

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 626 963**

51 Int. Cl.:

**C12M 1/04** (2006.01)

**C12M 1/06** (2006.01)

**C12M 1/26** (2006.01)

**C12N 1/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.07.2014** **E 14178628 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.03.2017** **EP 2977439**

54 Título: **Método y aparato para la disrupción de células de biomasa**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**26.07.2017**

73 Titular/es:

**VITO NV (VLAAMSE INSTELLING VOOR  
TECHNOLOGISCH ONDERZOEK NV) (100.0%)  
Boeretang 200  
2400 Mol, BE**

72 Inventor/es:

**D'HONDT, ELS;  
ELST, KATHY;  
GÜNERKEN, EMRE;  
GARCIA-GONZALEZ, LINSEY;  
WIJFFELS, RENÉ H y  
EPPINK, MICHEL H. M.**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 626 963 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**

Método y aparato para la disrupción de células de biomasa

**5 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un método para someter material de biomasa suspendido a disrupción, a un aparato relacionado (y una pila de sistemas (paralelos)) y el uso de los mismos.

10 La presente invención también se refiere a un método para solubilizar sustancias celulares (valiosas) (a partir de material de biomasa sometido a disrupción), a un aparato relacionado (y una pila de sistemas (paralelos)) y al uso de los mismos.

15 La presente invención permite una extracción selectiva (o separación) posterior de las sustancias celulares obtenidas (a partir del material de biomasa sometido a disrupción).

**Antecedentes de la invención**

20 Para explotar una gama de productos biológicos a partir de fuentes biológicas (incluyendo bacterias, levadura, algas, tejidos vegetales y animales), la liberación de productos intracelulares es de suma importancia cuando estos productos no se secretan a los medios de suspensión por parte del constructo microbiano. La pared celular proporciona solidez estructural y es normalmente la resistencia clave para la liberación del producto. La membrana celular, a su vez, experimenta fácilmente disrupción en ausencia de la pared celular.

25 En la técnica, ya están disponibles una variedad de técnicas de disrupción para la liberación de productos intracelulares.

30 Métodos de disrupción celular mecánica conocidos son, por ejemplo, molienda en molino de bolas, molienda en molino de perlas, homogeneización a alta presión, homogeneización a alta velocidad, prensado de una muestra a alta presión a través de una abertura estrecha o un método aplicado por medio de un homogeneizador ultrasónico.

35 Un inconveniente principal de estos métodos mecánicos es las fuerzas de cizalladura que actúan sobre las células debido a la fricción que, cuando intentan superarse a altas velocidades, conducen a la formación de calor y en consecuencia generan una alta temperatura. Además de la alta temperatura, los métodos de disrupción celular cavitacionales (tal como homogeneización a alta velocidad, homogeneización a alta presión y homogeneizador ultrasónico) provocan diferentes de presión extremas. Éstas pueden conllevar un impacto perjudicial sobre los constituyentes de los extractos celulares que se desarrollan.

40 Un método más moderado se proporciona, por ejemplo, por una descompresión física de las células, conocido en la técnica como método de descompresión explosiva (convencional). Según la ley de Henry, el gas en las células está enriquecido a presiones de gas superiores y por tanto se provoca que las membranas celulares estallen debido a un alivio brusco de la presión. Esto se produce porque el gas disuelto no puede escapar de manera suficientemente rápida y burbujea dentro de las células en forma de burbujas de gas crecientes. Como resultado, la carga mecánica que actúa sobre la célula aumenta hasta que la célula estalla y se libera el contenido de la célula.

45 Sin embargo, un inconveniente del método de descompresión explosiva convencional radica en que sólo las células que pueden romperse de manera relativamente fácil pueden someterse a disrupción de manera eficaz, lo que requiere una aplicación adicional de procesos de disrupción no mecánicos, como el uso de enzimas. Esto convierte a su vez un proceso de disrupción de este tipo en no rentable para aplicaciones a gran escala.

50 Los métodos mecánicos han encontrado una mayor aplicación comercial en comparación con los métodos no mecánicos, porque estos últimos implican limitaciones operativas y económicas en la escala de proceso. Sin embargo, las desventajas del uso de métodos mecánicos incluyen una liberación no selectiva del producto y la micronización de los residuos celulares, lo que complica el proceso posterior adicional.

55 Es importante integrar adicionalmente la disrupción celular con la formación y recuperación (extracción) de los productos intracelulares.

60 En la técnica se conoce que la extracción de productos intracelulares se lleva a cabo, por ejemplo, por medio de fluidos supercríticos. Este término se refiere a gases o líquidos que están por encima de su temperatura crítica y presión crítica, que se definen en el diagrama de fases relevante de una sustancia pura. El beneficio radica en una solubilidad aumentada para sustancias difícilmente solubles en el intervalo supercrítico. Además, la solubilidad todavía puede controlarse por medio de alteraciones en la presión o la temperatura. Sin embargo, la solubilidad de la forma supercrítica de una sustancia en agua es generalmente menor que la solubilidad de las mismas sustancias en forma líquida. Por tanto, habitualmente se usa biomasa totalmente secada en métodos de extracción supercrítica conocidos en la técnica.

Un ejemplo viene dado por la descafeinización de una planta de té por medio de CO<sub>2</sub> supercrítico, tal como se describe en el documento WO 2008/05537 A1. Otras aplicaciones en la industria química y en la industria alimentaria también han pasado a ser métodos ampliamente establecidos, por ejemplo la extracción de aceites, jengibre, pimienta negra o polvo de chile por medio de CO<sub>2</sub> supercrítico o propano supercrítico.

La patente estadounidense n.º 5.306.637 describe un método para la disrupción celular, en el que una disrupción enzimática se combina con un alivio brusco de presión posterior, provocando que las células estallen y liberando de manera eficaz la sustancia valiosa contenida en las mismas. La patente estadounidense n.º 5.306.637 usa dióxido de carbono supercrítico o casi supercrítico, al que se le añaden opcionalmente agentes de arrastre, para la disrupción de células microbianas y para la extracción de los componentes intracelulares, tales como proteínas o ácidos nucleicos. Sin embargo, en este caso, la recuperación de las mezclas de gas usadas es extremadamente problemática y, por tanto, este proceso no se aplica a escala industrial.

El documento US 2011/0183403 describe un método para la disrupción celular de materiales de partida suspendidos biogénicos por medio de una combinación de presurización, atomización y descompresión que incluye una extracción selectiva y separación posteriores de sustancias celulares valiosas. Mediante este método, se consigue que la disrupción celular del material de partida suspendido biogénico y la disolución de las sustancias celulares valiosas se realicen simultáneamente.

El documento WO 2004/108260 describe un aparato y un método para aislar un producto biológico, tal como ADN de plásmido, a partir de células. El método implica lisar células de una manera controlada, separar los componentes insolubles de un lisado fluido que contiene componentes celulares de interés, seguido de técnicas cromatográficas de membrana para purificar los componentes celulares de interés. El proceso utiliza un único aparato de lisis, intercambio iónico y, opcionalmente, membranas de cromatografía de interacción hidrófoba en forma de cartucho y ultrafiltración. El proceso puede aplicarse a cualquier producto biológico extraído de una fuente celular. El proceso usa un aparato de lisis, que incluye una mezcladora de alta cizalladura, de bajo tiempo de residencia, para mezclar ventajosamente una suspensión celular con una disolución de lisis, durante un tiempo de retención que desnaturaliza las impurezas, y una mezcladora de burbujas por dispersión de aire que mezcla de manera suave aunque meticulosa células lisadas con un tampón de neutralización/precipitación y hace flotar el material celular precipitado compactado.

El documento WO 91/01367 describe la disrupción con fluido supercrítico o casi crítico de células microbianas y la extracción de componentes intracelulares y aparatos asociados con la misma. En primer lugar, se selecciona un disolvente que es un gas en condiciones ambientales y que tiene una temperatura crítica de entre 0 y 100°C. Este disolvente se lleva hasta una presión casi crítica o superior y hasta una temperatura casi crítica. El disolvente se combina entonces con una suspensión espesa de células para saturar las células con el disolvente en las condiciones recomendadas. A continuación, se relaja la presión para provocar una caída de presión que da como resultado una disrupción parcial de la membrana celular y la liberación de disolvente y otros materiales desde la célula. Se proporcionan un aparato novedoso y métodos asociados para llevar a cabo el proceso anterior de manera continua.

### **Objetivos de la invención**

Aspectos de la presente invención pretenden proporcionar un método mejorado para someter material de biomasa suspendido a disrupción y un aparato relacionado (y una pila de sistemas (paralelos)), que superen las desventajas de los métodos y aparatos de la técnica anterior.

Más particularmente, está previsto proporcionar un método y un aparato relacionado (y una pila de sistemas (paralelos)) para una disrupción física (no mecánica), suave, de material de biomasa suspendido.

Por tanto, aspectos de la presente invención pretenden proporcionar un método y un aparato relacionado (y una pila de sistemas (paralelos)) de este tipo, que permitan obtener (o producir) sustancias celulares (valiosas) a partir de material de biomasa suspendido, con un alto rendimiento (en comparación con los métodos y aparatos de la técnica anterior).

Aspectos de la presente invención pretenden proporcionar un método para someter material de biomasa suspendido a disrupción y un aparato relacionado (y una pila de sistemas (paralelos)) de este tipo, que permitan la integración con una solubilización y/o extracción selectiva o separación posteriores de las sustancias celulares (valiosas) obtenidas.

Más particularmente, está previsto proporcionar una solubilización posterior de sustancias celulares a partir de material de biomasa suspendido y una minimización de la carga contaminante afinando la proporción de extracción del compuesto bioquímico o producto preferido. Tras la solubilización, también está prevista una extracción selectiva o separación posteriores de las sustancias celulares obtenidas.

Aspectos de la presente invención pretenden proporcionar un método (y un aparato relacionado y una pila de sistemas (paralelos)) de este tipo para someter material de biomasa suspendido a disrupción con (opcionalmente) una solubilización y/o extracción selectiva o separación posteriores de las sustancias celulares obtenidas, que permitan reducir los gastos operativos totales (OPEX) (o el coste total) (en comparación con los métodos y aparatos de la técnica anterior) y que pueda aplicarse a escala industrial.

### Sumario de la invención

Por tanto, según aspectos de la invención, se proporciona un método para someter material de biomasa suspendido a disrupción, tal como se expone en las reivindicaciones adjuntas.

Según otros aspectos de la invención, se proporciona un aparato para someter material de biomasa suspendido a disrupción, tal como se expone en las reivindicaciones adjuntas.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona una pila de sistemas (paralelos) para someter material de biomasa suspendido a disrupción, basándose en el aparato de la presente invención.

Según otros aspectos de la invención, se proporciona el uso del aparato de la invención, tal como se expone en las reivindicaciones adjuntas.

Aspectos ventajosos de la presente invención se exponen en las reivindicaciones dependientes.

### Breve descripción de los dibujos

Se describirán más detalladamente aspectos de la invención con referencia a los dibujos adjuntos, en los que los mismos números de referencia ilustran las mismas características. En los dibujos no se muestran todas las alternativas y opciones, y por tanto la invención no está limitada al contenido los dibujos proporcionados.

La figura 1a representa esquemáticamente un aparato según un aspecto de la presente invención, para someter material de biomasa suspendido a disrupción y, opcionalmente, solubilizar las sustancias celulares (valiosas).

La figura 1b representa esquemáticamente un aparato según un aspecto de la presente invención, para someter material de biomasa suspendido a disrupción y, opcionalmente, solubilizar las sustancias celulares (valiosas), comprendiendo además dicho aparato un sistema de oscilación de presión (9).

La figura 2 representa esquemáticamente un sistema de dispersión (7) usado en el aparato de las figuras 1a y 1b.

La figura 3 ilustra la comparación de las proporciones de solubilización (%) de diferentes composiciones bioquímicas, para suspensiones no tratadas y tratadas de biomasa usando métodos conocidos en la técnica y según la presente invención.

La figura 4 representa el consumo de energía (en kWh/kg de biomasa seca) frente a la proporción de CO<sub>2</sub>/suspensión de material de biomasa usando el método de disrupción según la invención.

### Descripción de la invención

Según un aspecto de la invención, se proporciona un aparato para someter material de biomasa suspendido a disrupción.

En el contexto de la presente invención, disrupción de material de biomasa (suspendido, tratado) se refiere a la disrupción de células de biomasa. En la presente descripción, esto también se denomina disrupción celular. Más particularmente, durante dicha disrupción las membranas celulares así como las estructuras membranosas intracelulares se someten a disrupción. Estructuras de membrana intracelulares son, por ejemplo, membranas tilacoidales o membranas de retículo endoplásmico.

Tal como se ilustra esquemáticamente en la figura 1a, un aparato según la presente invención comprende (o consiste en) al menos un primer recipiente (1) para contener (o proporcionar) una suspensión (no tratada) de material de biomasa conectado a al menos una primera bomba de alta presión (10) mediante al menos un tubo (3), estando dicha primera bomba de alta presión (10) adaptada para presurizar la suspensión de material de biomasa procedente de dicho primer recipiente (1); al menos un segundo recipiente (2) para contener (o proporcionar) un agente de disrupción gaseoso presurizado y/o agente de disrupción líquido presurizado conectado a al menos una segunda bomba de alta presión (20) mediante al menos un tubo (4), estando dicha segunda bomba de alta presión (20) adaptada para presurizar (adicionalmente) el agente de disrupción gaseoso y/o líquido procedente de dicho segundo recipiente (2); en el que cada una de dicha primera y segunda bomba de alta presión (10, 20) está conectada mediante al menos un tubo (5, 6) a al menos un sistema de dispersión (7), estando dicho sistema de dispersión (7) adaptado para inyectar una primera corriente (proporcionada a través de dicho al menos un tubo (6))

de agente de disrupción presurizado en una segunda corriente (proporcionada a través de dicho al menos un tubo (5)) de una suspensión presurizada de material de biomasa y para formar una microemulsión, en el que dicho sistema de dispersión (7) está conectado además a un sistema de tubos (8) para mezclar dichas corrientes primera y segunda, comprendiendo dicho sistema de tubos (8) un (al menos un) tubo primario (15) y (un) al menos un sistema de agitación hidrodinámico (11), y estando dicho sistema de tubos (8) conectado además a una válvula de alivio (13).

