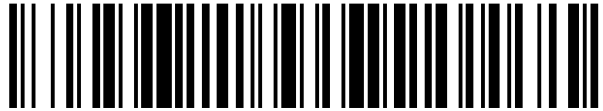


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 994 340**

51 Int. Cl.:

**A23L 3/32** (2006.01)  
**A61N 1/04** (2006.01)  
**A61N 1/32** (2006.01)  
**A61N 1/40** (2006.01)  
**C12M 1/42** (2006.01)  
**C12N 13/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.02.2020** **E 20156008 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2024** **EP 3861863**

54 Título: **Dispositivo ajustado por conductividad para tratar células**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**22.01.2025**

73 Titular/es:

**BÜHLER AG (100.00%)**  
**Gupfenstrasse 5**  
**9240 Uzwil, CH**

72 Inventor/es:

**HUG, JSMEA;**  
**MATHYS, ALEXANDER;**  
**BUCHMANN, LEANDRO y**  
**GEORGET, ERIKA**

74 Agente/Representante:

**DEL VALLE VALIENTE, Sonia**

**ES 2 994 340 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 ajustado por conductividad para tratar células

- 5 La presente invención se refiere a un dispositivo para tratar células utilizado en aplicaciones médicas, ambientales, alimentarias y de industrias de base biológica (incluidas las levaduras, bacterias y microalgas, así como las células vegetales o animales y los sistemas de producción de tejidos celulares), en particular, dirigido a la inactivación, la extracción de compuestos bioactivos y/o la estimulación del crecimiento celular y/o de compuestos celulares.
- 10 Se sabe que la acción de los campos eléctricos tiene un impacto sobre las células procariotas y eucariotas. Puede producirse la estimulación del crecimiento celular, la muerte celular, la inactivación de microorganismos o la extracción específica de componentes celulares, dependiendo de la intensidad de campo eléctrico aplicada (por ejemplo, Buchmann L y Mathys A (2019), Perspective on Pulsed Electric Field Treatment in the Bio-based Industry, Front. Bioneng. Biotechnol. 7:265, doi: 10.3389/fbioe.2019.00265).
- 15 La patente EP-2 308 969 B1 describe un método de PEF (campo eléctrico pulsado) donde un material celular se suspende en un líquido eléctricamente conductor, posicionándose el material celular entre dos electrodos, mediante una exposición de 1 a 100 pulsos eléctricos, de modo que se produzca un aumento de tensión entre los dos electrodos del 10 % al 90 % de una tensión objetivo de los pulsos eléctricos dentro de un período de 0,1 a 100 ns, teniendo los pulsos eléctricos una duración de pulso de 5 ns a 5000 ns, y teniendo los pulsos eléctricos, al alcanzar la tensión objetivo, una intensidad de campo eléctrico de 0,5 kV/cm a 50 kV/cm, mostró una aceleración de la proliferación celular y/o un aumento de los constituyentes celulares.
- 20 En el dispositivo para tratar material celular utilizado en la patente EP 2 308 969 B1, se bombeó de manera continua una cubeta de electroporación, que tenía la suspensión de material celular descrita anteriormente, a través de una disposición de dos electrodos y se expuso a un campo eléctrico en un líquido eléctricamente conductor (párrafo [0020] de la patente EP-2 308 969 B1).
- 25 La disposición de dos electrodos que proporcionan dichos pulsos eléctricos entre ellos puede considerarse un capacitor de placas. Dependiendo del tipo de medio que se disponga entre los electrodos, la capacidad y, por lo tanto, la resistencia de dicho capacitor de placas varía. Como resultado, no se puede garantizar un funcionamiento seguro y estable, ya que la carga aplicada al material que se desea tratar varía dependiendo de la conductividad eléctrica del material.
- 30 La patente EP0283700 describe un dispositivo de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1.
- 35 El problema de la presente invención era proporcionar un dispositivo para tratar células con campo eléctrico de una manera segura, controlable y estable.
- El problema anterior se resolvió según la presente invención como se define en las reivindicaciones independientes.
- 40 En detalle, la presente invención se refiere a un dispositivo que comprende una unidad para generar y emitir pulsos eléctricos, dos o más electrodos o placas de un capacitor que están dispuestos en un circuito eléctrico con dicha unidad, y un espacio de tratamiento dispuesto entre dichos electrodos o placas, de modo que el espacio de tratamiento pueda ser penetrado por los pulsos eléctricos emitidos y un campo eléctrico resultante de los mismos, caracterizado por que al menos una resistencia adicional, preferentemente una resistencia ajustable, está dispuesta en dicho circuito eléctrico.
- 45 Se ha descubierto que, cuando se introduce un material celular en el espacio de tratamiento del dispositivo de la invención, este modifica la conductividad eléctrica de la misma manera que un material que se coloca entre las placas de un capacitor de placas paralelas convencional. Como resultado, se modifican la reactancia y, por lo tanto, la impedancia del capacitor en un circuito de CA.
- 50 Para garantizar una aplicación segura y controlada de los pulsos eléctricos al material celular dentro del espacio de tratamiento, según la presente invención se ha descubierto que cualquier alteración de la conductividad provocada por el material celular en el espacio de tratamiento se debe compensar mediante al menos una resistencia adicional que se proporcionará en el circuito eléctrico y que conecta la unidad para generar y emitir pulsos eléctricos y los dos o más electrodos o placas de un capacitor.
- 55 En consecuencia, se proporciona al menos una resistencia en dicha corriente eléctrica que compensa con precisión la impedancia modificada de la cámara de tratamiento, es decir, los dos o más electrodos o placas de un capacitor y el espacio de tratamiento entre ellos.
- 60 Dado que cada material celular puede tener un efecto diferente en la conductividad eléctrica del dispositivo, según la presente invención la al menos una resistencia adicional es una resistencia ajustable (también denominada resistencia variable). En términos generales, las resistencias ajustables son conocidas en la técnica. En general, una resistencia variable es una resistencia cuyo valor de resistencia eléctrica se puede ajustar. Una resistencia variable es, en esencia, un transductor electromecánico y, normalmente, funciona deslizando un contacto (cursor) sobre un elemento resistivo.
- 65

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, dicha al menos una resistencia ajustable se selecciona del grupo que consiste en un potenciómetro, un reostato o un potenciómetro digital.

5 De acuerdo con una realización de la presente invención, dicha al menos una resistencia ajustable se encuentra en una conexión en serie con respecto a dichos electrodos o placas. De acuerdo con las leyes físicas del electromagnetismo, en una conexión en serie, los valores de resistencia individuales de las resistencias suman un valor de resistencia total del circuito eléctrico. En los casos donde el material celular del espacio de tratamiento reduce la impedancia de la cámara de tratamiento, la al menos una resistencia adicional aumenta el valor de resistencia total del circuito eléctrico, de modo que se alcance el valor de resistencia total que de otro modo estaría presente sin el material celular en el espacio de tratamiento.

10 De acuerdo con otra realización de la presente invención, dicha al menos una resistencia ajustable se encuentra en una conexión en paralelo con respecto a dichos electrodos o placas. De acuerdo con las leyes físicas del electromagnetismo, en una conexión en paralelo, los valores de resistencia recíprocos de las resistencias suman un valor de resistencia total del circuito eléctrico. En los casos donde el material celular en el espacio de tratamiento aumenta la impedancia de la cámara de tratamiento, la al menos una resistencia adicional reduce el valor de resistencia total del circuito eléctrico, de modo que se alcance el valor de resistencia total que de otro modo estaría presente sin el material celular en el espacio de tratamiento.

15 De acuerdo con la presente invención, de 1 a 10, preferentemente de 1 a 5 de dichas resistencias ajustables están dispuestas en dicho circuito eléctrico. La presencia de una pluralidad de resistencias ajustables permite un ajuste preciso mejorado del valor de resistencia total del circuito eléctrico.

20 Dicha al menos una resistencia ajustable debe proporcionarse en el circuito eléctrico entre dicha unidad para generar y emitir pulsos eléctricos y dos o más electrodos o placas de un capacitador.

25 Los circuitos eléctricos adecuados para la presente invención son conocidos por las personas expertas. Una persona experta en la materia puede adaptar tales circuitos eléctricos de manera rutinaria, dependiendo de las necesidades específicas que deba satisfacer el dispositivo de la presente invención.

30 Al ajustar cuidadosamente el valor de resistencia de la al menos una resistencia ajustable, se pueden aplicar unas condiciones de carga coincidentes al espacio de tratamiento. El dispositivo de la presente invención proporciona un tratamiento seguro y controlado en la cámara de tratamiento, independiente de la conductividad eléctrica del material celular que se desea tratar.

