

287 032



287032

MEMORIA DESCRIPTIVA

que se acompaña a la solicitud de una

PATENTE DE INVENCION

por VEINTE años en España, por "PROCEDIMIENTO DE

PRODUCCION DE MATERIALES QUIMICOS"

a favor de

BRISTOL-MYERS COMPANY

domiciliado en Thompson Road, East Syracuse (New

York), Estados Unidos

Prioridad: de la solicitud de patente estadounidense No. 187.961 del 16 de Abril de 1962

Inventor: Donald Howard Phillips, de nacionalidad estadounidense.

28703



Esta invención se relaciona con un nuevo procedimiento para realizar una fermentación aeróbica sumergida, como la producción de un antibiótico, y más particularmente con la adición de un producto de condensación soluble en agua, de un peso molecular medio del orden de 1600 a 2800, de óxido de etileno con un producto de condensación de este óxido con glicol propilénico a fin de reducir la espuma superficial sin disminuir al mismo tiempo la proporción de oxígeno disuelto o el nivel de transferencia de este elemento.

En la realización de una fermentación aeróbica sumergida, se producen frecuentemente de manera espontánea grandes cantidades de espuma superficial. En el mejor de los casos, esto significa que el recipiente de fermentación sólo puede llenarse con medio parcialmente, lo cual incrementa el costo por unidad, y en el peor de los casos parte del medio y del producto en él contenido se pierden cuando el espumado rebosa el recipiente durante la fermentación. La supresión de la espuma superficial es por consiguiente altamente deseable, habiéndose practicado profusamente. En las fermentaciones de antibióticos, el método habitual ha consistido en la adición periódica de un agente antiespumante durante la fermentación. Por razones de bajo costo y baja toxicidad respecto al microorganismo objeto de cultivo, se ha hecho uso del octadecanol disuelto en aceite de manteca de cerdo como preferido agente antiespumante. En algunos casos, el citado aceite sirve también de metabolito, en cierto grado por ejemplo en las fermentaciones de tetraciclina. Sin embargo, este uso del aceite de manteca de cerdo ha creado otros problemas. No es muy eficiente y por lo tanto han de emplearse grandes cantidades, con el consiguiente y considerable aumento de gasto. Además, la adición de tal aceite disminuye notablemente el oxígeno disuelto y por consiguiente el coeficiente de absorción de oxígeno, reduciéndose así la eficacia de la aeración. Resultado de

5

10

15

20

25

30

287032



ello puede ser una parcial indigencia del microorganismo en cuanto a disponibilidades de oxígeno y una disminución en la producción del deseado metabolito, por ejemplo el antibiótico que se está produciendo.

5 Era pues el objeto de esta invención superar estos problemas mediante la creación de un procedimiento que redujese notablemente la espuma superficial sin disminuir apreciablemente el oxígeno disuelto.

10 Se ha logrado tal objeto con la provisión, de acuerdo con la presente invención, en el procedimiento de producción de materias químicas por el método de fermentación sumergida y aerificada de un microorganismo, de la operación de debilitar y reducir la espuma sin disminuir apreciablemente las proporciones de oxígeno disuelto en el caldo de fermentación, cuya operación comprende la adición, como agente desespumante, de un producto de condensación soluble -
15 en agua, de un peso molecular total del orden de 1600 a 2800 aproximadamente, de óxido de etileno con una cadena polioxipropilénica hidrofóbica formada mediante condensación de óxido de propileno con glicol propilénico, teniendo dicha cadena hidrofóbica un peso molecular del orden de 1500 a 2500 aproximadamente y constituyendo un
20 90 % aproximadamente en peso de dicho producto de condensación soluble en agua.

25 Como dos específicas y preferidas versiones de la presente invención, se proporcionan de acuerdo con ésta, en el procedimiento de producción de ácido 6-aminopenicilánico, bencilpenicilina, fenoximetilpenicilina o un antibiótico de tetraciclina por el método de fermentación sumergida y aerificada de un microorganismo, la operación de debilitar y reducir la espuma, sin disminuir simultáneamente de modo apreciable las proporciones de oxígeno disuelto en el
30 caldo de fermentación, que comprende la adición como agente deses-

