

193244

31



EB. =

MALA REPRODUCCION
POR DEFECTO DEL ORIGINAL

193244

MEMORIA DESCRIPTIVA

para una patente de Invención, por veinte años, por = Procedi -
miento de cultivo intensivo de microorganismos aerobios en medios
líquidos, así como de fermentaciones intensivas para la biosin -
tésis = a favor de los Señores; Don Fernando Goddin Rouleau; y
Don Rafael Ibañez González; residente en Madrid - Manuel Becerra,
15 duplicado, y en Madrid, Montesquinza, 44; respectivamente. =

El presente invento se refiere a un procedimiento de cul -
tivo intensivo de microorganismos aerobios en medios líquidos
con aporte intensivo de aire u otros gases y sin formación de
espuma.

5 En los diversos procedimientos ya existentes para culti -
var microorganismos aerobios se busca aumentar el rendimiento
en número de gérmenes utilizando medios de cultivo adecuados y
dispositivos de óptima aireación.

10 Por otra parte la intensificación de las fermentaciones
utilizando diversos microorganismos para la obtención de bio -
síntesis de variadas sustancias (antibióticas, diversos com -



puestos químicos, etc)., se fundan también en la aireación forzada que aumenta la producción o reduce el tiempo necesario para la síntesis.

5 En ciertos casos interesa introducir, bien puros o bien mezclados entre sí o con el aire, diversos gases que mejoren el rendimiento del cultivo o favorezcan la biosíntesis del producto que se pretende obtener.

10 En el primer grupo se incluyen la producción de microorganismos en medios líquidos para la obtención de vacunas bacterianas destinadas a la especie humana o a los animales (Vacuna pertussis, Vacuna del mal rojo, etc.); la producción de levaduras destinadas a la alimentación, esto es, la transformación biológica de hidratos de carbono de baja calidad, no aprovechables, en proteínas y vitaminas de gran valor energético y plástico, etc. En este grupo pueden también incluirse la producción de inóculos para las fermentaciones tales como la obtención de antibióticos que también participan del segundo objetivo indicado.

20 En el referido grupo se incluyen todas las fermentaciones destinadas a la obtención por biosíntesis de las más variadas sustancias y que emplean para ello microorganismos aerobios.

25 Tratándose de microorganismos aerobios es natural pensar que una mejor aireación del cultivo puede favorecerlo y así ocurre en efecto como se ha comprobado en el laboratorio, en plantas piloto y en la práctica industrial.

Sin embargo la aireación forzada utilizando los procedimientos clásicos, esta limitada por la formación de espuma. Estando basados todos estos procedimientos de aireación en la insuflación del aire en el medio de cultivo, caben dos posibi-

193244 31



3. -

5 lidades de intensificar la aireación; aumentar el caudal de aire y mejorar la dispersión de éste en el cultivo, por ejemplo utilizando en vez del clásico tubo de corona con perforaciones, un eyector neumático o un difusor de tierra porosa. Pero todos estos métodos dan como resultado un fuerte aumento de la formación de espuma de tal manera que llegan a ser insuficientes los productos antiespumantes y los dispositivos mecánicos que tienen por objeto limitar este fenómeno.

10 La consecuencia es que, por ejemplo en la producción de la penicilina, es preciso limitarse a la inyección de un caudal de aire netamente inferior al óptimo hasta que el medio esté suficientemente agotado para admitir más aire sin formación excesiva de espuma.

15 A parte de esta limitación es evidente que la necesidad de añadir agentes antiespumantes es engorrosa y complicada, especialmente por las dificultades de esterilización de los mismos, y también por la necesidad de agregarlos continua y automáticamente durante el proceso de fermentación.

20 Por el presente invento se consigue una aireación óptima del cultivo sin formación de espuma y por lo tanto sin necesidad de recurrir a agentes antiespumantes o a medios mecánicos para limitar dicha formación. Como consecuencia se logra en un mínimo de tiempo una concentración máxima del cultivo e incluso la obtención de cultivos continuos, por ejemplo en la fabricación de la penicilina con el consiguiente ahorro en las instalaciones y en el precio de costo.