35 De acuerdo con la presente invención, dicho ajuste del valor de resistencia de dicha al menos una resistencia ajustable se realiza automáticamente.

La conductividad eléctrica del material que se desea tratar se determina antes de la etapa de tratamiento.

40 De acuerdo con la presente invención, se proporciona una unidad para medir la conductividad eléctrica de un material que se desea tratar en el espacio de tratamiento para generar datos para ajustar dicha al menos una resistencia ajustable. Tales unidades para medir la conductividad eléctrica de un material son conocidas en la técnica y no es necesario tratarlas aquí en detalle. Se puede utilizar cualquier unidad convencional para medir la conductividad eléctrica de un material para los fines de la presente invención.

45 En el ajuste automático del valor de resistencia de dicha al menos una resistencia ajustable, dicho ajuste se realiza, basándose en el valor determinado de la conductividad eléctrica del material que se desea tratar, sin interferencia del usuario. Por ejemplo, la unidad para medir la conductividad eléctrica de un material que se desea tratar en el espacio de tratamiento genera datos que reflejan la conductividad eléctrica del material que se desea tratar y los transmite a un componente que ajusta automáticamente el valor de resistencia de dicha al menos una resistencia ajustable (por ejemplo, moviendo un control deslizante sobre un contacto o, en el caso de una resistencia digital, mediante señales electrónicas). Alternativamente, los datos conocidos de una conductividad eléctrica del material que se desea tratar pueden proporcionarse como entrada por parte de un usuario, por ejemplo, a través de un terminal de usuario, y procesarse en el dispositivo de una manera similar a los datos generados por una unidad para medir la conductividad eléctrica. En términos generales, los dispositivos para el tratamiento eléctrico de material celular son conocidos en la técnica, por ejemplo, a partir de la patente EP-2 308 969 B1 citada anteriormente. Preferentemente, se puede utilizar un dispositivo como el descrito en una de las solicitudes conjuntas pendientes del solicitante "Device for treating cells", "Non-contact device for treating cells" o "Modified treatment chamber for treating cells".

50 Por lo tanto, de acuerdo con una realización preferida, se utiliza un dispositivo que comprende una unidad para generar y emitir pulsos eléctricos, un espacio de tratamiento que puede ser penetrado por los pulsos eléctricos emitidos y un campo eléctrico resultante de los mismos, en donde el dispositivo comprende además una unidad que puede moverse hacia el interior y hacia el exterior de dicho espacio de tratamiento, de modo que el material celular proporcionado dentro de un compartimento de dicha unidad o proporcionado en un recipiente en dicha unidad pueda moverse hacia el interior y hacia el exterior de dicho espacio de tratamiento.

65

5 Por lo tanto, mediante el movimiento de una unidad, un compartimento de dicha unidad o un recipiente dispuesto en dicha unidad se mueve hacia una determinada región del dispositivo, es decir, el espacio de tratamiento. Una vez que el compartimento o recipiente respectivo se ha movido hacia el espacio de tratamiento, un campo eléctrico actúa sobre el material celular proporcionado en dicho compartimento o recipiente. Preferentemente, dicho movimiento de la unidad es un movimiento de rotación. Como resultado, el material celular se somete al campo eléctrico desde una dirección uniaxial y se logra una estimulación homogénea del crecimiento celular.

10 El material celular o una suspensión que contiene el material celular se hace pasar a través de una entrada hacia dicho compartimento o recipiente que está ubicado dentro de la unidad de tratamiento. La entrada está conectada, preferentemente, a un dispositivo en el que está ubicado el material celular o una suspensión que contiene el material celular. Por ejemplo, se pueden proporcionar tuberías convencionales para esta conexión.

15 De acuerdo con la presente invención, se pueden utilizar recipientes convencionales para recibir el material celular. Serían ejemplos los frascos, matraces, tubos de ensayo o cubetas. Preferentemente, los compartimentos proporcionados en la unidad son de forma cilíndrica. Sin embargo, también se pueden utilizar otras formas de compartimentos.

20 La unidad para mover los compartimentos puede ser un cuerpo, preferentemente un cuerpo cilíndrico, que tenga al menos un compartimento para recibir el material celular y esté dispuesto sobre un motor para generar un movimiento de rotación. Los compartimentos (preferentemente de 1 a 20, con mayor preferencia de 2 a 15, aún con mayor preferencia de 5 a 10 compartimentos) son preferentemente agujeros ciegos que tienen unas dimensiones adecuadas.

El dispositivo puede comprender asimismo unidades de relleno y unidades de vaciado para rellenar o vaciar dichos compartimentos.

25 Alternativamente, la unidad puede ser una placa dispuesta sobre un motor para generar un movimiento de rotación, placa sobre la que se puede sujetar el al menos un recipiente. Tales unidades son conocidas. Para impedir que el recipiente se caiga de la unidad durante el movimiento, preferentemente de rotación, la unidad tiene medios para sujetar uno o preferentemente una pluralidad de recipientes. Tales medios son conocidos. Pueden ser, por ejemplo, depresiones (de 1 a 20, preferentemente de 2 a 15, con mayor preferencia de 5 a 10) en la superficie de la unidad o dispositivos de sujeción proporcionados en la superficie de la unidad, tales como abrazaderas o cierres (tapones de rosca, cierres elásticos, cierres magnéticos o similares).

30

35 De acuerdo con otra realización de la presente invención, el dispositivo comprende una unidad para generar y emitir pulsos eléctricos, y una unidad de tratamiento que tiene una entrada y una salida, formándose un espacio de tratamiento dentro de la unidad de tratamiento, pudiendo el espacio de tratamiento ser penetrado por los pulsos eléctricos emitidos y un campo eléctrico resultante de los mismos, caracterizado por que un material celular que entra a través de la entrada hacia el espacio de tratamiento puede moverse sin contacto a través del espacio de tratamiento y los pulsos eléctricos que penetran el espacio de tratamiento hacia la salida.

40 Por movimiento sin contacto (es decir, “sin necesidad de contacto”) se entiende que el material que experimenta el movimiento no entra en contacto directo con las paredes limítrofes (por ejemplo, una tubería o un recipiente) durante el movimiento. Por lo tanto, un movimiento sin contacto según la presente invención se caracteriza por que no hay interacciones con las paredes limítrofes durante la interacción y, en particular, no se forma ningún perfil de flujo no homogéneo (en el caso del movimiento de un líquido, una suspensión o una emulsión).

45

Se hace pasar el material celular o una suspensión que contiene el material celular a través de la entrada de una unidad de tratamiento hacia un espacio de tratamiento que está ubicado dentro de la unidad de tratamiento. La entrada de la unidad de tratamiento está conectada preferentemente a un dispositivo en el que está ubicado el material celular o una suspensión que contiene el material celular. Por ejemplo, se pueden proporcionar tuberías convencionales para esta conexión.

50

La entrada puede comprender una boquilla o la entrada constituye una boquilla. Es posible utilizar boquillas que se pueden utilizar convencionalmente para introducir un medio en un recipiente o espacio definido. Tales boquillas son conocidas. Con esta realización, la velocidad a la que el material celular o una suspensión que contiene el material celular se introduce en la unidad de tratamiento se puede ajustar de manera dirigida. De este modo, se puede ajustar el tiempo de permanencia del material celular en el campo eléctrico aplicado al espacio de tratamiento de la unidad de tratamiento.

55

La unidad de tratamiento puede tener cualquier forma geométrica que permita un paso sin contacto del material celular. Preferentemente, la unidad de tratamiento es un cuerpo cilíndrico. Esta realización se caracteriza por un paso sin contacto del material celular a través del espacio de tratamiento y por que el campo eléctrico penetra el espacio de tratamiento hacia una salida de la unidad de tratamiento. Por lo tanto, el espacio de tratamiento tiene un tamaño adecuado para permitir el paso sin contacto deseado del material celular. De acuerdo con una realización preferida, la unidad de tratamiento es un cuerpo hueco, especialmente preferido un cuerpo hueco cilíndrico, cuyo interior constituye el espacio de tratamiento.