En la presente descripción, un agente de disrupción (o disruptivo) se refiere a un compuesto químico usado para someter células de biomasa a disrupción.

En la presente invención, el agente de disrupción gaseoso y/o líquido procedente de dicho segundo recipiente (2) sólo está presente en fase líquida (o estado líquido) tras haber pasado por la segunda bomba de alta presión (20), es decir la presión aplicada por la segunda bomba de alta presión (20) es tal que ya no hay agente de disrupción gaseoso presente en el sistema tras haber pasado por la segunda bomba de alta presión (20)). Por tanto, dicha primera corriente de agente de disrupción presurizado sólo está presente en fase líquida (o estado líquido, es decir está licuada).

En la presente invención, los agentes de disrupción proporcionados en el segundo recipiente (2) y las temperaturas y las presiones aplicadas son tales que no puede haber fluidos supercríticos presentes en el sistema hasta y/o después de la válvula de alivio (13). Opcionalmente, en la invención, la temperatura de la micro- y/o nanoemulsión obtenida sólo aumenta hasta el punto subcrítico o crítico del agente de disrupción, mientras se transfiere la corriente de proceso que sale de la válvula de alivio (13) a un tercer recipiente (35) a presión reducida o atmosférica para solubilizar (posteriormente) las sustancias celulares (valiosas) (o extractos celulares) (a partir del material de biomasa sometido a disrupción).

Ventajosamente, la presión reducida está comprendida entre (aproximadamente) presión atmosférica y la presión (en el sistema) entre el sistema de agitación hidrodinámico (11) y la válvula de alivio (13).

Ventajosamente, en un aparato según la presente invención, dicho sistema de dispersión (7) está adaptado para inyectar una primera corriente (proporcionada a través de dicho al menos un tubo (6)) de agente de disrupción presurizado en una segunda corriente (proporcionada a través de dicho al menos un tubo (5)) de una suspensión presurizada de material de biomasa y para formar una micro- y/o nanoemulsión.

En otras palabras, un aparato según la invención tal como se ilustra esquemáticamente en la figura 1a, comprende al menos dos bombas de alta presión (10, 20), en las que al menos una primera bomba (10) sirve como bomba de suspensión espesa de alta presión y al menos una segunda bomba (20) sirve como bomba de líquido/gas de alta presión. Dichas bombas (10, 20) contienen cada una al menos una entrada y al menos una salida. Dicha primera bomba (10) y dicha segunda bomba (20) están configuradas (adaptadas) para presurizar una suspensión de material de biomasa (o suspensión espesa) y un agente de disrupción gaseoso/líquido, respectivamente, y para alimentarlos adicionalmente al sistema (7) por medio de tubos (5, 6). Además, el aparato comprende al menos un primer recipiente (1), que sirve como fuente de alimentación para una suspensión no tratada de material de biomasa, teniendo dicho al menos un primer recipiente (1) una salida conectada a la entrada de la bomba de suspensión espesa de alta presión (10) por medio de un tubo (o conducto) (3). El aparato comprende también al menos un segundo recipiente (2), que sirve como fuente de alimentación para agente de disrupción gaseoso/líquido presurizado, teniendo dicho al menos un segundo recipiente (2) una salida conectada a la entrada de bomba de líquido/gas de alta presión (20) por medio de un tubo (o conducto) (4). El aparato comprende además al menos un sistema de dispersión (7) que sirve como inyector de agente de disrupción (licuado) presurizado en una suspensión presurizada de material de biomasa no tratado (o adaptado (configurado) para inyectar una corriente de agente de disrupción (licuado) presurizado procedente de la bomba de líquido/gas de alta presión (20) en la suspensión presurizada de corriente de material de biomasa procedente de la bomba de suspensión espesa de alta presión (10)) y que está adaptado para formar una micro- y/o nanoemulsión. El sistema de dispersión (7) está conectado entonces secuencialmente mediante un tubo primario (15) a al menos un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13).

En el contexto de la presente invención, la expresión agente de disrupción gaseoso/líquido se refiere a agente de disrupción gaseoso (o agente de disrupción que está en fase gaseosa) y/o agente de disrupción líquido (o agente de disrupción que está en fase líquida). En otras palabras, dependiendo de la temperatura y/o la presión en el sistema, el agente de disrupción en el segundo recipiente (2) está presente en fase gaseosa (o estado gaseoso) y/o en fase líquida (o estado líquido).

En el contexto de la presente invención, una corriente de agente de disrupción presurizado que sale de la segunda bomba de alta presión (20) (que fluye a través del tubo (6) al sistema de dispersión (7)) sólo está presente en fase líquida (o estado líquido, estando licuada) (es decir la presión aplicada por la segunda bomba de alta presión (20) es tal que ya no hay agente de disrupción gaseoso presente en el sistema tras haber pasado por la segunda bomba de alta presión (20)).

Ventajosamente, dicho primer recipiente (1) está conectado a dicha primera bomba de alta presión (10) mediante un tubo (3).

5 Ventajosamente, dicho segundo recipiente (2) está conectado a dicha segunda bomba de alta presión (20) mediante un tubo (4).

Ventajosamente, el al menos un segundo recipiente (2) es un recipiente de sellado hermético (es decir que está sellado completamente con respecto al entorno).

10 Según un aspecto de la presente invención, un aparato ilustrado esquemáticamente en la figura 1a puede usarse para someter material de biomasa suspendido a disrupción.

Según otro aspecto de la invención, se proporciona un sistema de dispersión.

15 Un sistema de dispersión de la invención está adaptado para inyectar una primera corriente de agente de disrupción (licuado) presurizado en una segunda corriente de una suspensión presurizada de material de biomasa para formar una (corriente mezclada de) micro- y/o nanoemulsión (de agente de disrupción con suspensión de biomasa).

20 Un sistema de dispersión (7) según la presente invención se ilustra esquemáticamente en la figura 2.

El sistema de dispersión (7) comprende un primer tubo de dispersión (21) que tiene un diámetro (d1) y que tiene dos entradas (24, 34) y una salida (28). Dicho primer tubo de dispersión (21) comprende un segundo tubo de dispersión (22) colocado a lo largo de la dirección formada por una de las entradas (34) y la salida (28), teniendo dicho segundo tubo de dispersión (22) un diámetro (d2) que es dos veces más pequeño que el diámetro (d1) del primer tubo de dispersión. Dicho segundo tubo de dispersión (22) comprende una distribución de conjuntos (23) de primeras aberturas a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22) a lo largo de una anchura (w) (del primer tubo de dispersión (21)), teniendo dichas primeras aberturas un diámetro (d3) comprendido entre (aproximadamente) 0,01 mm y (aproximadamente) 1 mm, preferiblemente entre (aproximadamente) 0,01 mm y (aproximadamente) 0,2 mm, más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,025 mm y (aproximadamente) 0,085 mm, incluso más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,05 mm y (aproximadamente) 0,06 mm.

25 En la presente descripción, dicho primer tubo de dispersión (21) también puede denominarse carcasa de dispersión (21).

35 Preferiblemente, dicho primer tubo de dispersión (21) en el sistema de dispersión (7) de la invención tiene forma de T o forma de Y, más preferiblemente dicho primer tubo de dispersión (21) tiene forma de T.

Ventajosamente, dicho segundo tubo de dispersión (22) comprende uno, dos, tres o más conjuntos (23) de primeras aberturas a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22) a lo largo de una anchura (w) (de la carcasa de dispersión (21)).

Más ventajosamente, el valor de anchura (w) está comprendido entre el valor de diámetro (d3) de las primeras aberturas a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22) y la longitud total del segundo tubo de dispersión (22) que está dentro (comprendido dentro) del primer tubo de dispersión (21). Incluso más ventajosamente, el valor de anchura (w) es tan pequeño como sea posible para comprender todos los conjuntos (23) de primeras aberturas (unas al lado de otras, a lo largo de la anchura (w)), es decir el valor de anchura (w) cumple la ecuación  $w = \sum w_2$ .

Más ventajosamente, dicho segundo tubo de dispersión (22) comprende (sólo) un conjunto (23) de primeras aberturas a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22). En otras palabras, (sólo) se proporciona un conjunto (23) de primeras aberturas a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22).

Sin querer restringirse a la teoría, proporcionar más de dos primeras aberturas (es decir cuatro, seis o más) por conjunto de primeras aberturas, y/o proporcionar más de un conjunto de primeras aberturas (es decir dos, tres o más), cambiará la velocidad superficial de manera proporcional al parámetro  $(1/\text{el número de primeras aberturas})$  y la proporción de  $(\text{primer diámetro de abertura } (d3))^2 / (\text{segundo diámetro del tubo de dispersión } (d2))^2$ . Preferiblemente, el parámetro  $(1/\text{el número de aberturas})$  se elige más pequeño que la proporción de  $(\text{primer diámetro de abertura } (d3))^2 / (\text{segundo diámetro del tubo de dispersión } (d2))^2$ . En este caso preferible, la velocidad superficial de agente de disrupción aumentará, lo que conducirá a una caída de presión en el (segundo tubo de dispersión (22) del) sistema de dispersión (7). Si la caída de presión debido al agente de disrupción que pasa a través de dichas primeras aberturas es mayor del 50% de la presión de bombeo del agente de disrupción (estando proporcionada dicha presión de bombeo por la segunda bomba de alta presión (20) que presuriza el agente de disrupción procedente del segundo recipiente (2)), entonces, más ventajosamente, dicho segundo tubo de dispersión (22) comprende más de un conjunto (23) de primeras aberturas a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22) (es decir entonces, más ventajosamente, se proporciona más de un conjunto (23) de primeras aberturas a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22)).

Incluso más ventajosamente el valor de anchura (w) es igual (o es muy próximo) al valor de diámetro (d3) de las primeras aberturas a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22).

5 Preferiblemente, dicho segundo tubo de dispersión (22) comprende además una segunda abertura (27) en la salida (28) del segundo tubo de dispersión (22), teniendo dicha segunda abertura (27) un diámetro (d4) comprendido entre (aproximadamente) 0,01 mm y (aproximadamente) 0,6 mm, más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,1 mm y (aproximadamente) 0,6 mm.

10 Ventajosamente, dicha primera bomba de alta presión (10) está conectada mediante un tubo (5) al sistema de dispersión (7). Más particularmente, el tubo (5) está conectado a una entrada (34) del sistema de dispersión (7).

Ventajosamente, dicha segunda bomba de alta presión (20) está conectada mediante un tubo (6) al sistema de dispersión (7). Más particularmente, el tubo (6) está conectado a una entrada (24) del sistema de dispersión (7).

15 Preferiblemente, el diámetro (d1) del primer tubo de dispersión (21) está comprendido entre (aproximadamente) 1,6 mm (1/16 de pulgada) y (aproximadamente) 25,4 mm (1 pulgada), más preferiblemente entre (aproximadamente) 3,2 mm (1/8 de pulgada) y (aproximadamente) 12,7 mm (1/2 pulgada), incluso más preferiblemente el diámetro (d1) del primer tubo de dispersión (21) es de (aproximadamente) 6,4 mm (1/4 de pulgada).

20 Preferiblemente, el diámetro (d2) del segundo tubo de dispersión (22) está comprendido entre (aproximadamente) 0,8 mm (1/32 de pulgada) y (aproximadamente) 12,7 mm (1/2 pulgada), más preferiblemente entre (aproximadamente) 1,6 mm (1/16 de pulgada) y (aproximadamente) 3,2 mm (1/8 de pulgada), incluso más preferiblemente el diámetro (d2) del segundo tubo de dispersión (22) es de (aproximadamente) 3,2 mm (1/8 de pulgada).

30 Preferiblemente, el diámetro (d5) del tubo (5) está comprendido entre (aproximadamente) 0,8 mm (1/32 de pulgada) y (aproximadamente) 12,7 mm (1/2 pulgada), más preferiblemente entre (aproximadamente) 1,6 mm (1/16 de pulgada) y (aproximadamente) 3,2 mm (1/8 de pulgada).

Preferiblemente, el diámetro (d6) del tubo (6) está comprendido entre (aproximadamente) 0,8 mm (1/32 de pulgada) y (aproximadamente) 12,7 mm (1/2 pulgada), más preferiblemente entre (aproximadamente) 1,6 mm (1/16 de pulgada) y (aproximadamente) 3,2 mm (1/8 de pulgada).

35 Ventajosamente, cada conjunto (23) de primeras aberturas en el segundo tubo de dispersión (22) comprende un número par (es decir 2, 4, 6 o más) de primeras aberturas (o primeros orificios), estando ubicadas dichas aberturas de dos en dos opuestas entre sí en un plano, siendo dicho plano perpendicular al segundo tubo de dispersión (22), estando ubicada cada una de las primeras aberturas a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22).

40 Más ventajosamente, cada conjunto (23) de primeras aberturas en el segundo tubo de dispersión (22) comprende al menos dos primeras aberturas (o primeros orificios) (29, 31), estando ubicadas dichas aberturas opuestas entre sí en un plano, siendo dicho plano perpendicular al segundo tubo de dispersión (22), estando ubicadas las primeras aberturas (29, 31) a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22) a una distancia D1 que cumple la ecuación  $D1 = (\text{diámetro } (d2) \text{ del segundo tubo de dispersión } \times \pi) / 2$  con respecto a la siguiente abertura del conjunto (o primeras aberturas (29, 31) colocadas a 180° entre sí). Incluso más ventajosamente, cada conjunto (23) de primeras aberturas en el segundo tubo de dispersión (22) consiste en dos primeras aberturas (o primeros orificios) (29, 31).

50 Incluso más ventajosamente, cada conjunto (23) de primeras aberturas en el segundo tubo de dispersión (22) comprende (o consiste en) (sólo) dos primeras aberturas (o primeros orificios) (29, 31). En otras palabras, se proporcionan (sólo) dos primeras aberturas (29, 31) en cada conjunto (23) de primeras aberturas en el segundo tubo de dispersión (22).

