



(12) **BREVET DE INVENȚIE**

Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată
în termen de 6 luni de la data publicării

(21) Nr. cerere: 94-00732

(22) Data de depozit: 28.04.1994

(30) Prioritate:

(41) Data publicării cererii:
BOPI nr.

(42) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:
30.12.1998 BOPI nr. 12/1998

(45) Data eliberării și publicării brevetului:
BOPI nr.

(61) Perfecționare la brevet:
Nr.

(62) Divizată din cererea:
Nr.

(86) Cerere internațională PCT:
Nr.

(87) Publicare internațională:
Nr.

(56) Documente din stadiul tehnicii:
RO 106760 B1; 95183; DE 3828004 C2

(71) Solicitant: S.C. BIOTEHNOS S.A.-CENTRUL DE BIOTEHNOLOGII, BUCUREȘTI, RO;

(73) Titular: S.C. BIOTEHNOS S.A.-CENTRUL DE BIOTEHNOLOGII, BUCUREȘTI, RO;

(72) Inventatori: GHEORGHIU EUGEN, BUCUREȘTI, RO; GARTU OCTAVIAN-PETRE, BUCUREȘTI, RO;
PAUNESCU TEODOR-GABRIEL, PLOIEȘTI, RO;

(74) Mandatar:

(54) **DISPOZITIV AUTOMAT DE SCHIMBARE CONTINUA,
NEDISTRUCTIVA, A MEDIULUI DE CULTURA**

(57) Rezumat: Invenția se referă la un dispozitiv automat de schimbare continuă, nedistructivă, a mediului de cultură, ce realizează separarea și eliminarea din mediu a unor produse de metabolism toxice, rezultate din procesul de fermentație, conducând la creșterea randamentului procesului fermentativ, concomitent cu adăugarea de mediu de cultură proaspăt, păstrând concentrația de celule constantă, prin realizarea recirculării celulare. Dispozitivul conform invenției este alcătuit dintr-un modul filtrant (1) prevăzut în interior cu o membrană filtrantă (2), două supape (3 și 4) cu dublu sens, cu bilă, ce sunt legate de modulul filtrant (1) prin niște conducte (5 și 6), o pompă dublă (7) cu defazaj de 180° între cele două ieșiri ale supapelor (3 și 4), pompa (7), controlând circulația fluidului în cele două sensuri, astfel ca substanța prelevată din vasul de fermentație să fie transportată printr-o conductă de intrare (9) până la corpul primei supape (3) care o dirijează spre modulul filtrant (1) în care, la nivelul membranei filtrante (2), are loc separarea celulelor de mediul de cultură impurificat, ce este evacuat sau recirculat după o nouă purificare, în timp ce mediul proaspăt este introdus în circuit dintr-un rezervor (11), printr-o conductă (12), și dirijat de a doua

supapă (4) în modulul filtrant (1), unde spală membrana filtrantă (1) și, împreună cu celulele reținute inițial de aceasta, se introduce printr-o conductă (13) în vasul de fermentație.

Revendicări: 2
Figuri: 2

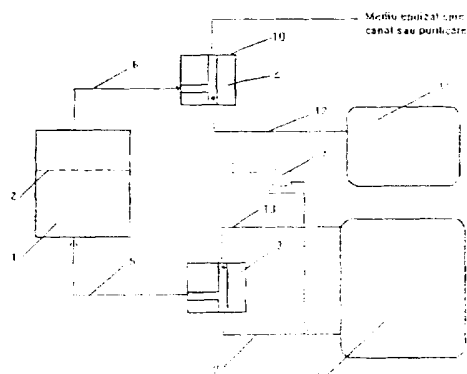


Fig. 1



Prezenta invenție se referă la un dispozitiv automat de schimbare continuă, nedistructivă, a mediului de cultură, ce poate constitui parte componentă a instalațiilor utilizate în procesele biotehnologice de fermentație, din industriile: alimentară, farmaceutică, cosmetică, etc.

Este cunoscut faptul că, în condițiile în care, în biotehnologiile de fermentație nu se utilizează vreun mijloc prin care, metaboliții să poată fi îndepărtați din fermentator, aceștia coexistă cu biomasa, afectând atât dezvoltarea normală a culturii celulare, cât și randamentul în produsul final (Manuel des Alcools - Alcool Handbook pp. 145 -151, J. Ferment Bioeng. vol. 69(1990), nr.1, pp. 39-45, Seibutsu Hanno Process System Handbook, pp. 238-244).