60

Preferentemente, el paso del material celular a través del espacio de tratamiento tiene lugar bajo la acción de la fuerza de la gravedad. En este caso, la entrada y la salida deben disponerse la una con respecto a la otra de modo que el material celular que entra a través de la entrada pase hacia la salida por la acción de la fuerza de la gravedad y pueda escapar de la misma

65

5 hacia el exterior de la unidad de tratamiento. Es especialmente preferida una disposición de entrada y salida la una con respecto a la otra, de modo que la salida esté dispuesta por debajo de la entrada, de modo que la salida esté en la línea de caída de la entrada. En este caso, la entrada está dispuesta preferentemente en la superficie superior, preferentemente el centro de la superficie superior, de la unidad de tratamiento y la salida está dispuesta en la parte inferior, preferentemente el centro de la parte inferior, de la unidad de tratamiento. Por lo tanto, es especialmente preferida una disposición de entrada y salida la una con respecto a la otra, en la que la salida esté ubicada en la línea de caída de la entrada. De acuerdo con la invención, la línea de caída es la trayectoria que recorre un cuerpo en caída libre bajo la influencia de la fuerza de la gravedad.

10 Opcionalmente, se proporciona en la unidad de tratamiento un dispositivo receptor y dicho dispositivo receptor puede suministrar el material celular movido a través del espacio de tratamiento hacia la salida. El dispositivo receptor proporciona una abertura que se ensancha con respecto a la abertura de la salida y mediante la que el material celular que no se mueve en una trayectoria definida se puede guiar de manera óptima y con fiabilidad hacia la salida. Para este fin, el dispositivo receptor tiene una abertura superior con un área de mayor tamaño y una abertura inferior con un área de menor tamaño, en donde el tamaño de las áreas está relacionado con la otra abertura respectiva. De acuerdo con la invención, el dispositivo receptor es preferentemente una unidad en forma de embudo que tiene aberturas circulares.

15 Preferentemente, el espacio de tratamiento se rellena con un material dieléctrico para garantizar o mejorar la penetración del espacio de tratamiento con el campo eléctrico aplicado. Preferentemente, el material dieléctrico es un gas, con mayor preferencia aire.

20 Las unidades para generar y emitir pulsos eléctricos son bien conocidas. De acuerdo con la presente invención, se prefieren los dispositivos que pueden generar impulsos eléctricos como se describe a continuación. Tales dispositivos son conocidos. A modo de ejemplo, se pueden mencionar los generadores de pulsos por cable, los generadores de pulsos basados en semiconductores o los osciladores de relajación.

25 Los pulsos eléctricos generados se emiten en un espacio de tratamiento. Esto se hace preferentemente mediante dos o más electrodos o placas de un capacitor dispuestos en paralelo entre sí, que están dispuestos el uno frente al otro con una distancia adecuada para la generación de pulsos eléctricos. Tales disposiciones son bien conocidas y no es necesario tratarlas aquí en detalle. Preferentemente, dichos dos o más electrodos o placas de un capacitor están dispuestos perpendicularmente a la dirección de movimiento de la unidad en, o sobre, la que se proporciona el compartimento o recipiente. Cuando entra en el espacio de tratamiento el compartimento o recipiente, este toma una posición en el espacio entre dichos electrodos o placas, de modo que se proporcione un electrodo/una placa sobre dicho compartimento o recipiente y se proporcione el otro electrodo o placa por debajo de dicho compartimento o recipiente.

30 El campo eléctrico que se desea aplicar al espacio de tratamiento debe caracterizarse de modo que proporcione el efecto deseado, por ejemplo, que estimule el crecimiento de las células tratadas. Los campos eléctricos correspondientes se conocen del estado de la técnica, por ejemplo, a partir de la patente EP-2 308 969 B1. De acuerdo con la presente invención, se puede utilizar un campo eléctrico generado a partir de tales pulsos eléctricos, de modo que se produzca un aumento de tensión entre los dos electrodos o placas de un capacitor del dispositivo del 10 % al 90 % de una tensión objetivo de los pulsos eléctricos dentro de un periodo de 0,1 a 1000 ns, los pulsos eléctricos tengan una duración de pulso de 5 ns a 50.000 ns y los pulsos eléctricos, al alcanzar la tensión objetivo, tengan una intensidad de campo eléctrico de 0,5 kV/cm a 100 kV/cm.

35 De acuerdo con otra realización de la presente invención, el dispositivo comprende una unidad para generar y emitir pulsos eléctricos, y una unidad de tratamiento que tiene una entrada y una salida, y un espacio de tratamiento que se forma dentro de la unidad de tratamiento, de modo que pueda ser penetrado por pulsos eléctricos y un campo eléctrico resultante de los mismos, estando dicho espacio de tratamiento conectado de manera fluida con la entrada y la salida, caracterizado por que al menos una parte de una cara lateral interior del espacio de tratamiento es curva.

40 Se proporciona un espacio de tratamiento dentro de la unidad de tratamiento, a través del que pasa el material celular y, de este modo, se trata con pulsos eléctricos.

45 El espacio de tratamiento puede tener cualquier forma geométrica, pero tiene preferentemente una forma cuboide. De acuerdo con una realización muy preferida de la presente invención, dicho espacio de tratamiento se posiciona en el centro de la unidad de tratamiento. Se prefiere especialmente que la unidad de tratamiento sea un cuerpo sólido y que el espacio de tratamiento sea una cavidad dentro de dicha unidad de tratamiento, preferentemente en el centro de la unidad de tratamiento. El espacio de tratamiento dentro de la unidad de tratamiento está conectado de manera fluida con la entrada y la salida de la unidad de tratamiento.

50 Al menos una parte de una cara lateral interior del espacio de tratamiento es curva. Dicho de otro modo, el espacio de tratamiento no presenta caras laterales interiores completamente lisas, sino más bien caras al menos parcialmente laterales que tienen un impacto sobre las características de flujo del material que sobresale a través del espacio de tratamiento. Se prefiere especialmente que dicha cara lateral interior del espacio de tratamiento tenga una forma sinusoidal, al menos en una parte del mismo. De acuerdo con esta realización, un diseño preferido del espacio de tratamiento es tal que dos superficies laterales del espacio de tratamiento que se encuentran la una

frente a la otra sean curvas y tengan preferentemente una forma sinusoidal, sobre al menos el 50 %, preferentemente al menos el 75 % y, con la máxima preferencia, el 100 % de sus alturas respectivas.

De acuerdo con la presente invención, el dispositivo descrito en el presente documento es adecuado para aplicaciones médicas, ambientales, alimentarias y de industrias de base biológica (incluidas las levaduras, los lactobacilos, las algas y los sistemas de producción de tejidos celulares), en particular, incluidas la inactivación dirigida, la extracción de compuestos bioactivos y la estimulación del crecimiento celular y/o de los compuestos celulares. Estas aplicaciones se describen en Buchmann L y Mathys A (2019), Perspective on Pulsed Electric Field Treatment in the Bio-based Industry, Front. Bioeng. Biotechnol. 7:265, doi: 10.3389/fbioe.2019.00265. De acuerdo con la presente invención, básicamente cualquier material compuesto por al menos una célula, es decir, tanto células eucariotas como procariotas, puede utilizarse como material celular que se desee tratar. El material celular puede ser de organismos unicelulares o pluricelulares. Serían ejemplos las bacterias, levaduras, microalgas, células vegetales y células fúngicas o sus esporas, micelios, semillas o plántulas, y células animales somáticas. Además, se pueden tratar tejidos pluricelulares tales como meristemos de plantas y tejido epitelial o conjuntivo de seres humanos o animales.

El material celular se aísla, purifica y/o esteriliza normalmente (aunque no necesariamente) de una manera conocida antes de tratarse según la presente invención. Preferentemente, el material celular puede estar propagado ya de una manera conocida en medios de cultivo adecuados y conocidos en una medida deseada antes del tratamiento según la presente invención.

El material celular se suspende preferentemente en un líquido eléctricamente conductor antes del tratamiento según la presente invención. Los líquidos eléctricamente conductores son bien conocidos. De acuerdo con la presente invención, es necesario utilizar líquidos eléctricamente conductores que no tengan efectos adversos sobre la viabilidad celular; es decir, en particular, que no sean tóxicos. De acuerdo con la presente invención, se utiliza preferentemente agua como líquido eléctricamente conductor, en donde el agua se puede ajustar a un valor de pH deseado mediante aditivos adecuados y conocidos. De acuerdo con la presente invención, se prefiere un valor de pH en el intervalo de 6,0 a 14,0, preferentemente de 7 a 12.

De acuerdo con la presente invención, las suspensiones descritas anteriormente pueden prepararse de manera convencional y almacenarse hasta el tratamiento. Sin embargo, las suspensiones también se pueden proporcionar inmediatamente antes del tratamiento según la presente invención.

