



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 363 279**

(51) Int. Cl.:

B02C 19/18 (2006.01)

A23L 3/32 (2006.01)

A23L 1/025 (2006.01)

C13B 10/08 (2006.01)

A23L 1/221 (2006.01)

A23L 1/318 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **02772181 .0**

(96) Fecha de presentación : **21.08.2002**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1425104**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **09.06.2004**

(54)

Título: **Procedimiento y reactor para la disgregación y la pasteurización no térmicas de material de proceso orgánico a procesar mediante electroporación.**

(30)

Prioridad: **10.09.2001 DE 101 44 486**

(45)

Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.07.2011

(45)

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.07.2011

(73)

Titular/es:
**KARLSRUHER INSTITUT FÜR TECHNOLOGIE
Kaiserstrasse 12
76131 Karlsruhe, DE
SUDZUCKER AKTIENGESELLSCHAFT
MANNHEIM/OCHSENFURT**

(72)

Inventor/es: **Schultheiss, Christoph**

(74)

Agente: **Isern Jara, Jorge**

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 y reactor para la disgregación y la pasteurización no térmicas de material de proceso orgánico a procesar mediante electroporación

La invención se refiere a un procedimiento para la disgregación de células biológicas a escala industrial con campos eléctricos pulsados y un reactor en una línea de proceso para llevar a cabo el procedimiento.

Los campos eléctricos pulsados con intensidades de campo dentro de un rango de 1-100 kV/cm provocan la apertura irreversible de los poros en la membrana de células biológicas. Este efecto que se denomina electroporación se utiliza para la obtención efectiva de los componentes de células vegetales y para destruir microorganismos, la pasteurización.

Otros procedimientos para la liberación del citoplasma son el tratamiento térmico o la separación por presión. A unos 72 grados Celsius las membranas de células vegetales son desnaturalizadas y el contenido celular se derrama. En la separación por presión una presión externa provoca la rotura mecánica de las paredes celulares y la liberación del contenido celular. Ambos procedimientos clásicos tienen graves inconvenientes: el tratamiento térmico requiere mucha energía y puede dañar valiosos componentes termosensibles. La separación por presión mecánica resulta costosa desde el punto de vista de la ingeniería de equipos y el grado de disgregación es casi siempre claramente inferior al de la disgregación térmica. La combinación de ambos procedimientos consiste en un prensado en frío y la posterior liberación de los componentes mediante solventes.

El procedimiento de la electroporación se conoce desde los años sesenta del pasado siglo, y desde entonces se investiga científicamente el fenómeno de la permeabilización o poración de membranas celulares. En los documentos DE 198 59 459 A1, US 6.403.348 B1 y US 6.117.660 A se describen dispositivos y procedimientos en los que las células no son disgregadas mediante electroporación, sino que solamente presentan transitoriamente una membrana porosa. Por el documento DB 12 37 541 se describe la electroporación para los habituales productos agrícolas, tal como la digestión de almidón en patatas. Por el documento US 3 265 605 A se describen dispositivos y procedimientos para modificar la carga de material vegetal o animal en soluciones dispersas mediante electroporación. Por el documento WO 99/6463 se describe otro procedimiento para la electroporación. Se presentan las ventajas de procesar remolachas azucareras con este procedimiento antes de seguir tratándolas, a continuación, térmica o mecánicamente. El tratamiento térmico representa en este caso el estado de la técnica. Por la DE 197 36 080 A1 asimismo se describe el procedimiento mecánico.

En el ámbito de la electroporación no se conoce todavía ningún procedimiento ni tampoco ningún equipo o reactor mediante los cuales se podría realizar el proceso a escala industrial. De modo que el objetivo de la presente invención consiste en dar a conocer un procedimiento para la electroporación de sustancias biológicas celulares, así como un reactor en una línea de proceso para llevar a cabo el procedimiento.

En lugar de la rotación del fruto mediante turbulencias del flujo o torbellinos forzados del flujo de material a procesar, en este caso, los campos eléctricos en el reactor presentan distintas direcciones a lo largo de su longitud. Según el estado de la técnica, por ejemplo, el fruto es transportado en un tubo dieléctrico en el que están dispuestos pares de electrodos desplazados angularmente que quedan situados uno encima de otro en los planos transversales adyacentes. De esta manera se varía el ángulo en un plano de las remolachas que van pasando y se detectan las células que están orientadas en este plano. Sin embargo, las células orientadas con su eje largo, convencionalmente el eje Z, de forma perpendicular con respecto a este plano, no son disgregadas.

Mediante la invención se resuelve el problema de modificar las células biológicas mediante electroporación pulsada de tal manera que se puede realizar el procedimiento a escala industrial. Es decir, que se puede procesar grandes cantidades a trabajar industrialmente con un mínimo consumo energético en un reactor diseñado a tal efecto y accionado mediante el procedimiento.

En el procedimiento para la disgregación continuada y la pasteurización de estas grandes cantidades de células biológicas, raíces, bulbos, frutos y células animales, el material orgánico a procesar, es transportado a través de un reactor en un flujo de líquido de transporte o de proceso y expuesto allí a campos eléctricos pulsados para la electroporación.