25 El principio básico del invento consiste en la sustitución de la insuflación del aire en el cultivo, por la del cultivo en el aire o sea que, en lugar de introducir el aire (o gas) en el medio de cultivo o de fermentación con la consiguiente

30

19324431



4. -

formación de burbujas más o menos gruesas, se pulveriza el me -
dio de cultivo en el aire o en el gas, en forma de una infini -
dad de gotitas líquidas, cuyas dimensiones se pueden fácilmente
reducir hasta llegar a una nebulización o incluso a un aerosol.
5 Es evidente que la división del medio líquido en millones de
gotitas asegura una superficie de contacto con el aire incompara -
blemente superior a la que representa la superficie de las bur -
bujas de aire en el sistema clásico. Por otra parte debe tener -
se también en cuenta que llegando al aerosol, cuyas dimensiones
10 de partículas pueden ser del mismo orden que las de los gérme -
nes, estos pueden recibir casi individualmente la aireación,
al mismo tiempo que este proceso libera su superficie de sustan -
cias de excreción perjudiciales a su vitalidad y desarrollo,
como se ha demostrado prácticamente. Además tal sistema de dis -
15 persión conduce a la obtención de emulsiones bacterianas per -
fectas, lo que tiene su importancia en la preparación de vacu -
nas.

Cuando, según nuestro procedimiento, se pulveriza el lí -
quido encima de la superficie del cultivo resulta que por muy
20 espumante que sea el medio (líquidos albuminosos, gomosos, etc),
la espuma producida no pasa de una capa delgadísima que no pre -
senta inconveniente alguno. Por lo tanto, no existe ya otra li -
mitación al caudal del aire o del gas que se puede introducir
en el cultivo que la impuesta por la propia conveniencia del mi -
25 croorganismo. Además el aire es aprovechado por el cultivo en
una forma absolutamente completa y óptima.

Las formas de aplicación del procedimiento pueden ser muy
diversas, estando sin embargo todas caracterizadas por el hecho
de que el líquido se pulveriza en un recinto parcialmente lleno
30 por el cultivo.

193244 31



5. -

Los medios de pulverización pueden ser muy, variados; en -
tre otros indicaremos los pulverizadores de líquido por presión
de este mismo o por arrastre del líquido mediante aire u otros
gases a presión, con o sin boquillas, pulverizadoras mecánicas
operando por la fuerza centrífuga de una turbina o de un disco,
los innumerables sistemas de generadores de aerosoles, incluyen -
do los electrónicos de alta frecuencia, etc. Pueden colocarse
en el tanque de cultivo o fuera y conectados con él por una tu -
bería. Pueden pulverizar el líquido en forma cónica, llena o
hueca, o de cualquier otra manera y también en cualquier direo -
ción, hacia la superficie del medio de cultivo o hacia las pa -
redes laterales del tanque o ^{hacia la tapa} sin afectar al principio del pro -
cedimiento.

También se puede pulverizar el cultivo microbiano mismo,
en su totalidad o filtrado, o solo el medio de cultivo sobre el
inóculo. En el primer caso, se consigue la aireación directa
de los gérmenes en el cultivo cuya circulación se puede reali -
zar en circulo cerrado, en un mismo tanque o en una combinación
de dos o más tanques. En el segundo caso, el cultivo no circu -
la y no llega por lo tanto a pasar por el sistema de pulveriza -
ción; por el contrario se le adiciona continuamente nuevas can -
tidades de medio previamente saturado de aire por pulveriza -
ción. Este último dispositivo permite trabajar desde el princi -
pio con una concentración elevada de gérmenes en el cultivo,
lo que constituye una ventaja fundada en la competencia vital,
frente al peligro de contaminación del mismo.

También se pueden combinar estas dos formas de aireación
y llegar al cultivo continuo con adición permanente del medio
y equivalente sustitución del cultivo.