La presente invención se refiere asimismo a un método para tratar células para la inactivación dirigida, la extracción de compuestos bioactivos y la estimulación del crecimiento celular y/o de los compuestos celulares, realizado preferentemente en un dispositivo como se describe en el presente documento, que comprende las etapas

- a) aplicación de un campo eléctrico a un espacio de tratamiento,
- b) introducción de material celular en el espacio de tratamiento,

caracterizado por que la carga de dicho campo eléctrico se ajusta al material celular que se desea tratar proporcionando al menos una resistencia adicional, preferentemente ajustando al menos una resistencia ajustable.

El método se puede realizar como se ha descrito anteriormente.

Como se ha indicado anteriormente, se prefiere que el material celular se proporcione como suspensión en un líquido eléctricamente conductor en el al menos un recipiente.

Como se ha indicado anteriormente, se prefiere además que se aplique un campo eléctrico con dichos pulsos eléctricos, de modo que se produzca un aumento de tensión entre los dos electrodos o placas de un capacitor del dispositivo del 10 % al 90 % de una tensión objetivo de los pulsos eléctricos dentro de un período de 0,1 a 1000 ns, teniendo los pulsos eléctricos una duración de pulso de 5 ns a 50.000 ns, y teniendo los pulsos eléctricos, al alcanzar la tensión objetivo, una intensidad de campo eléctrico de 0,5 kV/cm a 100 kV/cm.

Como se ha indicado anteriormente, según la presente invención, dicha etapa de ajuste de dicha al menos una resistencia ajustable se lleva a cabo antes de la etapa determinando la conductividad eléctrica del material celular que se desea tratar y ajustando automáticamente dicha al menos una resistencia ajustable dependiendo de dicha conductividad eléctrica determinada.

Como se ha indicado anteriormente, según la presente invención, dicha etapa de determinación de la conductividad eléctrica del material celular que se desea tratar se lleva a cabo midiendo dicha conductividad eléctrica con una unidad de medición.

Como se ha indicado anteriormente, de acuerdo con una realización de la presente invención, el método se lleva a cabo preferentemente de la siguiente manera. En primer lugar, se mueve la unidad de modo que un compartimento o recipiente respectivo en o sobre dicha unidad se mueva hacia una región de relleno, donde se rellena con material celular a través de una unidad de relleno. Alternativamente, se puede proporcionar un recipiente ya relleno sobre dicha unidad.

Posteriormente, se mueve la unidad de nuevo, de modo que el compartimento o recipiente relleno entre en el espacio de tratamiento. Cuando el compartimento o recipiente relleno se ha movido hacia el espacio de tratamiento, se detiene el movimiento de la unidad durante un período de tratamiento del material celular que está presente en el espacio de tratamiento. La conductividad eléctrica del material que se desea tratar se determina antes de que el material entre en el espacio de tratamiento o cuando el material ha entrado en el espacio de tratamiento, pero antes de que se aplique el campo eléctrico. En cualquier caso, la carga del campo eléctrico se ajusta al material que se desea tratar ajustando el valor de resistencia de dicha al menos una resistencia ajustable, como se ha descrito anteriormente.

Una vez realizado el tratamiento, se mueve el compartimento o recipiente relleno, mediante el movimiento de la unidad, hacia una región de vaciado donde el material celular tratado se retira del compartimento o recipiente relleno, como se ha descrito anteriormente. Alternativamente, un recipiente relleno se puede retirar por completo de la unidad. El recipiente o compartimento vacío se puede mover, posteriormente, de nuevo hacia la región de relleno para iniciar otro ciclo de tratamiento. Opcionalmente, se puede realizar una etapa de esterilización/higienización antes del inicio de otro ciclo de tratamiento. Se pueden utilizar procesos de esterilización/higienización conocidos, tales como los procesos basados en vapor, según la presente invención.

De acuerdo con otra realización de la presente invención, se prefiere que se realice un paso sin contacto del material celular a través del espacio de tratamiento y el campo eléctrico que penetra el espacio de tratamiento hacia una salida de la unidad de tratamiento tenga lugar debido a la fuerza de la gravedad.

La presente invención se refiere además al uso del dispositivo según la presente invención que se describe aquí para aplicaciones médicas, ambientales, alimentarias y de industrias de base biológica (incluidas las levaduras, los lactobacilos, las algas y los sistemas de producción de tejidos celulares), en particular, incluidas la inactivación dirigida, la extracción de compuestos bioactivos y la estimulación del crecimiento celular y/o de los compuestos celulares. Estas aplicaciones se describen en Buchmann L y Mathys A (2019), Perspective on Pulsed Electric Field Treatment in the Bio-based Industry, Front. Bioneng. Biotechnol. 7:265, doi: 10.3389/fbioe.2019.00265.

La presente invención se explica a continuación por medio de ejemplos no limitativos y figuras. Se muestran:

Figura 1 Una representación esquemática de una primera realización del dispositivo de la presente invención

Figura 2 Una representación esquemática de una segunda realización del dispositivo de la presente invención

Figura 3 Una representación esquemática de una tercera realización del dispositivo de la presente invención

Figura 4a-c Una representación esquemática de una cuarta realización del dispositivo de la presente invención

Figura 5 Una ilustración esquemática de un circuito eléctrico de acuerdo con un primer ejemplo de la presente invención

Figura 6 Una ilustración esquemática de un circuito eléctrico de acuerdo con un segundo ejemplo de la presente invención

Figura 7 Una ilustración esquemática de un circuito eléctrico de acuerdo con un tercer ejemplo de la presente invención

Figura 8 Una ilustración esquemática de un circuito eléctrico de acuerdo con un cuarto ejemplo de la presente invención

La Figura 1 muestra una representación esquemática de una realización del dispositivo (1) de la presente invención.

El dispositivo tiene una unidad (2) para generar y emitir pulsos eléctricos, por ejemplo, un generador de pulsos. La unidad (2) está conectada eléctricamente a dos electrodos (2a, 2b). Existe un espacio (3) de tratamiento ubicado entre, y cerrado por, los electrodos (2a, 2b), generándose en el espacio (3) de tratamiento un campo eléctrico mediante la unidad (2). Los electrodos (2a, 2b) están dispuestos perpendicularmente a la dirección de movimiento de la unidad (4). Cuando entra en el espacio (3) de tratamiento, el compartimento (4a) toma una posición en el espacio entre dichos electrodos (2a, 2b), de modo que se proporcione un electrodo (2a) sobre dicho compartimento (4a) y se proporcione el otro electrodo (2b) por debajo de dicho compartimento (4a).

Se proporciona una unidad giratoria (4) en el dispositivo (1). En la realización de acuerdo con la Figura 1, esta unidad (4) es un cuerpo cilíndrico que, a modo de ejemplo, en este caso tiene 4 compartimentos (4a) para recibir materiales celulares. Los compartimentos (4a) son agujeros ciegos de dimensiones adecuadas.

La unidad giratoria (4) está dispuesta sobre un motor (6) que genera un movimiento de rotación y provoca un movimiento de rotación en la unidad (4) dispuesta sobre él. Los compartimentos (4a) también experimentan un movimiento de rotación de esta manera. Preferentemente, se gira la unidad (4) al menos una vez alrededor de un eje imaginario definido a través del centro de la unidad (4), donde los compartimentos (4a) experimentan una rotación de 360°. Una rotación completa múltiple de la unidad (4) es posible y ventajosa dependiendo del material celular que se desee tratar.

Se proporciona una resistencia ajustable (9) entre la unidad (2) y el electrodo/la placa (2a). La Figura 1 solo muestra una ilustración esquemática de la presencia de la resistencia ajustable (9). Se hace referencia a las Figuras 4 a 7 para ver ejemplos de disposiciones de circuito eléctrico adecuadas.

- 5 En una región del dispositivo (1) anterior al espacio (3) de tratamiento en la dirección de movimiento de la unidad (4), se rellena un compartimento (4a) con material celular mediante una unidad (7) de relleno.

La unidad (7) de relleno está conectada a un dispositivo (no mostrado) en el que está ubicado el material celular o una suspensión que contiene el material celular.

- 10 La región de relleno está dispuesta de modo que el compartimento (4a) se mueva, en primer lugar, hacia la región de relleno, donde el compartimento (4a) se rellena hasta un volumen deseado (tiempo durante el que el compartimento (4a) permanece en una posición de relleno con respecto a la unidad (7) de relleno) y, posteriormente, la unidad (4) se mueve más, de modo que el compartimento (4a) relleno se transfiere hacia el espacio (3) de tratamiento.

