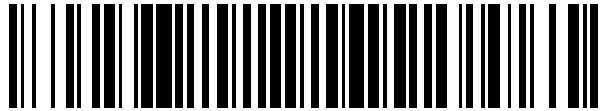


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 453 140**

51 Int. Cl.:

C12M 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2010 E 10739641 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2013 EP 2462218**

54 Título: **Biorreactor a base de materiales de silicona**

30 Prioridad:

07.08.2009 DE 102009028339

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

04.04.2014

73 Titular/es:

**WACKER CHEMIE AG (100.0%)
Hanns-Seidel-Platz 4
81737 München, DE**

72 Inventor/es:

**MÜLLER-REES, CHRISTOPH y
PFALLER, RUPERT**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 453 140 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

Biorreactor a base de materiales de silicona

- 5 La invención se refiere a un biorreactor que está equipado con siliconas, a un procedimiento para la fabricación de biorreactores, así como al uso de siliconas para la fabricación de biorreactores.

10 Los biorreactores se emplean para la producción a gran escala de organismos fotótrofos, p. ej. cianobacterias o microalgas, por ejemplo Spirulina, Chlorella, Clamydomonas o Haematococcus. Microalgas de este tipo están en condiciones de transformar, con la ayuda de la energía luminosa, CO₂ y agua en biomasa. Fotobiorreactores de la primera generación aprovechan la luz solar como fuente de luz. Los reactores se componen de grandes instalaciones de depósito abiertas de una configuración múltiple, por ejemplo, instalaciones de depósitos redondos con diámetros de hasta 45 m y brazos mezcladores circulantes. Estos reactores están hechos, por lo general, de hormigón o materiales sintéticos. Los biorreactores cerrados se emplean asimismo en múltiples formas. En el caso de los biorreactores cerrados puede tratarse de biorreactores de placas, biorreactores de tubos, biorreactores de columnas (de burbujas) o biorreactores de mangueras. Este tipo de reactor se hace de materiales transparentes o translúcidos tales como vidrio o material sintético.

20 Las condiciones de cultivo de microorganismos fotótrofos que se crean en reactores cerrados no se pueden hasta la fecha mantener constantes a lo largo de un espacio de tiempo prolongado, dado que los microorganismos fotótrofos que se forman en la fase de cultivo se depositan en las paredes del reactor, lo cual conduce a oscilaciones de la cantidad de luz incorporada en el medio de cultivo, así como a una mezclado a fondo inconstante del medio de cultivo. Los depósitos de algas son provocados a menudo mediante condiciones de estrés durante el cultivo, cuyas causas pueden ser condiciones incontroladas de crecimiento (p. ej. luz, temperatura, en el caso de reactores en forma de estanque abierto, así como de reactores cerrados) de los microorganismos o la inducción de la producción de sustancias valiosas por parte de los organismos fotótrofos (p. ej. astaxantina, beta-caroteno).

30 El documento WO 2007/129327 A1 se refiere a un fotobiorreactor para el cultivo de biomasa que está constituido por tubos transparentes y enrollados helicoidalmente. Como material del tubo se aconseja por lo general silicona, no ocupándose de la problemática de desarrollo. En el documento WO 2008/145719 se describe la iluminación de foto-reactores con piezas moldeadas de material sintético con LED. Como materiales del reactor se citan acero, material sintético y material cerámico. El elemento de iluminación es preferiblemente una pieza moldeada de silicio con LED. El documento WO 2004/108881 A2 incluye una disposición de biorreactor a base de recipiente y fuente de luz, indicándose como materiales para el recipiente todos los materiales sintéticos posibles, entre otros, siliconas no especificadas con mayor detalle. El documento WO 2009/037683 A1 describe un biorreactor en forma de piletta, con una cubierta en forma de paraguas, a base de materiales permeables a la luz y no especificados con mayor detalle. Para la aportación de dióxido de carbono, se emplean mangueras permeables a los gases, preferiblemente de silicona. El documento GB 2118572 A describe un fotobiorreactor con tubos de vidrio, que están unidos con piezas de unión en forma de U a base de silicona. En el documento DE 10 2005 025 118 A1 se describe un fotobiorreactor hecho de tubos de vidrio, eliminándose mediante ultrasonidos los microorganismos que se han depositado en las superficies. En el documento US 2003/0073231 A1 se describe un fotobiorreactor hecho de materiales termoplásticos tales como poli(cloruro de vinilo) o polietileno. Objeto del documento US 45 2007/0048848 A1 es un fotobiorreactor asimismo hecho de materiales termoplásticos. En ambos casos, los depósitos de microorganismos en las paredes de los reactores se eliminan por medios mecánicos, por ejemplo cepillos. En este caso, se trata en todos los casos de procedimientos relativamente complejos que no pueden ser aumentados en escala de forma arbitraria. En el documento DE 44 16 069 A1 se aconseja proveer a fibras fotoconductoras, que se emplean para la iluminación de biorreactores, de una superficie lisa. El documento US 50 2008/0311649 A1 propone aumentar en biorreactores de tubos la velocidad de flujo del medio con contenido en algas, con el fin de evitar la deposición de las algas. En este caso, es desventajoso el que los parámetros de cultivo en relación con la velocidad de flujo ya no puedan ser ajustados de manera independiente.

