

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 689 492**

51 Int. Cl.:

**C12M 1/16** (2006.01)

**C12M 1/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.02.2014 PCT/IB2014/058756**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.08.2014 WO14118757**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.02.2014 E 14704680 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.05.2018 EP 2951280**

54 Título: **Dispositivo de fermentación en medio sólido y productos obtenidos**

30 Prioridad:

**01.02.2013 FR 1350903**

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

**14.11.2018**

73 Titular/es:

**INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE  
DÉVELOPPEMENT (IRD) (100.0%)  
Immeuble de Sextant, 44, Boulevard de  
Dunkerque, CS 90009  
13572 Marseille Cédex 02, FR**

72 Inventor/es:

**ROUSSOS, SEVASTIANOS;  
LABROUSSE, YOAN JEAN-CHARLES;  
LAKHTAR, HICHAM y  
TRANIER, MARIE STÉPHANE**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 689 492 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

Dispositivo de fermentación en medio sólido y productos obtenidos

La invención tiene por objeto un dispositivo de fermentación en medio sólido y sus aplicaciones para producir especialmente biomاسas y/o metabolitos fúngicos.

5 La Fermentación en Medio Sólido (FMS) se define generalmente como el cultivo de microorganismos sobre un soporte sólido en ausencia o casi ausencia de agua libre. Es a la vez ancestral e innovadora ya que es de bajo consumo de agua. Está totalmente adaptada a la biología de los hongos filamentosos. Su carácter económico (simplicidad, posibilidad de usar subproductos agrícolas como soporte/sustrato) y ecológico (poca cantidad de agua como entrada y ninguna como salida) permite inscribirla en un concepto de Desarrollo Sostenible.

- 10 La solicitud internacional WO2004/111181 describe un dispositivo de fermentación en medio sólido constituido por:
- un andamiaje (“scaffoldings”),
  - una parte interna que constituye una cámara de fermentación de material transparente (“the transparent plastic bag (1)”), amovible, de un solo uso, constituida por un material flexible y que comprende dos partes;
  - una parte inferior (“lower chamber (4)”)
- 15
- una parte superior (“upper chamber (3)”) destinada a contener el material a fermentar,
  - medios de aireación que están previstos entre estas 2 partes.

El dispositivo de este documento no comprende un molde externo rígido y tiene como objetivo proponer un dispositivo que permite un control visual.

20 Los trabajos de los inventores se han centrado en la elaboración de un dispositivo de fermentación en medio sólido económico, ecológico, simple, que permite producciones reproducibles, de manera normalizada, al tiempo que se preserva la salud de los manipuladores y del entorno.

Esta investigación ha conducido a la orientación de los trabajos sobre un fermentador de un solo uso, que sólo necesita una pequeña cantidad de mantenimiento, pequeña cantidad agua y que usa subproductos agroindustriales.

La invención tiene por objeto proporcionar de este modo un biorreactor en medio sólido de un solo uso.

25 La invención se refiere asimismo a un procedimiento estable de producción de biomasa de microorganismos en particular microorganismos fúngicos, en particular micelio, esporas de hongos filamentosos y de metabolitos primarios o secundarios, especialmente de enzimas, ácidos orgánicos, micotoxinas utilizables en numerosos campos industriales.

El dispositivo de fermentación en medio sólido (FMS) de la invención se caracteriza porque comprende:

- 30
- un molde externo rígido (1),
  - una parte interna que constituye una cámara de fermentación (2), amovible, de un solo uso, constituida por un material flexible y que comprende 2 partes,
  - la parte inferior (8), o cámara baja, más dura, de forma casi idéntica a la del recipiente (3),
  - la parte superior (10) o cámara alta destinada a contener el material a fermentar, formada por un material
- 35
- más flexible, siendo su volumen útil superior al de la parte inferior,
  - medios de aireación previstos entre estas dos partes.

40 Medios de aireación apropiados comprenden ventajosamente una rejilla microperforada, alojada entre las dos partes (8) y (10) (techo de la cámara baja y suelo de la cámara alta), que confiere una estructura rígida al dispositivo de fermentación. El dispositivo puede situarse de este modo en una corredera, de dimensiones adaptadas para recibir varios dispositivos de biorreactor.

En una variante, canales de aireación microperforados (9) están alojados en la parte inferior (8).

Estas disposiciones permiten la aplicación de las etapas de producción de biomasa y/o de metabolitos en condiciones asépticas.

45 Según un modo de realización de la invención, el molde externo rígido (1), comprende un punto de fijación en el centro (7) del recipiente (3) para su paso a la posición vertical u horizontal.