- 15 Posteriormente, el compartimento (4a) relleno se transporta hacia el espacio (3) de tratamiento mediante el movimiento de la unidad (4). En el mismo, el material celular del compartimento (4a) se somete al tratamiento deseado después de que el campo eléctrico se haya ajustado adecuadamente ajustando la resistencia ajustable (9).

- 20 Tras el tratamiento, el material celular se retira del compartimento (4a) mediante una unidad (8) de vaciado. En la realización de la Figura 1, la unidad (8) de vaciado es una tubería que tiene una entrada en una región de vaciado. Cuando el al menos un compartimento (4a) relleno del material celular tratado, después del tratamiento en el espacio (3) de tratamiento, se mueve a la región de vaciado mediante el movimiento de la unidad (4), el compartimento (4a) se puede conectar con la entrada de la unidad (8) de vaciado.

- 25 El compartimento (4a) vacío se puede mover, posteriormente, de nuevo hacia la región de relleno para iniciar otro ciclo de tratamiento.

- 30 La Figura 2 muestra una representación esquemática de una segunda realización del dispositivo (1) de la presente invención. Los números de referencia similares designan los mismos componentes que en la Figura 1.

- 35 En esta realización, se proporciona una unidad (4) en forma de placa. Dicha unidad (4) comprende unos rebajes en los que se pueden disponer de manera fija uno o más recipientes (5) a fin de que no se caigan durante el movimiento de la unidad (4). En la realización de acuerdo con la Figura 2, la unidad (4) comprende 4 rebajes y, por lo tanto, puede admitir 4 recipientes (5).

- 40 Se proporciona una resistencia ajustable (9) entre la unidad (2) y el electrodo/la placa (2a). La Figura 2 solo muestra una ilustración esquemática de la presencia de la resistencia ajustable (9). Se hace referencia a las Figuras 4 a 7 para ver ejemplos de disposiciones de circuito eléctrico adecuadas.

- 45 De manera similar a la realización de acuerdo con la Figura 1, en una región del dispositivo (1) anterior al espacio (3) de tratamiento en la dirección de movimiento de la unidad (4), se rellena un recipiente (5) con material celular mediante una unidad (7) de relleno.

- La unidad (7) de relleno está conectada a un dispositivo (no mostrado) en el que está ubicado el material celular o una suspensión que contiene el material celular.

- 50 La región de relleno está dispuesta de modo que el recipiente (5) se mueva, en primer lugar, hacia la región de relleno, donde el recipiente (5) se rellena hasta un volumen deseado (tiempo durante el que el recipiente (5) permanece en una posición de relleno con respecto a la unidad (7) de relleno) y, posteriormente, la unidad (4) se mueve más, de modo que el recipiente (5) relleno se transfiere hacia el espacio (3) de tratamiento.

- 55 Alternativamente, en lugar de rellenar un recipiente (5) en la región de relleno, también se puede colocar un recipiente (5) relleno (manual o automáticamente) en un rebaje libre de la unidad (4).

- Posteriormente, el recipiente (5) relleno se transporta hacia el espacio (3) de tratamiento mediante el movimiento de la unidad (4). En el mismo, el material celular del recipiente (5) se somete al tratamiento deseado después de que el campo eléctrico se haya ajustado adecuadamente ajustando la resistencia ajustable (9).

- 60 Tras el tratamiento, el material celular se retira del recipiente (5) mediante una unidad (8) de vaciado. En la realización de la Figura 2, la unidad (8) de vaciado es una tubería que tiene una entrada en una región de vaciado. Cuando el al menos un recipiente (5) relleno del material celular tratado, después del tratamiento en el espacio (3) de tratamiento, se mueve a la región de vaciado mediante el movimiento de la unidad (4), el recipiente (5) se puede conectar con la entrada de la unidad (8) de vaciado.

65

Alternativamente, en lugar de vaciar un recipiente (5) en la región de vaciado, también se puede retirar por completo un recipiente relleno (5) (manual o automáticamente) de la unidad (4).

5 El recipiente (5) vacío se puede mover, posteriormente, de nuevo hacia la región de relleno para iniciar otro ciclo de tratamiento. Alternativamente, se puede colocar un recipiente (5) vacío o relleno en un rebaje libre de la unidad (4).

La Figura 3 muestra una representación esquemática de una realización adicional del dispositivo (1) de la presente invención para tratar células para estimular el crecimiento celular.

10 El dispositivo tiene una unidad (2) para generar y emitir pulsos eléctricos, por ejemplo, un generador de pulsos. La unidad (2) está conectada eléctricamente a dos electrodos (2a, 2b). Una unidad (10) de tratamiento (en este caso, cilíndrica) que tiene un espacio (3) de tratamiento en su interior está ubicada entre los dos electrodos (2a, 2b), espacio de tratamiento al que se aplica un campo eléctrico generado por la unidad (2), después de que el campo eléctrico se haya ajustado adecuadamente ajustando la resistencia ajustable (9).

15 Se proporciona una resistencia ajustable (9) entre la unidad (2) y el electrodo/la placa (2b). La Figura 3 solo muestra una ilustración esquemática de la presencia de la resistencia ajustable (9). Se hace referencia a las Figuras 4 a 7 para ver ejemplos de disposiciones de circuito eléctrico adecuadas.

20 Se dispone una entrada (10a) en la superficie superior de la unidad (10) de tratamiento de acuerdo con esta realización, preferentemente en el centro de la superficie superior de la unidad (10) de tratamiento. Se dispone una salida (10b) en la superficie inferior de la unidad (10) de tratamiento de acuerdo con esta realización, preferentemente en el centro de la superficie inferior de la unidad (10) de tratamiento. De acuerdo con esta realización, la salida (10b) está dispuesta en la línea de caída de un material celular que entra en la unidad (10) de tratamiento a través de la entrada (10a) y pasa a través del espacio (3) de tratamiento debido a la fuerza de la gravedad.

25 Se dispone un dispositivo receptor (11) (en este caso, en forma de embudo) en el espacio (3) de tratamiento. El dispositivo receptor (11) está dispuesto de acuerdo con la realización que se muestra aquí en el espacio (3) de tratamiento inmediatamente por encima de la salida (10b), de modo que la abertura inferior del dispositivo receptor (11) esté dispuesta al ras de la abertura (no mostrada aquí) de la salida (10b). De acuerdo con la realización que se muestra aquí, la abertura inferior del dispositivo receptor (11) y la abertura de la salida (10b) tienen la misma área.

30 La Figura 4a muestra una representación esquemática de una realización adicional del dispositivo (1) de la presente invención.

35 El dispositivo tiene una unidad (2) para generar y emitir pulsos eléctricos, por ejemplo, un generador de pulsos. La unidad (2) está conectada eléctricamente a dos electrodos (2a, 2b). Una unidad (10) de tratamiento está ubicada entre los electrodos (2a, 2b). En un espacio (3) de tratamiento dentro de dicha unidad (10) de tratamiento (véanse las Figuras 4b y c), se aplican pulsos eléctricos generados por la unidad (2). Los electrodos (2a, 2b) están dispuestos perpendicularmente a la dirección de movimiento del material que se mueve a través de la unidad (10) de tratamiento. El material entra en la unidad (10) de tratamiento a través de una entrada (10a) en la cara superior de la unidad (10) de tratamiento y abandona la unidad (10) de tratamiento a través de una salida (10b) en la cara inferior de la unidad (10) de tratamiento.

40 En dos caras laterales de la unidad (10) de tratamiento, se proporcionan unas aberturas (12a, 12b), preferentemente en forma de orificios ciegos, en las que se pueden insertar y fijar los electrodos (2a, 2b).

45 En la Figura 4b, se muestra la realización de la Figura 4a, en donde la unidad (10) de tratamiento es un cuerpo sólido con un espacio (3) de tratamiento en forma de cavidad en su centro. La entrada (10a) de la cara superior de la unidad (10) de tratamiento está conectada de manera fluida, mediante un conducto, con el espacio (3) de tratamiento. En esta realización, la conexión fluida tiene forma de embudo sobre su parte inferior que descarga hacia el espacio (3) de tratamiento. La salida (10b) de la cara inferior de la unidad (10) de tratamiento también está conectada de manera fluida, mediante un conducto, con el espacio (3) de tratamiento. En esta realización, la conexión fluida tiene forma de embudo sobre su parte superior que se extiende desde el espacio (3) de tratamiento. En dos caras laterales de la unidad (10) de tratamiento, se proporcionan unas aberturas (12a, 12b) en forma de orificios ciegos para la inserción de electrodos. Estas aberturas se ahúsan en una región adyacente al espacio (3) de tratamiento, es decir, se hacen más pequeñas a medida que se acercan al espacio (3) de tratamiento. Las caras laterales del espacio (3) de tratamiento adyacentes a las aberturas (12a, 12b) son lisas, es decir, no son curvas.