55 Más ventajosamente, cada conjunto (23) de primeras aberturas en el segundo tubo de dispersión (22) comprende al menos cuatro primeras aberturas (o primeros orificios) (29, 30, 31, 32), estando ubicadas dichas aberturas de dos en dos opuestas entre sí en un plano, siendo dicho plano perpendicular al segundo tubo de dispersión (22), estando ubicada cada una de las primeras aberturas (29, 30, 31, 32) a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22) a una distancia D1 que cumple la ecuación  $D1 = (\text{diámetro } (d2) \text{ del segundo tubo de dispersión } \times \pi) / 4$  con respecto a la siguiente abertura del conjunto (o primeras aberturas (29, 30, 31, 32) colocadas a 90° entre sí). Incluso más ventajosamente, cada conjunto (23) de primeras aberturas en el segundo tubo de dispersión (22) consiste en cuatro primeras aberturas (o primeros orificios) (29, 30, 31, 32).

65 Incluso más ventajosamente, cada conjunto (23) de primeras aberturas en el segundo tubo de dispersión (22) comprende (o consiste en) (sólo) cuatro primeras aberturas (o primeros orificios) (29, 31). En otras palabras, se proporcionan (sólo) cuatro primeras aberturas (29, 31) en cada conjunto (23) de primeras aberturas en el segundo tubo de dispersión (22).

Ventajosamente, las primeras aberturas (29, 30, 31, 32) están realizadas mediante perforación por láser.

5 En la presente descripción, las primeras aberturas (29, 30, 31, 32) en el segundo tubo de dispersión (22) también se denominan primeros orificios, (primeros) agujeros de dispersión o (primeros) agujeros dispersores.

En la presente descripción, el diámetro (d3) de las primeras aberturas (29, 30, 31, 32) en el segundo tubo de dispersión (22) también se denomina diámetro de agujero dispersor (de los agujeros dispersores).

10 Ventajosamente, el sistema de dispersión (7) de la invención es un sistema de dispersión de alta presión.

15 En la presente invención, el sistema de dispersión (7) sirve como inyector de agente de disrupción (licuado) presurizado en una suspensión presurizada de material de biomasa. En otras palabras, el sistema de dispersión (7) está adaptado (configurado) para inyectar una primera corriente de agente de disrupción (licuado) presurizado procedente de la bomba de líquido/gas de alta presión (20) en una segunda corriente de suspensión presurizada de material de biomasa procedente de la bomba de suspensión espesa de alta presión (10), juntando (mezclando) de ese modo dichas corrientes primera y segunda (estando dichas corrientes a alta presión) formando una corriente de proceso (mezclada).

20 En el contexto de la presente invención, mezclar se refiere a juntar dos corrientes, poniendo de ese modo las dos corrientes (sólo) en contacto físico entre sí. En otras palabras, el mezclado se realiza para "juntar" (físicamente) dos corrientes, sin reacción (química) entre dichas dos corrientes, formando de este modo una corriente de proceso (mezclada).

25 Ventajosamente, las primeras aberturas (29, 30, 31, 32) en dicho segundo tubo de dispersión (22) están adaptadas (configuradas) para producir microburbujas de agente de disrupción (licuado) durante dicha inyección, produciendo (formando) de ese modo una microemulsión de agente de disrupción (licuado) con suspensión de biomasa mezclados dentro del dispersor. Por consiguiente, usando el dispersor de la presente invención, hay una eficiencia relativamente alta de transferencia de masa entre el agente de disrupción (licuado) y la suspensión que van a  
30 mezclarse en el dispersor.

35 En la presente descripción, la corriente de agente de disrupción presurizado que sale de la segunda bomba de alta presión (20) (que fluye además al sistema de dispersión (6)) se denomina "agente de disrupción licuado". En otras palabras, la presión aplicada por la segunda bomba de alta presión (20) es tal que ya no hay agente de disrupción gaseoso presente en el sistema después de que el agente de disrupción haya pasado por la segunda bomba de alta presión (20) (por tanto sólo hay agente de disrupción presente en fase líquida (o estado líquido) tras haber pasado por la segunda bomba de alta presión (20)).

40 Ventajosamente, el sistema de dispersión (7) según la invención está adaptado para formar una microemulsión (en el dispersor), comprendiendo dicha microemulsión agente de disrupción (licuado) presurizado y suspensión presurizada de material de biomasa.

45 Más ventajosamente, las primeras aberturas (29, 30, 31, 32) en dicho segundo tubo de dispersión (22) están adaptadas (configuradas) para producir micro- y/o nanoburbujas de agente de disrupción (licuado) durante dicha inyección, produciendo (formando) de ese modo una micro- y/o nanoemulsión de agente de disrupción (licuado) con suspensión de biomasa mezclados dentro del dispersor. Por consiguiente, usando el dispersor de la presente invención, hay una eficiencia relativamente alta de transferencia de masa entre el agente de disrupción (licuado) y la suspensión que van a mezclarse en el dispersor.

50 Más ventajosamente, el sistema de dispersión (7) según la invención está adaptado para formar una micro- y/o nanoemulsión (en el dispersor), comprendiendo dicha micro- y/o nanoemulsión agente de disrupción (licuado) presurizado y suspensión presurizada de material de biomasa.

55 Durante la inyección usando el dispersor de la invención, se hacen pasar micro- y/o nanoburbujas de agente de disrupción (licuado) a través de (o se burbujea agente de disrupción a través de) la suspensión presurizada de material de biomasa que fluye en el segundo tubo de dispersión (22) (entrando de ese modo el agente de disrupción en contacto (físico) con la suspensión de material de biomasa).

60 En el contexto de la presente invención, las microburbujas son burbujas más pequeñas de un milímetro de diámetro, pero más grandes de un micrómetro.

En el contexto de la presente invención, las nanoburbujas son burbujas más pequeñas de un micrómetro de diámetro, pero más grandes de un nanómetro.

65 Ventajosamente, la segunda abertura (27) en dicho segundo tubo de dispersión (22) está adaptada para mezclar adicionalmente (o de manera más eficaz) micro- y/o nanoburbujas de agente de disrupción (licuado) con la



suspensión presurizada de material de biomasa (mezclando de ese modo adicionalmente (o de manera más eficaz) la micro- y/o nanoemulsión formada en el dispersor).

5 Ventajosamente, la segunda abertura (27) en dicho segundo tubo de dispersión (22) sirve como salida (28) para la corriente de proceso (a través de la que la corriente de proceso sale del sistema de dispersión (7) y entra en el sistema de tubos (8)).

10 En el contexto de la presente invención, corriente de proceso se refiere a la corriente mezclada (formada en el dispersor) de agente de disrupción y suspensión de biomasa.

15 Será conveniente observar que el dispersor según la invención difiere fundamentalmente de aquéllos ya descritos en la técnica anterior. De hecho, durante la inyección de una primera corriente de agente de disrupción (licuado) presurizado en una segunda corriente de suspensión presurizada de material de biomasa usando un/unos sistema(s) de dispersión ya descrito(s) en la técnica, sólo se producen gotas de agente de disrupción que tienen un diámetro comparable al diámetro del tubo (por ejemplo que tienen un diámetro de (aproximadamente) 3 mm a (aproximadamente) 6 mm). Por consiguiente, hay una eficiencia (muy) baja de transferencia de masa entre el agente de disrupción y la suspensión que van a mezclarse en el dispersor. En otras palabras, no se forma una micro- y/o nanoemulsión de agente de disrupción mezclado con suspensión cuando se usa un dispersor conocido en la técnica. Por el contrario, usando un dispersor según la presente invención se consigue una eficiencia relativamente alta de transferencia de masa (debido a la formación de las micro- y/o nanoburbujas de agente de disrupción), formando una micro- y/o nanoemulsión de agente de disrupción mezclado con suspensión de biomasa, en el dispersor.

20 Ventajosamente, el sistema de dispersión (7) de la invención está conectado además al tubo primario (15) del sistema de tubos (8) a través del segundo tubo de dispersión (22) que tiene (o por medio de) una segunda abertura (segundo orificio) (27).

25 Expuesto de otra manera, el sistema de dispersión (7) está conectado al tubo primario (15) del sistema de tubos (8) por medio de la segunda abertura (27) en la salida (28) del segundo tubo de dispersión (22). La segunda abertura (27) sirve como salida del segundo tubo de dispersión (22). El tubo primario (15) conecta además secuencialmente el sistema de agitación hidrodinámico (11) y la válvula de alivio (13).

30 Preferiblemente, el diámetro (d7) del tubo primario (15) está comprendido entre (aproximadamente) 0,4 mm (1/64 de pulgada) y (aproximadamente) 12,7 mm (1/2 pulgada), más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,8 mm (1/32 de pulgada) y (aproximadamente) 12,7 mm (1/2 pulgada), incluso más preferiblemente entre (aproximadamente) 1,6 mm (1/16 de pulgada) y (aproximadamente) 3,2 mm (1/8 de pulgada), lo más preferiblemente el diámetro (d7) del tubo primario (15) es de (aproximadamente) 3,2 mm (1/8 de pulgada).

35 Ventajosamente, el sistema de tubos (8) está adaptado para mezclar adicionalmente la corriente de proceso que sale del sistema de dispersión (7), formando de ese modo una corriente de proceso mezclada de manera homogénea (es decir una mezcla homogeneizada de agente de disrupción y suspensión de material de biomasa, o una micro- y/o nanoemulsión homogeneizada de agente de disrupción con suspensión de biomasa).

40 El aparato de la presente invención puede estar dotado de o no incluir un sistema de oscilación de presión (9).

45 Más ventajosamente, el sistema de tubos (8) comprende además un (o al menos un) sistema de oscilación de presión (9) antes del (al menos un) sistema de agitación hidrodinámico (11). Más particularmente, el sistema de dispersión (7) está conectado por medio de un tubo primario (15) a un (o a al menos un) sistema de oscilación de presión (9) que está conectado adicionalmente (mediante dicho tubo (15)) al (al menos un) sistema de agitación hidrodinámico (11).

50 Un aparato de la invención que comprende además un sistema de oscilación de presión (9) se ilustra esquemáticamente en la figura 1b.

55 Preferiblemente, el sistema de oscilación de presión (9) comprende al menos dos (es decir dos, tres o más) orificios conectados en serie (mediante el tubo (15), por tanto el tubo primario (15) está comprendido dentro del sistema de oscilación de presión (9)).

60 Más preferiblemente, el sistema de oscilación de presión (9) comprende (o consiste en) tres orificios conectados en serie (mediante el tubo (15), por tanto el tubo primario (15) está comprendido dentro del sistema de oscilación de presión (9)).

65 Preferiblemente, cada orificio en el sistema de oscilación de presión (9) tiene un diámetro (d8), siendo dicho diámetro (d8) de (aproximadamente) cuatro a (aproximadamente) sesenta y cuatro veces más pequeño, siendo más preferiblemente de (aproximadamente) ocho a (aproximadamente) veintitrés veces más pequeño, que el diámetro (d7) del tubo primario (15).

Preferiblemente, el diámetro (d8) de los orificios en el sistema de oscilación de presión (9) está comprendido entre (aproximadamente) 0,02 y (aproximadamente) 0,4 mm, más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,2 y (aproximadamente) 0,4 mm.

5 Encontrar diámetros (d8) y (d9) adecuados del/de los orificio(s) y del tubo primario (15), respectivamente, en el sistema de oscilación de presión (9), para su uso en la presente invención depende de las características del agente de disrupción y de la suspensión de material de biomasa usados.

10 En el contexto de la presente invención, un orificio del sistema de oscilación de presión (9) se refiere a un medio para provocar efecto Venturi. Más particularmente, tal orificio está diseñado para controlar las características de la corriente que fluye a través del mismo (especialmente para aumentar la velocidad y para reducir la presión, debido a la ecuación de Bernoulli) a medida que sale del orificio (y posteriormente entra en el siguiente orificio o el tubo primario). Un orificio tiene un área de sección transversal variable (en comparación con el tubo primario), y se usa para modificar el flujo de un fluido, para controlar la tasa de flujo, la velocidad y la presión de la corriente que surge del mismo.

20 En la presente descripción, el sistema de oscilación de presión (9) también puede denominarse sistema de oscilación de presión y de velocidad (o sistema de presión/velocidad o zona de presión/velocidad).

25 Ventajosamente, el sistema de oscilación de presión (9) está adaptado para mezclar adicionalmente la micro- y/o nanoemulsión formada en el dispersor, aumentando de ese modo adicionalmente la eficiencia de transferencia de masa entre el agente de disrupción (licuado) y la suspensión ya mezclados en el dispersor transfiriendo adicionalmente la energía entre oscilaciones de presión-velocidad-presión, y potenciando la eficiencia de la disrupción celular (resultante) (es decir la disrupción celular conseguida cuando la micro- y/o nanoemulsión se ha hecho pasar adicionalmente por el sistema de agitación hidrodinámico (11) y la válvula de alivio (13)).

30 El uso del sistema de oscilación de presión (9) reduce el número de células (es decir se someten más células a disrupción) y por tanto se cambia la proporción de liberación final de sustancias celulares (es decir se optimiza la solubilización de sustancias celulares), en comparación con el uso sólo de un sistema de agitación hidrodinámico (11) para mezclar la corriente de proceso.

35 Más particularmente, las proporciones de extracción de las sustancias celulares comprendidas inicialmente en el material de biomasa pueden afinarse usando el aparato de la invención dotado de o sin un sistema de oscilación de presión (9).

En la presente invención, se usa un sistema de agitación hidrodinámico estándar (11) conocido en la técnica.

40 Ventajosamente, el sistema de agitación hidrodinámico (11) comprende al menos un (es decir uno, dos, tres o más) sistema de tubos secundario (16) conectado mediante el (al menos un) tubo primario (15), en el que el diámetro (d9) de los tubos del sistema de tubos secundario (16) es de una a dos veces más pequeño, más ventajosamente dos veces más pequeño, que el diámetro (d7) del tubo primario (15) (en el caso de que el flujo de proceso se divida en dos).

45 Más ventajosamente, el sistema de agitación hidrodinámico (11) comprende (o consiste en) tres sistemas de tubos secundarios (16, 17, 18) conectados mediante el (al menos un) tubo primario (15), en el que el diámetro (d9) de los tubos del sistema de tubos secundario (16, 17, 18) es de una a dos veces más pequeño, incluso más ventajosamente dos veces más pequeño, que el diámetro (d7) del tubo primario (15) (en el caso de que el flujo de proceso se divida en dos).