287032



pumante, en un peso igual al 0,01 % - 0,20 % aproximadamente, y de modo preferible alrededor del 0,05 %, del peso del medio, de un producto de condensación soluble en agua, con un peso molecular total del orden de 1900 a 2000 aproximadamente, de óxido de etileno con una cadena polioxipropilénica hidrofóbica insoluble en agua, formada mediante la condensación de óxido de propileno con glicol propilénico, teniendo dicha cadena hidrofóbica un peso molecular de 1750 aproximadamente y constituyendo alrededor del 90 % en peso de dicho producto de condensación soluble en agua; y la operación de debilitar y reducir la espuma sin disminuir simultáneamente de modo apreciable las proporciones de oxígeno disuelto en el caldo de fermentación, que comprende la adición, como agente desespumante y en un peso igual al 0,01 % - 0,20 % aproximadamente, y de modo preferible alrededor del 0,05 %, del peso del medio, de un producto de condensación soluble en agua, con un peso molecular total del orden de 2500 a - 2700 aproximadamente, de óxido de etileno con una cadena polioxipropilénica hidrofóbica insoluble en agua formada por la condensación de óxido de propileno con glicol propilénico, teniendo dicha cadena hidrofóbica un peso molecular de 2250 aproximadamente y constituyendo alrededor del 90 % en peso del citado producto de condensación soluble en agua.

Ejemplos de los agentes desespumantes de la presente invención son comercialmente obtenibles de la Wyandotte Chemicals Corporation, de Wyandotte (Michigan), bajo la marca comercial registrada de "Pluronic", por ejemplo el Pluronic L61 ó el Pluronic L81. Otros miembros de la serie Pluronic, que tienen pesos moleculares o composiciones fuera de los valores anteriormente definidos, no se incluyen en el ámbito de la presente invención, pues su empleo no consigue los objetivos de ésta.

Para facilitar la operación, el agente desespumante de la pre-

287032



5 sente invención se añade preferiblemente al medio de la fermentación antes o después de la esterilización, pero antes de la inoculación, si bien puede añadirse, si se desea, durante la fermentación. La adición puede efectuarse en una o muchas porciones. De hecho no se precisa su adición hasta que se inicia un intenso espumado, que en casos raros puede producirse muy avanzado el ciclo de fermentación, pero que por regla general ocurre al comienzo de dicho ciclo, por ejemplo entre las horas décima y trigésima. En los casos en que se añade aceite de manteca de cerdo como nutriente al comienzo o casi al comienzo de una fermentación, por ejemplo en una fermentación de tetraciclina, puede que no sea necesario añadir el agente desespumante de la presente invención hasta la mitad del ciclo de fermentación.

15 Desde un punto de vista puramente práctico, el agente desespumante de la presente invención se usa en las mínimas proporciones efectivas, determinadas por simple ensayo. Las proporciones preferidas oscilan entre el 0,01 y el 0,20 % en peso respecto al del medio, y más preferiblemente aún entre el 0,05 y el 0,10 %.

20 Como se verá más adelante en los Ejemplos, los agentes desespumantes de la presente invención eliminan la necesidad de emplear aceite de manteca de cerdo como antiespumante en las fermentaciones productoras de ácido 6-aminopenicilánico, fenoximetilpenicilina, -bencilpenicilina o un antibiótico de tetraciclina.

25 Sin embargo, el citado aceite puede constituir un nutriente esencial en una fermentación, por ejemplo de tetraciclina; cuando se añadieron pequeñas cantidades de dicho aceite como nutriente esencial a una fermentación de tetraciclina, se observó que no se producía descenso alguno en las titulaciones, es decir que por lo menos se producía una cantidad del antibiótico deseado igual a la obtenida cuando el referido aceite constituía el único antiespumante.

30



287032

15 ABR 1964

5 Como se muestra detalladamente en los siguientes ejemplos,
los agentes desespumantes de la presente invención son particular-
mente útiles en la producción de ácido 6-aminopenicilánico median-
te fermentación sumergida y aeróbica de un organismo productor de
penicilina, tal como el P. chrysogenum; naturalmente, no se añade
ningún precursor químico tal como el ácido fenilacético o el ácido
fenoxiacético. En este proceso ha de controlarse un profuso espuma-
do y las cantidades de octadecanol en el aceite de manteca de cer-
do requeridas cuando se emplea tal agente desespumante son elevadas
10 y al mismo tiempo reducen muy considerablemente la proporción de
oxígeno disuelto y por consiguiente la producción del material de-
seado. Por el contrario, el uso en tal fermentación de un agente
desespumante de la presente invención suprime por completo, salvo
una cantidad insignificante, la espuma superficial, sin disminuir
15 la proporción de oxígeno disuelto y sin reducir la producción del
material deseado.

