



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 361 733**

51 Int. Cl.:  
**B01D 15/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02724333 .6**

96 Fecha de presentación : **08.05.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1392411**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.03.2004**

54 Título: **Procedimiento de separación por cromatografía en lecho móvil simulado.**

30 Prioridad: **09.05.2001 FI 20010977**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**21.06.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**21.06.2011**

73 Titular/es: **Danisco A/S**  
**Langebrogade 1 P.O. Box 17**  
**1001 Copenhagen K, DK**

72 Inventor/es: **Heikkilä, Heikki;**  
**Lewandowski, Jari y**  
**Kuisma, Jarmo**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 361 733 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**

Procedimiento de separación por cromatografía en lecho móvil simulado

**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere a un método para el fraccionamiento de una solución en dos o más fracciones enriquecidas de forma ventajosa con diferentes componentes, y más particularmente a un método para el fraccionamiento de una solución por un procedimiento cromatográfico de lecho móvil simulado (SMB) en el cual las sustancias disueltas presentes en la carga de alimentación se separan en el bucle de separación cromatográfica de lechos empaquetados parciales, y el perfil de separación formado (esto es perfil de sólidos secos) circula más de una vez o menos de una vez a través de un bucle de separación cromatográfica durante un ciclo. En una realización preferida de la invención, el perfil de separación circula dos veces a través del bucle de separación durante un ciclo. En otra realización preferida de la invención el punto de alimentación encierra otro punto diferente comparado con el punto de alimentación del ciclo anterior. Esto se llama avance del punto de alimentación del perfil de separación y el avance del punto de alimentación se puede hacer más de una vez o menos de una vez a través del bucle de separación cromatográfica durante un ciclo.
- 10
- 15 El nuevo método cromatográfico SMB mejora la capacidad de separación mediante una mejor utilización del lecho de resina.

**Antecedentes de la invención**

- 20 El procedimiento de lecho móvil simulado continuo ha sido ya descrito en la Patente de Estados Unidos 2.985.589 (Broughton *et al.*). De acuerdo con este procedimiento, la mezcla a fraccionar se introduce en un lecho empaquetado parcial y el eluyente se introduce en otro lecho empaquetado parcial, y dos fracciones de producto se retiran sustancialmente de forma simultánea. Hay al menos cuatro lechos empaquetados parciales, que forman un único bucle con circulación continua de un perfil de sustancia seca, y los puntos de alimentación y de retirada del producto se desplazan continuamente paso a paso en dirección aguas abajo en el bucle de lechos de material empaquetado esencialmente a la velocidad de circulación del perfil de sustancia seca en el bucle.
- 25 Para los procedimientos de separación cromatográfica de lecho móvil simulado, se han desarrollado dos o más bucles y dos o más modos de perfiles con el fin de utilizar mejor el lecho de resina de separación cromatográfica para alcanzar un aumento de la capacidad de separación, un aumento de los rendimientos y purezas de las fracciones y de las concentraciones de sustancia seca de las fracciones.
- 30 Un procedimiento cromatográfico de lecho móvil simulado secuencial aplicado a la recuperación de betaína y sacarosa a partir de las melazas de remolacha está descrito en la Patente finlandesa del solicitante 86.416. En este método, un perfil de sólidos secos completo o esencialmente completo, circula en un bucle de material empaquetado parcial. También las publicaciones del solicitante de la patente de Estados Unidos 6.093.326 y patente de Estados Unidos 5.637.225 se refieren al método de lecho móvil simulado, aplicado en la primera al fraccionamiento de las melazas y en la última al fraccionamiento del licor de cocción de sulfito. Como se describe en estas publicaciones, el método de lecho móvil simulado puede incluir múltiples bucles; y el perfil o perfiles de sólidos secos circulan en cada bucle.
- 35 La patente finlandesa 86.416 mencionada anteriormente, describe un método para recuperar betaína y sacarosa a partir de las melazas de remolacha que emplea el procedimiento de lecho móvil simulado. El sistema cromatográfico comprende al menos 3 lechos cromatográficos parcialmente empaquetados en serie. En el método, la betaína y la sacarosa se separan durante la misma secuencia que comprende una fase de alimentación de melazas en la que la carga de alimentación de melazas se suministra a uno de dichos lechos empaquetados parciales, y el agua eluyente se suministra sustancialmente de forma simultánea a otro de dichos lechos empaquetados parciales, una fase de alimentación de eluyente, y una fase circulante. Estas fases se repiten o una vez o varias veces durante la secuencia.
- 40 En el método descrito en la patente de Estados Unidos 6.093.326 anterior, el flujo de líquido se efectúa en un sistema que comprende al menos dos lechos empaquetados parciales, y el producto o productos se recogen durante una secuencia de múltiples etapas. Una secuencia comprende las fases de alimentación, elución y circulación. Durante la fase de circulación, el líquido presente en los lechos empaquetados parciales con su perfil de sólidos secos circula en dos o más bucles que comprenden uno, dos o más lechos empaquetados parciales. Un bucle puede estar cerrado o "abierto", en otras palabras, cuando el líquido circula en un bucle, se puede introducir el eluyente en el otro bucle y se puede retirar del mismo una fracción de producto. Durante la alimentación y la elución, puede tener lugar el flujo a través de los lechos de material empaquetado entre bucles sucesivos, en los que los flujos arrastran el material de un bucle a otro. Durante la fase de circulación, la columna o columnas forman un bucle cerrado y se separan de los otros bucles. Un perfil de sólidos secos esencialmente completo circula en cada bucle.
- 45
- 50

5 La publicación WO 97/45185 describe un método para el fraccionamiento de una solución en dos o más fracciones mediante un procedimiento cromatográfico de lecho móvil simulado, en el que el sistema de separación comprende al menos dos perfiles de separación en el mismo bucle. El método se puede utilizar para fraccionar un licor de cocción de sulfito para dar una fracción rica en monosacáridos y/o una fracción rica en lignosulfonatos. Además, las melazas o vinazas se pueden fraccionar de tal modo que se obtengan fracciones ricas en azúcar, tal como sacarosa, y/o betaína. En el método de la publicación mencionada antes, hay al menos dos perfiles de separación en el mismo bucle. La longitud mínima de lecho requerida para el método es al menos la longitud de dos perfiles de separación sin exceso de solapamiento.

10 Uno de los problemas asociados con las instalaciones anteriores es que para conseguir un buen resultado de separación, altos rendimientos, pureza y concentración de sustancia seca en la fracción de producto, se tienen que utilizar largos lechos de separación cromatográfica.

15 Otro problema con las primeras instalaciones es también que el perfil o perfiles de la sustancia seca en los lechos de separación cromatográfica no llenan necesariamente la longitud total del lecho o pueden sobrecargar el lecho. Como regla, el perfil de la sustancia seca se debe formar de tal modo que se alcancen altos rendimientos, purezas y concentraciones de las fracciones de producto, y altas capacidades de separación. Esto significa que la carga de la columna cromatográfica tiene que ser alta, por ejemplo el volumen de alimentación tiene que ser grande con el fin de conseguir una concentración alta de sustancia seca en la fracción de producto y altas capacidades de separación. Una concentración alta de sustancia seca significa que la concentración es al menos cercana a la concentración parcial del componente o componentes de la alimentación.

20 Por otro lado, la altura del lecho o lechos de separación cromatográfica tiene que ser elevada para contener un número suficientemente alto de platos teóricos con el fin de alcanzar altas purezas de producto y altos rendimientos de producto.

$$L = N \cdot HETP \quad (1)$$

$$N = 16 \cdot (V_e/W)^2 \quad (2)$$

25 donde L = longitud del lecho de resina

N = número de platos teóricos

HETP = altura equivalente del plato teórico

$V_e$  = volumen de elución

W = anchura del pico.