50 La Figura 4c es otra representación esquemática de la unidad (3) de tratamiento de la realización del dispositivo (1) de acuerdo con la Figura 4a. En comparación con la Figura 4b, la unidad (10) de tratamiento gira 90°. Por lo tanto, en la Figura 4c, se muestran las caras laterales del espacio (3) de tratamiento que no están adyacentes a las aberturas (12a, 12b). Estas caras laterales son curvas. En este caso, tienen una forma sinusoidal en la totalidad de su altura.

55 La Figura 5 muestra un ejemplo de una disposición de circuito eléctrico adecuada para la presente invención, por ejemplo, en relación con cualquiera de las realizaciones mostradas en las Figuras 1 a 4a-c anteriores.

En este ejemplo, entre una unidad (2) para generar y emitir pulsos eléctricos y un espacio (3) de tratamiento en el que se desea tratar un material mediante un campo eléctrico, se proporciona una resistencia ajustable (9). En este ejemplo, la resistencia ajustable (9) y el espacio (3) de tratamiento, respectivamente los electrodos o las placas (2a, 2b) alrededor del espacio (3) de tratamiento, están conectados en serie.

5 La Figura 6 muestra otro ejemplo de una disposición de circuito eléctrico adecuada para la presente invención, por ejemplo, en relación con cualquiera de las realizaciones mostradas en las Figuras 1 a 4a-c anteriores.

10 En este ejemplo, después de una unidad (2) para generar y emitir pulsos eléctricos, se proporcionan un espacio (3) de tratamiento en el que se desea tratar un material mediante un campo eléctrico y una resistencia ajustable (9) en una conexión en paralelo.

15 La Figura 7 muestra otro ejemplo de una disposición de circuito eléctrico adecuada para la presente invención, por ejemplo, en relación con cualquiera de las realizaciones mostradas en las Figuras 1 a 4a-c anteriores.

20 En este ejemplo, entre una unidad (2) para generar y emitir pulsos eléctricos y un espacio (3) de tratamiento en el que se desea tratar un material mediante un campo eléctrico, se proporciona una resistencia ajustable (9). En este ejemplo, se proporcionan dos resistencias ajustables (9) en una conexión en paralelo, y estas dos resistencias (9) y el espacio (3) de tratamiento, respectivamente los electrodos o las placas (2a, 2b) alrededor del espacio (3) de tratamiento, están conectados en serie.

La Figura 8 muestra otro ejemplo de una disposición de circuito eléctrico adecuada para la presente invención, por ejemplo, en relación con cualquiera de las realizaciones mostradas en las Figuras 1 a 4a-c anteriores.

25 En este ejemplo, después de una unidad (2) para generar y emitir pulsos eléctricos, se proporcionan un espacio (3) de tratamiento en el que se desea tratar un material mediante un campo eléctrico y tres resistencias ajustables (9) en una conexión en paralelo. Las tres resistencias ajustables (9) están dispuestas de modo que un par de resistencias ajustables (9) conectadas en serie están conectadas en serie a una resistencia ajustable (9) anterior.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo (1) que comprende una unidad (2) para generar y emitir pulsos eléctricos, dos o más electrodos o placas (2a, 2b) de un capacitador que están dispuestos en un circuito eléctrico de dicha unidad (2), y un espacio (3) de tratamiento dispuesto entre dichos electrodos o placas (2a, 2b) de modo que el espacio (3) de tratamiento pueda ser penetrado por los pulsos eléctricos emitidos y un campo eléctrico resultante a partir de los mismos, en donde al menos una resistencia (9) ajustable adicional está dispuesta en dicho circuito eléctrico, **caracterizado por que** se proporciona una unidad para medir la conductividad eléctrica de un material que se desea tratar en el espacio (3) de tratamiento para generar datos para ajustar automáticamente dicha al menos una resistencia ajustable (9) a fin de aplicar condiciones de carga adaptadas sobre el espacio de tratamiento.
2. El dispositivo según la reivindicación 1, **caracterizado por que** dicha al menos una resistencia ajustable (9) está en una conexión en serie con respecto a dichos electrodos o placas (2a, 2b).
3. El dispositivo según la reivindicación 1, **caracterizado por que** dicha al menos una resistencia ajustable (9) está en una conexión en paralelo con respecto a dichos electrodos o placas (2a, 2b).
4. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** de 1 a 10, preferentemente de 1 a 5 de dichas resistencias ajustables (9) están dispuestas en dicho circuito eléctrico.
5. El dispositivo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** dicha al menos una resistencia ajustable (9) se selecciona del grupo que consiste en un potenciómetro, un reostato o un potenciómetro digital.
6. El dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado por que** la unidad (2) puede generar pulsos eléctricos, de modo que se produce un aumento de tensión entre los dos o más electrodos (2a, 2b) del 10 % al 90 % de una tensión objetivo de los pulsos eléctricos dentro de un período de 0,1 a 1000 ns, los pulsos eléctricos tienen una duración de pulso de 5 ns a 50.000 ns, y los pulsos eléctricos, al alcanzar la tensión objetivo, tienen una intensidad de campo eléctrico de 0,5 kV/cm a 100 kV/cm.
7. Un método para tratar células para la inactivación dirigida, la extracción de compuestos bioactivos y la estimulación del crecimiento celular y/o compuestos celulares, realizado en un dispositivo (1) de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde dicho método no se realiza en un cuerpo humano o animal, que comprende las etapas
  - a) aplicación de un campo eléctrico a un espacio (3) de tratamiento,
  - b) introducción de material celular en el espacio (3) de tratamiento,
 en donde la carga de dicho campo eléctrico se ajusta al material celular que se desea tratar ajustando al menos una resistencia ajustable (9), en donde la etapa de ajustar dicha al menos una resistencia ajustable (9) se lleva a cabo antes de la etapa b) determinando la conductividad eléctrica del material celular que se desea tratar mediante una unidad de medición y ajustando automáticamente dicha al menos una resistencia ajustable (9) dependiendo de dicha conductividad eléctrica determinada.
8. El método según la reivindicación 7, **caracterizado por que** la determinación de la conductividad eléctrica del material celular que se desea tratar se lleva a cabo midiendo dicha conductividad eléctrica con la unidad de medición a fin de aplicar unas condiciones de carga adaptadas al espacio de tratamiento.
9. El método según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, **caracterizado por que** se aplica un campo eléctrico con tales pulsos eléctricos, de modo que se produzca un aumento de tensión entre los dos electrodos (2a, 2b) o placas de un capacitador del 10 % al 90 % de una tensión objetivo de los pulsos eléctricos dentro de un período de 0,1 a 1000 ns, teniendo los pulsos eléctricos una duración de pulso de 5 ns a 50.000 ns, y teniendo los pulsos eléctricos, al alcanzar la tensión objetivo, una intensidad de campo eléctrico de 0,5 kV/cm a 100 kV/cm.