La expresión "antibiótico de tetraciclina", tal como aquí se
usa, se refiere a la serie bien conocida de antibióticos producidos
por fermentación del S. aureofaciens, S. rimosus o especies equiva-
20 lentes; esta serie incluye a la tetraciclina, 7-clorotetraciclina,
5-oxitetraciclina, 7-bromotetraciclina, 6-demetiltetraciclina, -
7-cloro-6-demetiltetraciclina, 5a(11a)-dehidrotetraciclina, 7-cloro-
5a(11a)-dehidrotetraciclina.

25 Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar la presente
invención, sin limitarla a los mismos.

Ejemplo 1

30 Se realizaron dos fermentaciones aeróbicas sumergidas de ácido
6-aminopenicilánico usando P. chrysogenum en un medio formado por
un 7,5 % de lactosa, un 4,0 % de harina endosperma de semilla de algo
dón (Pharmamedia), un 0,5 % de $SO_4Ca \cdot 2H_2O$, un 0,4 % de SO_4Na_2 y un



237032

5 1,5 % de CO_2Ca . En ambos casos, se dispuso la fermentación en la forma habitual, con un dispositivo automático suministrador de una mezcla de octadecanol en aceite de manteca de cerdo como agente desespumante siempre que la espuma superficial alcanzaba una altura inconveniente.

10 Una fermentación sirvió de control y en la otra se añadió al medio, después de la esterilización pero antes de la inoculación, un peso igual al 0,05 % del peso del medio, de un producto de condensación soluble en agua, de un peso molecular total de 1900 a 2000 aproximadamente, de óxido etilénico con una cadena polioxipropilénica hidrofóbica, insoluble en agua, formada por condensación de óxido de propileno con glicol propilénico, teniendo dicha cadena hidrofóbica un peso molecular de 1750 aproximadamente y constituyen do alrededor del 90 % en peso de dicho producto de condensación soluble en agua, es decir el Pluronic L61.

15 La prueba en la que se utilizó el agente desespumante de la presente invención mostró una titulación máxima de 3480 mcg/ml de ácido 6-aminopenicilánico (a las 120 horas) y no consumió absolutamente ningún desespumante de aceite de manteca de cerdo durante la fermentación. El control mostró una menor titulación máxima de 20 2920 mcg/ml de ácido 6-aminopenicilánico (a las 140 horas) y hasta el momento de alcanzar la titulación máxima consumió gran cantidad del referido aceite, concretamente un peso igual al 0,90 % del peso del medio.

25 Ejemplo 2

30 Se realizó una fermentación de la manera descrita en el Ejemplo 1, con la excepción de que la proporción del CO_2Ca en el medio se incrementó del 1,5 al 1,75 % y la del agente desespumante (Pluronic L61) se incrementó al 0,10 %. La prueba mostró una titulación máxima a las 140 horas de 3280 mcg/ml de ácido 6-aminopenicilánico y no



287032

consumió absolutamente ningún aceite de manteca de cerdo con octadecanol.

Ejemplo 3

5 Se realizó una fermentación de la manera descrita en el Ejemplo 2, con la excepción de que, como agente desespumante, se usó un peso igual al 0,05 % del peso del medio de un producto de condensación soluble en agua, con un peso molecular de 2500 a 2700 aproximadamente, de óxido etilénico con una cadena polioxipropilénica hidrofóbica insoluble en agua, formada por la condensación de óxido de propileno con glicol propilénico, teniendo dicha cadena hidrofóbica un peso molecular de 2250 aproximadamente y constituyendo alrededor del 90 % en peso de dicho producto de condensación soluble en agua, es decir del Pluronic L81. La prueba mostró una titulación máxima a 10 las 140 horas de 3760 mcg/ml de ácido 6-aminopenicilánico y no consumió absolutamente ningún agente desespumante de aceite de manteca de cerdo. 15

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de producción de materiales químicos por el método de fermentación sumergida y aerificada de un microorganismo, 20 caracterizado por la operación de debilitar y reducir la espuma sin disminuir simultáneamente de modo apreciable la proporción de oxígeno disuelto en el caldo de fermentación, mediante la adición al mismo, como agente desespumante, de un producto de condensación soluble en agua, de un peso molecular total del orden de 1600 a 2800 aproximadamente, de óxido etilénico con una cadena polioxipropilénica hidrofóbica insoluble en agua, formada por la condensación de óxido de propileno con glicol propilénico, teniendo dicha cadena hidrofóbica un peso molecular del orden de 1500 a 2500 aproximadamente y constituyendo alrededor del 90 % en peso de dicho producto de condensación soluble en agua. 25 30

287032



5

10

15

20

25

30

2. Procedimiento de producción de materiales químicos por el método de fermentación sumergida y aerificada de un microorganismo, caracterizado por la operación de debilitar y reducir la espuma sin disminuir simultáneamente de modo apreciable la proporción de oxígeno disuelto en el caldo de fermentación, mediante la adición al mismo, como agente desespumante y en un peso igual, por lo menos, al 0,01 % del peso del medio, de un producto de condensación soluble en agua, de un peso molecular total del orden de 1600 a 2800 aproximadamente, de óxido etilénico con una cadena polioxipropilénica hidrofóbica insoluble en agua, formada por la condensación de óxido de propileno con glicol propilénico, teniendo dicha cadena hidrofóbica un peso molecular del orden de 1500 a 2500 aproximadamente y constituyendo alrededor del 90 % en peso de dicho producto de condensación soluble en agua.

