenta un esquema del dispositivo de pulsación, que consta principalmente de una electroválvula (E), situada a continuación de un tubo de membrana flexible (TMF), y controlada por un temporizador cíclico (TC), mediante el cual se controla el tiempo de cierre y apertura de la válvula. Cuando se cierra la electroválvula el líquido queda retenido en la membrana flexible saliendo a presión y dirigido hacia el interior de la columna cuando esta se abre, logrando provocar la pulsación en el interior de la columna sin provocar retromezcla.

La frecuencia y la amplitud de la pulsación se varían mediante la modificación de la relación tiempo de cierre (t_c): tiempo de apertura (t_a) de la electroválvula.

El dispositivo presentado en esta invención permite efectuar más eficazmente la operación en un equipo de fermentación, en un reactor enzimático o en un reactor químico, permitiendo aumentar la velocidad del proceso de transformación. Tiene por lo tanto aplicaciones en la industrias de fermentación (producción de bebidas alcohólicas, antibióticos, disolventes, combustibles...), industrias de alimentación (clarificado de zumos vegetales, hidrólisis de almidón, producción de jarabes de fructosa...) e industrias químicas en procesos con viscosidad elevadas (polímeros, síntesis,...). A título puramente ilustrativo se presentan dos ejemplos de aplicación, en donde se demuestra la utilidad del equipo presentado. Los pies de las figuras mostradas como resultado de los ejemplos 1 y 2 son los siguientes:

Figura 2. - Velocidad de hidrólisis (V en g/L-min) frente a las diversas razones de recirculación (R) operando en los reactores con/sin pulsación. (●). - sin pulsación (○). - con pulsación.

Figura 3. - Variación de la concentración de etanol (P en g/L) frente al tiempo de residencia (T en h), para las diferentes frecuencias de pulsación ensayadas. (●). - sin pulsación; (○), (□), (*). - 0.09, 0.048 y 0.025 Hz respectivamente, de frecuencia de pulsación.

Figura 4. - Variación de la concentración de etanol y de los parámetros cinéticos frente al

tiempo de residencia (T en h). (●), (*), (■). - Concentración de etanol (P en g/L), velocidad de consumo de sustrato (Q_s en g/L-h) y productividad global en etanol (Q_p en g/L-h) respectivamente, operando sin pulsación. (○), (*), (□). Concentración de etanol (P en g/L), velocidad de consumo de sustrato (Q_s en g/L-h) y productividad global en etanol (Q_p en g/L-h) respectivamente, operando con pulsación.

Ejemplo 1

Hidrólisis enzimática de almidón por glucoamilasa inmovilizada sobre quitina.

Se realizó la hidrólisis de almidón mediante glucoamilasa inmovilizada en quitina analizándose para este caso las posibles mejoras que se pueden obtener mediante el uso de los reactores pulsantes.

El estudio, de los reactores sin/con pulsación, se ha realizado para el proceso de tres concentraciones de almidón (50, 100 y 150 g/L) operando con tiempos de residencia que oscilan de 1.8 a 0.33 h.

Con los datos obtenidos para los diversos tiempos y considerando las ecuaciones del modelo de flujo del reactor y la cinética de Michaelis-Menten se obtuvieron los parámetros cinéticos característicos de cada hidrólisis ensayada. En la Tabla 1, se muestran los parámetros cinéticos de la hidrólisis de almidón para las diferentes condiciones experimentales, donde V_{max} en la velocidad máxima (g/L-min), K_s la constante de afinidad de sustrato (g/L) y S la concentración de almidón (g/L). Como se muestra en ella, estos parámetros son inferiores a los determinados en el proceso en "batch" pero hemos de tener en cuenta que estamos operando con un 70% de la actividad inicial del enzima por lo que no existe mucha diferencia entre los parámetros obtenidos en "batch" y el lecho fijo. Existe un incremento de la velocidad máxima de hidrólisis y una reducción de la K_2 , lo cual indica que cuando se opera con el reactor pulsante se logra reducir parte de las limitaciones difusionales existentes en el proceso. La diferencia de V_{max} existente entre ambos es similar a la diferencia encontrada en el estudio cinético en proceso "batch" para sistemas con/sin agitación. Este lecho es muy significativo si tenemos en cuenta que en un sistema pulsante nunca podremos alcanzar agitaciones similares a la de los procesos "batch".

