

CASO SFP 1700



1966

32880

PATENTE DE INVENCION

por 20 años

por "Un procedimiento para el cultivo y recuperación de microorganismos" -----

a favor de: THE BRITISH PETROLEUM COMPANY LIMITED de nacionalidad británica, domiciliada en Britannic House, Finsbury Circus, LONDON, E.C.2 (Gran Bretaña).

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a un procedimiento para el cultivo y recuperación de microorganismos. Esta invención también se refiere a un procedimiento para la separación de hidrocarburos de cadena recta, totalmente o en parte, de mezclas de dichos hidrocarburos con otros hidrocarburos.

5 De acuerdo con la presente invención ésta suministra un procedimiento que comprende el cultivo de un microorganismo en presencia de un material de carga que consiste de o contiene un hidrocarburo, en presencia de un medio nutritivo acuoso y en presencia de un gas que contiene oxígeno libre y después separación
10 de parte del medio nutritivo acuoso; después tratamiento con un medio de tratamiento acuoso del producto restante o parte del mismo comprendiendo el microorganismo mezclado con a lo menos parte

1900



del hidrocarburo residual y con a lo menos parte del medio nutritivo residual dicho medio de tratamiento acuoso comprendiendo agua una sal de metal, de preferencia un haluro de metal alcalino, por ejemplo cloruro sódico y un agente tensoactivo que consiste de o
 5 contiene un detergente no-iónico y después sometimiento de la mezcla así obtenida a un tratamiento de separación para la recuperación de una fracción en la cual predominan los hidrocarburos, una fracción en la cual predominan los medios acuosos y una fracción que consiste de o que contiene una mezcla del microorganismo y agua.

10 De preferencia el tratamiento de separación comprende centrifugación y/o filtración.

De preferencia el detergente no-iónico comprende, en la molécula, una cadena de grupos óxidos de etileno. De preferencia el detergente tiene la fórmula $A-(CH_2CH_2O)_nH$ en la que A es un grupo residual alcohólico o un grupo residual ácido y n es un número entero.
 15

El medio de tratamiento conveniente puede estar compuesto de:

Agua dulce	1 litro
Agua de mar	0.25 a 1 litro
Agente tensoactivo	0.1 a 1 gramo

Según una modificación del procedimiento de la invención los componentes del medio de tratamiento son empleados subsiguientemente o en forma de dos o más fracciones; así por ejemplo puede usarse primero una mezcla de agua dulce y agua de mar y después el agente tensoactivo, ya solos o mezclado con agua dulce o agua de mar.
 20

Generalmente los hidrocarburos de cadena recta están presentes en el material de carga según la invención como parafinas: no obstante, los hidrocarburos de cadena recta pueden estar presentes como olefinas; también puede ser empleada una mezcla conteniendo parafinas de cadena recta y olefinas.
 25



Un material de carga conveniente para el procedimiento de la invención comprende kerosina, gasoils y aceites lubricantes, este material de carga puede estar sin refinar o puede haber experimentado algún tratamiento de refinería, pero debe contener
5 una proporción de hidrocarburos de cadena recta de manera de cumplir el propósito de esta invención. Convenientemente las fracciones de petróleo contendrán 3-45% por peso de hidrocarburos de cadena recta.

El procedimiento de la invención es de un valor particular
10 para el tratamiento de fracciones de gasoil del petróleo que contienen hidrocarburos de cadena recta en forma de ceras, ya que por el procedimiento de la invención un gasoil de punto de fluidez mejorado es obtenido mientras las ceras son convertidas en un producto valorizable.

Es un importante distintivo de la presente invención que
15 cuando se cultivan fermentos en presencia del material de carga antes descrito bajo condiciones que favorecen el crecimiento de los fermentos a expensas de los hidrocarburos de cadena recta, los otros hidrocarburos, por ejemplo las isoparafinas, naftenos y aromáticos no son metabolizados o, a lo menos, la proporción
20 que es metabolizada es muy pequeña. Además, en un proceso químico convencional distinto gobernado por la ley de acción de masas la proporción de hidrocarburos de cadena recta no es sustancialmente reducida como la proporción en que estos hidrocarburos en
25 la mezcla global de hidrocarburos disminuyen (excepto, de curso, en las últimas etapas de separación). Así cuando se desea, el porcentaje de conversión de hidrocarburos de cadena recta que es lograda puede ser mantenido a un valor aproximado a 100% sin necesidad de una muy desproporcionada inversión de tiempo de contac-



to para lograr pequeñas mejoras. Además, en un procedimiento continuo, este elevado porcentaje de conversión puede ser logrado sin recurrir al empleo de un recorrido de reacción largo.