Las etapas individuales son:

Entre grupos de electrodos puestos a tierra y electrodos que pueden ser cargados con alta tensión, que están incorporados en la pared del reactor dieléctrico y cada uno de los cuales está formado por, como mínimo, un electrodo en la zona interior del reactor se generan a modo de pulso campos eléctricos E de diversas direcciones de tal intensidad que cada célula recibe con un alta probabilidad, como mínimo, una vez una intensidad de campo eléctrico E al pasar por el reactor, de tal manera que también a lo largo de su eje más largo se consigue, como mínimo, una vez la diferencia de potencial umbral

$z E = 10 \text{ V}$

para la electroporación. Debido a ello, las células biológicas del material a procesar que tienen una forma alargada, por ejemplo ovalada, de un orden de magnitud de típicamente 10-100µm son sometidas repetidamente a una diferencia de potencial de como mínimo 10 V.

Los electrodos que pueden ser cargados con alta tensión son reunidos en grupos formados de, como mínimo, un electrodo y los electrodos de un grupo de este tipo son conectados simultáneamente a alta tensión o cargados con el pulso de alta tensión, pero siempre será sólo un grupo el que está conectado a alta tensión.

Los grupos de electrodos son alimentados sucesivamente a alta tensión, tal como en un “reguero de pólvora” con una dispersión temporal de, como mínimo, la longitud de pulso hasta varias veces la misma, de todos modos, de tal manera que el campo siempre sale de forma fiable sólo de un grupo de electrodos. La dirección de avance de la conexión a alta tensión puede ser en dirección al flujo del material a procesar o contraria al mismo, o bien el grupo de electrodos es cargado estáticamente de manera que en el reactor se producen constantemente cambios de dirección de la intensidad de campo eléctrico E desde la entrada hasta la salida al ritmo de la conexión a alta tensión de los grupos debido a la disposición de los electrodos. Lo esencial es que haya siempre solo un único grupo de electrodos que está conectado a alta tensión, evitándose de esta manera los desplazamientos de campo recíprocos y, por lo tanto, zonas con trayectorias de líneas de campo que discurren perpendicularmente con respecto al eje de flujo tal como se producirían en el caso de una combustión simultánea de dos o varios grupos de electrodos. Desde el punto de vista de la duración de la acción eléctrica, la dirección del fuego rastro en la dirección del flujo del material a procesar resulta preferente, ya que en este caso el material a procesar que pasa es expuesto durante más tiempo a la acción eléctrica debido a que se desplazan en la misma dirección.

Estudios experimentales de parámetro, así como fuentes de literatura americana (K.H. Schoenbach y otros: “Bacterial Decontamination of Liquids with Pulsed Electric Fields” (“Descontaminación bacteriana de líquidos mediante campos eléctricos pulsados”), IEEE Transactions on Dielectrics, Vol. 7; nº 6, p. 637 – 645, octubre de 2000) sugieren mantener la duración del correspondiente impulso de alta tensión en un rango de 1 hasta 3 µseg con la diferencia de potencial de umbral de 10 V. Esto resulta energéticamente favorable para la disgregación del material a procesar (reivindicación 2). A tal efecto, resulta ventajoso que la subida de tensión se realice lo más rápido posible y no dure más de 100 µseg como máximo.

Los electrodos puestos a tierra no están asignados inequívocamente a un electrodo que puede ser cargado con alta tensión o a un grupo de los mismos. Por lo contrario, un electrodo/grupo de electrodos de alta tensión comunica mucho con los electrodos puestos a tierra que se encuentran más próximos espacialmente debido a la generación de un fuerte campo al aplicar la alta tensión y comunica correspondientemente menos con los que se encuentran más alejados. Esto constituye el efecto de movimiento o una fluctuación en el espacio de los campos eléctricos. La sobre-elevación del campo que se produce en principio en los electrodos puestos a tierra y en el grupo de electrodos al que se está aplicando el potencial de alta tensión comparado con la de la zona central en el correspondiente tramo entre los mismos, permite la electroporación incluso también en electrodos puestos a tierra que se encuentran más lejos (véase a tal efecto también las explicaciones que siguen más adelante en relación con la figura 5, curva de intensidad de campo).

Además del efecto de la sobre-elevación del campo en electrodos puestos a tierra que se encuentran más alejados, en proximidad de los mismos, además, también se aumenta la intensidad del campo eléctrico en un factor 10. De esta manera se asegura que en la zona de electrodos puestos a tierra que se encuentran más alejados, el material celular es sometido a electroporación de forma fiable.

En la zona de electrodos adyacentes, se generan diferencias de potencial umbral de 100 V y más. Debido a los “sobrepotenciales” se ha mostrado que el tiempo de pulsación puede ser inferior a 1 µs. Una comparación de la calidad de disgregación entre la diferencia del potencial umbral 10 y 100 V muestra que esta última resulta ventajosa utilizando la misma energía específica (reivindicación 2). El almacén de energía eléctrica de cada grupo de electrodos ha de descargar rápidamente a través del correspondiente interruptor. Por esto, el correspondiente circuito de descarga está dimensionado de tal manera que la subida de tensión, hasta un máximo de 1 MV, se realiza en un máximo de 100 nseg (reivindicación 3).

