

193056

1 93 056

MEMORIA DESCRIPTIVA

SCHENLEY INDUSTRIES, Incorporación.- NEW YORK 1, (New York Estados Unidos de América del Norte).



1 93 056

15 MAR
MALA REPRODUCCION
POR DEFECTO DEL ORIGINAL

193056

PATENTE DE INVENCION
por 20 años

por "Un método continuo para la aplicación de procedi-
mientos microbiológicos" - - - - -

a favor de: SORENLEY INDUSTRIES, Inc., de nacionalidad
norteamericana, domiciliada en: 350, Fifth Avenue, NEW
YORK, I, (New York, Estados Unidos de América del Norte).

- - - - -

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a un método conti-
nuo para la aplicación de procedimientos microbiológicos.

Dicho método se aplica a la producción de antibió-
ticos por medio de los referidos procedimientos microbio-
lógicos.

5

Y el mismo se aplica sobre todo a la producción de
penicilina mediante mohos capaces de producirla.

Es preferible utilizar un líquido nutritivo para la
propagación de "Penicillium notatum", y producir la peni-
cilina en dicho líquido nutritivo. Se prefiere asimismo

10

1 93 056



- 2 -

utilizar la técnica de cultivo sumergido.

Es conocido el método que consiste en propagar "Penicillium notatum" y producir penicilina en medios nutricios líquidos, utilizando la técnica de cultivo sumergido. En dicha técnica, el mocho se sumerge en el líquido nutritivo, el cual se somete a agitación y aireación.

Tales procedimientos microbiológicos se han llevado a la práctica hasta ahora empleando el método por partidas, mediante el cual una partida del líquido nutritivo es inoculada con el respectivo mocho u otro microorganismo, y la fermentación es llevada a término en dicha partida mientras se la agita y airea, hasta que la máxima producción de penicilina, por ejemplo, quede terminada en la referida partida.

Semejante método por partidas es lento y costoso, y tiene otros muchos inconvenientes, especialmente cuando se aplica a la producción de antibióticos, y más particularmente a la producción de penicilina mediante la acción del "Penicillium notatum".

En el método por partidas, el líquido nutritivo estéril está expuesto en cada inoculación a infección que puede emanar del producto inoculado o de la atmósfera exterior, debido a errores técnicos durante la etapa de inoculación.

En cada inoculación el mocho, que debe prepararse separadamente para cada partida, está expuesto a una mutación inconveniente, que disminuye su capacidad pro-



1 93 056

- 3 -

ductora de penicilina. Por consiguiente, el rendimiento está sujeto a cambios indeseables en cada nueva partida.

5 En la producción de penicilina en una partida de tal medio, la actividad de propagación del moho aumenta hasta llegar al máximo después de cierto período de tiempo, que depende de las condiciones de propagación. Dicha actividad disminuye luego. Cuando está en su grado máximo, la fermentación prolongada produce sustancias que tienden a destruir la penicilina en la partida de líquido. 10 Tales sustancias perjudiciales comprenden un exceso de ciertos ácidos orgánicos, o amoniaco que se produce por la deaminación de los ácidos amínicos.

15 Cuando se agrega producto de inoculación a una nueva partida de líquido nutritivo, hay un largo período inicial de incubación, el cual aumenta el tiempo y el coste de la producción. Cuando la fermentación de la partida ha terminado, es necesario vaciar y limpiar el fermentador o depósito, esterilizarlo después del vaciado, luego 20 llenarlo con una nueva partida de líquido nutritivo, y después esterilizar dicha nueva partida en el depósito. Este procedimiento bastante largo aumenta aún más el tiempo y el coste de la producción.

25 De acuerdo con el método de la invención, se asegura una producción continua y se eliminan los inconvenientes antes mencionados. Se utilizan una pluralidad de recipientes de fermentación, dos o más, que se emplean en

1 93 056



- 4 -

serie.