55 Ante estos antecedentes, existía la misión de mejorar biorreactores para el cultivo de microorganismos en el sentido de que se impida ampliamente el desarrollo de microorganismos en las partes del reactor que entran en contacto con el medio de cultivo, y que se pueda eliminar sin gran complejidad un desarrollo que eventualmente se manifieste. La solución no debería influir negativamente sobre la calidad del producto, debería ser susceptible de ser aumentada en escala y debería poder ser empleado universalmente independientemente de los parámetros del proceso necesarios para el cultivo.

Objeto de la invención es un biorreactor para el cultivo de organismos fotótrofos en un medio de cultivo acuoso, cuyas paredes del reactor que entran en contacto con el medio de cultivo están hechas, en su totalidad o en parte, de materiales de silicona, caracterizado por que los materiales de silicona están hechos de siliconas reticuladas por adición, y la superficie de los materiales de silicona presenta un ángulo de contacto con el agua de al menos 100°.

Para el cultivo, organismos adecuados son, en particular, macroorganismos o microorganismos fotótrofos. En calidad de organismos fotótrofos se designan en este caso aquellos que para su desarrollo requieren luz y dióxido de carbono o, eventualmente, además otra fuente de carbono. Ejemplos de macroorganismos fotótrofos son macroalgas, plantas, musgos, cultivos de células vegetales. Ejemplos de microorganismos fotótrofos son bacterias fotótrofas tales como bacterias púrpuras, microalgas fotótrofas, incluidas cianobacterias. Preferiblemente, el biorreactor sirve para el cultivo de microorganismos fotótrofos, de manera particularmente preferida para el cultivo de microalgas fotótrofas.

En el caso del biorreactor se puede tratar de un reactor cerrado o de un reactor abierto, en cada caso con una configuración arbitraria. En el caso de los reactores abiertos pueden emplearse, por ejemplo, piletas o los denominados "estanques abiertos" o "estanques de tipo circuito". En calidad de biorreactores se prefieren reactores cerrados. En el caso de los biorreactores cerrados se puede tratar, por ejemplo, de biorreactores de placas, biorreactores de tubos, biorreactores de columnas (de burbujas) o biorreactores de mangueras. Los biorreactores de placas se componen de placas rectangulares, dispuestas en posición vertical o inclinada, estando reunida una pluralidad de placas para formar un sistema de reactor mayor. Los biorreactores de tubos se componen de un sistema de tubos que puede estar dispuesto en posición vertical u horizontal o en ángulos arbitrarios entremedias, pudiendo ser el sistema de tubos muy largo, preferiblemente de hasta varios cientos de kilómetros. El medio de cultivo es transportado en este caso a través del sistema de tubos, preferiblemente por medio de bombas o del principio de "Airlift". El bio-reactor de columnas se compone de un recipiente cilíndrico cerrado que está cargado con el medio de cultivo. En el caso de biorreactores de este tipo se introduce dióxido de carbono, procurando la columna de burbujas ascendente la mezcladura a fondo del medio de cultivo. En el caso de reactores de mangueras se trata de un sistema de reactores que se compone de una única manguera de longitud arbitraria o de una pluralidad de mangueras de longitud arbitraria, preferiblemente mangueras de hasta varios metros de longitud.