30 En una situación el perfil de separación es estrecho y el lecho de separación cromatográfica es largo lo que puede llevar a una situación en la que parte de la columna de separación cromatográfica no se carga con el perfil de separación, lo que produce una escasa utilización del lecho.

35 Alternativamente, si en otra situación el perfil de sustancia seca es largo y el lecho de separación cromatográfica necesario para una buena separación es corto, tiene lugar el solapamiento del perfil de sustancia seca desde ambos extremos del perfil, causando purezas bajas y rendimientos bajos.

En las situaciones mencionadas antes se requieren métodos más avanzados y la presente invención proporciona una solución a los problemas asociados con ambas situaciones.

#### Breve descripción de la invención

40 Un objetivo de la presente invención es por lo tanto, proporcionar un método para resolver los problemas anteriores. Los objetivos de la invención se alcanzan mediante un método caracterizado por lo que se indica en las reivindicaciones independientes. Las realizaciones preferidas de la invención se describen en las reivindicaciones dependientes.

45 La presente invención se basa en un método para el fraccionamiento de una solución por un procedimiento cromatográfico de lecho móvil simulado (SMB) en el cual las sustancias disueltas presentes en la carga de alimentación se separan en los lechos empaquetados parciales, y el perfil de separación formado circula más de una vez o menos de una vez a través de un bucle de separación cromatográfica durante un ciclo. En otras palabras, el perfil de separación circula a través del bucle de separación cromatográfica en el sistema de separación un número de veces, que es sustancialmente diferente de una vez. Se forma un perfil de separación mediante la solución de alimentación y la sustancia seca recirculada. Se puede formar el perfil de separación o bien directamente a partir de la alimentación o si la alimentación se lleva de un bucle a otro, el perfil de separación se forma a partir de la fracción o fracciones del bucle anterior. El punto de alimentación del perfil de separación se adelanta durante un ciclo bien menos de una vez o bien más de una vez a través del bucle de separación cromatográfica.

Normalmente, y especialmente en una separación cromatográfica de lecho móvil simulado (SMB) secuencial, se empieza la nueva secuencia a partir de la misma posición que la secuencia anterior. Esto significa que la primera etapa de la secuencia completa se realiza de nuevo en la misma posición después de la última etapa de la secuencia anterior completa.

5 En la presente invención se forma un ciclo de etapas determinadas que se llevan a cabo de 1 a varias veces durante el mismo ciclo. Típicamente se repiten los ciclos hasta que se alcanza un equilibrio y entonces se continúa el procedimiento de forma ventajosa en equilibrio. El equilibrio se define por el equilibrio del perfil de la sustancia seca, y el equilibrio del perfil de la sustancia seca se alcanza normalmente después de aproximadamente 7 ciclos.

10 Una secuencia completa comprende todas las etapas. Una secuencia completa es completa cuando se repiten las etapas en la misma posición. Una secuencia completa puede consistir en varios ciclos. Un ciclo es una secuencia predeterminada de etapas, y un ciclo determina todas las etapas, que hacen circular el perfil de separación durante el ciclo. De forma ventajosa, se repite el ciclo de forma que sus etapas estén en la misma fase repetida en las mismas posiciones de las columnas. El orden de las etapas está predeterminado, pero no la posición. En una realización, la primera etapa del ciclo es la etapa de alimentación.

15 En el procedimiento de lecho móvil simulado secuencial, todas las corrientes del fluido no fluyen continuamente. Las corrientes son: el suministro de la solución de alimentación y del eluyente, la circulación del perfil de separación, y la retirada de los productos (fase de elución; dos a cuatro o más productos). El caudal y los volúmenes de las diferentes alimentaciones y fracciones de producto se pueden ajustar de acuerdo con los objetivos de la separación (rendimiento, pureza, capacidad). El procedimiento comprende comúnmente tres fases básicas: alimentación, elución y circulación. Durante la fase de alimentación, se introduce una solución de alimentación, y posiblemente también un eluyente durante una fase de elución simultánea, en un lecho empaquetado parcial predeterminado o en lechos empaquetados parciales predeterminados, y durante estas fases se retiran dos, tres, cuatro o incluso más fracciones de producto. Durante la fase de elución, se carga el eluyente en los lechos empaquetados parciales predeterminados. Durante la fase de circulación, no se suministra solución de alimentación ni eluyente a los lechos empaquetados parciales y no se retiran los productos. Durante una o varias etapas de una secuencia, puede haber una fase de circulación y/o una fase de alimentación y/o una fase de elución simultáneas en un bucle o en diferentes bucles.

20 Se ha desarrollado ahora un nuevo método de lecho móvil simulado para resolver los problemas mencionados antes. En una de las realizaciones de la presente invención la primera etapa del ciclo siguiente no empieza en la misma posición después del ciclo anterior. En otra realización de la presente invención la primera etapa empieza en la misma posición después de los ciclos anteriores. En el nuevo método de separación cromatográfica, circulan uno o más perfiles de separación más de una vez o menos de una vez a través del bucle de separación cromatográfica antes de que se retiren todas las fracciones predeterminadas o antes de que se lleven a cabo la siguiente alimentación o alimentaciones y las adiciones del eluyente o eluyentes del siguiente ciclo.

### 35 Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a un método para el fraccionamiento de una solución en dos o más fracciones por un procedimiento cromatográfico de lecho móvil simulado (SMB), que comprende

40 procesar dicha solución, que contiene sustancias disueltas presentes en una carga de alimentación, durante un ciclo en un sistema SMB, que comprende una o más columnas que contienen uno o más lechos empaquetados parciales que contienen material de empaquetado cromatográfico, de modo que los lechos empaquetados parciales en las columnas forman uno o varios bucles,

para formar un perfil de separación a partir de las sustancias disueltas de dicha solución,

y circular dicho perfil de separación en dicho bucle durante dicho ciclo,

45 comprendiendo dicho ciclo un número predeterminado de etapas en un orden predeterminado; y comprendiendo dichas etapas una o más de las siguientes fases: una fase de alimentación, una fase de circulación y una fase de elución.

50 En una realización de la invención, el método se caracteriza porque el perfil de separación con dicha solución circula a través de dicha columna o columnas de dicho bucle o bucles durante dicho ciclo de modo que el perfil de separación pasa a través de dicho bucle o bucles de separación cromatográfica en dicho sistema SMB más de una vez durante un ciclo.

En otra realización de la invención, el método se caracteriza porque el perfil de separación con dicha solución circula a través de dicha columna o columnas de dicho bucle o bucles durante dicho ciclo de modo que el perfil de separación pasa a través de dicho bucle o bucles de separación cromatográfica en dicho sistema SMB menos de una vez durante un ciclo.