Para el mejor entendimiento del procedimiento y sin que

193244



6. -

constituya en modo alguno una limitación del mismo daremos a continuación un ejemplo de aplicación.

5 En un tanque de cultivo hermético y esterilizado se introduce asépticamente cierta cantidad de un medio de cultivo. A continuación y con las mismas precauciones, se introduce el inóculo y se abre la llave de admisión de aire o gases comprimidos estériles a uno o varios pulverizadores situados a cierta distancia encima del nivel del cultivo, -figura número 1-. El medio líquido sube por el tubo de aspiración del pulverizador y
10 al llegar al orificio de salida del mismo queda pulverizado en forma de cono. Las innumerables gotitas cargadas de aire o gases se depositan en su mayor parte sobre la superficie del líquido, cerrándose así el circuito del mismo llegándose rápidamente a la saturación completa.

15 El aire o los gases introducidos por el pulverizador escapan del tanque por un orificio y mediante un reglaje adecuado de la pulverización, se consigue fácilmente evitar que arrastre una cantidad apreciable del cultivo; sin embargo y como es natural se toman las debidas precauciones para recuperar, si intere-
20 teresa, esta pequeña cantidad y evitar la contaminación del ambiente o recíprocamente del cultivo, aunque esta última sea poco probable, debido a la ligera presión positiva que se mantiene siempre en el tanque.

25 Naturalmente se toman también medidas para mantener el cultivo a la temperatura más favorable, incluso calentando el aire o el gas que se introduce.

30 En caso de que el cultivo, como consecuencia de su extraordinario desarrollo, llegue a espesarse hasta el punto de no poder ser pulverizado, se realizará la aspiración del líquido a través de un dispositivo filtrante.



Otra posibilidad consiste en admitir en el tanque, a través del mismo pulverizador o de otro, nuevas cantidades de medio de cultivo estéril que al llegar saturado de aire sobre el cultivo en pleno desarrollo, permitirá una nueva y rapidísima reproducción de los germenés y tampoco existe inconveniente en sustraer partes del cultivo que ha llegado a su desarrollo máximo. Ambas operaciones, adición y sustracción, pueden realizarse simultáneamente o nó y continuamente o nó. También se puede extraer solo el líquido de cultivo que contiene ya la máxima cantidad de la sustancia sintetizada por el microorganismo, reponiendo por pulverización nuevo medio de cultivo.

N O T A

La presente patente de Invención, consta de las siguientes reivindicaciones:

1. - Procedimiento de cultivo intensivo de microorganismos aerobios en medios líquidos así como de fermentaciones intensivas para la biosíntesis, caracterizado porque la aportación de aire u otros gases al medio de cultivo o de fermentación se realiza por pulverización, nebulización o formación de aerosol del medio de cultivo o de fermentación.

2. - Procedimiento según la reivindicación anterior, caracterizado además porque el medio de cultivo que se pulveriza, nebuliza o se convierte en aerosol, puede ser el mismo en el cual se ha realizado el inóculo del germen que se cultiva.

3. - Procedimiento según la reivindicación anterior, caracterizado además porque el medio de cultivo que se pulveriza o se convierte en aerosol, puede ser independiente de aquél en

REPRODUCCION
POR DEFECTO DEL ORIGINAL

193244



8. -

que se ha realizado el inóculo.

4. - Procedimiento según la reivindicación anterior, caracterizado además porque el medio de cultivo inoculado y el medio de cultivo sin inocular pueden ser nebulizados o convertidos en aerosol alternativamente o simultáneamente.

5. - Procedimiento según la reivindicación anterior caracterizado además porque estas operaciones se realizan en el tanque de cultivo o en tanques independientes comunicados entre sí.