5 Por la aplicación de este procedimiento bajo condiciones que limitan la metabolización de los hidrocarburos de cadena recta es posible operar con la separación de una deseada proporción de estos hidrocarburos.

10 En el término "microorganismo" empleado aquí nosotros incluimos las mezclas de microorganismos. De preferencia el microorganismo es capaz de desarrollarse en a lo menos algunas parafinas normales.

Los microorganismos que son cultivados como se ha descrito pueden ser fermentos, mohos o bacterias.

15 Los fermentos en esta descripción están clasificados según el sistema de clasificación configurado en el "The Yeasts, a Taxonomic Study" por J. Lodder y N.J.W. Kreger-Van Rij, publicada por North Holland Publishing Co (Amsterdam) (1952).

20 Las bacterias mencionadas en esta descripción están clasificadas según el sistema de clasificación configurado en el "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" por R.S. Breed E.G.D. Murray y W.R. Smith, publicado por Bailliere, Tindall and Co (Londres) 7ª Edición (1957).

25 De preferencia cuando un fermento es empleado este es de la familia Cryptococcaceae y particularmente de la subfamilia Cryptococcoideae no obstante, si se desea pueden ser usados, por ejemplo, fermentos ascosporogeneous de la subfamilia Saccharomycoidae. El género preferido de la subfamilia Cryptococcoideae es el Torulopsis (también conocido como Torula) y Candida. Los tensores de fermentos preferidos son los siguientes. En particular es preferido



emplear la provisión específica indicada con el número de referencia Baarn; estos números de referencia se refieren a la existencia CBS del Centraal Bureau voor Schimmelculture, Baarn, Holanda y a la existencia INRA del Institut National de la Recherche Agronomique, París, Francia.

5	<i>Candida</i>	<i>lipolytica</i>	
	<i>Candida</i>	<i>pulcherrima</i>	CBS 610
	<i>Candida</i>	<i>utilis</i>	
	<i>Candida</i>	<i>utilis, Variati major</i>	CBS 841
10	<i>Candida</i>	<i>tropicalis</i>	CBS 2317
	<i>Torulopsis</i>	<i>colliculosa</i>	CBS 133
	<i>Hansenula</i>	<i>anomala</i>	CBS 110
	<i>Oidium</i>	<i>lactis</i>	
	<i>Neurospora</i>	<i>sitophila</i>	
15	<i>Mycoderma</i>	<i>cancoillote</i>	INRA: STV 11

De las *Candida* citadas la *Candida lipolytica* es la preferida particularmente.

Si se desea el microorganismo puede ser un moho. Los mohos convenientes son el *Penicillium* y de preferencia se usa el *Penicillium expansum*. Otro género conveniente es el *Aspergillus*.

Si se desea el microorganismo puede ser una bacteria.

Las bacterias convenientes son de uno de los órdenes:

Pseudomonales, *Eubacteriales* y *Actinomycetales*.

De preferencia las bacterias que son empleadas son de las familias *Corynebacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Achromobacteraceae*, *Actinomycetaceae*, *Rhizobiaceae*, *Bacillaceae* y *Pseudomonadaceae*. Las especies preferentes son *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Otros tensesores que pueden ser empleados comprenden:



- Bacillus amylobacter
- Pseudomonas natriegens
- Arthrobacter sp.
- Micrococcus sp.
- 5 Corynebacterium sp.
- Pseudomonas syringae
- Xanthomonas begoniae
- Flavobacterium devorans
- Acetobacter sp.
- 10 Actinomyces sp.
- Nocardia opaca

Estas bacterias se desarrollan en presencia del medio nutritivo acuoso siguiente:

- NH₄Cl 0.5 gramos
- 15 NaCl 4 gramos
- MgSO₄·7H₂O 0.5 gramos
- Na₂HPO₄·12H₂O 0.5 gramos
- KH₂PO₄ 0.5 gramos
- agua hasta llegar a los 1000 mls.