- En la presente invención, el flujo de líquido se lleva a cabo en un sistema que comprende una o más columnas que contienen uno o más lechos empacados parciales. Las sustancias disueltas presentes en la carga de alimentación, se separan en los lechos empacados parciales, y se forma un perfil de separación (esto es sólidos secos). Los lechos empacados parciales en las columnas forman uno o varios bucles. El nuevo método se caracteriza porque el perfil de separación circula a través del bucle más de una vez o menos de una vez durante un ciclo, en una realización preferida de la invención, el perfil de separación circula dos veces durante un ciclo. Esto significa que el perfil de separación circula a través del bucle en el sistema de separación un número de veces, que es sustancialmente diferente de una vez.
- Los volúmenes de retención típicos de los productos deseados se pueden encontrar en las publicaciones. El volumen de retención de cada compuesto depende de varios parámetros, por ejemplo de la calidad del material de empacado (por ejemplo, forma iónica), y de las condiciones de elución tales como temperatura de separación y caudal. Típicamente los volúmenes de retención para monosacáridos y disacáridos son 40-80 % de los volúmenes del lecho, cuando se usan resinas de intercambio catiónico como material de llenado de la columna y agua como eluyente. Se pueden calcular los volúmenes de retención en un sistema SMB, por ejemplo a partir de los volúmenes de las etapas en las que se adelantan el punto o puntos de alimentación del perfil de separación.
- En el método de la invención se recuperan el producto o productos utilizando una secuencia en multi-etapas que comprende las siguientes fases: fase de alimentación, fase de elución y fase de circulación.
- En la fase de alimentación la solución a fraccionar se introduce en el lecho de material empacado seccional y simultáneamente se retira una cantidad correspondiente de fracción de producto desde un último punto aguas abajo en el mismo lecho de material empacado seccional o desde un lecho de material empacado seccional aguas abajo conectado con dicho lecho. La fase de alimentación puede incluir todos los lechos de material empacado seccionales del bucle de separación cromatográfica. Se pueden introducir varias alimentaciones durante un ciclo.
- En la fase de circulación el líquido presente en el lecho de material empacado seccional con su perfil de sólidos secos circula en un bucle que comprende uno, dos o varios lechos de material empacado seccionales. Esto puede incluir también todos los lechos de material empacado seccionales del bucle de separación cromatográfica del sistema.
- La fase de elución comprende la c de un eluyente a un lecho de material empacado seccional y la retirada respectiva de una fracción o fracciones de producto desde un punto aguas abajo del lecho de material empacado o de un lecho de material empacado seccional aguas abajo.
- Una etapa del procedimiento comprende una o más de las fases anteriores simultáneas idénticas o diferentes, y dichas etapas se repiten de 1 a 50 veces durante el ciclo.
- Dichas fases se emplean para formar ciclos que comprenden varias etapas sucesivas del procedimiento. De acuerdo con la invención, un ciclo comprende preferiblemente 1 a 50 etapas.
- Una secuencia que comprende dichas etapas se repite cinco a siete veces para equilibrar el sistema, tras lo cual se continúa el procedimiento esencialmente en un estado de equilibrio.
- Típicamente, se emplean en el método de la invención de 1 a 28, preferiblemente de 2 a 12, lo más preferiblemente de 2 a 6 lechos de material empacado seccionales cromatográficos combinados en uno o más bucles. Un bucle puede comprender uno, dos o varios lechos de material empacado seccionales empacados en una o más columnas. El método comprende el uso de bucles en serie o en paralelo. El método se puede usar también en uno o en varios bucles. Es posible también que haya varios perfiles de separación en un bucle.
- Un perfil de separación se forma por la solución de alimentación y la sustancia seca recirculada. El perfil de separación es un perfil de sólidos secos completo o esencialmente completo. Si los bucles están en serie el perfil de separación puede estar formado por una parte del perfil de separación procedente del bucle anterior. El perfil de separación puede estar formado también por la fracción o fracciones del subperfil del perfil presente en el bucle anterior o en el mismo bucle. El perfil de separación comprende los constituyentes presentes en la carga de alimentación del perfil, esto es parte de los constituyentes que tienen una velocidad de migración baja, parte de los constituyentes que tienen una velocidad de migración intermedia, y/o parte de los constituyentes que tienen una velocidad de migración alta. Por consiguiente el perfil de separación es un perfil de sólidos secos completo o esencialmente completo. Parte del constituyente que tiene la velocidad de migración más alta se puede retirar antes de la fase de circulación.
- La fracción de producto es una fracción retirada del procedimiento de separación cromatográfico. Puede haber más de una fracción de producto.
- La fracción de residuo es una fracción que contiene producto o productos o subproducto o subproductos menos valiosos. Puede haber más de una fracción de residuo.

La fracción de reciclado es una fracción que se vuelve a reciclar a la columna o columnas como tal o combinada con un material de partida. También puede haber una operación antes de volver el reciclado a la columna, por ejemplo se puede concentrar por evaporación. Puede haber más de una fracción de reciclado.

5 El método de la invención es particularmente adecuado para separar sustancias que son difíciles de separar de las mezclas que las contienen. Tales mezclas pueden incluir licores de cocción de sulfito, melazas, especialmente melazas B y melazas C, vinazas, jarabes de fructosa y glucosa, jugos derivados de remolacha, mezclas de azúcar invertido, hidrolizados de almidón, hidrolizados celulósicos, soluciones de suero de leche y otras soluciones que contienen lactosa, soluciones que contienen lactulosa, soluciones que contienen maltosa, soluciones que contienen maltitol, soluciones que contienen aminoácidos, caldos de fermentación que contienen diferentes ácidos orgánicos, tales como ácido cítrico, ácido glucónico, hidrolizados de bagazo, y soluciones que contienen ramnosa, arabinosa, manosa, rafinosa, inositol, manitol, sorbitol, xilitol, eritritol, ácido glutámico, glicerol y/o tagatosa, y soluciones de isomaltulosa y trehalulosa y similares. Preferiblemente la solución a fraccionar es licor de cocción de sulfito o melazas de remolacha.

15 En este contexto, licor de cocción de sulfito significa un licor empleado en la cocción de celulosa al sulfito o una parte del mismo, un licor que se deriva de la cocción o una parte del mismo, un licor usado en la cocción de sulfito o una parte del mismo, o un licor separado de la cocción de sulfito durante la cocción o una parte del mismo.

20 Los productos del método de la presente invención se pueden seleccionar del grupo que consiste en glucosa, fructosa, sacarosa, betaína, ramnosa, arabinosa, manosa, rafinosa, lactosa, lactulosa, maltosa, maltitol, inositol, manitol, glicerol, xilitol, xilosa, sorbitol, eritritol, ácidos orgánicos, especialmente aminoácidos, tales como ácido glutámico.

25 El aparato cromatográfico empleado, comprende típicamente una columna o varias columnas conectadas en serie, conductos de fluidos que conectan las columnas, recipientes para la solución y el eluyente, conductos de la carga de alimentación y del eluyente, bombas de circulación, eluyente, reciclado y alimentación, intercambiadores de calor, conductos para la retirada de la fracción de producto, y válvulas, reguladores de flujo y de presión y medidores para medidas en línea tales como concentración, densidad, actividad óptica y conductividad. El procedimiento se lleva a cabo de forma ventajosa esencialmente dentro de un estado de equilibrio. El estado de equilibrio se alcanza típicamente cuando se repite el ciclo aproximadamente 6 o 7 veces.

El número de columnas es de 1 a 28, preferiblemente de 2 a 12, lo más preferiblemente de 2 a 6. Preferiblemente, una columna comprende uno o varios lechos empaquetados parciales.

30 Como material de empaquetado una columna comprende de forma ventajosa una resina de intercambio iónico, especialmente una resina de intercambio catiónico o aniónico. La resina de intercambio catiónico es una resina de intercambio catiónico débilmente ácida o una resina de intercambio catiónico fuertemente ácida. Preferiblemente, se utiliza como material de empaquetado de la columna una resina de intercambio catiónico fuertemente ácida, tal como Finex CS 13 GC (fabricante Finex Oy).