El reactor para disgregar y pasteurizar, es decir para la realización óptima del procedimiento de la electroporación, está construido de la siguiente manera (reivindicación dependiente 4):

El reactor tiene forma de túnel y presenta una sección transversal poligonal, como mínimo cuadrangular, o bien redonda. El material de la pared es dieléctrico y químicamente inerte con respecto al líquido de proceso y el material a procesar que arrastra consigo. En una primera zona longitudinal de la pared del reactor están incrustados, a lo largo de la longitud del reactor, electrodos puestos a tierra cuya frente/cabeza está expuesta al espacio interior del reactor.

En una segunda zona longitudinal de la pared del reactor están incrustados, a lo largo de la longitud del reactor, electrodos que pueden ser cargados de alta tensión, cuya frente/cabeza está expuesta al espacio interior del reactor. Generalmente están divididos en grupos formados por, como mínimo, uno de estos electrodos de alta tensión. Los electrodos de un grupo están conectados en la misma fuente de alta tensión. Cada grupo de electrodos de alta tensión tiene su propia fuente de alta tensión.

Todos los grupos de electrodos que pueden ser cargados de alta tensión están dispuestos de tal manera que la distancia de estos grupos entre sí corresponde aproximadamente al diámetro interior d del reactor.

5 La zona longitudinal con los grupos de electrodos que pueden ser cargados con alta tensión está separada a ambos lados de la zona longitudinal con los electrodos puestos a tierra por sendas zonas longitudinales sin electrodos. Ésta presenta a lo largo de la longitud del reactor, como mínimo, una anchura tal que durante el procesamiento entre un electrodo puesto a tierra y el grupo de electrodos que acaba de ser cargado de alta tensión se ajusta y se mantiene una intensidad de campo de 10 kV/cm, es decir, que no se puede producir una perforación eléctrica.

10 La posición de la zona longitudinal con los electrodos puestos a tierra con respecto a la posición de la zona longitudinal dotada de los grupos de electrodos que pueden ser cargados de alta tensión es de tal manera que cualquier unión rectilínea entre un electrodo puesto a tierra y un electrodo que puede ser cargado de alta tensión de cualquier grupo discurre en el espacio interior del reactor. En cuanto a la construcción, se respeta la relación de diámetro interior con respecto a la profundidad del reactor d de manera que la distancia de los electrodos de un grupo que están situados en alto con respecto al electrodo o a los electrodos puestos a tierra más próximo/s es de tal manera que no se generan campos de dispersión con < 10 kV/cm en el material a procesar.

15 En las reivindicaciones dependientes 6 a 9 se describen medidas ventajosas que facilitan las etapas del proceso en función del tamaño del reactor:

20 Para limitar de forma dirigida la densidad de las líneas de campo en un reactor grande en sus dimensiones resulta útil tener grupos de electrodos que pueden ser cargados simultáneamente con alta tensión en lugar de un solo electrodo que puede ser cargado con alta tensión. A tal efecto se prevé siempre que los electrodos que pueden ser cargados de alta tensión estén divididos en grupos de como mínimo un electrodo y que cada grupo esté conectado a través de una línea de alta tensión y un interruptor/intersticio para chispas con su propia fuente de alta tensión/su propio generador Marx (reivindicación 6).

25 Los electrodos expuestos con su frente en la pared interior y que están en contacto directo con el líquido de transporte o de proceso presentan la siguiente distribución de superficies para generar un campo en el interior del reactor:

30 La suma de las superficies de los electrodos de alta tensión que están expuestas en el reactor es aproximadamente igual a la de los electrodos puestos a tierra más próximos y no esencialmente inferior al tener en cuenta los segundos electrodos más próximos puestos a tierra (reivindicación 7). La superficie de los electrodos ha de ser dimensionada de tal manera que la relación de aspecto entre la superficie de electrodos F y la distancia d entre el correspondiente electrodo de alta tensión y los correspondientes electrodos puestos a tierra tiene el valor:

$$F : d = \frac{1}{2} \text{ cm}$$

40 Los electrodos están distribuidos de tal manera sobre la correspondiente zona longitudinal del reactor que no existe ningún par de electrodos, formado por un electrodo puesto a tierra y uno que puede ser cargado con alta tensión, cuya línea de unión rectilínea discorra perpendicularmente con respecto a la dirección del flujo del material a procesar o perpendicularmente con respecto al eje de transporte en el reactor, reivindicaciones 3 y 9. De esta manera, en una proyección perpendicular con respecto al eje de flujo ningún grupo de electrodos llega a recubrir un electrodo puesto a tierra. En esta proyección, los electrodos puestos a tierra siempre quedan situados de algún modo alrededor de un grupo de electrodos, pero de tal manera que entre los electrodos situados más próximos siempre exista suficiente penetración eléctrica hacia los electrodos puestos a tierra más alejados para generar un campo.