50 Preferiblemente, el diámetro (d9) de los tubos del/de los sistema(s) de tubos secundario(s) (16, 17, 18) está comprendido entre (aproximadamente) 0,4 mm (1/64 de pulgada) y (aproximadamente) 12,7 mm (1/2 pulgada), más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,4 mm (1/64 de pulgada) y (aproximadamente) 6,4 mm (1/4 de pulgada), incluso más preferiblemente el diámetro (d9) de los tubos del/de los sistemas de tubos secundario(s) (16, 17, 18) es de (aproximadamente) 1,6 mm (1/16 de pulgada) (en el caso de que el flujo de proceso se divida en dos).

60 Ventajosamente, el sistema de agitación hidrodinámico (11) está adaptado para mezclar adicionalmente (o mezclar de manera hidrodinámica) la corriente de proceso, aumentando de ese modo la transferencia de masa de agente de disrupción presurizado a la suspensión de material de biomasa y produciendo una micro- y/o nanoemulsión más homogénea.

En el contexto de la presente invención, una válvula de alivio (13) se refiere a un medio o una válvula para controlar o limitar la presión en un sistema o en un recipiente.

En el aparato de la presente invención, la válvula de alivio (13) está adaptada para reducir (repentinamente) la presión en el sistema, es decir para reducir la presión de la corriente de proceso que pasa a través y que sale de la válvula de alivio (13) hasta una presión reducida o hasta presión atmosférica.

5 Usar el aparato de la invención, y hacer pasar una micro- y/o nanoemulsión de agente de disrupción (licuado) con suspensión de biomasa formada en el sistema de dispersión (7) secuencialmente a través de un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13), exponiendo de ese modo el material de biomasa a una descompresión explosiva (o rápida) (es decir caída repentina de presión), da como resultado someter el material de biomasa tratado a disrupción.

10 Opcionalmente, usando el aparato de la invención, la micro- y/o nanoemulsión de agente de disrupción con suspensión de biomasa formada en el sistema de dispersión (7) se hace pasar en primer lugar a través de un sistema de oscilación de presión (9) antes de pasar secuencialmente a través de un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13). De ese modo, el material de biomasa se expone a una descompresión explosiva (o rápida), dando como resultado la disrupción del material de biomasa tratado.

15 Ventajosamente, en el aparato de la presente invención, el sistema de tubos (8) (después del sistema de dispersión (7)) comprende además al menos un medio (12) para medir la presión.

20 Preferiblemente, dicho medio (12) para medir la presión está comprendido (o presente) entre el (al menos un) sistema de agitación hidrodinámico (11) y la válvula de alivio (13) (y conectado al mismo por medio del tubo primario (15)).

25 Ventajosamente, el al menos un medio (12) para medir (y monitorizar) la presión es un manómetro.

Ventajosamente, en el aparato de la presente invención, las bombas de alta presión primera y segunda (10, 20) comprenden un manómetro.

30 Ventajosamente, en el aparato de la presente invención, la válvula de alivio (13) comprende un medio (14) para calentar una corriente de proceso que sale del sistema de tubos (8).

Ventajosamente, dicha válvula de alivio (13) está conectada además a un tercer recipiente (35) mediante un tubo (de flujo de salida) (33).

35 Ventajosamente, dicho tercer recipiente (35) se usa para recoger la corriente de proceso que sale de la válvula de alivio (13).

40 En el contexto de la presente invención, un medio para calentar (14) se refiere a un sistema de calentamiento que está adaptado para calentar o aumentar la temperatura de una corriente de proceso (o corriente de salida) (mezclada de manera homogénea) que sale del sistema de tubos (8) (pudiendo dicho sistema de calentamiento resistir a presiones muy altas).

45 Ventajosamente, el medio (14) para calentar comprendido en la válvula de alivio (13) está adaptado para aumentar la temperatura de la micro- y/o nanoemulsión (corriente de proceso que sale del sistema de tubos (8)) para evitar un (posible) efecto de congelación de descompresión rápida (o para evitar el efecto de congelación de disminución de la presión, para evitar la formación de hielo, debido al uso de la válvula de alivio (13)).

50 Alternativamente, el medio (14) para calentar comprendido en la válvula de alivio (13) está adaptado para aumentar la temperatura de la micro- y/o nanoemulsión (corriente de proceso que sale del sistema de tubos (8)) hasta el punto subcrítico o crítico (o una temperatura incluso superior) del agente de disrupción. Aumentar la temperatura de la micro- y/o nanoemulsión hasta el punto subcrítico o crítico del agente de disrupción, mientras se transfiere la corriente de proceso que sale de la válvula de alivio (13) a un tercer recipiente (35) (por medio del tubo (33)) a presión reducida o atmosférica solubiliza sustancias celulares (valiosas) (o extractos celulares) (a partir del material de biomasa sometido a disrupción).

55 Por tanto, según la presente invención, se proporciona un aparato para someter material de biomasa suspendido a disrupción y (opcionalmente) solubilizar las sustancias celulares (valiosas) (a partir del material de biomasa sometido a disrupción).

60 Preferiblemente, el diámetro (d10) del tubo de flujo de salida (33) está comprendido entre (aproximadamente) 0,1 mm y (aproximadamente) 12,7 mm, más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,1 mm y (aproximadamente) 3,175 mm.

65 Ventajosamente, el material usado para el aparato de la invención es acero inoxidable fabricado en frío (o 304 SS, 304L SS, 316 SS, 316L SS).

Según un aspecto de la presente invención, un aparato ilustrado esquemáticamente en las figuras 1a y 1b puede usarse para someter material de biomasa suspendido a disrupción.

5 Ventajosamente, un aparato ilustrado esquemáticamente en las figuras 1a y 1b puede usarse para someter material de biomasa suspendido a disrupción y (opcionalmente) solubilizar las sustancias celulares (valiosas, obtenidas).

En la presente invención, las sustancias celulares valiosas (solubilizadas) (a partir del material de biomasa sometido a disrupción) puede de manera adicional aislarse (parcialmente) (o separarse (parcialmente)) y extraerse de manera selectiva.

10 Ventajosamente, las proteínas (solubilizadas) pueden de manera adicional aislarse (parcialmente) (o separarse (parcialmente)) y extraerse de manera selectiva a partir de material de biomasa sometido a disrupción obtenido por medio de un método de disrupción suave de la invención.

15 Según un aspecto de la invención, se proporciona una pila (o disposición) de sistemas (dispositivos, aparatos) (paralelos) para someter material de biomasa suspendido a disrupción.

20 Ventajosamente, una pila (o disposición) de sistemas (dispositivos, aparatos) (paralelos) puede usarse para someter material de biomasa suspendido a disrupción y (opcionalmente) solubilizar las sustancias celulares (valiosas, obtenidas).

Ventajosamente, dicha pila (o disposición) de sistemas (paralelos) se basa en el aparato de la presente invención que se comentó en detalle anteriormente.

25 Una pila (o disposición) de sistemas (paralelos) según la presente invención comprende un primer recipiente para contener (o proporcionar) una suspensión (no tratada) de material de biomasa conectado a una primera bomba de alta presión, estando dicha primera bomba de alta presión adaptada para presurizar la suspensión de material de biomasa procedente de dicho primer recipiente; un segundo recipiente para contener (o proporcionar) un agente de disrupción gaseoso presurizado y/o agente de disrupción líquido presurizado conectado a una segunda bomba de alta presión, estando dicha segunda bomba de alta presión adaptada para presurizar (adicionalmente) el agente de disrupción gaseoso y/o líquido procedente de dicho segundo recipiente; en la que las bombas de alta presión primera y segunda están conectados a una serie de (dos, tres o más) sistemas (paralelos) por medio de (usando) un colector de distribución, comprendiendo cada uno de dichos sistemas paralelos al menos un sistema de dispersión de la presente invención, estando dicho sistema de dispersión adaptado para inyectar una primera corriente de agente de disrupción presurizado en una segunda corriente de una suspensión presurizada de material de biomasa y para formar una micro- (y/o nano)emulsión, en la que dicho sistema de dispersión está conectado además a un sistema de tubos para mezclar dichas corrientes primera y segunda, comprendiendo dicho sistema de tubos un (al menos un) tubo primario y (un) al menos un sistema de agitación hidrodinámico, y estando dicho sistema de tubos conectado además a una válvula de alivio.

40 Cada uno de los (dos, tres o más) sistemas (paralelos) puede estar dotado de o no incluir un sistema de oscilación de presión.

45 Más ventajosamente, el sistema de tubos en cada uno de los (dos, tres o más) sistemas (paralelos) comprende además un (o al menos un) sistema de oscilación de presión antes del (al menos un) sistema de agitación hidrodinámico.

50 Ventajosamente, la válvula de alivio de cada uno de los (dos, tres o más) sistemas (paralelos) está conectado a un tercer recipiente por medio de (usando) un colector de distribución.

Ventajosamente, dicho tercer recipiente se usa para recoger las corrientes de proceso que salen de cada una de las válvulas de alivio (de cada uno de los (dos, tres o más) sistemas (paralelos)).

55 La pila (o disposición) de sistemas (paralelos) de la presente invención puede usarse a escala industrial.

Según un aspecto de la invención, se proporciona un método para someter material de biomasa suspendido a disrupción.

60 Un método según la invención para someter material de biomasa suspendido a disrupción comprende las etapas de:

- proporcionar una suspensión de material de biomasa en un primer recipiente (1), teniendo dicha suspensión un peso celular seco que está comprendido entre el 0,1% y el 15% (p/p);

65 - presurizar dicha suspensión hasta una presión (p1) que está comprendida entre 7500 kPa y 450000 kPa usando una primera bomba de alta presión (10);

- proporcionar un agente de disrupción gaseoso presurizado y/o un agente de disrupción líquido presurizado en un segundo recipiente (2) (estando el agente de disrupción gaseoso y/o agente de disrupción líquido en el segundo recipiente (2) a una presión (p0) comprendida entre (aproximadamente) 5000 kPa (50 bar) y (aproximadamente) 6000 kPa (60 bar));

5 - presurizar dicho agente de disrupción gaseoso y/o líquido hasta una presión (p2) que está comprendida entre 7500 kPa y 450000 kPa usando una segunda bomba de alta presión (20), siendo dicha presión (p2) mayor que dicha presión (p1);

10 - inyectar una corriente de dicho agente de disrupción presurizado en una corriente de dicha suspensión presurizada de material de biomasa usando un sistema de dispersión (7), juntando de ese modo dichas dos corrientes y formando una microemulsión;

15 - hacer pasar dicha microemulsión secuencialmente a través de un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13).

En un método de la invención, una suspensión (no tratada) de material de biomasa se proporciona en un primer recipiente (1), teniendo dicha suspensión un peso celular seco que está comprendido entre (aproximadamente) el 0,1% y (aproximadamente) el 15% (p/p). Una corriente de dicha suspensión está entonces fluyendo a través del tubo (3) a una primera bomba de alta presión (10). Dicha suspensión se presuriza entonces hasta una presión (p1) que está comprendida entre (aproximadamente) 7500 kPa (75 bar) y (aproximadamente) 450000 kPa (4500 bar), usando la primera bomba de alta presión (10). Además, un agente de disrupción gaseoso presurizado y/o líquido presurizado se proporciona en un segundo recipiente (2). El agente de disrupción gaseoso y/o agente de disrupción líquido en el segundo recipiente (2) está presente en dicho recipiente (2) a una presión (p0) que está comprendida entre (aproximadamente) 5000 kPa (50 bar) y (aproximadamente) 6000 kPa (60 bar). Una corriente de dicho agente de disrupción gaseoso presurizado y/o agente de disrupción líquido presurizado está fluyendo entonces a través del tubo (4) a una segunda bomba de alta presión (20). Dicho agente de disrupción gaseoso y/o líquido (procedente del segundo recipiente (2)) se presuriza entonces (adicionalmente) hasta una presión (p2) que está comprendida entre (aproximadamente) 7500 kPa (75 bar) y (aproximadamente) 450000 kPa (4500 bar), usando la segunda bomba de alta presión (20). En un método de la invención, dicha presión (p2) es mayor que dicha presión (p1). Una corriente de dicha suspensión presurizada de material de biomasa que sale de la primera bomba de alta presión (10) está fluyendo entonces a través del tubo (5). Una corriente de dicho agente de disrupción (licuado) presurizado que sale de la segunda bomba de alta presión (20) está fluyendo a través del tubo (6). La corriente de dicho agente de disrupción (licuado) presurizado se inyecta entonces (o se dispersa) en la corriente de dicha suspensión presurizada de material de biomasa usando un sistema de dispersión (7) según la invención, juntando de ese modo dichas dos corrientes y formando una microemulsión (en el sistema de dispersión (7)). Dicha microemulsión (formada) se hace pasar entonces secuencialmente a través de un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13).

40 En la presente invención, el agente de disrupción gaseoso y/o líquido procedente de dicho segundo recipiente (2) sólo está presente en fase líquida (o estado líquido) tras haber pasado por la segunda bomba de alta presión (20), estando por tanto dicha corriente de agente de disrupción presurizado que fluye después de (o que sale de) la segunda bomba de alta presión (20) sólo presente en fase líquida (o estado líquido, es decir estando licuada).

45 Ventajosamente, en un método de la invención, una micro- y/o nanoemulsión se forma en el sistema de dispersión (7). Dicha micro- y/o nanoemulsión (formada) se hace pasar entonces secuencialmente a través de un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13).

50 Preferiblemente, el peso celular seco de la suspensión de biomasa (no tratada) está comprendido entre (aproximadamente) el 0,1% y (aproximadamente) el 6% (p/p), más preferiblemente entre (aproximadamente) el 0,5% y (aproximadamente) el 4% (p/p), incluso más preferiblemente entre (aproximadamente) el 1,5% y (aproximadamente) el 2,5% (p/p).

55 Preferiblemente, dicha presión (p1) está comprendida entre (aproximadamente) 7500 kPa y (aproximadamente) 25000 kPa, más preferiblemente entre (aproximadamente) 20000 kPa y (aproximadamente) 25000 kPa.