35 La temperatura está preferiblemente entre 10 y 90 °C.

La presión es preferiblemente de 1 a 15 bares.

El eluyente empleado es un disolvente, tal como alcohol, especialmente etanol o agua o una mezcla de los mismos, especialmente una mezcla de etanol y agua. Preferiblemente el eluyente utilizado es agua.

El caudal lineal puede variar de 0,4 a 20 m/h, preferiblemente el caudal lineal es de 1 a 12 m/h.

40 En una realización de la presente invención, el método se caracteriza porque el sistema de separación comprende al menos una columna, y un ciclo en el sistema de separación comprende las siguientes fases:

45 a) una fase de alimentación, en la que la solución de alimentación se carga en una de las columnas y opcionalmente se carga sustancialmente el eluyente simultáneamente en la siguiente columna, y durante la fase de alimentación al menos un producto y/o al menos una fracción distinta del producto se recoge de la misma columna o de una columna posterior,

b) una fase de circulación, en la que no se carga nada al bucle ni se recoge nada del bucle,

c) una fase de elución, en la que se carga el eluyente en la columna y se recogen el residuo y opcionalmente un segundo producto de la misma columna o de columnas posteriores,

las fases de a) a c) se usan durante un ciclo, 1 a varias veces.

50 Una o más de las fases a) a c) se pueden usar simultáneamente.

Las fases a) a c) se pueden realizar también simultáneamente en una etapa, un bucle, en una columna o en parte de una columna.

En otra realización de la presente invención, el método se caracteriza porque el ciclo del sistema de separación comprende las siguientes fases:

- 5 a) una fase de alimentación, en la que la solución de alimentación se carga en una de las columnas y opcionalmente se carga sustancialmente el eluyente simultáneamente en la siguiente columna, y el primer producto y/o el reciclado y el residuo se recogen de la misma columna o de la columna posterior,
- b) una fase de circulación, en la que no se carga nada al bucle ni se recoge nada del bucle de separación cromatográfica,
- c) una fase de elución, en la que se carga el eluyente en la primera columna y se recogen el residuo y opcionalmente un segundo producto de la misma columna o de la columna posterior,
- 10 las fases a) y c) se usan tantas veces como sea necesario hasta que el perfil de separación haya circulado a través del bucle de separación cromatográfica más de una vez o menos de una vez durante un ciclo.

15 En una realización de la presente invención, el perfil de separación es estrecho y el lecho de resina de separación cromatográfica requerido para un buen resultado de separación es largo. En esta realización, el perfil de separación circula a través del bucle de separación cromatográfica más de una vez, y entonces el lecho de resina se utiliza correctamente. En este contexto correctamente significa que el perfil de separación llena esencialmente todo el material empaquetado. El perfil de separación puede circular por ejemplo 1,5 veces, 1,7 veces, dos veces o 3 veces etc. dependiendo del número de columnas. Si el perfil de sustancia seca circula 1,5 veces, esto significa que en un sistema de 6 columnas la primera etapa del ciclo se repite durante el siguiente ciclo tres columnas más tarde. De forma ventajosa, el perfil de separación circula dos veces.

20 En otra realización de la presente invención, el perfil de separación es largo, esto es ancho, y la longitud del lecho necesaria para una buena separación es corta y entonces el perfil de separación circula menos de una vez a través del bucle de separación cromatográfica antes de la primera etapa del siguiente ciclo. El perfil de separación puede circular también, por ejemplo 0,7 veces, a través del bucle de separación cromatográfica. Esto significa que por ejemplo en un sistema de 10 columnas la primera etapa del siguiente ciclo se repite ya después de 7 columnas.

25 Una característica ventajosa del método de la invención es que se puede conseguir una función optimizada para la serie de columnas. Otra ventaja de la presente invención es que se puede alcanzar la misma capacidad o mejor con una longitud total de la columna corta y con menor número de columnas. Un número menor de columnas significa un coste de inversión más bajo.

30 Será evidente para un experto en la técnica, que con los avances de la tecnología el concepto de la invención se puede implementar de diferentes maneras. La invención y sus realizaciones no se limitan a los ejemplos descritos a continuación pero pueden variar dentro del alcance de las reivindicaciones.

**Ejemplos**

**Ejemplo 1: Separación cromatográfica de xilosa a partir de licor de cocción de sulfito**

35 El equipo de ensayo incluyó dos columnas conectadas en serie, una bomba de alimentación, una bomba de circulación, una bomba del agua eluyente, así como válvulas de entrada y de producto para las diferentes corrientes del proceso. La altura de cada columna era de 4,6 m y cada columna tenía un diámetro de 0,111 m. Se empaquetaron las columnas con una resina de intercambio catiónico tipo gel ácido fuerte (Finex CS13GC) en forma de  $Mg^{2+}$ . El tamaño medio de las perlas era de 0,36 mm y el contenido de divinilbenceno era del 6,5 %.

40 Se utilizó como alimentación el licor de cocción de sulfito procedente de un proceso de cocción basado en  $Mg^{2+}$ , y el objetivo fue separar la xilosa contenida en el mismo.

Se filtró el licor utilizando tierra de diatomeas y se diluyó hasta una concentración del 48 % en peso. El pH fue 3,0. El licor de cocción de sulfito estaba compuesto como se indica a continuación, donde los porcentajes se dan en peso de la sustancia seca.

45 Tabla 1

Composición de alimentación	% en sustancia seca
Xilosa	14,3
Glucosa	1,6
Galactosa + ramnosa	1,5
Manosa	1,9
Ácido xilónico	5,7
Otros	75,0

Se realizó el fraccionamiento por medio de una secuencia de SMB de 9 etapas que se indican a continuación. Se utilizaron la alimentación y el eluyente a una temperatura de 65 °C y se utilizó agua como eluyente.

- 5 Etapa 1: Se bombeó la solución de alimentación a la primera columna a un caudal de 45 L/h, se recogieron de la segunda columna en primer lugar 2 L de la fracción de reciclado y después 2,5 L de la fracción de xilosa.
- Etapa 2: Se bombearon 11,2 L de solución de alimentación a la primera columna a un caudal de 45 L/h y se recogió una fracción de residuo de la misma columna. Simultáneamente se bombeó agua a la segunda columna a un caudal de 31 L/h y se recogieron de la misma columna en primer lugar 5,7 L de la fracción de xilosa y después 2 L de la fracción de reciclado.
- 10 Etapa 3: Se circularon 14,9 L en el bucle del conjunto de columnas (se continuó la circulación del perfil de separación), formado con todas las columnas, a un caudal de 45 L/h.
- Etapa 4: Se bombearon 11,5 L de agua a la primera columna a un caudal de 45 L/h y se recogió una fracción de residuo de la segunda columna.
- 15 Etapa 5: Se circularon 14,9 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 50 L/h.
- Etapa 6: Se bombearon 11,5 L de agua a la segunda columna a un caudal de 50 L/h y se recogió una fracción de residuo de la primera columna.
- Etapa 7: Se circularon 14,4 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 50 L/h.
- 20 Etapa 8: Se bombearon 11,5 L de agua a la primera columna a un caudal de 55 L/h y se recogió una fracción de residuo de la segunda columna.
- Etapa 9: Se circularon 10,4 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 50 L/h.
- 25 Con las etapas descritas, el perfil de separación circuló dos veces por el bucle, durante un ciclo. Una vez equilibrado el sistema, se retiraron las siguientes fracciones del sistema: dos fracciones de residuo de ambas columnas, la fracción que contiene xilosa de la segunda columna y dos fracciones de reciclado de la segunda columna. Los resultados incluyendo los análisis por HPLC para las fracciones reunidas se indican en la siguiente tabla.