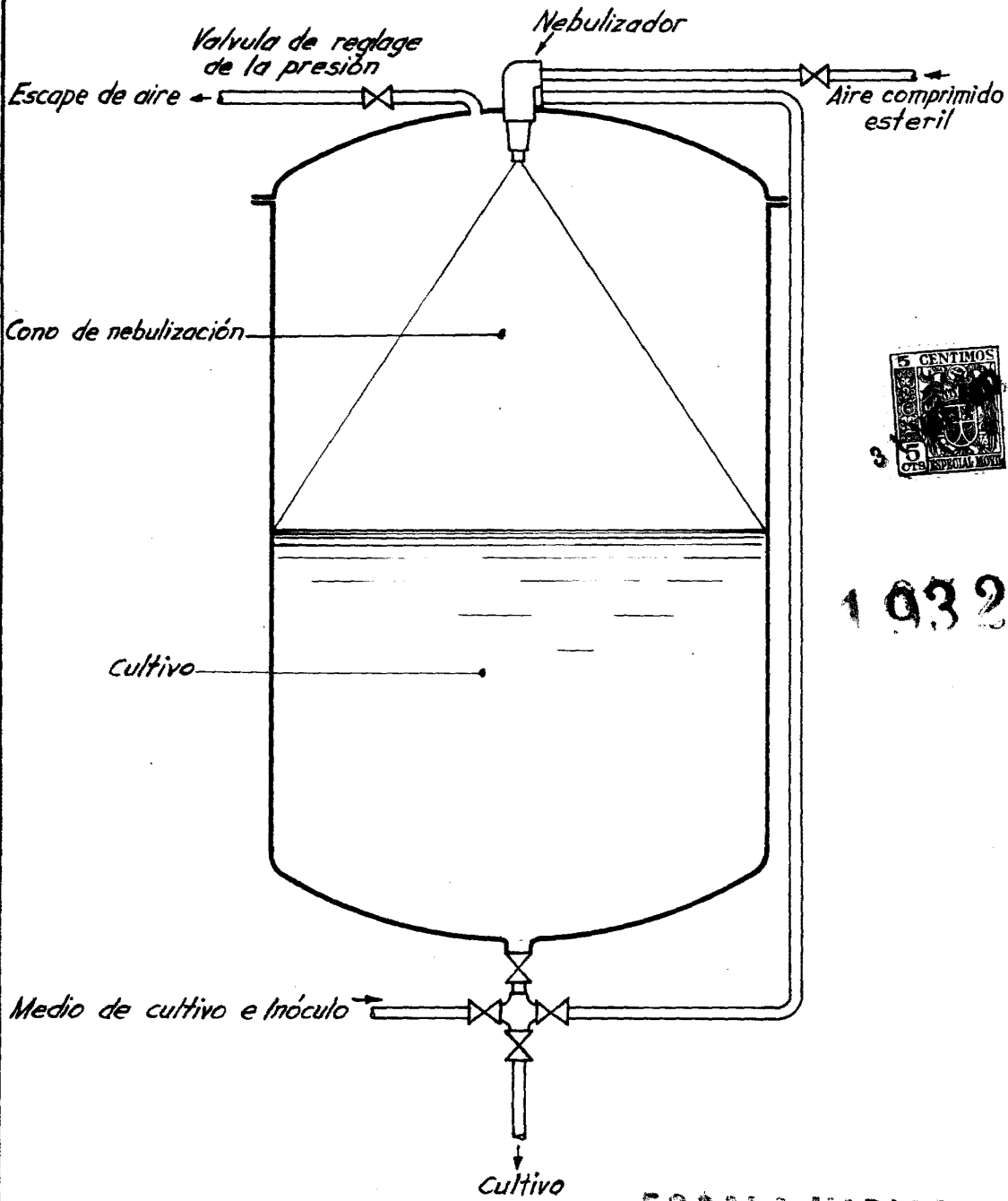
6. - Procedimiento de cultivo intensivo de microorganismos aerobios en medios líquidos así como de fermentaciones intensivas para la biosíntesis. -

Según se describe y reivindica en esta memoria descriptiva, y planos.

La cual consta de ocho hojas, foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 31 de Mayo de 1950. -

193244



193244

ESCALA VARIABLE

[Handwritten signature]

Fig. 1