Los biorreactores están hechos preferiblemente de materiales de silicona transparentes o translúcidos, reticulados por adición. Por materiales de silicona transparentes se entienden aquellos que dejan pasar al menos el 80% la luz en el intervalo del espectro de 400 nm a 1000 nm. Por materiales de silicona translúcidos se entienden aquellos que dejan pasar al menos el 50% de la luz en el intervalo del espectro de 400 nm a 1000 nm. Por piezas del reactor se entienden las paredes del reactor, incluidos el fondo del reactor y la cubierta del reactor, así como elementos estructurales en el medio de cultivo tales como, p. ej., interruptores del flujo. A las paredes del reactor corresponden, en el caso de reactores de tubos, placas y mangueras, los tubos, placas y mangueras. Las paredes del reactor están hechas, en su totalidad o en parte, de siliconas. En el caso de reactores de tubos o reactores de placas, los tubos o las placas están hechos de siliconas reticuladas por adición. En el caso de reactores de columnas, los recipientes cilíndricos están hechos de siliconas reticuladas por adición.

Siliconas adecuadas para la fabricación de biorreactores son siliconas reticuladas por adición, pudiéndose iniciar la reticulación por adición por vía térmica o mediante irradiación. Siliconas reticuladas con peróxidos tienen el inconveniente de que estas siliconas presentan en estado reticulado una mayor pegajosidad que las siliconas reticuladas por adición.

Sistemas de caucho de silicona reticulados por adición contienen

- a) compuestos orgánicos de silicio que presentan restos con enlaces múltiples carbono-carbono alifáticos,
- b) eventualmente compuestos orgánicos de silicio con átomos de hidrógeno unidos a Si, o en lugar de a) y b),
- c) compuestos orgánicos de silicio que presentan restos con enlaces múltiples carbono-carbono alifáticos y átomos de hidrógeno unidos a Si,
- d) la reacción por adición de hidrógeno unido a Si a catalizadores que fomentan el enlace múltiple alifático y
- e) eventualmente la reacción por adición de hidrógeno unido a Si a agentes que retardan el enlace múltiple alifático a la temperatura ambiente.

Adecuados cauchos de silicona que se reticulan mediante reacción por adición son cauchos de silicona sólidos que se reticulan con el aumento de la temperatura (HTV).

Cauchos de silicona HTV reticulados por adición se obtienen mediante la reticulación de organopolisiloxanos varias

veces sustituidos con grupos etilénicamente insaturados, preferiblemente grupos vinilo, con organopolisiloxanos varias veces sustituidos con grupos Si-H en presencia de catalizadores de platino.

5 Preferiblemente, uno de los componentes de los cauchos de silicona HTV-2 que se reticulan por adición se compone de dialquilpolisiloxanos de la estructura $R_3SiO[-SiR_2O]_n-SiR_3$ con $n \geq 0$, en general con 1 a 4 átomos de C en el radical alquilo R, pudiendo estar los radicales alquilo reemplazados en su totalidad o en parte por radicales arilo tal como el radical fenilo, y en uno o en los dos extremos de uno de los radicales R en posición terminal está reemplazado por un grupo polimerizable tal como el grupo vinilo. Sin embargo, también se pueden utilizar polímeros con grupos vinilo en posición lateral o bien con grupos vinilo en posición lateral y extrema. Se prefieren polidimetilsiloxanos bloqueados en el extremo con vinilo de la estructura $CH_2=CH_2-R_2SiO[-SiR_2O]_n-SiR_2-CH_2=CH_2$, así como polidimetilsiloxanos bloqueados en el extremo con vinilo de la citada estructura que portan, además, grupos vinilo en posición lateral. En el caso de cauchos de silicona HTV que se reticulan por adición, el segundo componente es un copolímero a base de dialquilpolisiloxanos y polialquilhidrogenosiloxanos con la fórmula general $R'_3SiO[-SiR_2O]_n-[SiHRO]_m-SiR'_3$ con $m \geq 0$, $n \geq 0$ y R con el significado arriba indicado, y con la condición de que al menos deban estar contenidos dos grupos SiH, en donde R' puede tener el significado de H o R. Según ello, existen reticulantes con grupos SiH en posición lateral y en posición extrema, mientras que siloxanos con R' = H, que sólo poseen grupos SiH en posición terminal, pueden ser utilizados también todavía para la prolongación de la cadena. En calidad de catalizadores de reticulación pasan a emplearse catalizadores de platino. Los cauchos de silicona HTV se elaboran también como un sistema monocomponente.