| Lecho fijo | | Sin pulsación | | Con pulsación | |
|------------|-----------|---------------|-----------|---------------|--|
| S(g/L) | V_{max} | K_s | V_{max} | K_s | |
| 50 | 0.099 | 12.44 | 0.110 | 12.42 | |
| 100 | 0.097 | 13.02 | 0.123 | 12.50 | |
| 150 | 0.102 | 13.36 | 0.144 | 12.53 | |
| Batch | | Estáticas | | Agitadas | |
| S(g/L) | V_{max} | K_s | V_{max} | K_s | |
| 0 a 150 | 0.150 | 8.34 | 0.161 | 7.88 | |

Tabla 1. - Parámetros cinéticos de la hidrólisis de almidón para las diferentes condiciones experimentales

Para caracterizar claramente el efecto que sobre el reactor ejerce la pulsación, y separado

de la posible diferencia de eficacia debida al modelo de flujo empleado (Continuous Stirred Tank Reactor-CSTR, Plug Flow Reactor-PFR), se operó con concentraciones elevadas de almidón 100 g/L (muy superiores a K_s) y conversiones bajas, para conseguir que la reacción sea de pseudo-orden cero. Para ello se operó con un caudal de 150 mL/h y con relaciones de recirculación R (caudal que se recircula/caudal de salida) de 1, 2, 3, 4 y 5. Como se había determinado en trabajos previos (Miranda, M., Murado, M.A., Sanromán, A. and Lema, J.M: (1991), "Mass transfer control of enzymatic hydrolysis of polysaccharides by glucoamylase", *Enzyme Microb. Technol.* 13:142-147), en la hidrólisis de este almidón no existen problemas de inhibición por sustrato o producto por lo que la concentración de azúcares reductores en la corriente de recirculación no afecta a las conversiones del proceso.

En la Figura 2, se presentan las velocidades de hidrólisis para las diferentes relaciones de recirculación. A partir de estos resultados podemos concluir que al aumentar la recirculación, es decir el caudal que entra en el reactor, se consigue incrementar la conversión cuando operamos con un reactor pulsante, mientras que si la operación se realiza con un reactor sin pulsación la velocidad de hidrólisis permanece prácticamente constante.

Ejemplo 2

Fermentación de glucosa por Saccharomyces cerevisiae inmovilizado en k-carragenato

La fermentación alcohólica de hexosas mediante la levadura *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizada por "atrapamiento" en geles de polisacáridos, operando en reactores de lecho fijo, presenta diversos problemas. Los principales son el mantenimiento de la integridad de la partícula, la eliminación del gas producido, la inhibición por producto y la baja efectividad en las zonas terminales.

Con el objeto de solventar estos problemas se ha operado con reactor de flujo pulsante, como un medio de aumentar significativamente los coeficientes de transferencia de materia. Inicialmente se determinó la influencia de la frecuencia de trabajo de pulsación, para lo cual se operó a una concentración de 100 g/L de glucosa, y tiempos de residencia de 1.04, 1.3 y 2.6 h. empleando las frecuencias de pulsación de 0.09, 0.048 y 0.025 Hz. Este rango se seleccionó teniendo en cuenta que, para los tiempos de residencia a los que se va a operar, se desea obtener un efecto mecánico apreciable (tiempo de cierre mayor) y una fiabilidad del sistema (tiempo de cierre menor). Los resultados se muestran en la Figura 3; como se observa, la concentración de etanol a la salida del reactor aumenta al disminuir la frecuencia de pulsación, lo que indica el efecto beneficioso alcanzado a frecuencias inferiores. Por ello, posteriormente se operará a una frecuencia de 0.025 Hz.

Para la frecuencia seleccionada se procedió a realizar el análisis cuantitativo y comparativo de la fermentación de glucosa (empleando una concentración inicial de sustrato de 100 g/L) en dos reactores de lecho fijo que se diferenciaban en el hecho de que en uno de ellos la alimentación entraba de manera pulsante, a fin de determinar su influencia sobre los parámetros productivos de la

fermentación (conversión, productividad y rendimiento).

Para analizar la evolución de la concentración de sustrato y producto a lo largo del reactor se tomaron muestras a la entrada, en el punto medio y a la salida del equipo. La Figura 4 muestran las concentraciones alcanzadas de etanol y los parámetros deducidos como la productividad (Q_p), velocidad de consumo de glucosa (Q_s).

Del análisis de los datos experimentales obtenidos en las diversas zonas del reactor se concluye que los mayores incrementos en la concentración de etanol se logran al operar en la zona superior del reactor, siendo también en esta zona mayores las diferencias de conversión de sustrato entre ambos reactores. Destaca el hecho de que los incrementos en la concentración de etanol del reactor pulsante para los diferentes caudales se mantiene prácticamente constante, a pesar de que al aumentar el caudal disminuye la concentración de etanol, y por tanto las diferencias entre ambos deberían disminuir al aumentar el caudal. Este hecho es debido a que al operar a mayores velocidades de flujo el efecto de la pulsación es más importante y ello provoca una disminución de las limitaciones difusionales existentes y del volumen ocupado por el CO_2 .