Tabla 2

	Xilosa	Residuo	Reciclado
Volumen, l	8,2	45,7	4,0
Sólidos secos, g/100 ml	22,3	14,6	19,4
Xilosa, % en sustancia seca	54,5	1,0	48,8
Glucosa, % en sustancia seca	3,7	0,9	3,8
Galactosa + ramnosa, % en sustancia seca	5,3	0,2	4,7
Manosa, % en sustancia seca	6,1	0,3	5,8
Ácido xilónico, % en sustancia seca	10,5	3,5	12,0
Otros, % en sustancia seca	20,0	94,1	24,9
pH	3,0	3,6	3,1

- 30 El rendimiento global de xilosa calculado de estas fracciones fue del 93,7 %.

### Ejemplo 2: Separación cromatográfica de melazas

- 35 El equipo de ensayo incluye tres columnas conectadas en serie, bomba de alimentación, bombas de circulación, una bomba del agua eluyente, así como válvulas de entrada y de producto para las diferentes corrientes del proceso. La altura de cada columna es de 4 m y cada columna tiene un diámetro de 0,111 m. Se empaquetan las columnas con una resina de intercambio catiónico tipo gel ácido fuerte en forma de Na<sup>+</sup>. El tamaño medio de las perlas es de 0,36 mm y el contenido de divinilbenceno es del 6,5 %.

- 40 El material de alimentación es melazas de remolacha, especialmente melazas B. Se diluyen las melazas hasta el 60 % en peso y se carbonatan con carbonato de sodio (1,5 % en base de sustancia seca, temperatura 60 °C, tiempo de reacción 3 h). Se filtra después la solución carbonatada con un filtro de presión Seitz utilizando Kenite 300 como ayuda filtrante (prerrecubrimiento 1 kg/m<sup>2</sup>, ayuda filtrante 0,5 % en base de sustancia seca). La concentración de la

alimentación se ajusta a 68,5 g/100 ml. La composición se indica en la tabla siguiente, en la que los porcentajes se dan en peso de la sustancia seca.

Tabla 3

Composición de alimentación	% en sustancia seca
Sacarosa	72,2
Betaína	3,9
Otros	23,9

- 5 Se realiza el fraccionamiento por medio de una secuencia de SMB de 14 etapas que se indican a continuación. Se utilizan la alimentación y el eluyente a una temperatura de 85 °C y se utiliza agua como eluyente.
- Etapa 1: Se bombean 3,0 L de solución de alimentación a la primera columna a un caudal de 40 L/h, y se recoge una fracción de reciclado de la columna 3.
- 10 Etapa 2: Se bombean 7,1 L de solución de alimentación a la primera columna a un caudal de 30 L/h y se recoge una fracción de residuo de la misma columna. Simultáneamente se bombea agua a la columna 2 a un caudal de 70 L/h y se recogen de la columna 3 en primer lugar 3 L de la fracción de reciclado y después 13,6 L de la fracción que contiene sacarosa.
- Etapa 3: Se bombean 5,0 L de solución de alimentación a la primera columna a un caudal de 40 L/h y se recoge la fracción que contiene sacarosa de la columna 3.
- 15 Etapa 4: Se circulan 6,9 L en el bucle del conjunto de columnas (se continúa la circulación del perfil de separación), formado con todas las columnas, a un caudal de 45 L/h.
- Etapa 5: Se bombean 7,1 L de agua a la primera columna a un caudal de 45 L/h y se recoge una fracción de residuo de la columna 2. Simultáneamente se bombean 4 L de agua a la columna 3 a un caudal de 25 L/h y se recoge la fracción que contiene betaína de la misma columna.
- 20 Etapa 6: Se bombean 12,2 L de agua a la primera columna a un caudal de 40 L/h y se recoge la fracción que contiene betaína de la columna 3.
- Etapa 7: Se bombean 7,1 L de agua a la primera columna a un caudal de 40 L/h y se recoge la fracción de residuo de la columna 3.
- 25 Etapa 8: Se circulan 12,2 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 45 L/h.
- Etapa 9: Se bombean 7,1 L de agua a la columna 2 a un caudal de 45 L/h y se recoge la fracción de residuo de la columna 1.
- Etapa 10: Se circulan 12,2 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 45 L/h.
- 30 Etapa 11: Se bombean 7,1 L de agua a la columna 3 a un caudal de 45 L/h y se recoge la fracción de residuo de la columna 2.
- Etapa 12: Se circulan 12,2 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 45 L/h.
- 35 Etapa 13: Se bombean 7,1 L de agua a la primera columna a un caudal de 45 L/h y se recoge la fracción de residuo de la columna 3.
- Etapa 14: Se circulan 9,2 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 45 L/h.
- 40 Con las etapas descritas, el perfil de separación circula dos veces por el bucle, durante un ciclo. Una vez equilibrado el sistema, se retiran las siguientes fracciones del sistema: dos fracciones de residuo de todas las columnas, las fracciones que contienen sacarosa de la columna 3, la fracción de reciclado de la columna 3 y las fracciones que contienen betaína de la columna 3. Los resultados incluyendo los análisis por HPLC para las fracciones reunidas se indican en la siguiente tabla.

Tabla 4

Fracciones	Sacarosa	Betaína	Reciclado	Residuo
Volumen, l	18,6	16,2	6,0	42,6
Concentración, g/100 ml	36,3	4,1	17,2	4,8
Sacarosa, % en sustancia seca	94,8	4,8	61,9	16,0
Betaína, % en sustancia seca	0,0	60,4	0,0	0,4
Otros, % en sustancia seca	5,2	34,8	38,1	83,6

El rendimiento global calculado de las fracciones de producto es de 94,7 % para la sacarosa y del 98,0 % para la betaína.

5 **Ejemplo 3: Separación cromatográfica de xilosa a partir de licor de cocción de sulfito**

El equipo de ensayo incluye cuatro columnas conectadas en serie, una bomba de alimentación, una bomba de circulación, una bomba del agua eluyente, así como válvulas de entrada y de producto para las diferentes corrientes del proceso. La altura de cada columna es de 5,0 m y cada columna tiene un diámetro de 0,2 m. Se empaquetan las columnas con una resina de intercambio catiónico tipo gel ácido fuerte (Finex CS13GC) en forma de  $Mg^{2+}$ . El tamaño medio de las perlas es de 0,36 mm y el contenido de divinilbenceno es del 6,5 %.

10

Se utiliza como alimentación el licor de cocción de sulfito procedente de un procedimiento de cocción basado en  $Mg^{2+}$ , y el objetivo es separar la xilosa contenida en el mismo.

Se filtra el licor utilizando tierra de diatomeas y se diluye hasta una concentración del 48 % en peso. El licor de cocción de sulfito está compuesto como se indica a continuación, donde los porcentajes se dan en peso de la sustancia seca.

15

Tabla 5

Composición de alimentación	% en sustancia seca
Xilosa	14,9
Glucosa	1,9
Galactosa + ramnosa	1,6
Manosa	1,9
Otros	79,7

Se realiza el fraccionamiento por medio de una secuencia de SMB de 24 etapas que se indican a continuación. Se utilizan la alimentación y el eluyente a una temperatura de 65 °C y se utiliza agua como eluyente.