În prezent, recircularea celulară este realizată prin trei tipuri de metode, având la bază următoarele procese: sedimentare, centrifugare și filtrare. În unele procese fermentative, în care se utilizează anumite microorganisme, sedimentarea nu se poate practic aplica, din cauza diferenței mici de densitate dintre celule și mediu, a dimensiunii particulelor suspendate (celulele) și a viscozității mediului, ceea ce face, ca durata sedimentării să fie foarte mare, iar randamentul său mic.

În procedeul de fermentație continuă, prezentat în Brevetul FR 2465793/81, în care se produce alcool etilic, folosind ca materie primă melasa, se realizează o simplă separare centrifugală a celulelor de produsul finit, fără a se schimba sau împrăști mediul de cultură, folosindu-se un separator centrifugal.

Procedeul de producere a etanolului, prin fermentarea zaharurilor, care face obiectul Brevetului GB 2065699/81, se realizează cu o soluție apoasă de materie primă, conținând unul sau mai multe zaharuri fermentabile, iar ca microorganisme se utilizează: *Saccharomyces uvarum*, *Saccharomyces cerevisiae* sau *Schizosaccharomyces pombe*. În acest procedeu, sedimentarea

se face gravitațional, ceea ce necesită un timp îndelungat de separare și recuperare a celulelor ce trebuie reintroduse în fermentator; prezența pompei peristaltice și a sedimentatoarelor gravitaționale implică costuri ridicate de realizare și implementare în faza industrială.

Este cunoscut procedeul de obținere a alcoolului etilic, prin fermentarea continuă a unui substrat ce conține carbohidrați (Brevet PCT 85/02864). Concentrația drojdiei, în vasul de fermentație, este menținută prin reținerea ei în circuitul vasului de fermentație, separator. În faza de separare, din lichidul provenit din fermentație se obține un curent de lichid bogat în drojdie și un altul sărac în drojdie. Lichidul bogat în drojdie se întoarce în vasul de fermentație, fiind supus în prealabil, unei oxigenări, care are loc prin dispersarea lichidului în faza gazoasă sau prin atomizarea lichidului, într-un curent de gaz ce conține oxigen. Aceasta se realizează într-o coloană cu umplutura la vârful căreia se introduce lichidul, care curge gravitațional, în contracurent cu oxigenul sau aerul introdus la baza coloanei. Curentul de lichid sărac în drojdie merge la distilare pentru obținerea alcoolului etilic. Acest procedeu este foarte complex, având în vedere totalitatea operațiilor ce trebuie realizate, ceea ce conduce la creșterea prețului de cost al produsului, un timp de operare destul de mare, utilaje mari consumatoare de energie și costuri de întreținere ridicate.

În Brevetul FR 2477571, se descrie un procedeu de fermentație continuă a unui mediu ce conține un carbohidrat fermentescibil, cu îndepărtarea continuă a unei părți din mediul de cultură și înlocuirea sa, cu un mediu de cultură proaspăt. Celulele sunt separate și recirculate cu ajutorul unor membrane de tip BD "Millipore", iar alcoolul se recuperează din fracția de mediu, care se înlocuiește. Dezavantajul acestui procedeu este că, separarea se face gravitațional, ceea ce conduce la o prelungire a timpului necesar unui ciclu de fermentație.

tație, rezultând în final, o micșorare a productivității. De asemenea, faptul că recuperarea celulelor și înlocuirea mediului de cultură se face, în mod periodic, constituie un impediment semnificativ.

În Brevetul PCT 85/O1164 se descrie procedeul continuu de fermentație al zerului și a altor produse secundare, din industria laptelui, pentru obținerea alcoolilor și a altor produse chimice și farmaceutice, în care componentele, cu masa moleculară mare, se îndepărtează cu ajutorul unor membrane sintetice, prin următoarele etape: introducerea continuă a zerului sau a produselor secundare, trecerea continuă a conținutului din vasul de fermentație printr-un modul filtrant, de unde rezultă fracțiunea permeată și fracțiunea reținută (modulul filtrant incluzând o membrană de filtrare, care are mărimea porilor suficient de mică, pentru a preveni trecerea unei cantități mari de CO_2 , prin membrană și având o greutate moleculară redusă, apropiată de greutatea moleculară a produselor metabolice, cu greutate moleculară mică), recuperarea din fracțiunea permeată a unor produse metabolice cu greutate moleculară mică și recircularea fracțiunii reținute în vasul de fermentare. Dispozitivul prezintă mai multe utilaje, destul de costisitoare și cu costuri de întreținere ridicate, nu permite recunoașterea exactă a debitelor de alimentare și evacuare din sistemul fermentativ, conducând la imposibilitatea menținerii vitezei de evacuare a metabolitelor, la un nivel la care procesul să nu fie inhibat.