El molde externo (1) comprende más en particular un recipiente rígido (3) que da la estructura al fermentador y una tapa (4). Los elementos (3) y (4) del molde externo (1) se mantienen juntos ventajosamente, por ejemplo mediante medios de fijación (5), especialmente clips.

5 Una pluralidad de orificios designados generalmente con (6) están previstos en los lados laterales del recipiente rígido, y en correspondencia, en los lados de la tapa. Estos orificios permiten la entrada y la salida de aire y de efluentes gaseosos.

10 La parte interna o cámara de fermentación (2) destinada a recibir la matriz porosa a fermentar comprende, tal como se ha indicado anteriormente, medios para la aireación de esta matriz. Se trata ventajosamente de una rejilla microperforada o, según una variante, de una pluralidad de canales microperforados (9) en los que se introduce aire, y a continuación difunde a través de las microperforaciones (véanse las flechas en la figura 2) en la masa a fermentar introducida en la cámara (no representada), antes de evacuarse hacia el exterior por la salida (11).

Las etapas de producción se desarrollan en el interior de esta parte que constituye una cámara de fermentación.

15 Este dispositivo, de dimensiones variables, permite realizar cultivos en condiciones estériles, estáticas, aerobias o anaerobias con una ventilación variable con aire húmedo o aire seco. Por tanto, es posible ejercer un estrés hídrico en un punto oportuno de la etapa de FMS. La aireación forzada de los cultivos se lleva a cabo a partir de los orificios colocados en los lados laterales y los efluentes gaseosos se recogen, filtran y analizan en la salida (11) del fermentador en medio sólido de un solo uso. El análisis de los efluentes gaseosos informa sobre el estado fisiológico del microorganismo, entonces es posible regular los diferentes parámetros de cultivo por el control automático de la FMS para obtener un producto final seco (menos del 5% de humedad). Al final del procedimiento, el producto  
20 obtenido puede comercializarse en su desarrollo inicial, a saber la cámara de fermentación (2).

25 Este dispositivo está particularmente adaptado para el cultivo de microorganismos, en particular bacterias, actinomicetos, levaduras, hongos filamentosos) sobre sustratos o soportes sólidos (naturales o sintéticos) impregnados con una solución nutritiva y con un inóculo, micelios, esporas de hongos filamentosos y metabolitos primarios o secundarios, en particular enzimas, ácidos orgánicos, micotoxinas utilizables en numerosos campos industriales.

Otras características y ventajas de la invención se facilitan en los siguientes ejemplos de modos de realización de la invención en los que se hace referencia a las figuras 1 y 2 que representan, respectivamente

- la figura 1, un esquema de molde externo (1), y
- la figura 2, un esquema de envoltura interna (2).

30 Según un modo de realización representado en la figura 1, el biorreactor presenta un molde externo (1) en forma de caja rectangular (3) con una base rígida que sirve de zócalo y que comprende una tapa (4). Estos elementos se mantienen juntos mediante medios de fijación de tipo clips (5).

En dos de los lados laterales (6), están previstos varios orificios para la entrada y la salida de aire y de efluentes gaseosos.

35 Los biorreactores de grandes dimensiones (superiores a un metro) pueden incluir un punto de fijación (7) en el centro del recipiente rígido (3) para su paso a la posición vertical u horizontal.

El molde externo (1) desempeña una función muy importante. En primer lugar, da las dimensiones del biorreactor, en particular el grosor del lecho de fermentación y el volumen útil del producto a fermentar.

Dimensiones apropiadas de biorreactor corresponden, por ejemplo, a:

40

6 x 12 x 18 cm. Volumen interno útil: 1,3 litros:	0,5 kg SPS
6 x 36 x 54 cm. Volumen interno útil: 11,7 litros:	4 kg SPS
6 x 72 x 108 cm. Volumen interno útil: 46,7 litros:	15 kg SPS
6 x 144 x 216 cm. Volumen interno útil: 186,7 litros:	50 kg SPS

45 El uso de un molde externo metálico presenta varias ventajas. Permite calentar o enfriar rápidamente el producto que se encuentra en la envoltura interna, lavar y desinfectar con diferentes medios clásicos de tratamiento.

La parte superior (tapa 4), que presenta también orificios espaciados de manera uniforme, encaja sobre el recipiente rígido (3), lo cual permite una gran rigidez del biorreactor.

La envoltura interna (2) representada en la figura 2 constituye el núcleo del sistema de fermentación. Sus dimensiones son variables según las dimensiones interiores del molde externo.