Figura 1

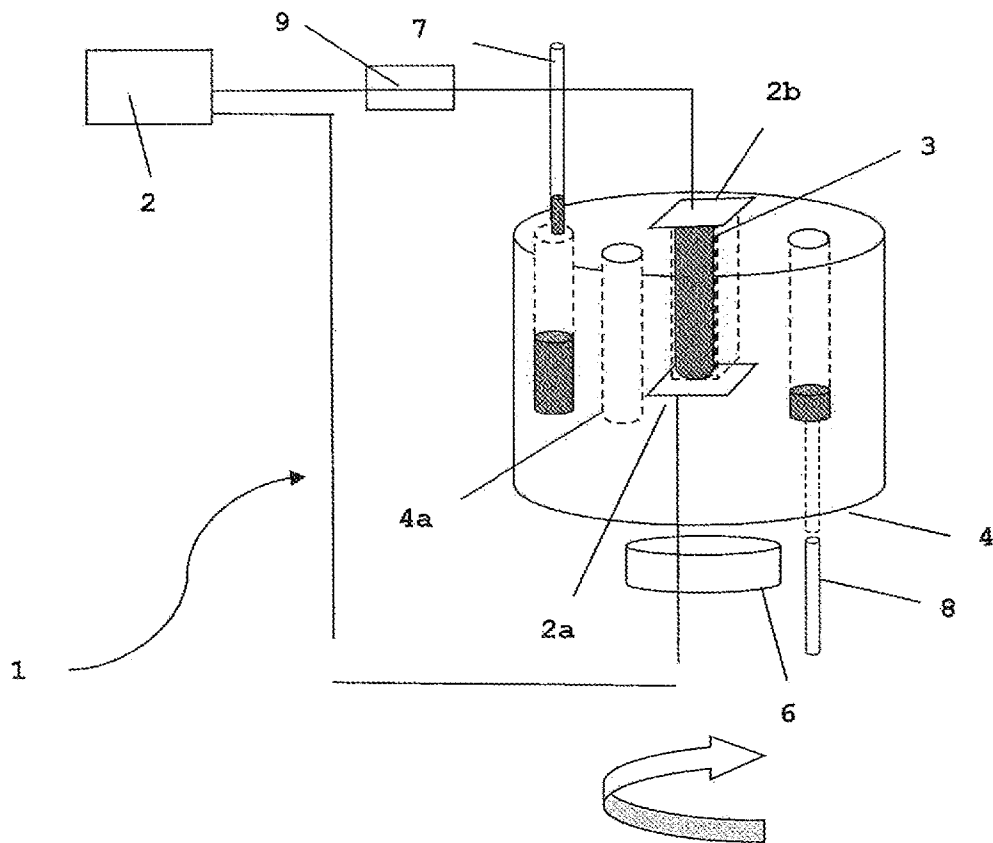


Figura 2

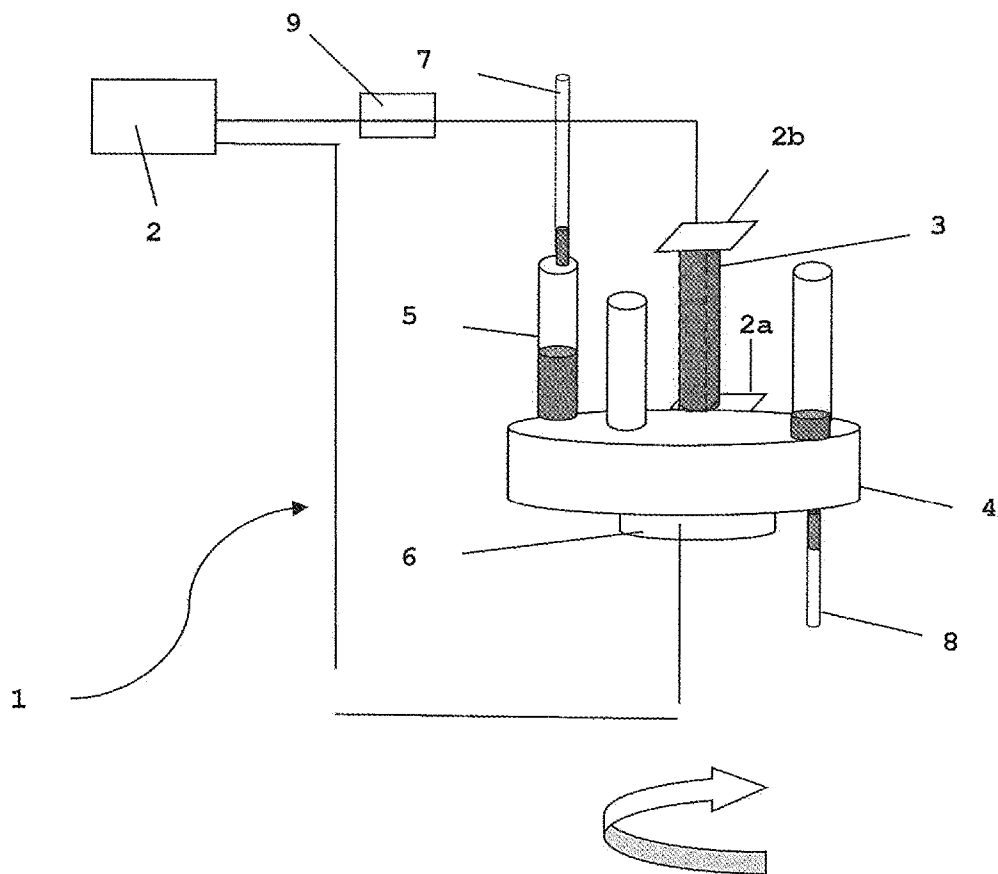


Figura 3

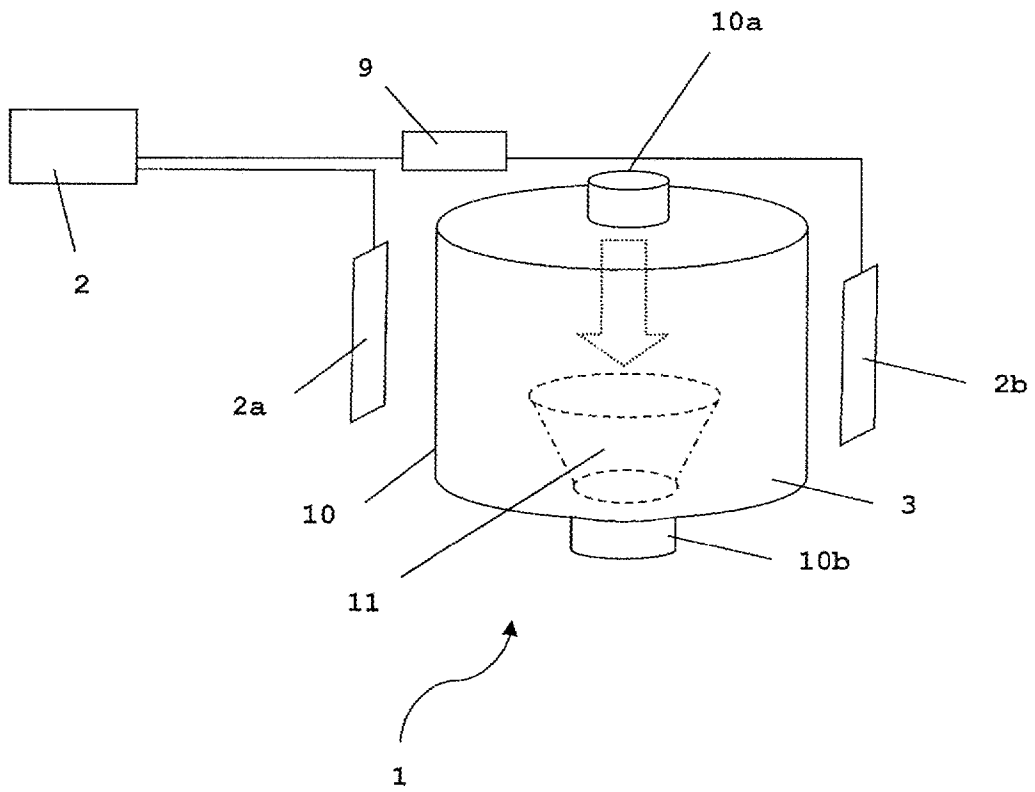


Figura 4a

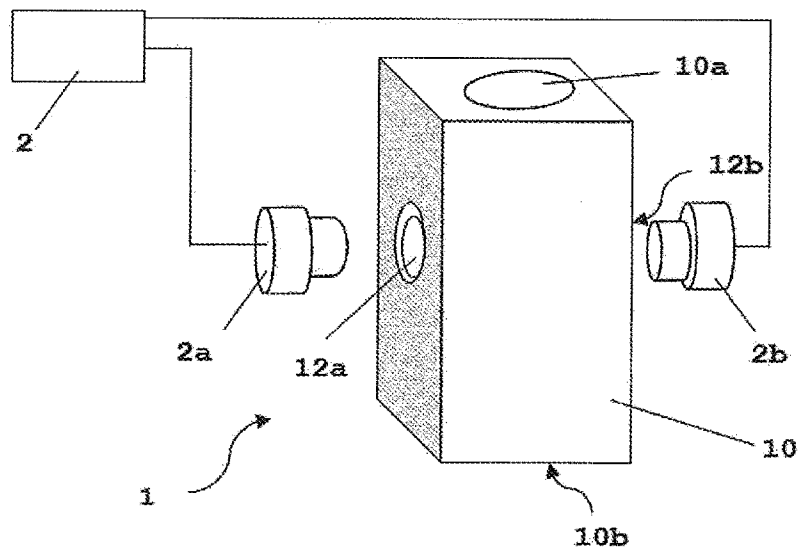


Figura 4b