45 En cuanto al tiempo de paso se ha mostrado que, cuando los electrodos están distribuidos de tal manera sobre la correspondiente zona longitudinal que, al proyectar la zona longitudinal dotada de electrodos que pueden ser cargados con alta tensión perpendicularmente con respecto a la dirección del flujo sobre la zona longitudinal con los electrodos puestos a tierra, los primeros electrodos están situados sobre una línea cerrada de simple curvatura o sobre un sector de dicha línea alrededor de un electrodo puesto a tierra (o también cuando se realiza la proyección inversa), este tiempo de paso se deja reducir sensiblemente.

50 Al contrario de los procedimientos térmicos y mecánicos que ya se han mencionado anteriormente, los campos eléctricos pulsados con intensidades de campo en el rango de 1-100 kV/cm destruyen las membranas celulares de forma irreversible. La electroporación sirve para obtener de forma más eficaz los componentes del citoplasma de células biológicas y para destruir microorganismos. Los poros que, de esta manera, se forman en la membrana celular crecen y se cierran debido a la influencia de la fluctuación térmica y de campos eléctricos locales. A título de modelo se supone que en un proceso de dos etapas se forman poros hidrófilos, impermeables al agua que son aptos para el intercambio de sustancias. Primero aparecen como poros hidrófobos, impermeables al agua, cuya tasa de formación depende de la temperatura y del potencial de la membrana. Cuando su radio alcanzaba un valor crítico, se transformaban inmediatamente en poros hidrófilos. Estos últimos pueden crecer bajo la influencia de un campo eléctrico. Cuando su radio sobrepasa un segundo valor crítico durante la duración del pulso, su apertura es irreversible. La escala de tiempo, dentro de la que los poros se abren, se sitúa por experiencia en el rango de un microsegundo. El campo eléctrico

exterior se ha de aplicar sólo durante este lapso de tiempo. Al aplicar intensidades de campo eléctrico demasiado elevadas, a partir de 10 kV/cm, este lapso de tiempo se puede reducir.

Cualquier prolongación de la duración del pulso, más allá del momento en el que las membranas celulares se han destruido, sólo aumentará las pérdidas electrolíticas inevitables en la suspensión. Por consiguiente, se requieren, en todo caso pulsos de tensión de muchos 100 kV de amplitud para conseguir a través de grandes distancias intensidades de campo muy elevadas que duren microsegundos, y se ha de ajustar la más elevada frecuencia de repetición de los pulsos posible para conseguir un alto rendimiento.

Para una planta/instalación de este tipo, la vida útil de los generadores de impulso ha de corresponder a los estándares industriales. Con los generadores Marx se pueden ajustar estas propiedades. Los transformadores de pulso ya no se pueden fabricar con un gasto razonable para procesos de tan corta duración y, por lo tanto, no constituyen un componente económico.

En un generador Marx se cargan primero los condensadores de alta tensión en paralelo a una tensión de carga de, por ejemplo, 50 kV y luego se conectan en serie para sumar las tensiones individuales. Para diez condensadores, por ejemplo, resulta simplemente una amplitud de 500 kV al conectar los intersticio para chispas. Los otros parámetros se determinan con la ayuda de la constante de tiempo τ del circuito eléctrico conectado secuencialmente, según:

$$\tau = RC < 1 \mu s$$

-R es esencialmente la resistencia de la suspensión de agua y de las células biológicas y C son las capacidades de los condensadores conectados en serie de un generador Marx. Los miembros R-L inductivos son en comparación pequeños en esta aplicación y, por lo tanto, insignificantes en este caso.

Para que el reactor trabaje de forma oportuna para el procedimiento, la utilización de generadores Marx como fuente de tensión para la electroporación resulta crucial. A título de ejemplo, las remolachas azucareras son electroporadas de forma eficiente con una intensidad de campo de 10 kV/cm aplicada desde el exterior, cuando el generador Marx conectado secuencialmente proporciona pulsos de 500 kV y el reactor presenta un diámetro interior de 50 cm. A pesar de que la intensidad de campo de 10 kV/cm es muy alta, por experiencia sólo se disgrega una parte de las células de la remolacha. Para la otra parte la intensidad de campo aplicada desde el exterior todavía no es suficientemente alta. La razón es que las células biológicas tienen una forma alargada en la mayoría de los casos. Para describir el modelo sirve un eje largo z, basado en la forma de la célula, y un eje corto r. Cuando la célula está dispuesta con su longitud z, por ejemplo, en paralelo a la dirección del campo local, se produce a lo largo de la misma una diferencia de potencial de $U = zE$, que permite la electroporación y la puede provocar. En el eje r corto de las células en el que se aplica el potencial más pequeño $U = 2rE$, la situación podrá ser distinta, si r corresponde aproximadamente al radio de la célula alargada. Una célula ovalada con las dimensiones $z = 100 \mu m$ y $2r = 10 \mu m$, por ejemplo, ha de ser electroporada. Con una intensidad de campo de 1 kV/cm y una duración de pulso de microsegundos no se alcanza el umbral de poración de 10 V en este caso específico de la sustancia celular, porque

$$2rE = 10 \mu m \times 1 \text{ kV/cm} = 1 \text{ V.}$$

Una célula que está orientada con su eje pequeño hacia el campo sobrevivirá. Si el campo y el eje hubiesen estado orientados en la misma dirección, se habría producido una apertura irreversible de la membrana.