Preferiblemente, dicha presión (p2) está comprendida entre (aproximadamente) 7500 kPa y (aproximadamente) 25000 kPa, más preferiblemente entre (aproximadamente) 20000 kPa y (aproximadamente) 25000 kPa.

60 Según la invención, dicha presión (p2) es mayor que dicha presión (p1).

En un método de la presente invención, el agente de disrupción en el segundo recipiente (2) está presente en fase gaseosa (o estado gaseoso) y/o en fase líquida (o estado líquido), dependiendo de la temperatura y/o la presión en el sistema.

65 En un método de la presente invención, una corriente de agente de disrupción presurizado que sale de la segunda bomba de alta presión (20) (que fluye a través del tubo (6) al sistema de dispersión (7)) sólo está presente en fase

líquida (o estado líquido) (es decir la presión aplicada por la segunda bomba de alta presión (20) es tal que ya no hay agente de disrupción gaseoso presente en el sistema tras haber pasado por la segunda bomba de alta presión (20)).

5 Preferiblemente, la velocidad superficial de la corriente mezclada (o corriente de proceso) de agente de disrupción y suspensión del material de biomasa dentro del tubo (15) es menor de (aproximadamente) 0,51 m/s, más preferiblemente menor de (aproximadamente) 0,1 m/s, incluso más preferiblemente menor de (aproximadamente) 0,05 m/s y lo más preferiblemente menor de (aproximadamente) 0,03 m/s.

10 Se encuentra claramente dentro de la práctica de los expertos en la técnica que los caudales de muestra puedan cambiarse cambiando la presión en el sistema.

15 Con el método de la presente invención, puede conseguirse el mismo rendimiento de disrupción celular usando presiones mayores combinadas con caudales menores, o usando presiones menores combinadas con caudales superiores.

20 Debe indicarse que un método de la invención se proporciona obteniendo sustancias celulares (valiosas) a partir de material de biomasa suspendido con un alto rendimiento (y bajo tiempo de contacto). Se cree que el alto rendimiento (y bajo tiempo de contacto) se debe a las velocidades superficiales de agente de disrupción y suspensión dentro de los tubos (5, 6) del sistema, el diámetro (d7) del tubo primario (15), y el diámetro (d9) de los tubos del/de los sistema(s) de tubos secundario(s) (16, 17, 18) (en el sistema de agitación hidrodinámico (11)).

El material de biomasa puede usarse para producir moléculas bioactivas de alto valor.

25 Ventajosamente, en un método de la invención, el material de biomasa comprende (o consiste en) material de fuente biogénico.

30 Más ventajosamente, dicho material de biomasa comprende (o consiste en) material de biomasa monocelular (o unicelular).

Ventajosamente, el material de biomasa está suspendido en un entorno a base de agua (es decir está en una suspensión acuosa).

35 Ventajosamente, la suspensión de material de biomasa comprende (o consiste en) microalgas, bacterias, célula de levadura/hongo, célula vegetal, célula animal, célula de insecto o cianobacterias.

Ventajosamente, el tamaño de las partículas del material de biomasa (células) (en la suspensión) es mayor de (aproximadamente) 1  $\mu\text{m}$ .

40 Preferiblemente, la proporción del agente de disrupción con respecto a la suspensión de material de biomasa está comprendida entre (aproximadamente) 0,001 y (aproximadamente) 0,95 kg/kg, más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,005 y (aproximadamente) 0,95 kg/kg, incluso más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,18 kg/kg y (aproximadamente) 0,5 kg/kg, y lo más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,23 kg/kg y (aproximadamente) 0,45 kg/kg.

45 En el contexto de la presente invención, la proporción de agente de disrupción con respecto a suspensión (de material de biomasa) se refiere a la proporción de caudal másico de agente de disrupción con respecto a caudal másico de suspensión (de material de biomasa).

50 Debe indicarse que en un método de la invención la cantidad total de agente de disrupción usado se reduce, en comparación con los métodos de la técnica anterior. Por consiguiente, el método de la invención consume menos energía, reduciendo de ese modo los gastos operativos totales (el coste total), en comparación con los métodos de la técnica anterior.

55 Ventajosamente, el sistema de dispersión (7) según la invención está adaptado para formar una microemulsión (en el dispersor), comprendiendo dicha microemulsión agente de disrupción presurizado y suspensión presurizada de material de biomasa.

60 Más ventajosamente, el sistema de dispersión (7) según la invención está adaptado para formar una micro- y/o nanoemulsión (en el dispersor), comprendiendo dicha micro- y/o nanoemulsión agente de disrupción presurizado y suspensión presurizada de material de biomasa.

65 Según un método de la invención y haciendo referencia a la figura 2, la corriente de agente de disrupción (licuado) presurizado que fluye en el tubo (6) se inyecta (o se dispersa) en la corriente de la suspensión presurizada de material de biomasa que fluye en el tubo (5) usando un sistema de dispersión (7), juntando de ese modo dichas dos

corrientes. El tubo (5) está conectado a una entrada (34) del sistema de dispersión (7). El tubo (6) está conectado a una entrada (24) del sistema de dispersión (7).

5 Más particularmente, la corriente de agente de disrupción (licuado) presurizado que fluye en el tubo (6) se inyecta por medio de una entrada (24) del sistema de dispersión (7) en la corriente de la suspensión presurizada de material de biomasa que fluye a través de la entrada (34) en el segundo tubo de dispersión (22). La inyección del agente de disrupción en la suspensión se realiza a través de aberturas (29, 30, 31, 32) a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22).

10 Ventajosamente, en un método de la invención, la corriente de dicho agente de disrupción presurizado se inyecta en la corriente de dicha suspensión presurizada a través de aberturas (29, 30, 31, 32) (a través de la superficie) de (un (segundo) tubo de dispersión (22) que tiene) un diámetro ( $d_3$ ) comprendido entre (aproximadamente) 0,01 mm y (aproximadamente) 1 mm.

15 Preferiblemente, el diámetro ( $d_3$ ) está comprendido entre (aproximadamente) 0,01 mm y (aproximadamente) 0,2 mm, más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,025 mm y (aproximadamente) 0,085 mm, incluso más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,05 mm y (aproximadamente) 0,06 mm.

20 Ventajosamente, el sistema de dispersión (7) de la invención es un sistema de dispersión de alta presión (un sistema de dispersión para procesos de alta presión). La presión dentro del sistema de dispersión (7) es la presión ( $p_2$ ), establecida mediante la segunda bomba de alta presión (20) y depende además del caudal de agente de disrupción en el tubo (6) y el número y diámetro de los (primeros) agujeros de dispersión.

25 Ventajosamente, en un método de la invención, tras la etapa de usar el sistema de dispersión (7) y antes de la etapa de hacer pasar secuencialmente a través del sistema de agitación hidrodinámico (11) y la válvula de alivio (13), dicha microemulsión pasa a través de un sistema de oscilación de presión (9).

30 Más ventajosamente, en un método de la invención, tras la etapa de usar el sistema de dispersión (7) y antes de la etapa de hacer pasar secuencialmente a través del sistema de agitación hidrodinámico (11) y la válvula de alivio (13), dicha micro- y/o nanoemulsión pasa a través de un sistema de oscilación de presión (9).

35 Ventajosamente, dicha micro- y/o nanoemulsión pasa entonces a través del sistema de dispersión (7) al tubo primario (15) de un sistema de oscilación de presión (9) que está conectado adicionalmente (mediante dicho tubo (15)) al (al menos un) sistema de agitación hidrodinámico (11). Más particularmente, dicha micro- y/o nanoemulsión pasa a través de una segunda abertura (27) de su segundo tubo de dispersión (22) que tiene un diámetro ( $d_4$ ) al tubo primario (15) de un sistema de oscilación de presión (9) que está conectado además a un sistema de agitación hidrodinámico (11).

40 Preferiblemente, dicha segunda abertura (27) tiene un diámetro ( $d_4$ ) comprendido entre (aproximadamente) 0,01 mm y (aproximadamente) 0,6 mm, más preferiblemente entre (aproximadamente) 0,1 mm y (aproximadamente) 0,6 mm.

45 Ventajosamente, el sistema de oscilación de presión (9) está adaptado para mezclar adicionalmente la micro- y/o nanoemulsión formada en el dispersor (aumentando de ese modo adicionalmente la eficiencia de transferencia de masa entre el agente de disrupción (licuado) y la suspensión ya mezclados en el dispersor transfiriendo adicionalmente la energía entre oscilaciones de presión-velocidad-presión y potenciando la eficiencia de la disrupción celular (resultante)). En otras palabras, en el sistema de oscilación de presión (9), el material de biomasa (comprendido en la micro- y/o nanoemulsión que pasa a través del mismo) se prepara para someterse realmente a disrupción cuando pasa secuencialmente a través del sistema de agitación hidrodinámico (11) y sale de la válvula de alivio (13). Usar el sistema de oscilación de presión (9) reduce el número de células (es decir más células experimentan disrupción) y por tanto cambia la proporción de liberación final de sustancias celulares (es decir optimiza la solubilización de sustancias celulares), en comparación con sólo usar un sistema de agitación hidrodinámico (11) para mezclar la corriente de proceso.

50 Preferiblemente, en el sistema de oscilación de presión (9) la micro- y/o nanoemulsión pasa a través de al menos dos orificio(s) (que están conectados en serie mediante el tubo (15)), teniendo cada orificio un diámetro ( $d_8$ ) que es de (aproximadamente) cuatro a (aproximadamente) sesenta y cuatro veces más pequeño, más preferiblemente que es de (aproximadamente) ocho a (aproximadamente) veintitrés veces más pequeño, que el diámetro ( $d_7$ ) de su tubo primario (15).

60 Ventajosamente, el sistema de agitación hidrodinámico (11) está adaptado para mezclar adicionalmente (o mezclar de manera hidrodinámica) la corriente de proceso (aumentando de ese modo la transferencia de masa de agente de disrupción presurizado a la suspensión de material de biomasa y producir una micro- y/o nanoemulsión más homogénea).

65

Ventajosamente, un método de la presente invención comprende además una etapa de hacer pasar la micro- y/o nanoemulsión formada en el sistema de dispersión (7) a través de un medio (12) para medir la presión.

5 Ventajosamente, la micro- y/o nanoemulsión pasa por dicho medio (12) para medir la presión entre el sistema de agitación hidrodinámico (11) y la válvula de alivio (13).

10 Más particularmente, en un método de la presente invención, la micro- y/o nanoemulsión formada en el sistema de dispersión (7) pasa adicionalmente a través de un medio (12) para medir la presión después de salir del sistema de agitación hidrodinámico (11) y antes de pasar a través de la válvula de alivio (13).

En un método de la presente invención, la válvula de alivio (13) reduce (repentinamente) la presión en el sistema, es decir reduce la presión de la corriente de proceso que pasa a través y que sale de la válvula de alivio (13) hasta la presión reducida o hasta presión atmosférica.

15 En el contexto de la presente invención, presión reducida se refiere a una presión que es mayor que la presión atmosférica y que es menor que la presión medida mediante el medio (12) para medir la presión (o mediante el manómetro (12)) entre el sistema de agitación hidrodinámico (11) y la válvula de alivio (13).

20 Hacer pasar una micro- y/o nanoemulsión de agente de disrupción con suspensión de biomasa formada en el sistema de dispersión (7) secuencialmente a través de un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13), exponiendo de ese modo el material de biomasa a una descompresión explosiva (o rápida) (es decir caída repentina de presión), da como resultado la disrupción del material de biomasa tratado.

25 Ventajosamente, la válvula de alivio (13) comprende un medio (14) para calentar una corriente de proceso que sale del sistema de tubos (8) y pasa a través de la válvula de alivio (13).

30 En otras palabras, tras haberse formado una micro- y/o nanoemulsión en el sistema de dispersión (7) de la invención, y hacerse pasar secuencialmente dicha micro- y/o nanoemulsión a través de un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13), el material de biomasa (comprendido en la micro- y/o nanoemulsión) está experimentando disrupción.

35 Opcionalmente, la micro- y/o nanoemulsión de agente de disrupción con suspensión de biomasa formada en el sistema de dispersión (7) se hace pasar en primer lugar a través de un sistema de oscilación de presión (9) antes de hacerse pasar secuencialmente a través de un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13). De ese modo, el material de biomasa se expone a una descompresión explosiva (o rápida), dando como resultado la disrupción del material de biomasa tratado.

Más particularmente, se proporciona un método para someter material de biomasa suspendido a disrupción.

40 Al hacer pasar una micro- y/o nanoemulsión (formada en el sistema de dispersión (7)) secuencialmente a través de un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13), y opcionalmente en primer lugar hacerla pasar a través de un sistema de oscilación de presión (9) antes de hacerla pasar secuencialmente a través de un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13), en un método de la invención, ninguna fuerza de alta cizalladura (o estrés) actúa sobre el material de biomasa que va a experimentar disrupción. Por tanto, realizando un método de la invención, se proporciona una disrupción no mecánica, física, suave (es decir más moderado) de material de biomasa (en comparación con los métodos de disrupción celular descritos en la técnica).

50 Preferiblemente, en un método de la invención, la suspensión de material de biomasa se satura mediante el agente de disrupción presurizado mezclando de manera hidrodinámica.

Alternativamente, la suspensión de material de biomasa se sobresatura mediante el agente de disrupción presurizado mezclando de manera hidrodinámica.

55 Alternativamente, la suspensión de material de biomasa no se satura mediante el agente de disrupción presurizado mezclando de manera hidrodinámica.

60 En el contexto de la presente invención, el pretratamiento puede reducir (adicionalmente) el requisito de energía para realizar un método de la invención, y puede evitar la micronización del residuo celular, e influir en la desactivación celular.

65 Preferiblemente, en un método de la invención, la suspensión de material de biomasa se somete a pretratamiento mediante centrifugación, lavado químico, lavado, filtración, triturado, molturación, molienda en molino de bolas, molienda en molino de perlas, homogeneizador de alta presión, homogeneizador de alta velocidad, homogeneizador ultrasónico, microondas, baño ultrasónico, prensa francesa, campos eléctricos pulsados, arco pulsado, microfluidizador o tratamiento sólo térmico, antes de proporcionarse en el primer recipiente (1).