Se propaga el moho u otro microorganismo en el medio nutritivo del primer fermentador, y se mantiene en el mismo la fermentación en un valor inferior al que produciría substancias inconvenientes, o un exceso de substancias que son perjudiciales en una concentración elevada. Se transfiere parte del líquido nutritivo y moho u otro microorganismo parcialmente fermentados desde dicho primer fermentador al siguiente. Se toman otras precauciones y medidas que luego se explicarán.

Otras muchas características y ventajas de la invención se indican en la siguiente descripción que se hará con auxilio del dibujo esquemático adjunto.

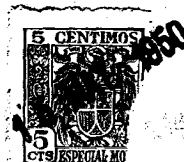
La invención quedará aclarada por medio de un ejemplo, que se refiere a la producción de penicilina por medio de "Penicillium notatum".

E J E M P L O.

ETAPA Nº 1.

El primer fermentador o recipiente A está cerrado, salvo para la admisión de productos esterilizados, para lo cual se encuentra en comunicación con un recipiente C que contiene el producto de inoculación, y con dos recipientes de almacenado D y D' que contienen el líquido nutritivo esterilizado. La capacidad de dicho primer fermentador A es de 27.260 litros. Este recipiente A, que constituye una primera zona de fermentación, se llena parcialmente con un primer suministro de 18.173 litros de líquido nutritivo, que se compone de 17.263 litros de agua, 589

1 93 056



- 5 -

kilogramos de licor corriente de maceración de maíz y 294 kilogramos de azúcar de leche. Puede utilizarse cualquier líquido nutricio apropiado.

5 El líquido nutricio se esteriliza calentándolo en los recipientes cerrados A y D y D' a una presión de 6'79 kilogramos por 2'54 centímetros cuadrados, que corresponde a una temperatura de unos 121° C., durante un período de tiempo de 45 minutos.

10 Las tuberías de comunicación entre el recipiente A y los recipientes B, C, D y D' están cerradas durante dicho período de caldeo. Esta aplicación de calor esteriliza también el interior del recipiente A. Dicho recipiente cerrado A y su contenido se enfrían luego a una temperatura de 24° C., permaneciendo cerradas mientras
15 tanto dichas tuberías de comunicación. Siendo el dibujo adjunto puramente esquemático, las válvulas necesarias de las referidas tuberías no están indicadas en el mismo. La alimentación de los respectivos recipientes puede efectuarse por la acción de la gravedad, o bien pueden utilizarse bombas, siempre que todas las partes se mantengan
20 absolutamente estériles y estén protegidas contra toda contaminación, debida a microorganismos descarrados.

ETAPA Nº 2.

25 Después de haberse enfriado el líquido nutricio esterilizado del recipiente A a 24° C., se inocular la partida de 18.173 litros con 454 litros de producto de inoculación típico procedente del recipiente C. El moho se



1 93056

- 6 -

propaga en el líquido nutricio del referido recipiente A durante un período de 48 horas, manteniéndose durante el mismo la temperatura a 24° C. Los 454 litros de producto de inoculación se mezclan inmediatamente de modo uniforme con los 18.173 litros de líquido nutricio. En este ejemplo, se utiliza la técnica de cultivo sumergido para propagar el moho. El contenido del recipiente A se agita vigorosamente, y el desarrollo del moho se promueve haciendo pasar 76 metros cúbicos de aire estéril por minuto a través del contenido del recipiente A por medio del aparato agitador y distribuidor corriente, insuflándose dicho aire en dirección ascendente en la forma usual, para asegurar una aireación continua y uniforme de dicho contenido. Esta se efectúa a razón de 0'018 metros cúbicos de aire aproximadamente por minuto, por cada 4'54 litros de líquido nutricio de la cantidad inicial.

Como queda dicho, el período de propagación en el recipiente A es de 48 horas. Al término de dicho período, el pH del contenido del depósito es de 7,0 a 7,2, según sea la clase de moho utilizado.

Al término de dicho período de 48 horas, el contenido de moho es de 0,5 a 0,6 gramo (base seca) por cada 100 centímetros cúbicos de líquido nutricio.