Esta envoltura, de material flexible, presenta según un modo de realización dos partes:

- la parte inferior (8), más dura, de forma casi idéntica a la del recipiente rígido (3) comprende un filtro poroso, tal como una rejilla microperforada, en la parte central de la cámara de fermentación y más en particular una pluralidad de canales de aireación (9) microperforados,
- 5
- la parte superior (10) de la envoltura-biorreactor destinada a contener el material a fermentar está formada por un material más flexible. Su volumen útil es superior al de la parte inferior. Ventajosamente, su volumen es igual a aproximadamente el triple del de la parte inferior.

La parte superior (10) comprende una o varias salidas (11) dotadas de filtros de aire, para recoger y evacuar de manera estéril los efluentes gaseosos del biorreactor.

- 10
- En el modo de realización de la invención, la aireación de los medios se realiza a través de las microperforaciones de los canales (9) alojados en la parte inferior (8) de la cámara de fermentación o del suelo rígido. La distancia que separa dos canales de aireación es, por ejemplo, del orden de 25 cm y las microperforaciones estarán espaciadas por 5 cm. Estas dimensiones sólo se facilitan a modo de ejemplo y no presentan ningún carácter limitativo.

En el esquema de la figura 2, la entrada de aire dentro del sistema está representada en (14).

- 15
- Se introduce aire en los canales microperforados (9) por canales de conexión (12) que conectan los canales de conexión a una esclusa (13) dotada de una o varias entradas de aire (14).

- 20
- Los campos de aplicación del fermentador de la invención son variados. Se mencionará, a modo de ejemplo, la agricultura con biopesticidas, las biorrefinerías para la transformación de biomasa, los biocarburantes, con la producción de etanol celulósico a partir de biomasa lignocelulósica, la industria farmacéutica (alimentos funcionales, antibióticos), la industria agroalimentaria (producción de mejoradores y aditivos alimentarios), la alimentación animal (enzimas digestivas: amilasas, celulasas, fitasas, etc.), los detergentes (producción de enzimas específicas: proteasas, celulasas, ...), los bioplásticos (PLA, ...), las industrias del papel (producción de enzimas para destintado o blanqueo de las pastas), el campo cosmético (con las enzimas, los antioxidantes y colorantes naturales) y la biocatálisis (enzimas de biotransformación (lipasas, esterasas, ...), la producción de enzima específica a partir de
- 25
- biomasa marina vegetal.

La invención proporciona de este modo medios prácticos, simples, que permiten a cualquier usuario efectuar de manera estéril producciones de biomasa o de metabolitos fúngicos de interés, a bajos precios de coste de los productos. Además, su aplicación asegura una protección de la salud de los manipuladores y del entorno.

- 30

**REIVINDICACIONES**

1. Dispositivo de fermentación en medio sólido (FMS) caracterizado por que comprende
  - un molde externo rígido (1),
  - una parte interna que constituye una cámara de fermentación (2), amovible, de un solo uso, constituida por un material flexible y que comprende dos partes,
  - la parte inferior (8), o cámara baja, más dura, de forma casi idéntica a la del recipiente (3),
  - la parte superior (10) o cámara alta destinada a contener el material a fermentar, formada por un material más flexible, siendo su volumen útil superior al de la parte inferior,
  - medios de aireación que están previstos entre estas dos partes.
2. Dispositivo según la reivindicación 1, caracterizado por que el molde externo rígido (1) comprende un punto de fijación en el centro (7) del recipiente (3) para su paso a la posición vertical u horizontal.
3. Dispositivo según la reivindicación 1 ó 2, caracterizado por que el molde externo (1) comprende un recipiente rígido (3) y una tapa (4).
4. Dispositivo según la reivindicación 3, caracterizado por que los elementos del molde externo (1) se mantienen juntos, mediante medios de fijación (5), especialmente de tipo clips.
5. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que una pluralidad de orificios (6) están previstos para la entrada y la salida de aire y de efluentes gaseosos en los lados laterales del recipiente rígido (3), y en correspondencia, en los lados de la tapa (4).
6. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que la cámara de fermentación (2) comprende medios para la aireación de la masa a fermentar, tales como una rejilla microperforada, alojada entre las dos partes (8) y (10) (techo de la cámara baja y suelo de la cámara alta) o canales de aireación microperforados (9), alojados en la parte inferior (8).
7. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que la parte superior (10) comprende una o varias salidas (11) dotadas de filtros de aire para recoger y evacuar de manera estéril los efluentes gaseosos del biorreactor.
8. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por que los canales de aireación (9) están conectados por canales de conexión (12) a una esclusa (13) que comprende una o varias entradas de aire (14).
9. Aplicación del dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para el cultivo de microorganismos, en particular bacterias, actinomicetos, levaduras, hongos filamentosos) sobre sustratos o soportes sólidos (naturales o sintéticos) impregnados con una solución nutritiva y con un inóculo, micelios, esporas de hongos filamentosos y metabolitos primarios o secundarios, especialmente enzimas, ácidos orgánicos, micotoxinas utilizables en numerosos campos industriales.
10. Aplicación según la reivindicación 9, para la agricultura con biopesticidas, las biorrefinerías para la transformación de biomasa, los biocarburantes, con la producción de etanol celulósico a partir de biomasa lignocelulósica, la industria farmacéutica (alimentos funcionales, antibióticos), la industria agroalimentaria (producción de mejoradores y aditivos alimentarios), la alimentación animal (enzimas digestivas: amilasas, celulasas, fitasas, etc.), los detergentes (producción de enzimas específicas como las proteasas o las celulasas, ...), los bioplásticos (PLA, y otros), las industrias del papel (producción de enzimas para destintado o blanqueo de las pastas), el campo cosmético (con las enzimas, los antioxidantes, colorantes naturales) y la biocatálisis (enzimas de biotransformación (lipasas, esterases, ...)) o la producción de enzima específica a partir de biomasa marina vegetal.