Dispozitivul, ce face obiectul acestei invenții, este alcătuit dintr-un modul filtrant prevăzut cu o membrană filtrantă și două supape, cu dublu sens, cu bilă, care au câte o intrare, o ieșire și un al treilea orificiu, care servește, alternativ, ca intrare și ca ieșire, supapele fiind legate de modulul filtrant prin niște conducte, precum și dintr-o pompă dublă cu defazaj de 180° , între cele două ieșiri, pompă care controlează circulația fluidului, în cele două sensuri, astfel, ca, substanța prelevată din vasul de fer-

mentație să fie transportată printr-o conductă de intrare, până la corpul primei supape, care o dirijează către modulul filtrant, în care, la nivelul membranei filtrante are loc separarea celulelor de mediul de cultură impurificat, acesta din urmă fiind trecut prin cea de-a doua supapă și printr-o conductă de ieșire, de unde este evacuat sau recirculat după o purificare suplimentară, în timp ce mediul proaspăt este adus în circuit, dintr-un rezervor, printr-o altă conductă și dirijat de către a doua supapă în modulul filtrant, unde spală membrana filtrantă și, împreună cu celulele reținute inițial de aceasta, se introduce în vasul de fermentație, printr-o conductă.

Dispozitivul, conform invenției, prezintă următoarele avantaje:

- permite schimbarea continuă, nedistructivă, a mediului de cultură;
- realizează separarea și eliminarea din mediu, a unor produse de metabolism, toxice, rezultate din procesul de fermentație, operații care conduc la creșterea randamentului procesului fermentativ;
- permite adăugarea de mediu de cultură proaspăt și menținerea concentrației de celule constantă, fără a folosi elemente auxiliare de automatizare;
- versatilitatea dispozitivului, pentru realizarea unei largi game de aplicații practice, ce rezultă din faptul că filtrul, fiind ușor demontabil, permite utilizarea oricărui tip de membrană și are compartimente de volume cunoscute, iar pompa, cu care se lucrează, permite reglarea cu precizie a debitelor, la care funcționează;
- poate conduce la utilizarea la maximum a mediului de cultură, prin recirculări multiple;
- este sterilizabil cu ușurință;
- permite circulația în dublu sens, un avantaj remarcabil față de filtrul clasic, unidirecțional, ceea ce conduce la prelungirea duratei de utilizare a membranei filtrante;
- costuri mici de realizare și implementare practică;
- permite îmbunătățirea ameste-

cării în fermentator, prin recircularea biomasei;

- mărește suprafața de contact între faze, datorită recirculării, măbind astfel capacitatea de oxigenare a biomasei;

- permite îmbunătățirea coeficienților de transfer de masă și căldură în fermentator.

Se dă, în continuare, un exemplu de realizare a invenției, în legătură cu fig. 1 și 2, care reprezintă schema bloc a dispozitivului, conform invenției:

- fig. 1.1, reprezintă schema bloc a dispozitivului, conform invenției, în poziția de spălare a membranei;

-fig. 1.2, reprezintă schema bloc a dispozitivului, conform invenției, în poziția de încărcare a membranei ;

- fig.2, reprezintă schema bloc a dispozitivului, conform invenției, care are ca parte componentă supapa cu dublu circuit.

Dispozitivul, ce face obiectul prezentei invenții, este utilizat la prelevarea unei cantități de substanță din vasul de fermentație **8**, în care se desfășoară procesul fermentativ, în care coexistă biomasa cu mediul de cultură și cu metaboliții, care este transportată prin conducta de intrare **9**, până la corpul primei supape **3**, care dirijează substanța prelevată din vasul de fermentație **8**, către modulul filtrant **1** unde are loc, la nivelul membranei filtrante **2**, separarea celulelor de mediul de cultură impurificat; acesta din urmă este trecut prin conducta **6**, prin cea de-a doua supapă **4** și prin conducta de ieșire **10**, de unde poate merge, fie la canal (este deversat), fie la o eventuală instalație suplimentară de purificare a mediului de cultură, astfel ca, mediul de cultură rezultat să poată fi reintrodus în circuit. Mediul proaspăt este introdus în circuit, prin conducta **12**, și este dirijat de către supapa **4** în modulul filtrant **1**, unde spală membrana filtrantă **2** și, împreună cu celulele reținute inițial de aceasta, se întoarce prin conducta **9**, în vasul de fermentație **8**. Cele două configurații de

funcționare ale dispozitivului sunt prezentate în fig. 1.1 și 1.2.