20

Etapa 1: Se bombean 39 L de solución de alimentación a la primera columna a un caudal de 140 L/h, y se recoge una fracción de residuo de la misma columna. Simultáneamente se bombea agua a la segunda columna a un caudal de 110 L/h y se recogen de la columna 4 en primer lugar 5 L de la fracción de reciclado y después 21 L de la fracción de xilosa y finalmente 5 L de la fracción de reciclado.

25

Etapa 2: Se circulan 50,5 L en el bucle (se continúa la circulación del perfil de separación) formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.

Etapa 3: Se bombean 40,5 L de agua a la columna 3 a un caudal de 140 L/h y se recoge una fracción de residuo de la segunda columna.

Etapa 4: Se circulan 50,5 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.

30

Etapa 5: Se bombean 40,5 L de agua a la columna 4 a un caudal de 140 L/h y se recoge una fracción de residuo de la columna 3.

Etapa 6: Se circulan 50,5 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.

35

Etapa 7: Se bombean 39 L de solución de alimentación a la columna 4 a un caudal de 140 L/h y se recoge una fracción de residuo de la misma columna. Simultáneamente se bombea agua a la primera columna a un caudal de 110 L/h y se recogen de la columna 3 en primer lugar 5 L de la fracción de reciclado y después 21 L de la fracción de xilosa. y finalmente 5 L de la fracción de reciclado.

- Etapa 8: Se circulan 50,5 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.
- Etapa 9: Se bombean 40,5 L de agua a la segunda columna a un caudal de 140 L/h y se recoge la fracción de residuo de la primera columna.
- 5 Etapa 10: Se circulan 50,5 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.
- Etapa 11: Se bombean 40,5 L de agua a la columna 3 a un caudal de 140 L/h y se recoge una fracción de residuo de la segunda columna.
- 10 Etapa 12: Se circulan 50,5 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.
- Etapa 13: Se bombean 39 L de solución de alimentación a la columna 3 a un caudal de 140 L/h y se recoge una fracción de residuo de la misma columna. Simultáneamente se bombea agua a la columna 4 a un caudal de 110 L/h y se recogen de la segunda columna en primer lugar 5 L de la fracción de reciclado y después 21 L de la fracción de xilosa. y finalmente 5 L de la fracción de reciclado.
- 15 Etapa 14: Se circulan 50,5 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.
- Etapa 15: Se bombean 40,5 L de agua a la primera columna a un caudal de 140 L/h y se recoge una fracción de residuo de la columna 4.
- 20 Etapa 16: Se circulan 50,5 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.
- Etapa 17: Se bombean 40,5 L de agua a la segunda columna a un caudal de 140 L/h y se recoge una fracción de residuo de la primera columna.
- Etapa 18: Se circulan 50,5 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.
- 25 Etapa 19: Se bombean 39 L de solución de alimentación a la segunda columna a un caudal de 140 L/h y se recoge una fracción de residuo de la misma columna. Simultáneamente se bombea agua a la columna 3 a un caudal de 110 L/h y se recogen de la primera columna en primer lugar 5 L de la fracción de reciclado y después 21 L de la fracción de xilosa. y finalmente 5 L de la fracción de reciclado.
- 30 Etapa 20: Se circulan 50,5 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.
- Etapa 21: Se bombean 40,5 L de agua a la columna 4 a un caudal de 140 L/h y se recoge una fracción de residuo de la columna 3.
- Etapa 22: Se circulan 50,5 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.
- 35 Etapa 23: Se bombean 40,5 L de agua a la primera columna a un caudal de 140 L/h y se recoge una fracción de residuo de la columna 4.
- Etapa 24: Se circulan 50,5 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 140 L/h.
- 40 Con las etapas descritas, el perfil de separación circula 3/4 veces por el bucle, durante un ciclo. Una vez equilibrado el sistema, se retiran las siguientes fracciones del sistema: tres fracciones de residuo de todas las columnas, una fracción que contiene xilosa de todas las columnas y dos fracciones de reciclado de todas las columnas. Los resultados incluyendo los análisis por HPLC para las fracciones reunidas se indican en la siguiente tabla.

Tabla 6

	Xilosa	Residuo	Reciclado
Volumen, l	21,0	120,0	10,0
Sólidos secos, g/100 ml	23,2	13,8	19,8
Xilosa, % en sustancia seca	50,3	1,1	43,9
Glucosa, % en sustancia seca	3,9	1,2	4,1
Galactosa + ramnosa, % en sustancia seca	5,5	0,2	4,9
Manosa, % en sustancia seca	5,8	0,3	5,9
Otros, % en sustancia seca	34,5	97,2	41,2

El rendimiento global de xilosa calculado de estas fracciones es de 93,7 %.

#### Ejemplo 4: Separación cromatográfica de jarabe de fructosa

5 El equipo de ensayo incluyó dos columnas conectadas en serie, una bomba de alimentación, una bomba de reciclado, una bomba del agua eluyente, así como válvulas de entrada y de producto para las diferentes corrientes del proceso. La altura de cada columna fue de 4,0 m y cada columna tenía un diámetro de 0,2 m. Se empaquetaron las columnas con una resina de intercambio catiónico tipo gel ácido fuerte Finex CS 11 GC) en forma de Ca<sup>2+</sup>. El tamaño medio de las perlas fue de 0,36 mm y el contenido de divinilbenceno era 5,5 %. Con estas propiedades de la resina la retención típica para el pico de fructosa es aproximadamente el 75 % del volumen del lecho.

10 Se utilizó como alimentación jarabe procedente del proceso de fructosa y el objetivo fue separar la fructosa contenida en el mismo.

15 Se filtró el licor utilizando una bolsa filtrante de 10 micras y se diluyó hasta una concentración de 66 g/100 ml. El pH fue 4,4. El jarabe de fructosa estaba compuesto como se indica a continuación, donde los porcentajes se dan en peso de la sustancia seca.

Tabla 7

Composición de alimentación	
Fructosa, % en sustancia seca	93,4
Glucosa, % en sustancia seca	2,0
Disacáridos, % en sustancia seca	3,7
Otros, % en sustancia seca	0,9

Se realizó el fraccionamiento por medio de una secuencia de SMB de 14 etapas que se indican a continuación. Se utilizaron la alimentación y el eluyente a una temperatura de 65 °C y se utilizó agua como eluyente.

20 Etapa 1: Se bombearon 9 L de solución de alimentación a la primera columna a un caudal de 90 L/h, y se recogió una fracción de reciclado de la segunda columna.

Etapa 2: Se bombearon 31 L de solución de alimentación a la primera columna a un caudal de 90 L/h y se recogió una fracción de residuo de la misma columna. Simultáneamente se bombearon 49 L de agua a la segunda columna a un caudal de 143 L/h y se recogió la fracción de fructosa de la misma columna.

25 Etapa 3: Se circularon 60 L en el bucle del conjunto de columnas (se continuó la circulación del perfil de separación), formado con todas las columnas, a un caudal de 90 L/h.

Etapa 4: Se bombearon 29 L de agua a la primera columna a un caudal de 90 L/h y se recogió una fracción de residuo de la segunda columna.

30 Etapa 5: Se circularon 60 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 90 L/h.

Etapa 6: Se bombearon 31 L de agua a la segunda columna a un caudal de 90 L/h y se recogió una fracción de residuo de la primera columna.

Etapa 7: Se circularon 51 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 90 L/h.

35 Etapa 8: Se bombearon 9 L de solución de alimentación a la segunda columna a un caudal de 90 L/h y se recogió la fracción de reciclado de la primera columna.

Etapa 9: Se bombearon 31 L de solución de alimentación a la segunda columna a un caudal de 90 L/h y se recogió una fracción de residuo de la misma columna. Simultáneamente se bombearon 49 L de agua a la primera columna a un caudal de 143 L/h y se recogió la fracción de fructosa de la misma columna.