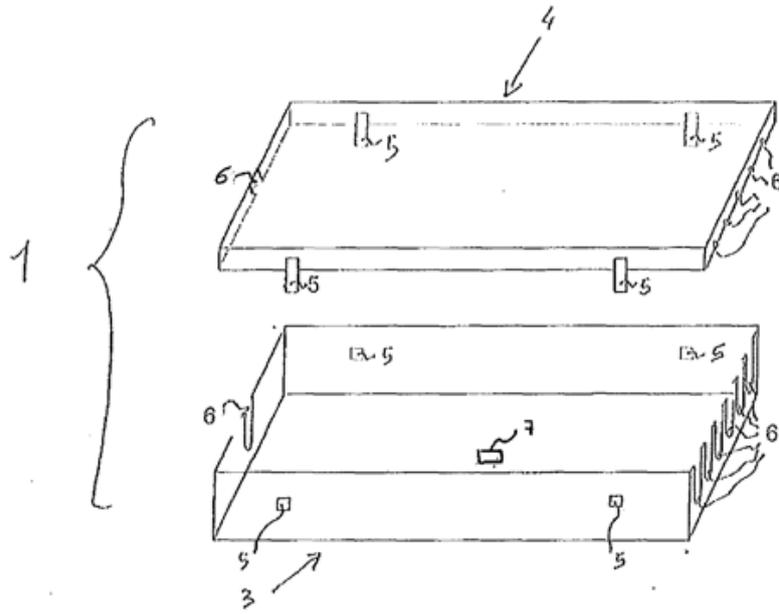


Figura 1

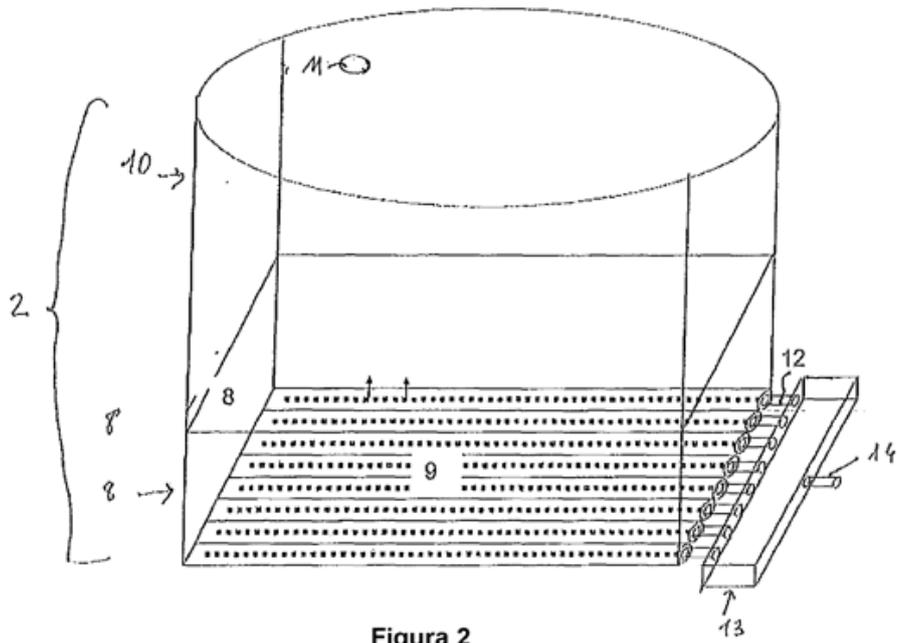


Figura 2