Más preferiblemente, la suspensión de material de biomasa se somete a pretratamiento mediante lavado químico, molino de perlas, homogeneizador de alta presión, homogeneizador de alta velocidad o microondas, antes de proporcionarse en el primer recipiente (1).

5 Alternativamente, en un método de la invención, la suspensión de material de biomasa no se somete a pretratamiento.

10 Ventajosamente, en un método de la invención, la temperatura de la micro- y/o nanoemulsión que pasa por la válvula de alivio (13) se aumenta (mediante el medio (14) para calentar comprendido en dicha válvula de alivio (13)) para evitar un (posible) efecto de congelación de descompresión rápida (o para evitar el efecto de congelación de la disminución de presión, para evitar la formación de hielo, debido al uso de la válvula de alivio (13)).

15 Alternativamente, en un método de la invención, simultáneamente con (es decir durante, junto con) la etapa de hacer pasar la micro- y/o nanoemulsión a través de la válvula de alivio (13), la temperatura de la micro- y/o nanoemulsión se aumenta hasta el punto subcrítico o crítico (o incluso una temperatura superior) del agente de disrupción y la corriente de proceso que sale de la válvula de alivio (13) se transfiere a un tercer recipiente (35) (por medio de un tubo (33)) a presión reducida o atmosférica (usando la válvula de alivio (13)) (solubilizando de ese modo sustancias celulares (valiosas) (o extractos celulares)). El aumento de la temperatura de la micro- y/o nanoemulsión hasta el punto subcrítico o crítico del agente de disrupción se realiza mediante un medio (14) para calentar comprendido en dicha válvula de alivio (13).

Ventajosamente, la presión reducida está comprendida entre (aproximadamente) presión atmosférica y la presión (en el sistema) entre el sistema de agitación hidrodinámico (11) y la válvula de alivio (13).

25 Por tanto, según la presente invención, se proporciona un método para someter material de biomasa suspendido a disrupción y (opcionalmente) solubilizar las sustancias celulares (valiosas) (a partir del material de biomasa sometido a disrupción).

30 Más particularmente, se proporciona un método para someter material de biomasa suspendido a disrupción, por medio de una combinación de presurización y mezclado hidrodinámico con, posteriormente, una transición de líquido a supercrítico a fase gaseosa (o la transición de fases de agente de disrupción líquido presurizado a supercrítico y posteriormente a fase gaseosa) para solubilizar sustancias celulares (valiosas).

35 Más particularmente, se proporciona un método para someter material de biomasa suspendido a disrupción y (opcionalmente) posteriormente solubilizar las sustancias celulares (valiosas) (a partir del material de biomasa sometido a disrupción).

40 Ventajosamente, en un método de la invención, se solubilizan extractos celulares valiosos (o sustancias celulares) de una clase de sustancias de grasa, aceite y lípidos contenidos en el material de biomasa.

Alternativamente, se solubilizan extractos celulares valiosos (o sustancias celulares) de una clase de sustancias de hidratos de carbono contenidos en el material de biomasa.

45 Alternativamente, se solubilizan extractos celulares valiosos (o sustancias celulares) de una clase de sustancias de proteínas contenidas en el material de biomasa.

Alternativamente, se solubilizan extractos celulares valiosos (o sustancias celulares) de una clase de sustancias de carotenoides contenidos en el material de biomasa.

50 Las sustancias celulares obtenidas pueden usarse como nutrientes, vitaminas, para su conversión mediante bacterias en digestiones, o en la industria alimentaria y farmacéutica (por ejemplo antibióticos, enzimas, productos bioquímicos).

55 Preferiblemente, las etapas del método antes de la etapa de aumentar la temperatura hasta el punto subcrítico o crítico del agente de disrupción se realizan a un intervalo de temperatura de entre (aproximadamente) 2°C y (aproximadamente) 70°C, más preferiblemente entre (aproximadamente) 20°C y (aproximadamente) 70°C, incluso más preferiblemente entre (aproximadamente) 20°C y (aproximadamente) 25°C, lo más preferiblemente a temperatura ambiente.

60 Más particularmente, las etapas del método de la invención para someter el material de biomasa a disrupción se realizan a un intervalo de temperatura de entre (aproximadamente) 2°C y (aproximadamente) 70°C, más preferiblemente entre (aproximadamente) 20°C y (aproximadamente) 70°C, incluso más preferiblemente entre (aproximadamente) 20°C y (aproximadamente) 25°C, lo más preferiblemente a temperatura ambiente.

65 Realizando el método de la invención para someter material de biomasa a disrupción, no se aplican temperaturas extremas. Por tanto (además de la ausencia de fuerzas de alta cizalladura que actúan sobre el material de biomasa

que debe experimentar disrupción) se proporciona una disrupción suave (es decir más moderado) de material de biomasa (en comparación con los métodos de disrupción celular descritos en la técnica).

5 Ventajosamente, en un método de la invención, el agente de disrupción se recupera (desde o del tercer recipiente (35)) y se devuelve a la segunda bomba (20) (para presurizarse de nuevo). Más particularmente, el agente de disrupción se recicla (reduciendo de ese modo (adicionalmente) la cantidad total de agente de disrupción usada, y reduciendo los gastos operativos totales (el coste total), en comparación con los métodos de la técnica anterior).

10 Ventajosamente, se sabe que los agentes de disrupción usados en un método de la invención se usan en sistemas refrigerantes y/o en extracciones de fluido supercrítico. Encontrar un agente de disrupción adecuado para su uso en (un método de) la invención depende del producto que va a obtenerse a partir del material de biomasa.

15 Ventajosamente, el agente de disrupción se selecciona del grupo que consiste en etano, propano, butano, etileno, propileno, butileno, otros hidrocarburos saturados o insaturados, dióxido de carbono, óxido nitroso, dimetil éter, hexafluoruro de azufre, freón y mezclas de los mismos.

Más ventajosamente, el freón incluye clorofluorocarbonos, tales como R141 b; o hidrofluorocarbonos, tales como R134a, R125 o R32.

20 Alternativamente, el agente de disrupción no es un hidrocarburo (que consiste enteramente en átomos de hidrógeno y carbono).

25 Alternativamente, el agente de disrupción es un hidrocarburo que comprende además uno o varios heteroátomo(s), seleccionándose dicho heteroátomo (preferiblemente) del grupo que consiste en oxígeno, nitrógeno, azufre y/o uno o varios halógeno(s).

30 Ventajosamente, en un método de la invención, se realiza una etapa adicional de aislar (parcialmente) (o separar (parcialmente)) y extraer de manera selectiva las sustancias celulares valiosas (solubilizadas) (a partir de material de biomasa sometido a disrupción).

Más particularmente, en un método de la invención, se realiza una etapa adicional de aislar (parcialmente) (o separar (parcialmente)) y extraer de manera selectiva proteínas (solubilizadas) (a partir de material de biomasa sometido a disrupción).

35 Más ventajosamente, tras realizar el método de disrupción suave de la presente invención y solubilización posterior, las proteínas (solubilizadas) de manera adicional se aíslan (parcialmente) (o se separan (parcialmente)) y se extraen de manera selectiva del material de biomasa sometido a disrupción.

40 Más ventajosamente, la suspensión tratada (final) (de material de biomasa, que comprende sustancias celulares valiosas solubilizadas) (que pasa por la válvula de alivio (13) o que está presente en el tercer recipiente (35)) se separa (parcialmente) mediante centrifugación y/o filtración, para obtener fase soluble (que contiene proteínas e hidratos de carbono) y fase insoluble (que está enriquecida en lípidos).

45 En otras palabras, tras la disrupción celular y (opcionalmente) solubilización, se separan las fases de sobrenadante y sólida mediante centrifugación y/o filtración.

Más ventajosamente, la suspensión tratada (final) (que pasa por la válvula de alivio (13) o que está presente en el tercer recipiente (35)) se separa en una fase insoluble enriquecida en lípidos y una fase soluble que contiene proteínas e hidratos de carbono mediante centrifugación y/o filtración.

50 Incluso más ventajosamente, la suspensión tratada (final) se separa (en una fase insoluble enriquecida en lípidos y una fase soluble que contiene proteínas e hidratos de carbono) mediante centrifugación.

55 Ventajosamente, un método de la invención se integra con otros métodos de disrupción celular para aumentar la eficiencia de la disrupción de biomasa (sin embargo, asegurando de ese modo todavía una disrupción celular suave global).

60 Ventajosamente, los otros métodos de disrupción celular se realizan en la micro- y/o nanoemulsión que sale del sistema de tubos (8), pero antes de realizar la etapa de aumentar la temperatura de la emulsión hasta el punto subcrítico o crítico del agente de disrupción (mientras se transfiere a un tercer recipiente (35) a presión reducida o atmosférica). Los métodos de disrupción celular adecuados para su integración con un método de la invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica.

65 Preferiblemente, el método de la invención se integra con otros métodos de disrupción celular seleccionados de un grupo de métodos mecánicos que consiste en disrupción celular por medio de molino de bolas, molino de perlas, homogeneizador de alta presión, homogeneizador de alta velocidad, homogeneizador ultrasónico, microondas, baño

ultrasónico, prensa francesa, campos eléctricos pulsados, arco pulsado y microfluidizador. Más preferiblemente, el método de la invención se integra con otros métodos de disrupción celular seleccionados de un grupo de métodos mecánicos que consiste en disrupción celular por medio de homogeneizador de alta presión, microondas, baño ultrasónico, campos eléctricos pulsados y microfluidizador.

5 Alternativamente, el método de la invención se integra con otros métodos de disrupción celular seleccionados de un grupo de métodos químicos que consiste en disrupción celular por medio de tratamiento con antibióticos, agentes quelantes, caótopos, detergentes, hipocloritos, otros codisolventes, ácido y álcali.

10 Alternativamente, el método de la invención se integra con otros métodos de disrupción celular seleccionados de un grupo de métodos biológicos que consiste en disrupción celular por medio de enzimas, fagos y autólisis.

15 Alternativamente, el método de la invención puede integrarse con otros métodos de disrupción celular seleccionados de un grupo de métodos físicos que consiste en disrupción celular por medio de congelación y descongelación, termólisis y descompresión explosiva.

### Ejemplos

20 En los ejemplos descritos a continuación, las dimensiones del aparato de la invención usado (cuando se incluyen un sistema de oscilación de presión y un sistema de dispersión) son las siguientes:

distancia desde la primera bomba hasta el dispersor = 45 cm;

distancia desde la segunda bomba hasta el dispersor = 45 cm;

25 longitud del sistema de oscilación de presión = 10 cm (es decir partiendo desde el 1<sup>er</sup> orificio + 3 cm de tubo primario + 2<sup>o</sup> orificio + 3 cm de tubo primario + 3<sup>er</sup> orificio + 4 cm de tubo primario);

30 longitud del sistema de agitación hidrodinámico = 3 sistemas de tubos secundarios de 10\*10 cm<sup>2</sup> cada uno con 2,5 cm de tubo primario entre los mismos;


distancia desde la zona de agitación hidrodinámica hasta la válvula de alivio = 45 cm.

35 Otras dimensiones adecuadas del aparato usado en un método de la invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica.


#### Ejemplo 1:


#### Proporción de solubilización (%) entre la(s) suspensión/suspensiones no tratada(s) y tratada(s) de biomasa

40 Se trataron suspensiones de biomasa de *Neocloris oleoabundans* (microalgas verdes unicelulares) o bien mediante molienda en molino de perlas convencional, el método de descompresión explosiva convencional o el método de descompresión explosiva (o rápida) según la invención (realizado con o sin incluir un sistema de oscilación de presión). La suspensión también se trató mediante un método de descompresión explosiva (o rápida) preliminar de la invención en el que no se incluyeron ni un sistema de dispersión ni un sistema de oscilación de presión. Tras la disrupción celular y la solubilización, se analizaron las suspensiones tratadas para determinar las composiciones bioquímicas totales, es decir se llevaron a cabo determinaciones de lípidos, proteínas e hidratos de carbono totales. También se analizó la muestra no tratada de biomasa de microalgas verdes. Los resultados se resumen en la figura 3.

50 Se realizaron tres series de molienda en molino de perlas convencional en suspensiones de algas que tenían un peso celular seco del 2,81% (p/p), el 3,59% (p/p) y el 5,84% (p/p), respectivamente. La suspensión de algas se recirculó a través de la cámara de molienda del molino de perlas con agitación DYNO<sup>®</sup>-Mill, tipo MULTI LAB, (suministrado por Willy A. Bachofen AG Maschinenfabrik, Muttenz, Suiza) durante 30 min con una velocidad de bombeo de 1,5 l/min. La cámara de molienda de 0,3 l se llenó con la cantidad máxima (aproximadamente el 65% [v/v]) de perlas de cerámica hechas de zirconia, estabilizada con itria, de 0,4-0,6 mm. Agua, enfriada hasta 5°C, se circuló de manera continua en la camisa de enfriamiento de la cámara de molienda para evitar temperaturas elevadas dentro de la cámara. Fuera de la cámara de molienda, la suspensión de algas se mantuvo a 5°C. Usando estas condiciones de proceso, la temperatura de la suspensión de algas en la salida del molino nunca superó los 20°C. Los resultados promedio de la molienda con molino de perlas convencional se ilustran mediante  en la figura 3.


65 El método de descompresión explosiva convencional se realiza dentro de reactores con recipiente con agitación a alta presión premex de 100 ml, a una temperatura estable de 35°C y una presión de 10000-20000 kPa (100-200 bar). El tiempo de tratamiento es de 15-45 min, durante el cual se realiza una agitación a 100-300 rpm en una


suspensión que tiene un peso celular seco (inicial) del 6,4% (p/p). Se realizan 5 series para ver el efecto de los parámetros. Los mejores resultados de las series de descompresión explosiva convencional se ilustran mediante  en la figura 3.

5 Realizando el método de descompresión explosiva de la invención sin incluir un sistema de oscilación de presión y sin incluir un sistema de dispersión (también denominado el método de descompresión explosiva preliminar de la presente invención, sin oscilación de presión y sin dispersor), la serie de mayor solubilización de biomasa se realizó con una proporción de CO<sub>2</sub>/suspensión (p/p) del 241%, al tiempo que la temperatura de válvula de alivio se fijó a 70°C, teniendo la suspensión un peso celular seco del 3,2% (p/p), siendo el caudal de suspensión celular de 4,15  
10 g/min a una presión de 200 bar, y sin adición de ningún codisolvente. Se solubiliza el 33,7% de la biomasa. La composición bioquímica del material solubilizado era la misma (± 3) con biomasa no tratada. El resultado de la serie relacionada se ilustra mediante  en la figura 3.