Supapele **3** și **4** sunt principial identice, ele fiind prezentate în fig. 2 și având în compunere un canal central **E**, în poziție verticală, care prezintă două orificii **A** și **B**, și un orificiu lateral **C**. Pe canalul **E** poate culisa o bilă **D**, a cărei poziție normală este, datorită greutateii sale, în dreptul intrării **B**. La intrarea lichidului în supapă, prin canalul **O**, acesta găsește bila **D**, obturând ieșirea **B** și va părași supapa, prin ieșirea **A**. Celălalt circuit prin supapă are loc atunci când, lichidul pătrunde prin intrarea **B** și împinge bila **D**, până când aceasta depășește în înălțime nivelul canalului lateral corespunzător ieșirii **C**, pe unde este evacuat.

Astfel, proba de suspensie, prelevată din bioreactor, parcurge supapa **3** pe traseul **B-C** și mediul impur, separat de celule în modulul filtrant **1**, trece prin supapa **4**, pe traseul **C-A**, părăsind sistemul, prin conducta **10**. Celulele, împreună cu mediul proaspăt care intră prin supapa **4** pe traseul **B-C**, vor fi reintroduse în vasul de fermentație, parcurgând supapa **3** pe traseul **C-A**.

Revendicări

1. Dispozitiv automat, de schimbare continuă, nedistructivă a mediului de cultură, **caracterizat prin aceea că**, în scopul separării și eliminării din mediu a unor produse de metabolism, toxice, rezultate din procesul de fermentație este alcătuit dintr-un modul filtrant (**1**) ,prevăzut cu o membrană filtrantă (**2**) și două supape(**3** și **4**), cu dublu sens cu bilă, care au câte o intrare, o ieșire și un al treilea orificiu, care servește, alternativ, ca intrare și ca ieșire, supapele fiind legate de modulul filtrant (**1**) prin niște conducte (**5** și **6**), precum și dintr-o pompă dublă (**7**) cu defazaj de 180°, între cele două ieșiri, pompă care controlează circulația fluidului în cele două sensuri, astfel că, substanța prelevată

din vasul de fermentație să fie transportată printr-o conductă de intrare (9), până la corpul primei supape (3), care o dirijează către modulul filtrant (1) în care, la nivelul membranei filtrante (2), are loc separarea celulelor de mediul de cultură impurificat, acesta din urmă fiind trecut prin aceea de-a doua supapă (4) și printr-o conductă de ieșire (10), de unde poate fi eliminat sau poate fi reintrodus în circuit, după o purificare suplimentară, în timp ce mediul proaspăt este adus în circuit dintr-un rezervor (11), printr-o altă conductă (12) și dirijat de către a doua supapă (4), în modulul filtrant (1), unde spală membrana filtrantă (2) și, împreună cu celulele reținute inițial de aceasta, se introduce în vasul de fermentație printr-o conductă (13).

2. Dispozitiv automat de schim-

bare continuă nedistructivă a mediului de cultură, conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** supape (3 și 4) sunt identice și au în compunere un canal central (E), în poziție verticală, care prezintă două orificii (A și B), situate pe axa verticală, și un orificiu lateral (C), pe canalul vertical (E) culisând o bilă (D), a cărei poziție normală este, datorită greutății sale, în dreptul intrării inferioare (B) de pe acest canal, astfel că, lichidul care intră în supapă, prin orificiul lateral (C), din cauza bilei (D), care obturează ieșirea inferioară (B), va părăsi supapa prin ieșirea superioară (A), iar lichidul care pătrunde prin intrarea inferioară (B) de pe canalul vertical (E) împinge bila (D) până când aceasta depășește în înălțime nivelul canalului lateral (C), fiind evacuat prin acesta.