Si el líquido se hiciera fermentar en el recipiente A hasta el grado máximo por medio de "Penicillium notatum", la producción de moho sería de 0,7 a 0,8 gramo (base seca) aproximadamente por cada 100 centímetros cúbicos.

1 93 056 116



- 7 -

bicos de líquido nutricio, y el pH sería de 7,3 aproximadamente.

Al término de este período de propagación de 48 horas en el recipiente A, la actividad de la propagación se encuentra en su grado máximo, pero la fermentación no ha producido todavía sustancias perjudiciales, ni un exceso de sustancias que lo son a una concentración elevada. Esta fase nociva de la fermentación, que produciría amoníaco o un exceso de ácidos orgánicos, sucede a la de la máxima proporción de propagación, después de un corto período de tiempo.

ETAPA Nº 3.

El líquido fermentado del recipiente A, inmediatamente después de terminado dicho período de 48 horas, se hace pasar en forma continua al segundo fermentador o recipiente B, a razón de 375 litros por hora. Dicho recipiente B es estéril y constituye una segunda zona de fermentación. El líquido que se hace pasar al mismo contiene líquido nutricio no consumido, bolitas de mohe y penicilina. El contenido del recipiente A se mantiene en un volumen constante de 18.173 litros, haciendo pasar nuevo líquido nutricio esterilizado desde el recipiente de almacenado D o D' al recipiente A, en la misma proporción de 375 litros por hora. Dicho nuevo líquido nutricio tiene la misma composición que el inicial del recipiente A, y se suministra al mismo a una temperatura de 24º C., que es la que se mantiene en dicho recipiente A.

1 93 056



- 8 -

La renovación del contenido del recipiente A mediante la admisión de nuevo líquido nutricio totalmente no fermentado, tiene por efecto evitar que la fermentación en dicho recipiente alcance el punto o valor perjudicial en que se producen sustancias no convenientes o concentraciones excesivas de materias que sólo son inocuas en concentraciones reducidas. Al mismo tiempo, se mantiene el valor de la propagación del moho en el referido recipiente en su grado más violento y activo.

El recipiente B tiene una capacidad de 9.086 litros. El material procedente del recipiente A se hace pasar al mismo durante un período de rellenado de 12 a 16 horas, cuidando de que el volumen del contenido de este recipiente B se mantenga inferior a unos 6.814 litros. El material que se suministra al mismo procedente del recipiente A tiene por lo menos 150 a 250 unidades de actividad por centímetro cúbico, según sea la clase del moho productor de penicilina.

Durante el período de rellenado, la mezcla de líquido nutricio y moho y penicilina que se suministra desde el recipiente A al B se mantiene en éste a una temperatura de 24° C., que es la que se conserva en todo tiempo en dicho recipiente B.

El valor de la propagación del moho en el referido recipiente B se reduce por debajo de la de propagación en el recipiente A, evitándose de este modo la formación de amoniaco, exceso de ácidos orgánicos y otras materias

1 93 056



- 9 -

nocivas.

ETAPA Nº 4.

Una vez que el contenido del recipiente B ha alcanzado el volumen requerido de unos 6.814 litros, se mantiene éste constante extrayendo material del mismo en la misma proporción en que se ha alimentado, es decir a razón de unos 375 litros por hora. El proceso es, por consiguiente, continuo después de dicho período inicial de relleno de 12 a 16 horas. El material que se saca de este modo en forma continua del recipiente B es el caldo o producto final. Este tiene un contenido de penicilina por lo menos de 250 a 350 unidades por centímetro cúbico. Su pH es de unos 7,3. Mientras tiene lugar el procedimiento continuo, el valor de la propagación del moho en el depósito B se mantiene lo suficientemente inferior a la de propagación del moho en el recipiente A, a fin de evitar la formación de amoníaco, exceso de ácidos orgánicos y otras sustancias nocivas.