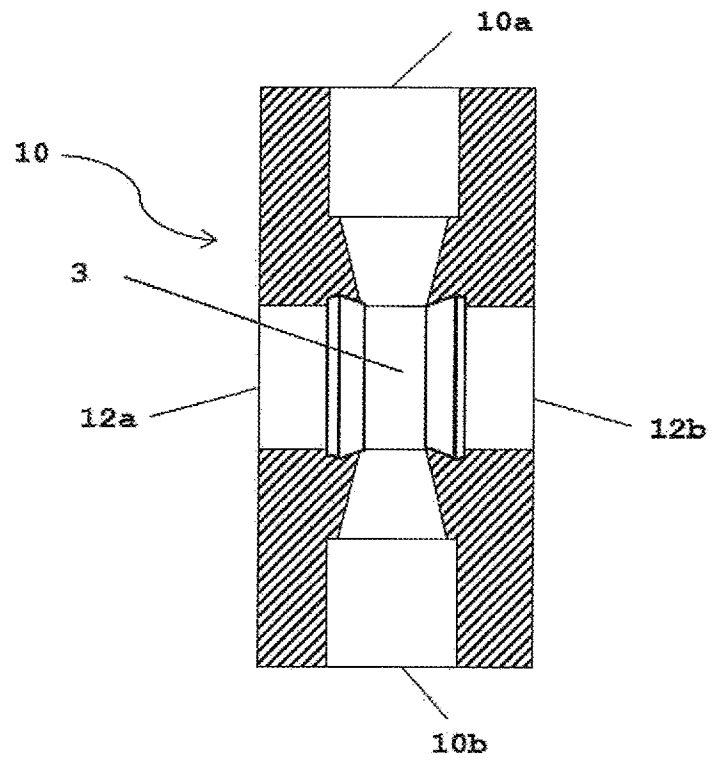


Figura 4c

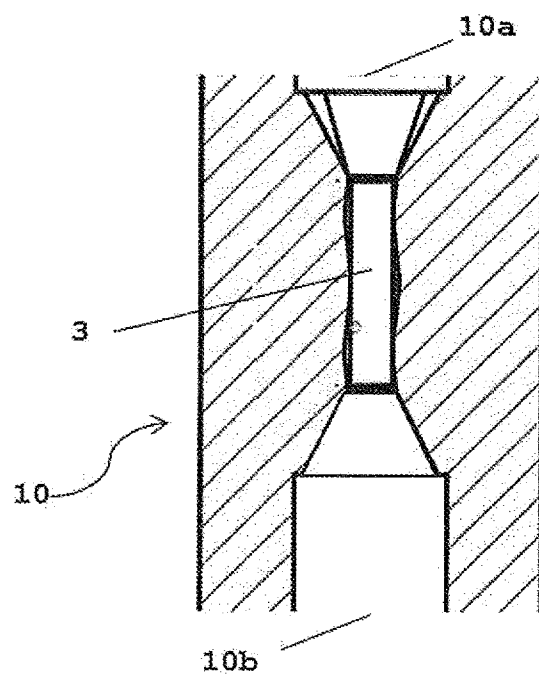


Figura 5

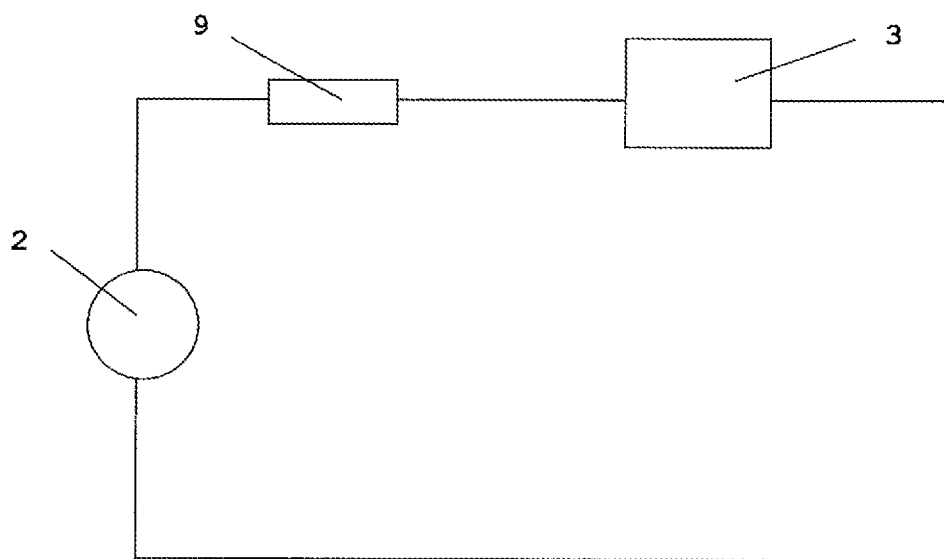


Figura 6

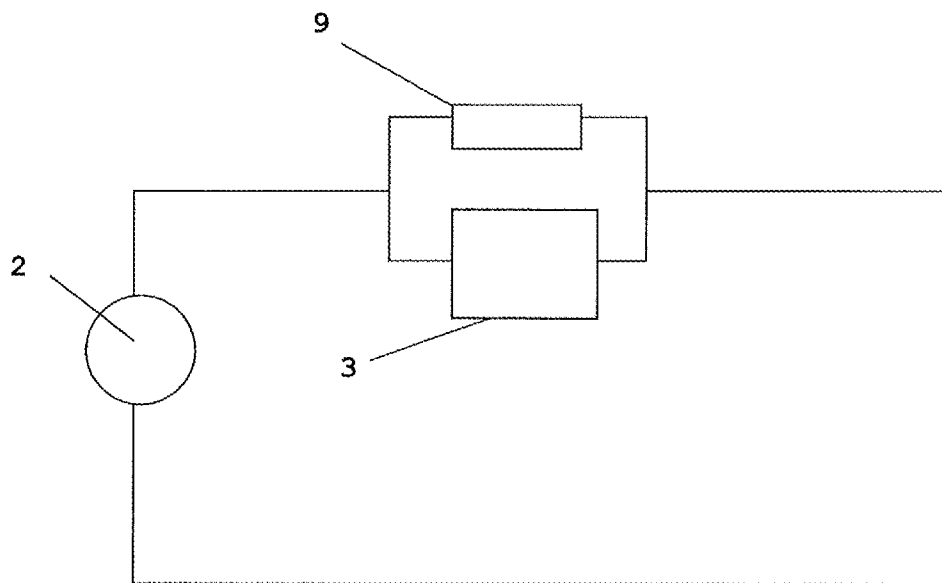


Figura 7

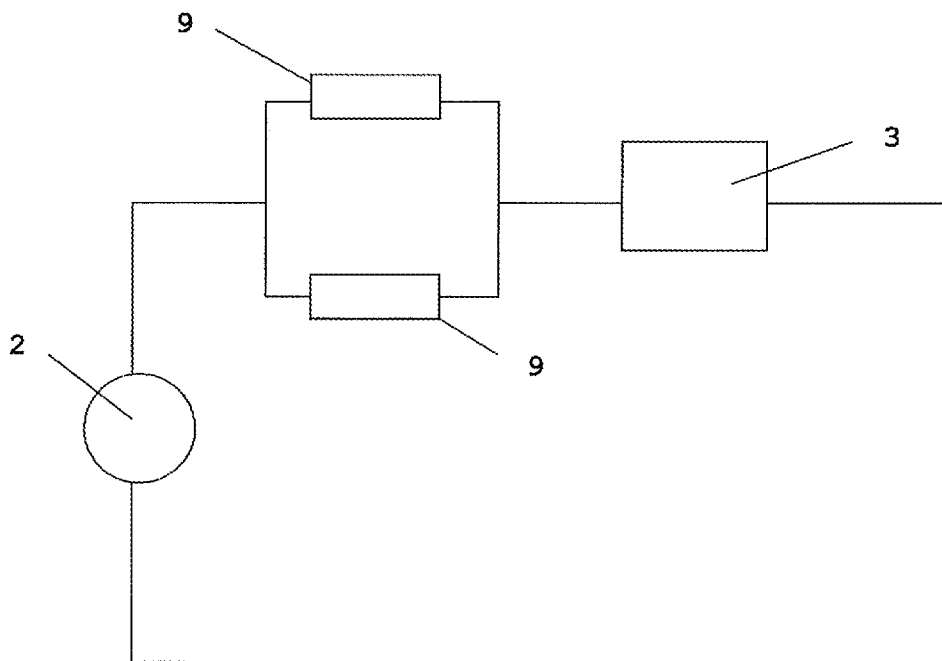


Figura 8