15 Debe indicarse que en el método de descompresión explosiva preliminar de la invención, la cantidad total de agente de disrupción usada aumenta mucho, en comparación con el método de la invención realizado incluyendo un sistema de dispersión. En otras palabras, la cantidad total de agente de disrupción usada se reduce realizando el método de la invención que incluye un sistema de dispersión, en comparación con el método de descompresión explosiva preliminar de la presente invención, sin oscilación de presión y sin dispersor.


20 Se consiguió la mayor solubilización de biomasa y lípidos en el método de la presente invención realizado sin oscilación de presión (o en otras palabras, el método de descompresión explosiva de la invención sin oscilación de presión). La serie de mayor solubilización de biomasa se realizó con una proporción de CO<sub>2</sub>/suspensión (p/p) del 20%, al tiempo que todo el sistema estaba a temperatura ambiente, teniendo la suspensión un peso celular seco del 2,6% (p/p), siendo el caudal de suspensión celular de 15 g/min a una presión de 250 bar, y sin adición de ningún  
25 codisolvente. Se solubilizó el 35,41% de la biomasa. El 45,73% del material solubilizado era proteína, al tiempo que sólo el 35,22% de la biomasa no tratada era proteína. Los mejores resultados de la serie de mayor solubilización de

biomasa se ilustran mediante  en la figura 3. La serie de mayor solubilización de lípidos se realizó con una proporción de CO<sub>2</sub>/suspensión (p/p) del 19,46%, enfriándose el sistema de agitación hidrodinámico hasta 4°C, estando la válvula de alivio a temperatura ambiente, teniendo la suspensión un peso celular seco del 2,5% (p/p),  
30 siendo el caudal de suspensión celular de 4,8 g/min a una presión de 75 bares, y con adición del 8% (p/p) de isopropanol como codisolvente. Se solubilizó el 43,43% de los lípidos. El 58,2% del material solubilizado era lípido.

Los mejores resultados de la serie de mayor solubilización de lípidos se ilustran mediante  en la figura 3.

35 Se consiguió la mayor solubilización de proteína e hidratos de carbono en el método de la presente invención realizado con oscilación de presión (o en otras palabras, el método de descompresión explosiva de la invención con oscilación de presión). La serie de mayor solubilización de proteína se realizó con una proporción de CO<sub>2</sub>/suspensión (p/p) del 25,08%, al tiempo que la válvula de alivio está a 45°C, teniendo la suspensión un peso celular seco del 1,65% (p/p), siendo el caudal de suspensión celular de 10,5 g/min a una presión de 175 bar, y sin adición de ningún codisolvente. Se solubilizó el 61,47% de las proteínas. El 77,7% del material solubilizado eran  
40 proteínas, al tiempo que sólo el 40,86% de la biomasa no tratada eran proteínas. Los mejores resultados de la serie

de mayor solubilización de proteínas se ilustran mediante  en la figura 3. La serie de mayor solubilización de hidratos de carbono se realizó con una proporción de CO<sub>2</sub>/suspensión (p/p) del 50,71%, al tiempo que la válvula de alivio está a 20°C, teniendo la suspensión un peso celular seco del 1,65% (p/p), siendo el caudal de suspensión celular de 15 g/min a una presión de 225 bar, y sin adición de ningún codisolvente. Se solubilizó el 59,65% de los  
45 hidratos de carbono. El 41,9% del material solubilizado eran hidratos de carbono, al tiempo que sólo el 20,6% de la biomasa no tratada eran hidratos de carbono. Los mejores resultados de la serie de mayor solubilización de hidratos

de carbono se ilustran mediante  en la figura 3.

50 Los datos en la figura 3 muestran que la distribución de productos bioquímicos puede afinarse cambiando los valores de los parámetros de proceso y/o modificando los parámetros de diseño. Usando los métodos convencionales, el sistema favorecía los lípidos, sin embargo, el rendimiento de extracción de lípidos no era suficiente.

55 En el método de la presente invención, se enriquecen células a presiones de gas licuado superiores (como CO<sub>2</sub> líquido) en lugar de una alta presión de gas (pero todavía directamente) como en los métodos de descompresión explosiva convencionales de la técnica anterior.

60 Por tanto, a partir de este ejemplo se deduce que la presente invención proporciona un método (y un aparato relacionado) para ajustar las proporciones de extracción de las sustancias celulares comprendidas inicialmente en el material de biomasa (minimizando de ese modo la carga contaminante).

Ejemplo 2:Consumo de energía (en kWh/kg de biomasa seca) frente a la proporción de CO<sub>2</sub>/suspensión de material de biomasa

5 Se trató una suspensión de biomasa de *Neocloris oleoabundans* (microalgas verdes unicelulares) que tenía una concentración del 2% de DCW (peso celular seco) usando el método de disrupción celular de la invención.

10 Se usa la ecuación de Bernoulli para calcular la energía de los fluidos antes de entrar en el sistema y cuando están en el sistema. La energía, que debería añadirse al sistema, para proporcionar una presión de 250 bar a un flujo de suspensión monocelular de 15 g/min y un flujo de CO<sub>2</sub> de 0,075-15 g/min (a temperatura ambiente), se calcula restando la energía total en el sistema y antes del sistema. Para el cálculo de la energía, se asume que las condiciones de partida tanto de la suspensión monocelular como del CO<sub>2</sub> están a presión atmosférica a temperatura ambiente.

15 La figura 4 representa el consumo de energía (en kWh/kg de biomasa seca) frente a la proporción de CO<sub>2</sub>/suspensión, mostrando que el consumo de energía que realiza el método de la invención está comprendido entre (aproximadamente) 0,04 kWh/kg de biomasa seca y (aproximadamente) 3,54 kWh/kg de biomasa seca, al tiempo que la proporción del agente de disrupción con respecto a la suspensión de material de biomasa monocelular oscila entre (aproximadamente) 0,005 y (aproximadamente) 0,950 kg/kg.

20 Por el contrario, en la técnica anterior se usan cantidades mucho mayores de disolvente (agente de disrupción) en comparación con la cantidad de material de biomasa (suspensión espesa).

25 De hecho, por ejemplo en el documento US 2011/0183403, se describe que la proporción de disolvente (agente de disrupción) con respecto a material de partida suspendido biogénico (el 18,1% de DCW) oscila entre 1 kg/kg y 90 kg/kg. Los ejemplos específicos en dicho documento sólo mencionan 90 kg/kg y 110 kg/kg (CO<sub>2</sub>/material de partida biogénico suspendido) (con una cantidad desconocida a 1500 bar y una cantidad desconocida a 300 bar), lo que significa que se consume más energía cuando se realiza el método de la técnica anterior para someter material de biomasa a disrupción descrito en el documento US 2011/0183403, en comparación con el método de disrupción de la presente invención.

30 Por tanto, con el método de la invención puede reducirse la cantidad total de agente de disrupción usada y por consiguiente se consume menos energía, reduciendo de ese modo los gastos operativos totales (el coste total), en comparación con los métodos de la técnica anterior.

35 Por tanto, a partir de la descripción y los ejemplos anteriores se deduce que la presente invención proporciona un método mejorado para someter material de biomasa suspendido a disrupción y un aparato relacionado, que superan las desventajas de los métodos y aparatos de la técnica anterior.

40 En particular, la presente invención proporciona un método y un aparato relacionado para una disrupción física, no mecánica, suave de material de biomasa suspendido en comparación con los métodos y aparatos de la técnica anterior.

45 Además, la presente invención proporciona un método y un aparato relacionado de este tipo, que obtienen sustancias celulares (valiosas) a partir de material de biomasa suspendido con un alto rendimiento (y bajo tiempo de contacto).

50 La presente invención proporciona un método para someter material de biomasa suspendido a disrupción y un aparato relacionado, (opcionalmente) integrados con una solubilización y/o extracción selectiva o separación posteriores de las sustancias celulares (valiosas) obtenidas.

55 Más particularmente, se proporciona una solubilización de sustancias celulares a partir de material de biomasa suspendido y una minimización de carga contaminante afinando la proporción de extracción del producto o producto bioquímico preferido.

60 Además, la presente invención proporciona un método (y un aparato relacionado) para someter material de biomasa suspendido a disrupción con una solubilización y/o extracción selectiva o separación posteriores de las sustancias celulares obtenidas, reduciendo los gastos operativos totales (el coste total) en comparación con los métodos y aparatos de la técnica anterior y siendo aplicable a escala industrial.

Por tanto, la presente invención proporciona un método más eficiente en comparación con los métodos de la técnica anterior.

65 Resultará evidente que la pila de sistemas (paralelos) según la invención (basándose dicha pila en el aparato de la presente invención) también supera las desventajas de los aparatos de la técnica anterior.

**REIVINDICACIONES**

1.- Un método para someter material de biomasa suspendido a disrupción que comprende las etapas de:

- 5 - proporcionar una suspensión de material de biomasa en un primer recipiente (1), teniendo dicha suspensión un peso celular seco que está comprendido entre el 0,1% y el 15% (p/p);
- presurizar dicha suspensión hasta una presión (p1) que está comprendida entre 7500 kPa y 450000 kPa usando una primera bomba de alta presión (10);
- 10 - proporcionar un agente de disrupción gaseoso presurizado y/o un agente de disrupción líquido presurizado en un segundo recipiente (2);
- presurizar dicho agente de disrupción gaseoso y/o líquido hasta una presión (p2) que está comprendida entre 7500 kPa y 450000 kPa usando una segunda bomba de alta presión (20), siendo dicha presión (p2) mayor que dicha presión (p1);
- 15 - inyectar una corriente de dicho agente de disrupción presurizado en una corriente de dicha suspensión presurizada de material de biomasa usando un sistema de dispersión (7), juntando de ese modo dichas dos corrientes y formando una microemulsión;
- 20 - hacer pasar dicha microemulsión secuencialmente a través de un sistema de agitación hidrodinámico (11) y una válvula de alivio (13).
- 25 2.- El método según la reivindicación 1, en el que tras la etapa de usar el sistema de dispersión (7) y antes de la etapa de hacer pasar secuencialmente a través del sistema de agitación hidrodinámico (11) y la válvula de alivio (13), dicha microemulsión pasa a través de un sistema de oscilación de presión (9).
- 30 3.- El método según la reivindicación 1 ó 2, en el que simultáneamente con la etapa de hacer pasar la microemulsión a través de la válvula de alivio (13), la temperatura de la microemulsión se aumenta hasta el punto subcrítico o crítico del agente de disrupción y la corriente de proceso que sale de la válvula de alivio (13) se transfiere a un tercer recipiente (35) a presión reducida o atmosférica, solubilizando de ese modo las sustancias celulares.
- 35 4.- El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el agente de disrupción se selecciona del grupo que consiste en etano, propano, butano, etileno, propileno, butileno, otros hidrocarburos saturados o insaturados, dióxido de carbono, óxido nitroso, dimetil éter, hexafluoruro de azufre, freón y mezclas de los mismos.
- 40 5.- El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la corriente de dicho agente de disrupción presurizado se inyecta en la corriente de dicha suspensión presurizada a través de aberturas (29, 30, 31, 32) de un diámetro (d3) comprendido entre 0,01 mm y 1 mm.
- 45 6.- El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la proporción del agente de disrupción con respecto a la suspensión de material de biomasa está comprendida entre 0,001 y 0,95 kg/kg.
- 50 7.- El método según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las etapas del método antes de la etapa de aumentar la temperatura hasta el punto subcrítico o crítico del agente de disrupción se realizan a un intervalo de temperatura de entre 2°C y 70°C.
- 50 8.- El método según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, en el que la suspensión tratada de material de biomasa se separa mediante centrifugación y/o filtración, para obtener fases solubles e insolubles.
- 9.- Un aparato para someter material de biomasa suspendido a disrupción que comprende:
- 55 al menos un primer recipiente (1) para contener una suspensión de material de biomasa conectado a al menos una primera bomba de alta presión (10) mediante al menos un tubo (3), estando dicha primera bomba de alta presión (10) adaptada para presurizar la suspensión de material de biomasa procedente de dicho primer recipiente (1); al menos un segundo recipiente (2) para contener un agente de disrupción gaseoso presurizado y/o agente de disrupción líquido presurizado conectado a al menos una segunda bomba de alta presión (20) mediante al menos un tubo (4), estando dicha segunda bomba de alta presión (20) adaptada para presurizar el agente de disrupción gaseoso y/o líquido procedente de dicho segundo recipiente (2); en el que cada una de dicha primera y segunda bomba de alta presión (10, 20) está conectada mediante al menos un tubo (5, 6) a al menos un sistema de dispersión (7), estando dicho sistema de dispersión (7) adaptado para inyectar una primera corriente de agente de disrupción presurizado en una segunda corriente de una suspensión presurizada de material de biomasa y para
- 60 formar una microemulsión, en el que dicho sistema de dispersión (7) está conectado además a un sistema de tubos (8) para mezclar dichas corrientes primera y segunda, comprendiendo dicho sistema de tubos (8) un tubo primario
- 65

- (15) y al menos un sistema de agitación hidrodinámico (11), y estando dicho sistema de tubos (8) conectado además a una válvula de alivio (13), y en el que dicho sistema de dispersión (7) comprende un primer tubo de dispersión (21) que tiene un diámetro (d1) y que tiene dos entradas (24, 34) y una salida (28), comprendiendo dicho primer tubo de dispersión (21) un segundo tubo de dispersión (22) colocado a lo largo de la dirección formada por una de las
- 5 entradas (34) y la salida (28), teniendo dicho segundo tubo de dispersión (22) un diámetro (d2) que es dos veces más pequeño que el diámetro (d1) del primer tubo de dispersión, comprendiendo dicho segundo tubo de dispersión (22) una distribución de conjuntos (23) de primeras aberturas a través de la superficie del segundo tubo de dispersión (22) a lo largo de una anchura (w), teniendo dichas primeras aberturas un diámetro (d3) comprendido entre 0,01 mm y 1 mm.
- 10 10.- El aparato según la reivindicación 9, en el que el sistema de tubos (8) comprende al menos un sistema de oscilación de presión (9) antes del al menos un sistema de agitación hidrodinámico (11).
- 15 11.- El aparato según la reivindicación 10, en el que dicho sistema de oscilación de presión (9) comprende al menos dos orificios conectados en serie, teniendo cada orificio un diámetro (d8), siendo dicho diámetro (d8) de cuatro a sesenta y cuatro veces más pequeño que el diámetro (d7) del tubo primario (15).
- 20 12.- El aparato según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en el que dicho sistema de agitación hidrodinámico (11) comprende al menos un sistema de tubos secundario (16) conectado mediante el tubo primario (15), en el que el diámetro (d9) de los tubos del sistema de tubos secundario (16) es dos veces más pequeño que el diámetro (d7) del tubo primario (15).
- 25 13.- El aparato según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en el que la válvula de alivio (13) comprende un medio (14) para calentar una corriente que sale del sistema de tubos (8), estando dicha válvula de alivio conectada además a un tercer recipiente (35).
- 14.- Uso del aparato según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13 para someter material de biomasa suspendido a disrupción y, opcionalmente, solubilizar las sustancias celulares obtenidas.
- 30 15.- Uso del aparato según la reivindicación 14 para adicionalmente aislar y extraer de manera selectiva las sustancias celulares solubilizadas.