Para pulsos en el rango de microsegundos el umbral para la electroporación irreversible se sitúa en una diferencia de potencial de aproximadamente 10 V. Este umbral, pero también efectos de protección mediante un flujo de corriente anisótropo conducen a que, para conseguir una electroporación segura, se ha de operar con la aplicación de una intensidad de campo demasiado elevada, diferencias de potencial umbral en el rango de 100 V y adicionalmente se ha de girar el fruto a diferentes posiciones para desencadenar con alta probabilidad el efecto de electroporación en las células.

A continuación, se explicará la invención con más detalle en relación con el dibujo. El dibujo comprende las figuras 1 a 5 y muestra el reactor como ejemplo más sencillo con una sección transversal cuadrangular.

En concreto, en las figuras se muestra:

Figura 1 El reactor en una vista en planta;

Figura 2 El reactor en una vista lateral;

Figura 3 El reactor en una vista frontal;

Figura 4 La estructura esquemática del reactor, y

Figura 5 La curva cualitativa de la intensidad de campo.

Mediciones en remolachas que se orientaban en el campo eléctrico han mostrado que al englobar todas las células la energía específica referida a la remolacha se reduce de 8 kJ/kg a aproximadamente 2 kJ/kg. Además de una electroporación incompleta en una disposición de tubo, también ha resultado ser desventajoso el transporte de frutos

enteros en el tubo, dado que se producen atascos y bloqueos del material a procesar que han de ser eliminados manualmente. Por lo tanto, según esta invención, resulta preferente un transporte en el que se ejerce una fuerza de transporte continua sobre los frutos tal como sucede, por ejemplo, en un transportador de cadena.

El rendimiento de un transportador de cadena queda determinado por la velocidad de transporte, la anchura, la altura y el grado de carga. En función del material de células biológicas, la altura del transportador es aproximadamente 50 cm; la velocidad de transporte es ajustada de tal manera que mientras el material a procesar permanece en el reactor, la energía específica aportada por los pulsos de alta tensión alcanza el valor umbral deseado. La anchura del reactor no está sujeta a ninguna limitación.

El reactor presenta en este caso una sección transversal rectangular y está fabricado de un material dieléctrico y suficientemente resistente para el proceso en todos los aspectos. Las piezas móviles, tales como bandas con nervios transversales, etc. asimismo están realizadas en un material dieléctrico. La altura del reactor es de aproximadamente 50 cm, en este caso, la longitud L es, por ejemplo, 200 cm y la anchura 100 cm. En el lado inferior están incorporados los electrodos puestos a tierra, mientras que el lado superior presenta los electrodos a los que se aplica alta tensión, estando formado cada grupo de electrodos, que pueden ser cargados simultáneamente con alta tensión desde un generador Marx asociado, en este caso, sólo de un único electrodo. La distancia entre dos electrodos puestos a tierra es de 50 cm, igual que la distancia entre electrodos de alta tensión.

En la figura 1 se muestra el esquema de electrodos en el reactor. Todos los puntos representan electrodos puestos a tierra. Los electrodos de alta tensión están señalados como cruces. En su conjunto están dispuestos de forma desplazada y girada con respecto a los electrodos puestos a tierra de tal manera que en una vista en planta resultan dispuestos de forma céntrica. Como mínimo, la hilera central de electrodos puestos a tierra queda recubierta por la banda dieléctrica del transportador de cadena, no mostrado aquí, que pasa por el reactor. Por lo tanto, la banda presenta agujeros en esta zona, de manera que a través de estas perforaciones se genera un campo entre los dos tipos de electrodos, los que están puestos a tierra y los que se pueden cargar de alta tensión, sin que interfiera la constante dieléctrica relativa del material del transportador de cadena.

En este caso se prevén, por ejemplo, 8 generadores Marx, es decir que los grupos de electrodos que pueden ser cargados de alta tensión comprenden un electrodo, respectivamente. Las flechas señaladas en las figuras 1 a 3 entre los dos tipos de electrodos indican la dirección del campo eléctrico que, de forma predominante, es activo localmente. Por la representación de la vista en planta (figura 1), la vista lateral (figura 2) y la vista frontal (figura 3) se aprecia que la mayor parte del espacio interior del reactor está atravesado por líneas de unión que siguen direcciones muy divergentes. Sólo de esta manera se asegura que el material a procesar que pasa a través del mismo, las remolachas más el líquido de transporte, en este caso agua y el material de remolacha son atravesados en todos los puntos del reactor por líneas de campo eléctrico que provienen de diferentes direcciones.