5 Etapa 10: Se circularon 60 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 90 L/h.

Etapa 11: Se bombearon 29 L de agua a la segunda columna a un caudal de 90 L/h y se recogió la fracción de reciclado de la primera columna.

Etapa 12: Se circularon 60 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 90 L/h.

10 Etapa 13: Se bombearon 31 L de agua a la primera columna a un caudal de 90 L/h y se recogió una fracción de residuo de la segunda columna.

Etapa 14: Se circularon 51 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 90 L/h.

15 Con las etapas descritas, el perfil de separación circuló 3/2 veces por el bucle, durante un ciclo. Esto se puede calcular a partir de los volúmenes de etapa:  $9\text{ L} + 31\text{ L} + 60\text{ L} + 29\text{ L} + 60\text{ L} + 31\text{ L} + 51\text{ L} = 271\text{ L}$ , que es el 107,8 % del volumen del lecho del equipo de ensayo. El volumen de retención para la fracción de fructosa es  $271\text{ L} + 9\text{ L} = 280\text{ L}$ , que calculado para 3/2 circulaciones sobre el bucle es el 74,3 % del volumen del lecho. Esto está en el intervalo de la retención típica para la resina utilizada en este ejemplo.

20 Una vez equilibrado el sistema, se retiraron las siguientes fracciones del sistema: tres fracciones de residuo de ambas columnas, una fracción que contiene fructosa y una fracción de reciclado de ambas columnas. Los resultados incluyendo los análisis por HPLC para las fracciones reunidas se indican en la siguiente tabla.

Tabla 8

	Fructosa	Residuo	Reciclado
Volumen, l	98	182	18
Sólidos secos, g/100 ml	41,3	2,3	44,7
Fructosa, % en sustancia seca	97,0	49,8	95,7
Glucosa, % en sustancia seca	0,2	22,5	0,9
Disacáridos, % en sustancia seca	2,1	18,1	2,6
Otros, % en sustancia seca	0,7	9,6	0,8
pH	4,2	4,3	4,3

El rendimiento global de fructosa calculado de estas fracciones fue del 95,0 %.

25 **Ejemplo 5: Separación cromatográfica de jarabe de maltosa**

30 El equipo de ensayo incluyó tres columnas conectadas en serie, una bomba de alimentación, bombas de reciclado, una bomba del agua eluyente, así como válvulas de entrada y de producto para las diferentes corrientes del proceso. La altura de cada columna fue de 3,4 m y cada columna tenía un diámetro de 0,2 m. Se empaquetaron las columnas con una resina de intercambio catiónico tipo gel ácido fuerte en forma de  $\text{Na}^+$ . El tamaño medio de las perlas era de 0,35 mm y el contenido de divinilbenceno era 5,5 %. Con estas propiedades de la resina la retención típica para el pico de maltosa está aproximadamente en el intervalo del 54 % del volumen del lecho.

35 Se evaporó el jarabe de maltosa hasta el 55 % en peso y después se filtró con un filtro de presión Seitz utilizando Kenite 300 como ayuda filtrante (prerrecubrimiento  $1\text{ kg/m}^2$ , ayuda filtrante 0,5 % en base de sustancia seca). La concentración de la alimentación se ajustó a 55,5 g/100 ml. El pH era 4,1. La composición se indica en la tabla siguiente, en la que los porcentajes se dan en peso de la sustancia seca.

Tabla 9

Composición de alimentación	
Maltosa, % en sustancia seca	84,6
Malto-oligómeros, % en sustancia seca	4,7
Maltotriosa, % en sustancia seca	1,6
Glucosa, % en sustancia seca	7,3
Otros, % en sustancia seca	1,8

Se realizó el fraccionamiento por medio de una secuencia de SMB de 14 etapas que se indican a continuación. Se utilizaron la alimentación y el eluyente a una temperatura de 80 °C y se utilizó agua como eluyente.

Etapa 1: Se bombearon 3 L de solución de alimentación a la primera columna a un caudal de 80 L/h, y se recogió una fracción de reciclado de la columna 3.

5 Etapa 2: Se bombearon 15 L de solución de alimentación a la primera columna a un caudal de 80 L/h y se recogió una fracción de residuo de la misma columna. Simultáneamente se bombeó agua a la columna 2 a un caudal de 200 L/h y se recogieron de la columna 3 en primer lugar 8 L de la fracción de reciclado y después 32 L de la fracción que contiene maltosa.

10 Etapa 3: Se bombearon 32 L de solución de alimentación a la primera columna a un caudal de 80 L/h y se recogió la fracción que contiene maltosa de la columna 3.

Etapa 4: Se circularon 8 L en el bucle del conjunto de columnas (se continuó la circulación del perfil de separación), formado con todas las columnas, a un caudal de 120 L/h.

Etapa 5: Se bombearon 14 L de agua a la columna 3 a un caudal de 120 L/h y se recogió una fracción de residuo de la columna 2.

15 Etapa 6: Se circularon 30 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 120 L/h.

Etapa 7: Se bombearon 20 L de agua a la primera columna a un caudal de 120 L/h y se recogió la fracción de reciclado de la columna 3.

20 Etapa 8: Se circularon 30 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 120 L/h.

Etapa 9: Se bombearon 20 L de agua a la columna 2 a un caudal de 120 L/h y se recogió una fracción de residuo de la columna 1.

Etapa 10: Se circularon 29 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 120 L/h.

25 Etapa 11: Se bombearon 18 L de agua a la columna 3 a un caudal de 120 L/h y se recogió la fracción de residuo de la columna 2.

Etapa 12: Se circularon 38 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 120 L/h.

30 Etapa 13: Se bombearon 15 L de agua a la primera columna a un caudal de 120 L/h y se recogió una fracción de residuo de la columna 3.

Etapa 14: Se circularon 35 L en el bucle del conjunto de columnas, formado con todas las columnas, a un caudal de 120 L/h.

35 Con las etapas descritas, el perfil de separación circuló dos veces por el bucle, durante un ciclo. Esto se puede calcular a partir de los volúmenes de etapa:  $3\text{ L} + 15\text{ L} + 32\text{ L} + 8\text{ L} + 14\text{ L} + 30\text{ L} + 20\text{ L} + 30\text{ L} + 20\text{ L} + 29\text{ L} + 18\text{ L} + 38\text{ L} + 15\text{ L} + 35\text{ L} = 307\text{ L}$ , que es el 95,9 % del volumen del lecho del equipo de ensayo. El volumen de retención para la fracción de maltosa es  $307\text{ L} + 3\text{ L} + 8\text{ L} = 318\text{ L}$ , que cuando se calcula para dos circulaciones sobre el bucle es el 49,6 % del volumen del lecho. Esto está en el intervalo de los valores típicos de la retención de maltosa para la resina utilizada en este ejemplo.

40 Una vez equilibrado el sistema, se retiraron las siguientes fracciones del sistema: dos fracciones de residuo de todas las columnas, la fracción que contiene maltosa de la columna 3 y la fracción de reciclado de la columna 3. Los resultados incluyendo los análisis por HPLC para las fracciones reunidas se indican en la siguiente tabla.