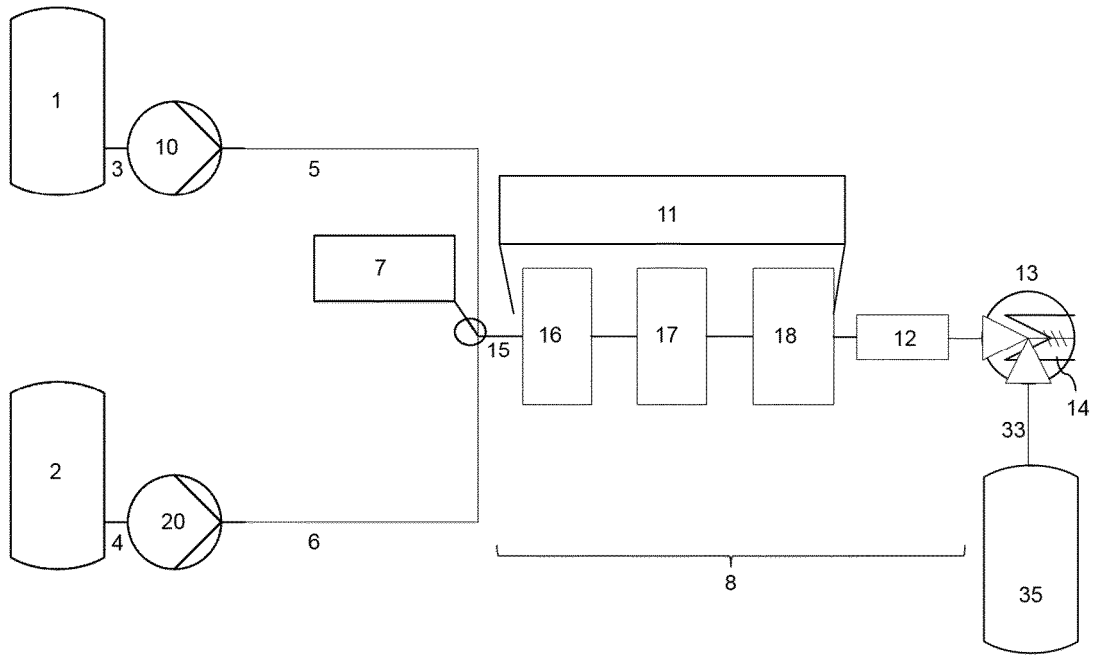


Fig. 1a

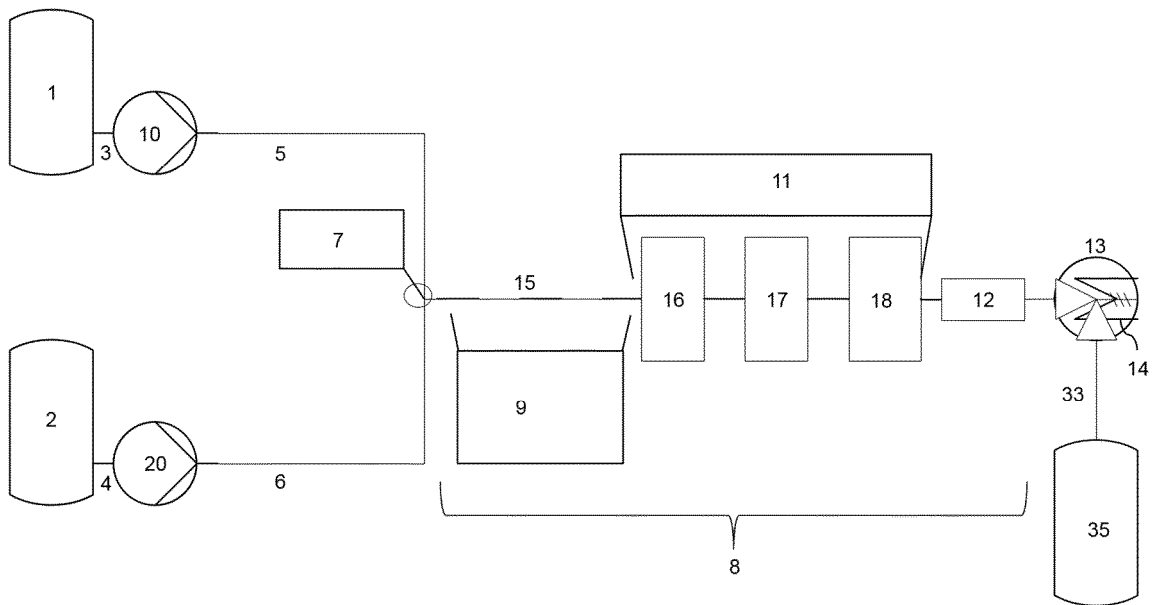


Fig. 1b



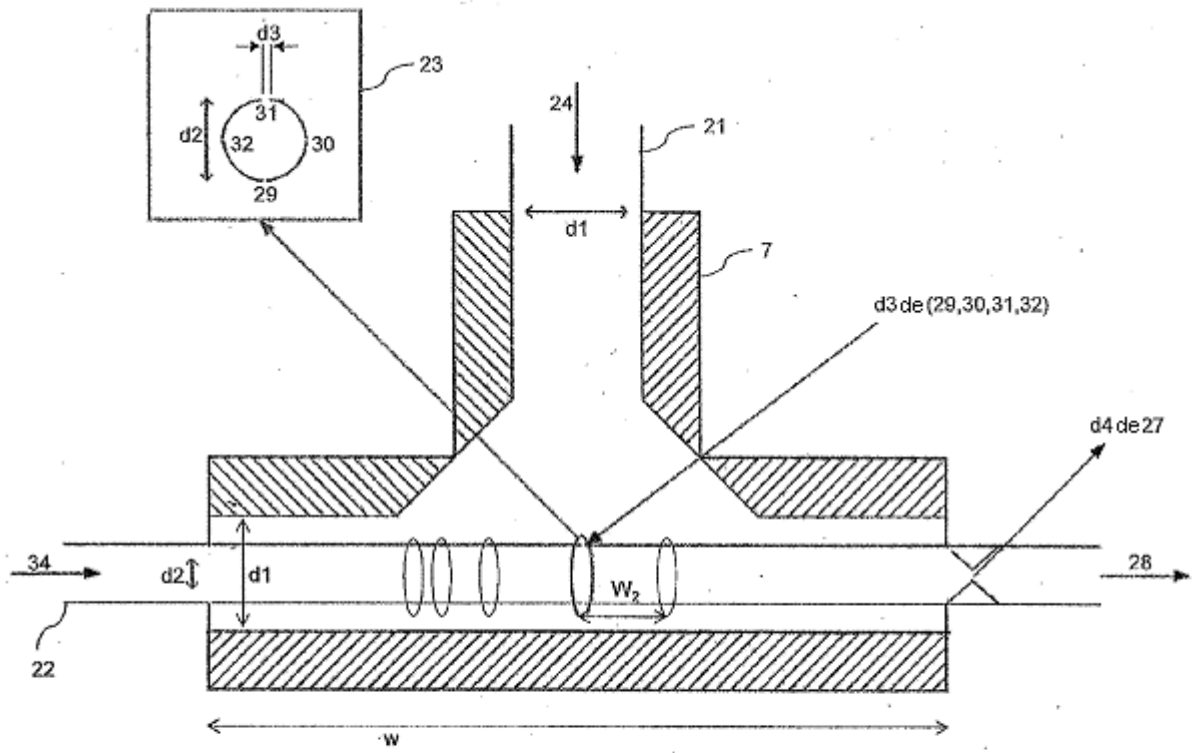


Fig. 2

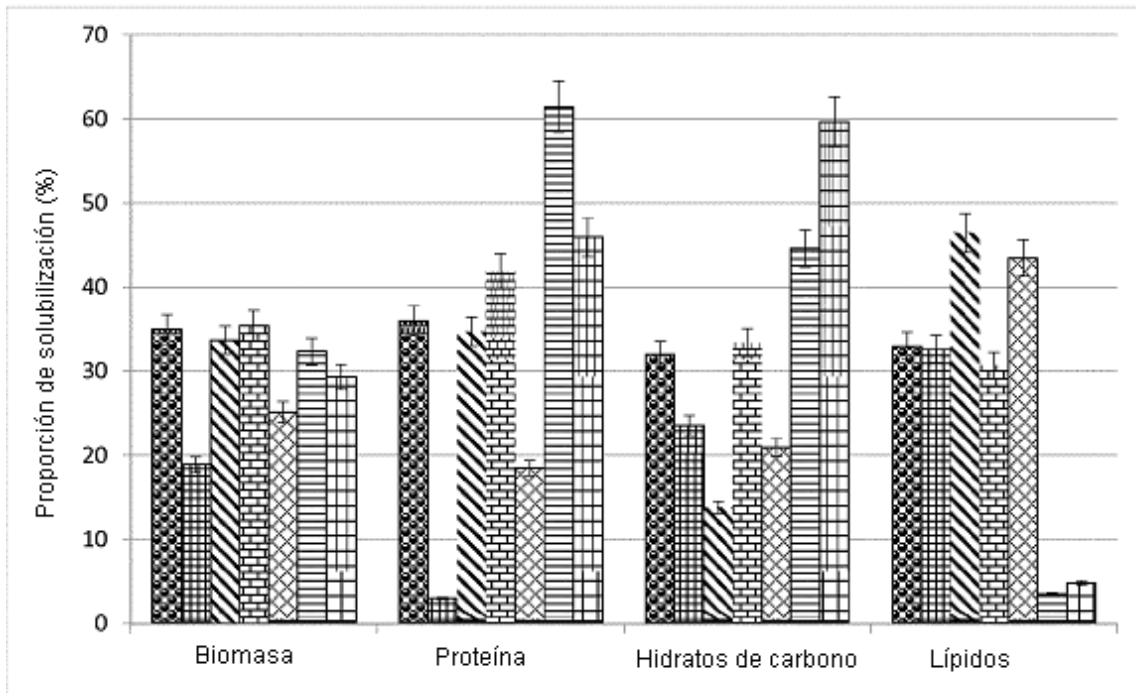


Fig. 3

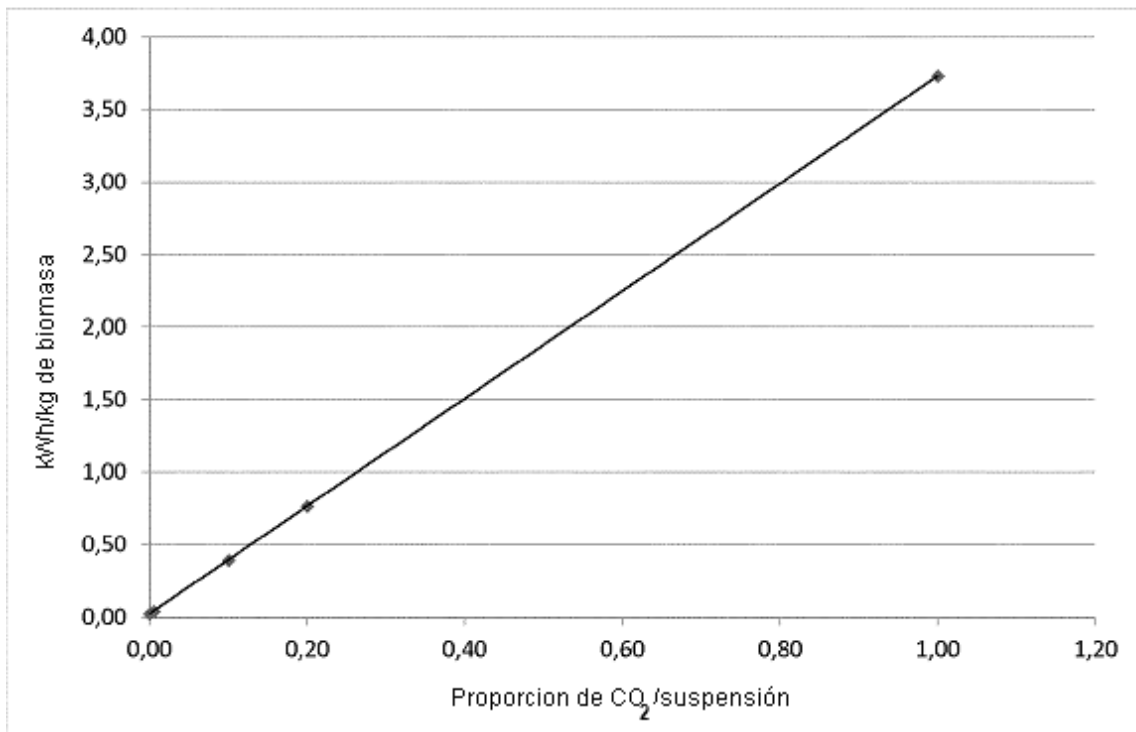


Fig. 4