Continuando la fermentación en el recipiente B, sin aireación, puede mantenerse el valor del desarrollo de moho en el mismo en un grado inferior a aquél en que se producen las materias perjudiciales. La mezcla contenida en dicho depósito puede, si se desea, agitarse mecánicamente, sin aireación, durante el período de relleno y mientras está en curso el proceso continuo.

Puede efectuarse una cierta aireación del material del recipiente B. Por ejemplo si la segunda cantidad in-

1 93 056



- 10 -

5 troducida en el mismo se mantiene en un volumen de 6.814 litros, puede utilizarse aire estéril para airear dicha cantidad por medio del aparato agitador y distribuidor usual, a razón de 6 metros cúbicos por minuto: esto es, a razón de 0'0039 metros cúbicos aproximadamente, por minuto, por cada 4'54 litros de líquido nutritivo de dicha segunda cantidad. El aire se insufla en dirección ascendente a través de ésta, en la forma usual, utilizando el agitador corriente.

10 He aquí algunas de las ventajas importantes de la invención:

15 Se extrae el material del recipiente A cuando el moho está en su fase más violenta y activa, y antes de que se produzcan en el líquido nutritivo excesos de ácidos orgánicos o amoniaco.

20 Al extraer líquido del recipiente A y reemplazar el volumen extraído con nuevo líquido nutritivo, se diluyen los productos de la fermentación en el contenido de dicho recipiente. Esto es conveniente, porque una concentración excesiva de tales productos de fermentación impide que el moho permanezca tierno, fuerte y sano, con la actividad enzimica deseada.

 El peligro de infección queda evitado o reducido al mínimo.

25 La cantidad de producto de inoculación queda muy reducida, en comparación con el sistema por partidas. Dicho producto, después de introducido en un recipien-

1 93056



- 11 -

te de alimentación, no puede ser esterilizado de nuevo,
y debe utilizarse inmediatamente, una vez puesto en dis-
posición para el uso. Por el contrario, el medio nutri-
cio estéril contenido en los recipientes D y D' puede ser
5 esterilizado de nuevo siempre que se desee, y después de
haber sido esterilizado puede quedar almacenado durante
días o semanas antes de ser empleado.

El peligro de un cambio indebido en la calidad que-
da reducido en gran manera, si no eliminado, debido a que
10 se utiliza continuamente el mismo moho, propagándolo sin
interrupción en idénticas condiciones.

El envejecimiento excesivo del moho, que es caracte-
rístico de la producción mediante el sistema por partidas,
queda eliminado. Semejante exceso de envejecimiento po-
15 ne en peligro la penicilina producida previamente. La es-
tabilidad de la penicilina contenida en el caldo final,
que se extrae del recipiente B, queda aumentada en gran
manera.

El procedimiento continuo es más económico y propor-
20 ciona una producción más elevada que el procedimiento por
partidas.

Pueden efectuarse numerosos cambios, adiciones y omi-
siones en la forma de realización que se ha indicado como
preferible, sin apartarse del alcance de la invención.
25 Pueden utilizarse más de dos fermentadores. La corriente
de material a través del sistema no ha de ser necesaria-
mente continua. El volumen de líquido en los recipientes

1 93 056



- 12 -

respectivos no ha de mantenerse forzosamente constante.
La invención comprende las respectivas etapas y subsidia-
rias combinaciones de todo el procedimiento.

De un modo general, puede decirse que sólo se fer-
5 menta parcialmente el líquido nutricio por medio de un
moho productor de penicilina en el recipiente A, que re-
presenta una primera zona de fermentación. Se extrae del
mismo una parte de dicho líquido nutricio y moho parcial-
mente fermentados. Se reemplaza dicho líquido por un nue-
10 vo líquido nutricio estéril. Se prosigue la fermentación
del líquido nutricio extraído y parcialmente fermentado,
en un grado inferior al de la fermentación en la primera
zona representada por el recipiente A. Es preferible man-
tener cantidades de líquidos de volúmenes constantes, tan-
15 to en dicha primera zona de fermentación A, como en cada
una de las zonas sucesivas de fermentación.