20 Materiales adecuados son también materiales híbridos de silicona reticulados tal como se describen en el documento WO 2006/058656, cuyos datos respectivos son parte de esta solicitud (incorporados como referencia).

25 Una perspectiva detallada sobre siliconas, su química, formulación y propiedades de aplicación se encuentra, por ejemplo, en Winnacker/Küchler, "Chemische Technik: Prozesse und Produkte, tomo 5: Organische Zwischenverbindungen, Polymere", páginas 1095-1213, Wiley-VCH Weinheim (2005).

30 Esencial para la inhibición o bien impedimento del desarrollo con microorganismos es la morfología de la superficie de piezas moldeadas de silicona. La morfología de la superficie se determina a través del ángulo de contacto de esta superficie con el agua. El ángulo de contacto de acuerdo con la invención se ajusta mediante la elección de acuerdo con la invención de los materiales de silicona. Preferiblemente se renuncia a medidas adicionales para aumentar el ángulo de contacto, por ejemplo asperización de la superficie (p. ej. imitación del denominado efecto Lotus). Una asperización de este tipo puede perturbar, a saber, el cultivo de microorganismos fotótrofos. Se prefieren superficies con ángulos de contacto entre 100° y 120° , de manera particularmente preferida superficies con ángulos de contacto entre 100° y 115° , y de manera muy especialmente preferida superficies con ángulos de contacto entre 100° y 113° . La determinación del ángulo de contacto de la superficie de las piezas moldeadas de silicona al agua puede tener lugar mediante métodos conocidos por el experto en la materia, por ejemplo conforme a la norma DIN 55660-2, bajo el empleo de aparatos de medición adquiribles en el comercio para la determinación del ángulo de contacto, por ejemplo los sistemas de medición del ángulo de contacto adquiribles de la razón social Krüss.

45 Eventualmente, las siliconas reticuladas por adición pueden contener aditivos habituales para la inducción de la adherencia o materiales de carga habituales o materiales de fibras para mejorar la mecánica. Estos aditivos se emplean preferiblemente como máximo en cantidades tales que se mantenga transparente o translúcida la pieza moldeada de silicona. También pueden añadirse aditivos conductores de la luz y aditivos desplazadores de la onda luminosa.

50 Las piezas del reactor que entran en contacto con el medio de cultivo, en particular las paredes del reactor, se hacen, al menos en parte, preferiblemente en su totalidad, de las siliconas reticuladas por adición mencionadas. La producción puede tener lugar con las tecnologías establecidas del tratamiento de materiales sintéticos que se emplean para la producción de cuerpos moldeados tales como placas, mangueras, tubos o recipientes de una configuración arbitraria. Por ejemplo, mediante extrusión para la fabricación de placas, tubos, mangueras, o colada por inyección.

55 También se pueden producir estratificados que se componen de una unión a base de pieza moldeada de silicona reticulada por adición y pieza moldeada de vidrio o material sintético, es decir, un estratificado con materiales que, hasta la fecha, han sido empleados para la producción de biorreactores. Ejemplos de materiales habituales para biorreactores son vidrio o materiales sintéticos tales como poli(metacrilato de metilo) (Plexiglas), poliésteres tales como PET, policarbonato, poliamida, poliestireno, polietileno, polipropileno, poli(cloruro de vinilo). Con

estratificados de este tipo se pueden fabricar biorreactores cuya cara interna, es decir la cara orientada al medio de cultivo, se componga de silicona reticulada por adición.