Tabla 10

Fracciones	Maltosa	Reciclado	Residuo
Volumen, l	64	11	102
Concentración, g/100 ml	32,3	20,1	4,6
Maltosa, % en sustancia seca	96,6	93,1	27,0
Malto-oligómeros, % en sustancia seca	0,6	2,7	24,0
Maltotriosa, % en sustancia seca	0,6	2,5	5,5
Glucosa, % en sustancia seca	2,2	1,6	35,9
Otros, % en sustancia seca	-	0,1	7,6
pH	4,5	4,8	4,2

El rendimiento global de maltosa calculado de las fracciones de producto fue del 94 %.

## REIVINDICACIONES

1. Un método para el fraccionamiento de una solución en dos o más fracciones por un procedimiento cromatográfico de lecho móvil simulado (SMB), que comprende
- 5 procesar dicha solución, que contiene sustancias disueltas presentes en una carga de alimentación, durante un ciclo en un sistema SMB, que comprende una o más columnas que contienen uno o más lechos empaquetados parciales que contienen material de empaquetado cromatográfico, de modo que los lechos empaquetados parciales en las columnas forman uno o varios bucles,
- para formar un perfil de separación a partir de las sustancias disueltas de dicha solución,
- y circular dicho perfil de separación en dicho bucle durante dicho ciclo,
- 10 comprendiendo dicho ciclo un número predeterminado de etapas en un orden predeterminado; y comprendiendo dichas etapas una o más de las siguientes fases: una fase de alimentación, una fase de circulación y una fase de elución,
- 15 caracterizado porque el perfil de separación con dicha solución circula a través de dicha columna o columnas de dicho bucle o bucles durante dicho ciclo de modo que el perfil de separación pasa a través de dicho bucle o bucles de separación cromatográfica en dicho sistema SMB más de una vez durante un ciclo.
2. Un método para el fraccionamiento de una solución por un procedimiento cromatográfico de lecho móvil simulado (SMB), que comprende
- procesar dicha solución, que contiene sustancias disueltas presentes en una carga de alimentación, durante un ciclo
- 20 en un sistema SMB, que comprende una o más columnas que contienen uno o más lechos empaquetados parciales que contienen material de empaquetado cromatográfico, de modo que los lechos empaquetados parciales en las columnas forman uno o varios bucles,
- para formar un perfil de separación a partir de las sustancias disueltas de dicha solución,
- y circular dicho perfil de separación en dicho bucle durante dicho ciclo,
- 25 comprendiendo dicho ciclo un número predeterminado de etapas en un orden predeterminado; y comprendiendo dichas etapas una o más de las siguientes fases: una fase de alimentación, una fase de circulación y una fase de elución,
- caracterizado porque el perfil de separación con dicha solución circula a través de dicha columna o columnas de dicho bucle o bucles durante dicho ciclo de modo que el perfil de separación pasa a través de dicho bucle o bucles de separación cromatográfica en dicho sistema SMB menos de una vez durante un ciclo.
- 30 3. Un método según la reivindicación 1, caracterizado porque el perfil de separación llena esencialmente todo el material de empaquetado de dichos uno o más lechos empaquetados parciales en dicho bucle o bucles.
4. Un método según las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque el perfil de separación circula más de una vez o menos de una vez a través del bucle de separación cromatográfica, antes de que se retiren todas las fracciones predeterminadas.
- 35 5. Un método según las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque el perfil de separación comprende constituyentes presentes en la carga de alimentación del perfil y/o comprende una parte del perfil de separación del bucle anterior, si los bucles están en serie.
6. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque al menos algunas de las fases tienen lugar secuencialmente o simultáneamente.
- 40 7. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el punto de alimentación del perfil de separación se adelanta a través del bucle de separación cromatográfica durante un ciclo, un número de veces, que es diferente a una vez.
8. Un método según las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque el número de perfiles de separación que circulan a través del bucle de separación cromatográfica es más de uno.
- 45 9. Un método según las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque el perfil de separación que circula a través del bucle de separación cromatográfica es una parte del perfil de separación.
10. Un método según la reivindicación 1, caracterizado porque el perfil de separación circula dos veces a través del bucle de separación cromatográfica en el sistema de separación durante un ciclo.

11. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el ciclo del sistema de separación comprende las siguientes fases:
- 5 a) una fase de alimentación, en la que la solución de alimentación se carga en una de las columnas y opcionalmente se carga sustancialmente el eluyente simultáneamente en una columna posterior, y durante la fase de alimentación al menos una fracción de producto y/o al menos una fracción distinta del producto se recoge de la misma columna o de una columna posterior,
- b) una fase de circulación, en la que no se carga nada al bucle ni se recoge nada del bucle de separación cromatográfica,
- 10 c) una fase de elución, en la que se carga el eluyente en una de las columnas y la fracción de residuo y opcionalmente una fracción o fracciones de un segundo producto se recogen de la misma columna o de las columnas posteriores,
- las fases a) a c) se usan durante un ciclo, 1 a varias veces.
12. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque dos o más de las fases a) a c) se realizan simultáneamente.
- 15 13. Un método según la reivindicación 12, caracterizado porque las fases a) a c) se realizan simultáneamente en una etapa, un bucle, en una columna o en una parte de una columna.
14. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el método de lecho móvil simulado es secuencial.
- 20 15. Un método según las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque los bucles comprenden uno o más perfiles de separación.
16. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el material de empaquetado cromatográfico en dichos uno o más lechos empaquetados parciales es una resina de intercambio iónico.
- 25 17. Un método según la reivindicación 15, caracterizado porque el material de empaquetado cromatográfico en dichos uno o más lechos empaquetados parciales es una resina de intercambio catiónico.
18. Un método según la reivindicación 17, caracterizado porque el material de empaquetado es una resina de intercambio catiónico débilmente ácida.
19. Un método según la reivindicación 17, caracterizado porque el material de empaquetado es una resina de intercambio catiónico fuertemente ácida.
- 30 20. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el número de columnas es de 1 a 28, preferiblemente de 2 a 12, lo más preferiblemente de 2 a 6.
21. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el número de etapas es de 1 a 50 durante un ciclo.
22. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el eluyente es agua.
- 35 23. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el caudal lineal es de 0,4 a 20 m/h, preferiblemente de 1 a 12 m/h.
24. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la solución a fraccionar se selecciona del grupo que consiste en melazas, especialmente melazas B y melazas C, vinazas, jarabes de fructosa y glucosa, jugos derivados de remolacha, mezclas de azúcar invertido, hidrolizados de almidón, hidrolizados celulósicos, soluciones de suero de leche y otras soluciones que contienen lactosa, soluciones que contienen lactulosa, soluciones que contienen maltosa, soluciones que contienen maltitol, soluciones que contienen aminoácidos, caldos de fermentación que contienen diferentes ácidos orgánicos, tales como ácido cítrico, hidrolizados de bagazo, y soluciones que contienen ramnosa, arabinosa, manosa, rafinosa, inositol, manitol, sorbitol, xilitol, eritritol, ácido glutámico, glicerol y/o tagatosa, o soluciones de isomaltulosa y trehalulosa.
- 40 25. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la solución a fraccionar es un licor de cocción de sulfito
26. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque la solución a fraccionar es melazas de remolacha.
- 45 27. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el producto o productos se seleccionan de un grupo que consiste en glucosa, fructosa, sacarosa, betaína, ramnosa, lactosa,
- 50

lactulosa, maltosa, maltitol, arabinosa, manosa, rafinosa, inositol, manitol, glicerol, xilitol, xilosa, sorbitol, eritritol, ácidos orgánicos, especialmente aminoácidos, tales como ácido glutámico.

28. Un método según la reivindicación 1, caracterizado porque el perfil de separación es estrecho.

29. Un método según la reivindicación 2, caracterizado porque el perfil de separación es ancho.