Es preferible mantener la partida de líquido nutri-
cio y moho del recipiente A a un pH de 7,0 a 7,2, y prose-
guir la fermentación parcialmente consumada fuera de dicho
20 recipiente, a un grado de fermentación inferior al que tie-
ne lugar en la celda A, hasta que el pH final del producto
final sea de 7,2 a 7,4.

Reemplazando en el primer recipiente el líquido ex-
traído por nuevo líquido nutricio en la proporción antedi-
25 cha, se mantiene en el mismo la propagación en su grado
máximo, y se evita que el líquido nutricio quede completa-
mente fermentado.

1 93 056



- 13 -

N O T A

Por la patente de invención a que se refiere la presente memoria descriptiva se REIVINDICA la propiedad y la explotación exclusiva de:

5 1.- Un método continuo para la aplicación de procedimientos microbiológicos, sobre todo para la producción de penicilina mediante la fermentación de una cantidad de medio nutricio líquido con moho productor de penicilina, que consiste en airear dicha cantidad de medio contenida en un recipiente a la vez que se propaga dicho moho en el mismo
10 mediante cultivo sumergido, mantener la propagación del moho en el mismo prácticamente en su grado máximo haciendo fermentar sólo parcialmente dicho medio en el recipiente y extrayendo de éste una cierta cantidad de medio parcialmente fermentado para reemplazarla por nuevo líquido nutri-
15 tricio, y completar la fermentación de dicho medio extraído y parcialmente fermentado, fuera de dicho recipiente a un grado inferior de aireación y de fermentación, manteniéndose el nivel de la penicilina en el antedicho recipiente por lo menos en 150 a 250 unidades de penicilina por cen-
20 tímetro cúbico.

2.- Un método continuo para la aplicación de procedimientos microbiológicos, sobre todo para la producción de penicilina mediante la fermentación de una cantidad de medio nutricio líquido con moho productor de penicilina, que
25 consiste en airear dicha cantidad de medio contenida en un



recipiente a la vez que se propaga dicho moho en el mismo mediante cultivo sumergido, mantener la propagación del moho en el mismo prácticamente en su grado máximo haciendo fermentar sólo parcialmente dicho medio en el recipiente y
5 extrayendo de éste una cierta cantidad de medio parcialmente fermentado para reemplazarla por nuevo líquido nutritivo, completar la fermentación de dicho medio extraído y parcialmente fermentado, fuera del recipiente, en un grado inferior de aireación y de fermentación, manteniéndose
10 el nivel de la penicilina en el antedicho recipiente por lo menos en 150 a 250 unidades de penicilina por centímetro cúbico, y hacer fermentar complementariamente el líquido nutritivo extraído y parcialmente fermentado, fuera de dicho recipiente, por lo menos hasta obtener 350 unidades de penicilina por centímetro cúbico.

3.- Un método continuo para la aplicación de procedimientos microbiológicos, sobre todo para la producción de penicilina mediante la fermentación de una cantidad de medio nutritivo líquido con moho productor de penicilina,
20 que consiste en airear dicho medio contenido en un recipiente a la vez que se propaga el moho en el mismo por medio de cultivo sumergido, mantener la propagación del moho en el mismo prácticamente en su grado máximo haciendo fermentar sólo parcialmente dicho medio en el recipiente y
25 extrayendo de este una cierta cantidad de medio parcialmente fermentado para reemplazarla por nuevo líquido nutritivo, completar la fermentación de dicho medio extraído

1 93 056



- 15 -

y parcialmente fermentado, fuera del recipiente, en un grado inferior de aireación y de fermentación, manteniéndose el nivel de la penicilina en el antedicho recipiente por lo menos en 150 a 250 unidades de penicilina por centímetro cúbico, y hacer fermentar complementariamente el líquido nutritivo extraído y parcialmente fermentado, fuera de dicho recipiente, por lo menos hasta obtener 350 unidades de penicilina por centímetro cúbico, llevando a cabo esta fermentación adicional prácticamente sin aireación.