5 Los biorreactores están equipados con estructuras internas del reactor. Por ejemplo, para la carga y el abastecimiento de sustancias nutricias, con tuberías de alimentación y para la separación del producto y el vaciado, con tuberías de extracción (p. ej. para disoluciones salinas y de alimentación). Para la refrigeración y el caldeo, los biorreactores pueden estar equipados, eventualmente, con dispositivos calefactores/de refrigeración tales como intercambiadores de calor. Además de ello, los biorreactores pueden contener todavía dispositivos agitadores y bombas para la mezclado a fondo. Con frecuencia, los biorreactores están equipados además con
10 dispositivos para la iluminación artificial. Otros ejemplos de dispositivos del reactor son aparatos de medición y control para la vigilancia del funcionamiento (p. ej. análisis de pH, O₂, CO₂, potencia conductora de iones, intensidad de la luz). En una forma de realización preferida, las estructuras internas del reactor están revestidas, en su totalidad o en parte, además con silicona.

15 Los fotobiorreactores producidos a partir de piezas moldeadas de silicona reticuladas por adición, con superficies con un ángulo de contacto con el agua con valores de al menos 100°, minimizan la deposición de los organismos fotótrofos que se forman, de modo que las condiciones de flujo del medio de cultivo se mantienen constantes y la cantidad de incorporación ideal de luz para el crecimiento se mantiene ajustada al óptimo de crecimiento. La naturaleza de la superficie de las piezas moldeadas de silicona de acuerdo con la invención, con un ángulo de
20 contacto con el agua de al menos 100°, reduce, por una parte, la acumulación de agua sobre la superficie de silicona, por otra parte se mantienen alejadas de la superficie también sustancias disueltas en el agua que, p. ej., se forman mediante situaciones de estrés durante el cultivo de algas.

Además, se obtiene una minimización del trabajo de limpieza entre los distintos ciclos de cultivo, así como en el
25 caso de un cambio de los organismos fotótrofos a cultivar. Eventualmente, los organismos que se adhieren a las superficies pueden ser retirados ente los ciclos de cultivo mediante pulverización con agentes de limpieza, p. ej. agua, etanol, H₂O₂, sin un trabajo mecánico adicional. Esto conduce a esenciales ventajas económicas en virtud de tiempos de parada más cortos y de un menor trabajo de limpieza. Otra ventaja es la elevada estabilidad UV de siliconas reticuladas por adición con la estructura de superficie de acuerdo con la invención que, en particular en el
30 sector de exteriores, aumenta claramente los tiempos de parada de biorreactores a base de materiales de silicona reticulados por adición con la estructura superficial de acuerdo con la invención, con respecto a biorreactores producidos a partir de materiales sintéticos habituales.

REIVINDICACIONES

- 5 1.- Biorreactor para el cultivo de organismos fotótrofos en un medio de cultivo acuoso, cuyas paredes del reactor que entran en contacto con el medio de cultivo están hechas, en su totalidad o en parte, de materiales de silicona, caracterizado por que los materiales de silicona están hechos de siliconas reticuladas por adición, y la superficie de los materiales de silicona presenta un ángulo de contacto con el agua de al menos 100°.
- 2.- Biorreactor según la reivindicación 1, caracterizado por que el biorreactor es un reactor cerrado.
- 10 3.- Biorreactor según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado por que el biorreactor es un biorreactor de placas, biorreactor de tubos, biorreactor de columna (de burbujas) o biorreactor de mangueras.
- 15 4.- Biorreactor según las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que las paredes del reactor están hechas de una o varias siliconas del grupo que contiene siliconas reticuladas por adición (cauchos de silicona), así como polímeros híbridos de silicona reticulados por adición.
- 20 5.- Biorreactor según las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que las paredes del reactor están hechas de una o varias siliconas del grupo que contiene cauchos de silicona HTV reticulados por adición, así como polímeros híbridos de silicona reticulados por adición.
- 6.- Procedimiento para la producción de biorreactores, estando hechas las paredes del reactor que entran en contacto con el medio de cultivo, en su totalidad o en parte, de materiales de silicona reticulados por adición, cuyas superficies presentan un ángulo de contacto con el agua de al menos 100°.
- 25 7.- Procedimiento para la producción de biorreactores, en el que las paredes del reactor a base de siliconas reticuladas por adición están hechas mediante extrusión, colada por inyección o laminación.
- 8.- Uso de piezas moldeadas de silicona reticuladas por adición, cuya superficie presenta un ángulo de contacto con el agua de al menos 100°, para la fabricación de paredes del reactor para biorreactores.