3. Procedimiento de producción de materiales químicos por el método de fermentación sumergida y aerificada de un microorganismo, caracterizado por la operación de debilitar y reducir la espuma sin disminuir simultáneamente de modo apreciable la proporción de oxígeno disuelto en el caldo de fermentación, mediante la adición al mismo, como agente desespumante y en un peso igual al 0,01 - 0,20 % aproximadamente del peso del medio, de un producto de condensación soluble en agua, de un peso molecular total del orden de 1600 a 2800 aproximadamente, de óxido etilénico con una cadena polioxipropilénica hidrofóbica insoluble en agua, formada por condensación de óxido propilénico con glicol propilénico, teniendo dicha cadena hidrofóbica un peso molecular del orden de 1500 a 2500 aproximadamente y constituyendo alrededor del 90 % en peso de dicho producto de condensación soluble en agua.

4. Procedimiento de producción de materiales químicos por el método de fermentación sumergida y aerificada de un microorganismo,



287032

5 caracterizado por la operación de debilitar y reducir la espuma sin disminuir simultáneamente de modo apreciable la proporción de oxígeno disuelto en el caldo de fermentación, mediante la adición al mismo, como agente desespumante y en un peso igual al 0,05 % aproximadamente del peso del medio, de un producto de condensación soluble en agua, de un peso molecular total del orden de 1600 a 2800 aproximadamente, de óxido etilénico con una cadena polioxipropilénica hidrofóbica insoluble en agua, formada por condensación de óxido propilénico con glicol propilénico, teniendo dicha cadena hidrofóbica un peso molecular del orden de 1500 a 2500 aproximadamente y constituyendo alrededor del 90 % en peso de dicho producto de condensación soluble en agua.

15 5. Procedimiento de producción de ácido 6-aminopenicilánico, bencilpenicilina, fenoximetilpenicilina o un antibiótico de tetraciclina por el método de fermentación sumergida y aerificada de un microorganismo, caracterizado por la operación de debilitar y reducir la espuma sin disminuir simultáneamente de modo apreciable la proporción de oxígeno disuelto en el caldo de fermentación, mediante la adición al mismo, como agente desespumante y en un peso igual al 20 0,01 - 0,20 % aproximadamente del peso del medio, de un producto de condensación soluble en agua, de un peso molecular total del orden de 1900 a 2000 aproximadamente, de óxido etilénico con una cadena polioxipropilénica hidrofóbica insoluble en agua, formada por condensación de óxido propilénico con glicol propilénico, teniendo dicha 25 cadena hidrofóbica un peso molecular de 1750 aproximadamente y constituyendo alrededor del 90 % en peso del citado producto de condensación soluble en agua.

30 6. Procedimiento de producción de ácido 6-aminopenicilánico, bencilpenicilina, fenoximetilpenicilina o un antibiótico de tetraciclina por el método de fermentación sumergida y aerificada de un mi-

287032



15 ABR 1963

croorganismo, caracterizado por la operación de debilitar y reducir la espuma sin disminuir simultáneamente de modo apreciable la proporción de oxígeno disuelto en el caldo de fermentación, mediante la adición al mismo, como agente desespumante y en un peso igual al - 0,01 - 0,20 % aproximadamente del peso del medio, de un producto de condensación soluble en agua, de un peso molecular total del orden de 2500 a 2700 aproximadamente, de óxido etilénico con una cadena polioxipropilénica hidrofóbica insoluble en agua, formada por condensación de óxido propilénico con glicol propilénico, teniendo dicha cadena hidrofóbica un peso molecular de 2250 aproximadamente y constituyendo alrededor del 90 % en peso del citado producto de condensación soluble en agua.

7. Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita: "PROCEDIMIENTO DE PRODUCCION DE MATERIALES QUIMICOS".

Todo tal y como se describe y reivindica en la presente memoria, que consta de once páginas escritas a máquina.

Madrid, 15 de Abril de 1963

ALFONSO UNGRIA

P.S.