Durante el proceso de fermentación se observó que la concentración de levadura libre en la parte inferior del reactor sin pulsación era muy superior a la del reactor pulsante, mientras que a la salida el efecto era inverso. Este hecho demuestra que mediante la pulsación, además de lograr una mayor eliminación del CO_2 , se reduce la presencia de levaduras libres en el reactor.

Los rendimientos en etanol, también son superiores al operar en el reactor pulsante y estas diferencias son de un 7% respecto al reactor sin pulsación. Esto indica que, mediante la introducción de una perturbación en forma de onda cuadrada, se obtiene una mayor concentración de etanol con un consumo similar de sustrato, lo cual puede explicarse debido a que con la pulsación el contacto sustrato-microorganismo es más efectivo, ya que, por ejemplo en la zona superior, el medio de alimentación se encuentra con zonas ocupadas por gas, lo que impide un contacto íntimo de las biopartículas con el sustrato. Además, la agitación interna creada en el lecho favorece la evacuación del gas retenido en el interior de las biopartículas, lo cual permite disminuir las barreras difusionales existentes alrededor y en el interior de las biopartículas.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo de pulsación para ser acoplado a equipos de fermentación, reactores enzimáticos y reactores químicos. El dispositivo pulsante o pulsador, está formado por una electroválvula, un tubo de membrana flexible y un temporizador, que controla los tiempos de cierre y apertura de la electroválvula. Cuando esta se cierra el líquido queda retenido en la membrana flexible, aumentando por tanto la presión en la conducción; cuando se abre, el fluido almacenado en la membrana flexible se introduce rápidamente en el interior del sistema reactor o fermentador.

2. Dispositivo de pulsación según la reivindicación 1, **caracterizado** porque permite la modi-

ficación independiente de la frecuencia y la amplitud de la pulsación, mediante la modificación de la relación tiempo de cierre (t_c)/tiempo de apertura (t_a) de la electroválvula.

3. Dispositivo de pulsación según la reivindicación 1, **caracterizado** por permitir la introducción de una pulsación de masa líquida, que genera una perturbación en forma de onda cuadrada.

4. Dispositivo de pulsación según la reivindicación 3, que permite la introducción de una masa líquida en forma de pulsante sin originar retromezcla en un sistema, en donde se produzca una transformación debida a una acción microbiana (fermentador), enzimática (reactor enzimático) o química (reactor químico).