Para el dimensionado de la superficie de los electrodos hay que tener en cuenta que, condicionado por el flujo de corriente a través del agua y la masa frutal, la resistencia electrolítica no sea inferior a la resistencia total según la relación

$$\tau = RC < 1 \mu s$$

ya que, de lo contrario, la longitud del pulso será inferior a $1 \mu s$ y, tal como se ha explicado anteriormente, no sería suficientemente largo para la electroporación. Con una resistencia electrolítica de aproximadamente $1,5 m \Omega/cm$ y una distancia entre electrodos de aproximadamente 20 cm, a título de ejemplo, los electrodos en forma de disco no deben presentar un diámetro superior a aproximadamente 30 mm; de ello resulta una relación de aspecto entre superficie de los electrodos y distancia entre los mismos de aproximadamente $\frac{1}{2}$ cm. Relaciones de aspecto más grandes mejoran ciertamente la homogeneidad de la intensidad de campo, pero también aumentan las pérdidas electrolíticas de forma desproporcionada.

Hay que tener en cuenta que la superficie de los electrodos no se elija demasiado pequeña. En este caso, la franja de las intensidades de campo elevadas se desplazaría del espacio entre los electrodos al entorno directo de los electrodos, lo cual se ha de evitar (véase la figura 5).

Para el dimensionado de la superficie de los electrodos para un reactor, tal como se muestra en las figuras 1 y 2 hay que tener en cuenta que los electrodos de alta tensión tienen varios electrodos puestos a tierra en su proximidad inmediata. Por lo tanto, los electrodos puestos a tierra que se encuentran en su proximidad inmediata deberían tener en su conjunto la misma superficie que el electrodo de alta tensión.

En la figura 5 se muestra, por un lado, la curva de intensidad de campo eléctrico entre un electrodo al que se acaba de aplicar alta tensión y uno cualquiera de los electrodos puestos a tierra. De ello resulta una sobre elevación de la intensidad de campo en la proximidad de los electrodos y una reducción de la intensidad de campo en el espacio entremedio. La distorsión de la intensidad de campo es una función de las superficies de los electrodos. Para superficies muy pequeñas la intensidad de campo en el espacio entremedio baja a casi cero. La misma situación se presenta también, cuando un electrodo pequeño está en oposición a un electrodo en forma de pared, por ejemplo,

cuando la envolvente del reactor es de metal en lugar de un material dieléctrico. Una elevada densidad de líneas de campo sólo se produciría en el entorno inmediato del electrodo pequeño.

- 5 En la figura 5 se muestra de forma cualitativa la curva de intensidad de campo eléctrico entre un electrodo al que se acaba de aplicar alta tensión y uno cualquiera de los electrodos puestos a tierra. De ello resulta una sobreelevación de la intensidad de campo en proximidad de los electrodos y la reducción de la intensidad de campo en el espacio entremedio. La distorsión de la intensidad de campo es una función de las superficies de los electrodos. Para superficies muy pequeñas la intensidad de campo en el espacio entremedio baja a casi cero. La misma situación se
- 10 presenta también, cuando un electrodo pequeño está en oposición a un electrodo en forma de pared, por ejemplo, cuando la envolvente del reactor es de metal en lugar de un material dieléctrico. Una elevada densidad de líneas de campo sólo se produciría en el entorno inmediato del electrodo pequeño. En la figura 5 se muestra adicionalmente también la distribución de la intensidad de campo perpendicularmente con respecto a la disposición de los electrodos, es decir en una dirección que corresponde aproximadamente a la dirección de flujo del reactor. La distribución muestra la expansión de la intensidad de campo en el volumen del reactor y da información sobre las relaciones de campo con
- 15 respecto a un par de electrodos situados en proximidad.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la disgregación y la pasteurización continuas, no térmicas de cantidades industriales de material orgánico a procesar mediante electroporación, en el que el material a procesar es transportado dentro de un líquido de transporte/de proceso y conjuntamente con el mismo a través de un reactor y expuesto dentro del mismo a la acción de campos eléctricos pulsados, **caracterizado porque** entre electrodos puestos a tierra y distribuidos en una zona longitudinal del reactor y grupos de electrodos formados por, como mínimo, un electrodo que pueden ser cargados con alta tensión y están distribuidos en una zona longitudinal opuesta del reactor se generan siempre a modo de pulso, campos eléctricos sólo entre un grupo de electrodos y los electrodos puestos a tierra, porque una fuente de energía eléctrica, que está conectada al correspondiente grupo de electrodos a través de un interruptor asociado, es descargada con los otros grupos de electrodos sin superposición temporal, donde los ejes de campo de un grupo de electrodos a los electrodos puestos a tierra nunca están dispuestos de forma perpendicular con respecto al eje de paso a través del reactor, y el proceso de carga de las fuentes de energía eléctrica entre dos descargas sucesivas inmediatas se ajusta de forma tan elevada que en la zona entre un grupo de electrodos y, como mínimo, los electrodos puestos a tierra situados más próximos, generan una intensidad de campo eléctrico E durante la descarga que, a lo largo del eje longitudinal de las células, el eje principal z, del material a procesar que se encuentra precisamente en este sector del campo se supera la diferencia de potencial umbral

$$\Delta\phi_s = 10 \text{ V}$$

durante como máximo 1 μ s para abrir irreversiblemente la pared celular.