Președintele comisiei de examinare: **ing. Barbu Mara**
 Examinator: **ing. Georgescu Mirela**

(51) Int.Cl.⁶ C 12 M 1/113;
C 12 M 1/12;
C 12 M 1/26;
C 12 M 1/36;

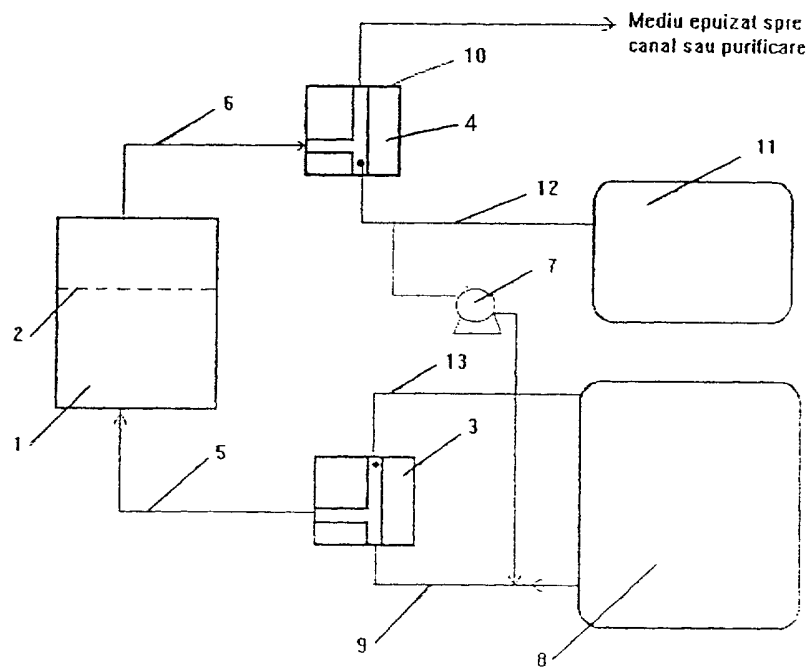


Fig. 1.1

(51) Int.Cl.⁶ C 12 M 1/113;
C 12 M 1/12;
C 12 M 1/26;
C 12 M 1/36

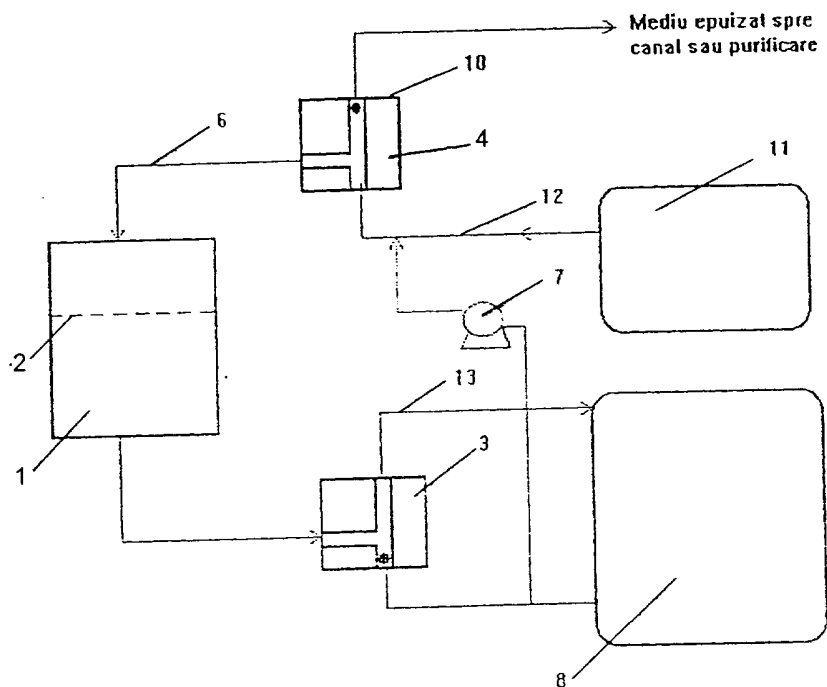


Fig. 1.2

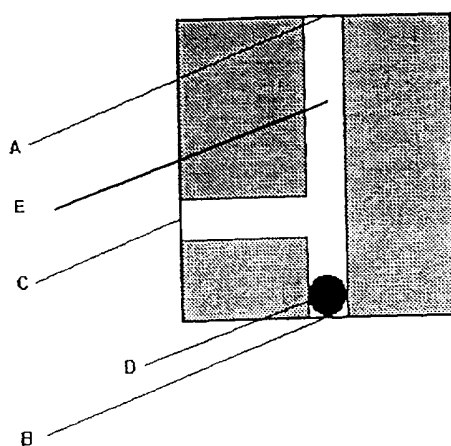


Fig. 2