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

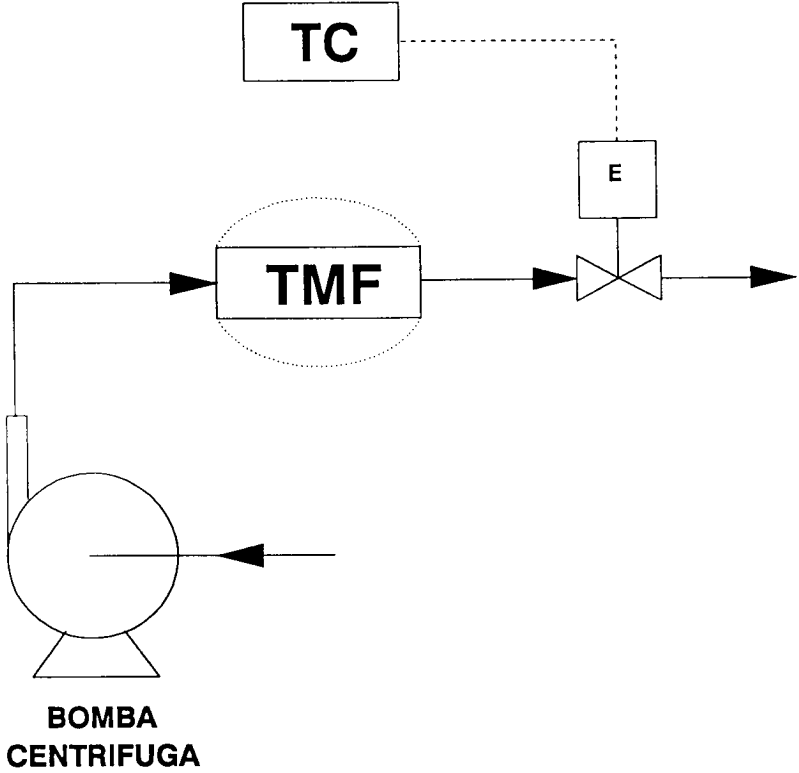


FIGURA 1

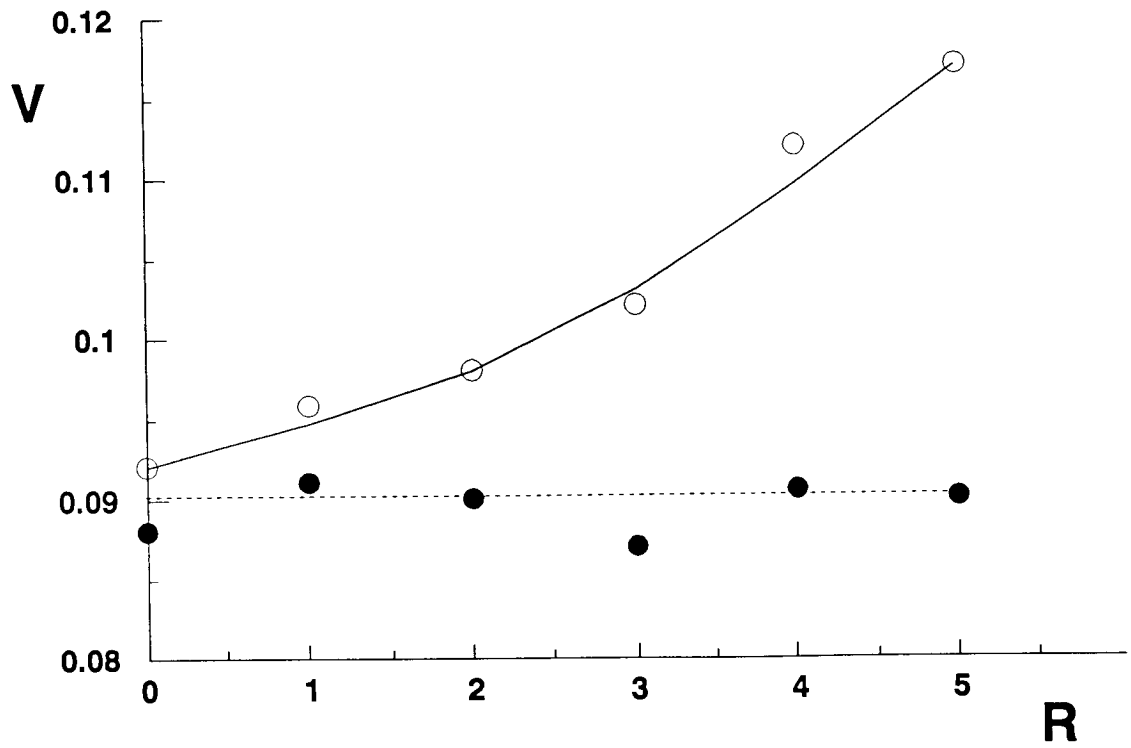


FIGURA 2

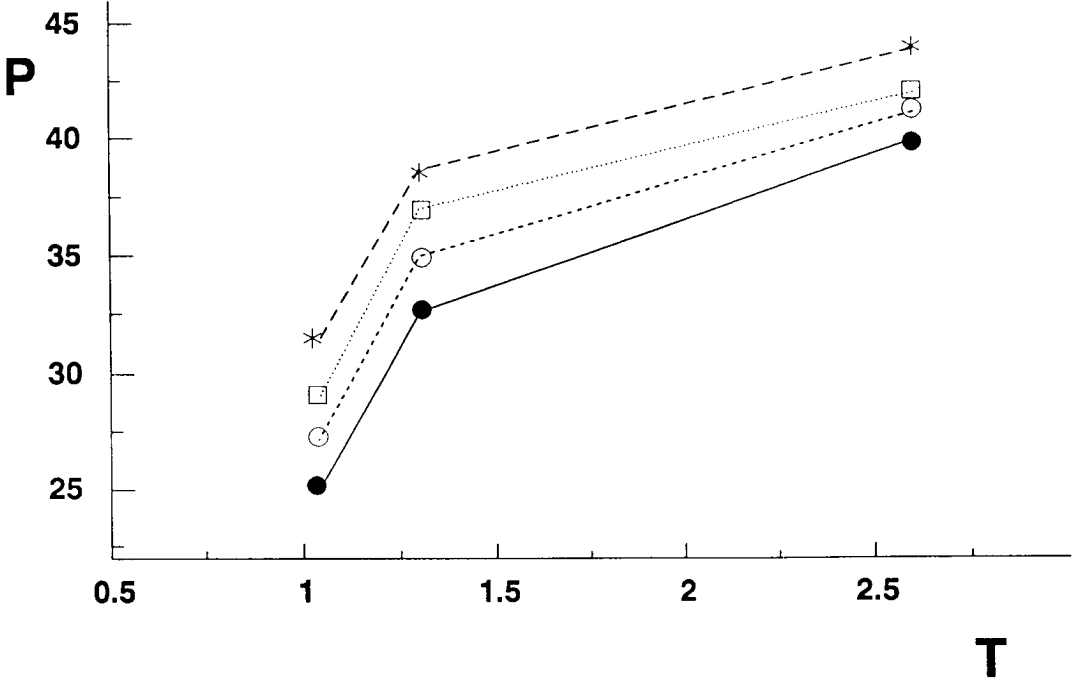


FIGURA 3

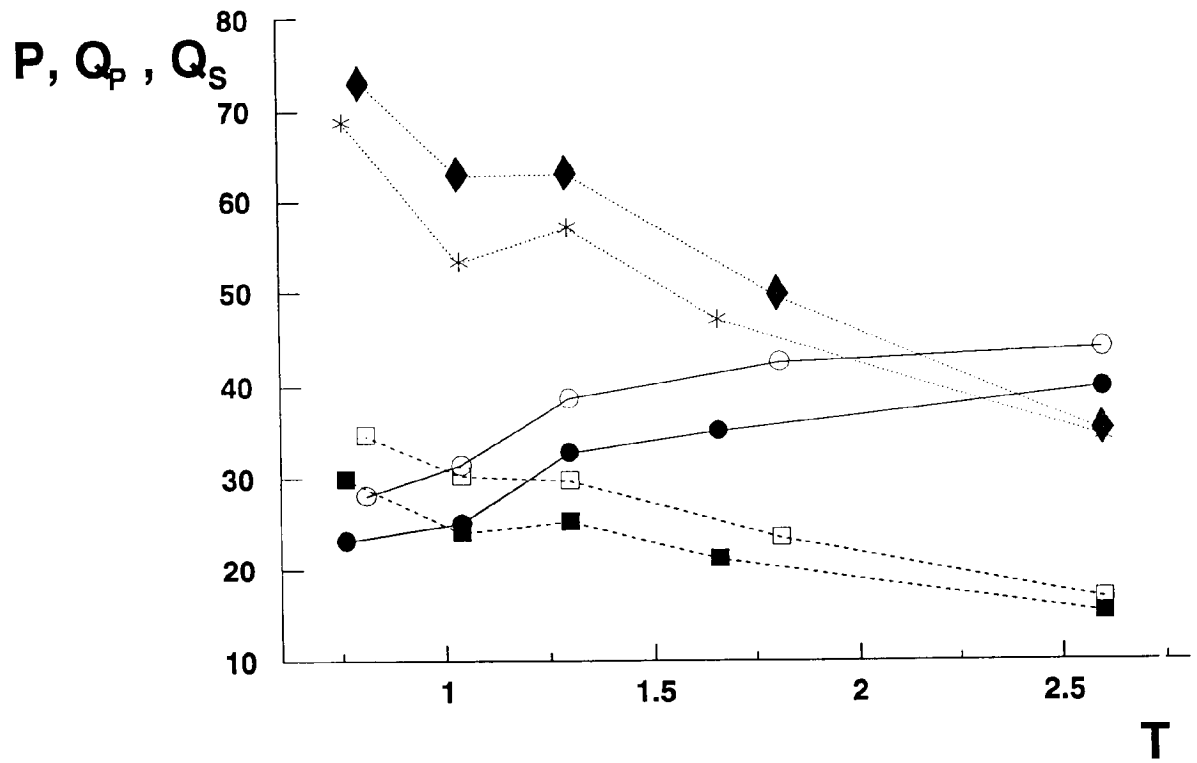


FIGURA 4



INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.⁵: C12M1/36, G05D7/06

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | Documentos citados | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|---|----------------------------|
| A | EP-A-446920 (SUMITOMO ELECTRIC INDUSTRIES, LTD.) *Todo el documento* | 1 |
| A | EP-A-438872 (BORG-WARNER AUTOMOTIVE, INC.) *Todo el documento* | 1 |

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 n.º:

Fecha de realización del informe
21.04.94

Examinador
J.L. Vizán Arroyo

Página
1/1