2. Procedimiento, según la reivindicación 1, caracterizado porque el proceso de carga de las fuentes de energía eléctrica entre dos descargas sucesivas se ajusta de forma tan elevada que en la zona entre un grupo de electrodos y, como mínimo, los electrodos puestos a tierra situados más próximos se genera una intensidad de campo eléctrico E durante la descarga que a lo largo del eje longitudinal de las células, el eje principal z, del material a procesar que se encuentra precisamente en este sector del campo se alcanza durante como máximo 1 μ s la diferencia de potencial ϕ

$$\Delta\phi \geq 100 \text{ V.}$$

3. Procedimiento, según la reivindicación 2, **caracterizado porque** el dimensionado de un generador Marx y el grupo de electrodos conectados al mismo a través de un intersticio para chispas se elige de tal manera que la subida de tensión hasta un máximo de tensión de máximo 1 MV dure como máximo 100 nseg.

4. Reactor para la disgregación y la pasteurización continuas, no térmicas de cantidades industriales de un material orgánico a procesar mediante electroporación, en el que el material a procesar está formado por células biológicas de plantas, raíces, bulbos, frutos y material animal, el reactor es un componente en forma de túnel de una línea de transporte de material a procesar, la zona del reactor está inundada por el líquido de transporte/de proceso que fluye a través del mismo y en el que el material a procesar es expuesto a la acción de campos eléctricos pulsados, **caracterizado porque** el reactor tiene una forma de túnel y presenta una sección transversal redonda o poligonal, en este caso como mínimo cuadrangular, y está realizado en un material dieléctrico, porque a lo largo del reactor están incrustados electrodos puestos a tierra en una primera zona longitudinal de la pared del reactor, cuya frente/cabeza está expuesta al espacio interior del reactor, porque a lo largo del reactor están incrustados electrodos que pueden ser cargados con alta tensión en una segunda zona longitudinal de la pared del reactor, cuya frente/cabeza está expuesta al espacio interior del reactor, porque todos los electrodos que pueden ser cargados con alta tensión están reunidos en grupos formados por, como mínimo, un electrodo y que los grupos están dispuestos de tal manera que la distancia de estos grupos entre sí corresponde aproximadamente al diámetro interior d, porque la zona longitudinal con los grupos de electrodos de alta tensión está separada a ambos lados de la zona longitudinal con los electrodos puestos a tierra por sendas zonas longitudinales sin electrodos que presenta a lo largo de la longitud del reactor, como mínimo, una anchura tal que durante el procesamiento entre dos grupos de electrodos distintos no se puede producir una perforación eléctrica, pero sí se puede establecer y mantener una intensidad de campo requerida para la electroporación de ≥ 10 kV/cm, porque la posición de la zona longitudinal con los electrodos puestos a tierra con respecto a la posición de la zona longitudinal dotada de los grupos de electrodos que pueden ser cargados de alta tensión es de tal manera que cualquier unión rectilínea entre un electrodo puesto a tierra y un grupo de electrodos discurre en el espacio interior del reactor y nunca puede estar perpendicular con respecto al eje del flujo a través del reactor.

5. Reactor, según la reivindicación 4, **caracterizado porque** los electrodos que pueden ser cargados de alta tensión están distribuidos en grupos formados por, como mínimo, un electrodo y cada grupo está conectado a través de una línea de alta tensión y un interruptor/intersticio para chispas con su propia fuente de alta tensión/su propio generador Marx.

6. Reactor, según la reivindicación 5, **caracterizado porque** la superficie de cada grupo de electrodos que pueden ser cargados de alta tensión corresponde aproximadamente a la suma de las superficies expuestas de los electrodos puestos a tierra que están más próximos.

7. Reactor, según la reivindicación 6, **caracterizado porque** la relación de aspecto entre la superficie de los electrodos F y la distancia d entre el correspondiente electrodo de alta tensión y los electrodos puestos a tierra situados más próximos tiene un valor no inferior a

5

$$F : d = \frac{1}{2} \text{ cm}$$

y, cuando se tienen en cuenta los segundos electrodos más próximos puestos a tierra, no es sustancialmente inferior a dicho valor.

10

8. Reactor, según la reivindicación 7, **caracterizado porque** los electrodos están distribuidos sobre la correspondiente zona longitudinal, de tal manera que no existe ningún par de electrodos, formado por un electrodo puesto a tierra y uno que puede ser cargado con alta tensión, cuya línea de unión rectilínea discorra perpendicularmente con respecto a la dirección del flujo del material a procesar y perpendicularmente con respecto al eje de transporte en el reactor.