4.- La propiedad y la explotación exclusiva del objeto de la patente, sean cuales fueren las circunstancias que concurren con su esencialidad definida en las anteriores reivindicaciones, cual objeto es:

"Un método continuo para la aplicación de procedimientos microbiológicos".

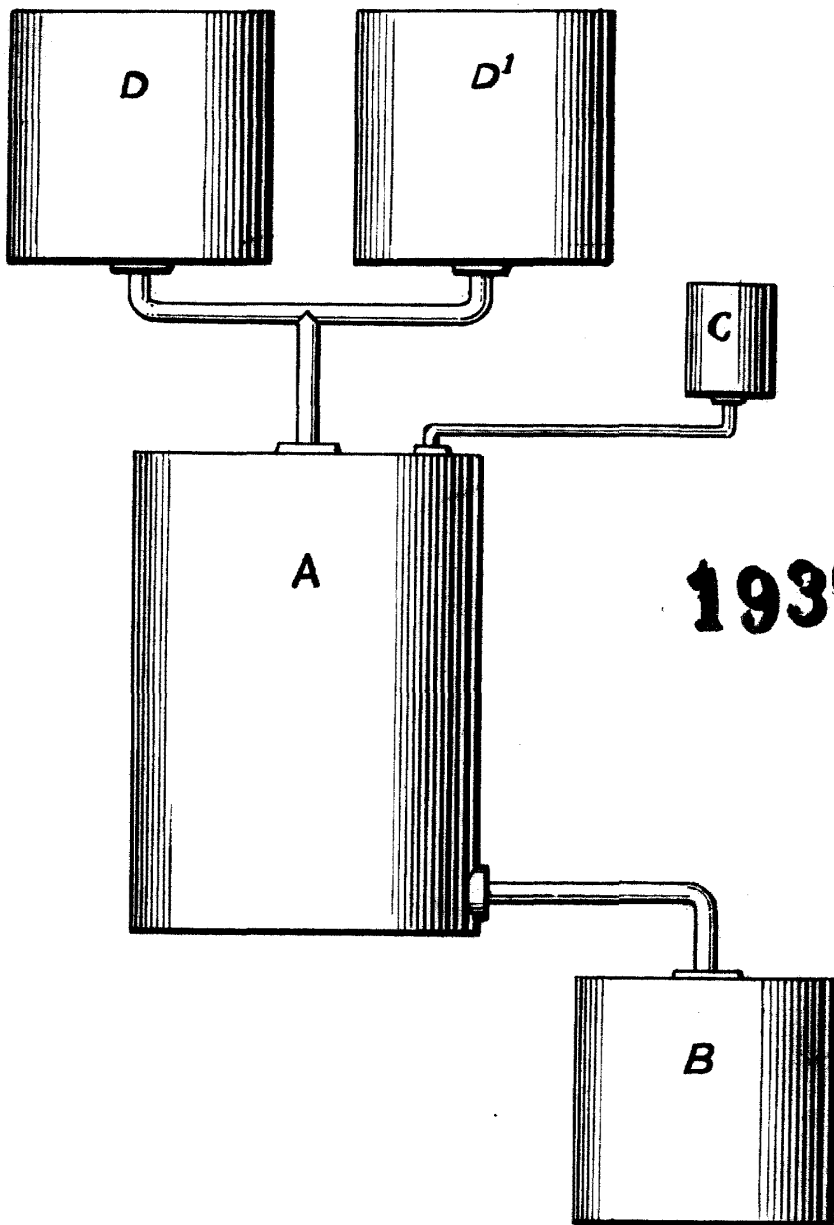
Consta la presente memoria de quince hojas foliadas, escritas por una sola cara.

Barcelona, 15 de Mayo de 1950.

P. p. de: SCHENLEY INDUSTRIES, Inc.,


REPRODUCCION
POR DEFECTO DEL ORIGINAL

193056



193056

ESCALA VARIABLE
Barcelona 5 MAY. 1950