15

9. Reactor, según la reivindicación 8, **caracterizado porque** los grupos de electrodos que pueden ser cargados con alta tensión están distribuidos sobre la zona longitudinal de tal manera que en una proyección perpendicular con respecto al eje de flujo a través del reactor sobre la zona longitudinal con los electrodos puestos a tierra ningún grupo de electrodos llega a recubrir un electrodo puesto a tierra.

20

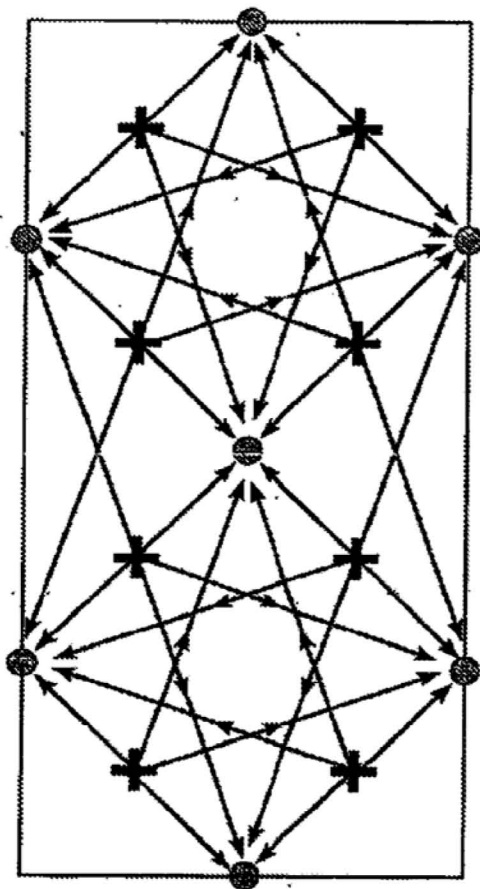


Fig. 1

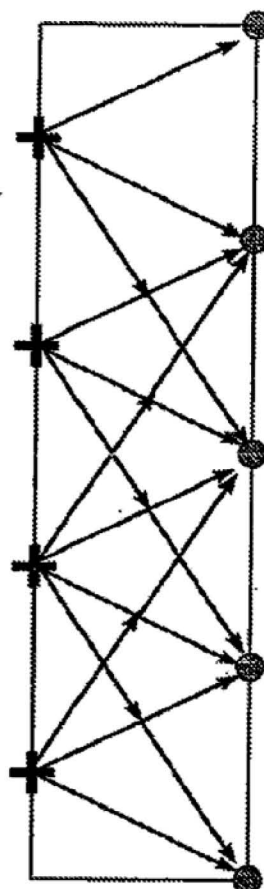


Fig. 2

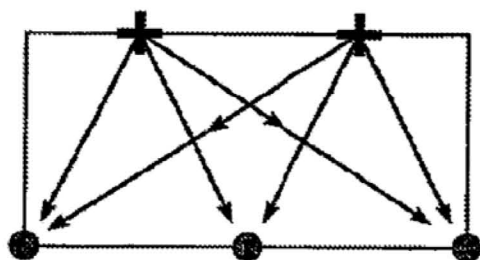


Fig. 3

Ilustración : Reactor con electrodos positivos (+) y puestos a tierra (-), dotado de líneas de unión que muestran a groso modo una orientación espacial del campo eléctrico. Arriba a la izquierda vista en planta, arriba a la derecha vista lateral y abajo sección transversal del reactor.

Fig. 4

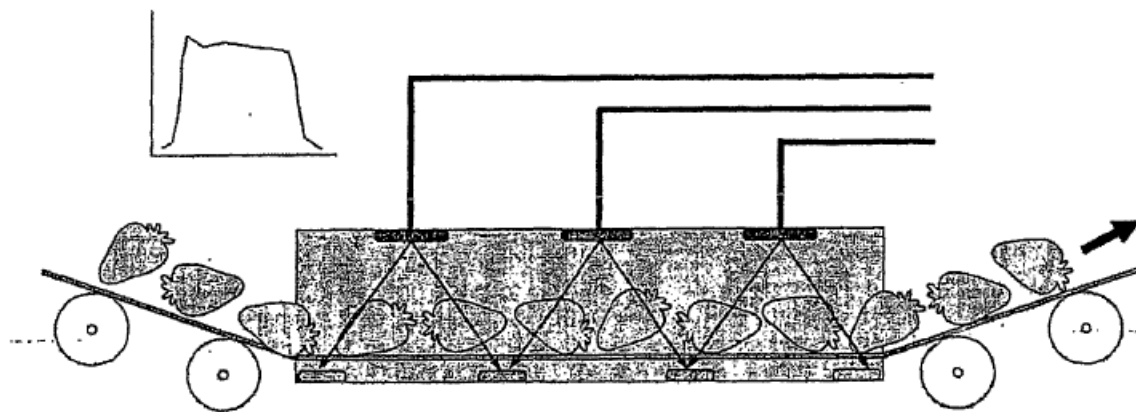


Fig. 5

Intensidad de campo

(E)