20 De preferencia el pH de este medio es mantenido a 7.

Otro medio nutritivo acuoso es:

- K₂HPO₄ 1 gramos
- KH₂PO₄ 0.5 gramos
- MgSO₄·7H₂O 0.5 gramos
- 25 CaCl₂ 0.1 gramos
- NaCl 0.1 gramos

Agua hasta llegar a los 1000 mls.

Un medio nutritivo conveniente para fermentos y mohos tiene la composición:



	$(NH_4)_2HOP_4$	2 gramos
	KCl	1.15 gramos
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.65 gramos
	$ZnSO_4$	0.17 gramos
5	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	0.045 gramos
	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.068 gramos
	Agua corriente	200mls.
	Extracto de fermento	0.025 gramos
	Agua destilada (hasta llegar a los 1000mls.)	

10 El desarrollo del microorganismo usado es favorecido por la adición al medio de cultivo de una muy pequeña proporción de extracto de fermento (un producto industrial rico en nutrilitos esenciales, cual son, factores de desarrollo obtenidos por la hidrolisis de un fermento) o más generalmente de los nutrilitos esenciales. Los nutrilitos esenciales comprenden la biotina, 15 el ácido pantoténico, el ácido nicotínico, la tiamina, el inositol, y la piridoxina.

La cantidad de extracto de fermento adicionada es de preferencia del orden de 25 partes por millón. La cantidad de cada 20 nutrilito requiere variaciones entre cerca 0.1 partes por millón de biotina a cerca 10 partes por millón de inositol.

El desarrollo del microorganismo se realiza a expensas de la fracción de material de carga con la producción intermedia de 25 cuerpos que tienen una función ácida, principalmente ácidos grasos, de manera tal que el pH del medio mineral acuoso disminuye progresivamente. Si no es correcto, el desarrollo es total y rápidamente detenido y la concentración del microorganismo en el medio, o densidad celular, no progresa más de manera que se alcanza una denominada fase estacionaria.



De preferencia por lo tanto el medio nutritivo acuoso es mantenido a un deseado pH por la gradual o continua adición de un medio acuoso de elevado valor de pH. Generalmente, cuando se emplean mohos o fermentos y en particular cuando se usa el *Candida lipolytica*, el pH del medio nutritivo debe mantenerse en el orden de 3-6 y de preferencia en el orden 4-5. (Las Bacterias requieren un pH más elevado, generalmente 6.5-8). Materiales alcalinos convenientes para adicionar a la mezcla de desarrollo comprenden el hidróxido sódico, hidróxido potásico, fosfato de hidrógeno disódico y amoníaco, ya libres o en solución acuosa.

La temperatura óptima de la mezcla de desarrollo debe variar según el tipo de microorganismo empleado y debe usualmente hallarse en el orden de 25-35°C. Cuando se usa *Candida lipolytica* la temperatura preferida está en el orden de 28-32°C.

La toma de oxígeno es esencial para el desarrollo del microorganismo. El oxígeno debe generalmente ser suministrado como aire. Con el fin de mantener una proporción rápida de desarrollo, el aire, usado para suministrar oxígeno, estará presente en la forma de finas burbujas bajo la acción de agitación. El aire puede ser introducido a través de una superficie aglomerada. No obstante puede ser usado el sistema de aeración íntima conocido como "aeración torbellino".

Se ha comprobado que por el uso de fermentos de la tintura *Candida lipolytica* en un procedimiento según la invención en el cual la aeración es efectuada por "aeración torbellino", una elevada proporción de desarrollo es lograda por lo cual el tiempo de generación se halla en el orden de 2-5 horas y la concentración de elementos es aumentada por un factor de sobre 1000 en dos días.

19 UC



- 9 -

Los microorganismos y en particular fermentos, cuando son cultivados primero con el empleo de fracciones de hidrocarburos como material de carga, a veces se desarrollan con dificultad y es a veces necesario la inoculación de un microorganismo que haya previamente sido adaptado para desarrollarse en la fracción de hidrocarburo que es destinada a ser usada. Además el microorganismo, aunque cultivado en presencia de un medio mineral acuoso conteniendo los apropiados elementos nutritivos, pueden desarrollarse con dificultad a causa de que la fracción de hidrocarburo no contiene los factores de desarrollo que existen en el material de carga carbohidrato, a menos que estos factores le sean adicionados.

En operación dosificada, el microorganismo debe usualmente iniciar su desarrollo en una baja proporción de incremento de densidad celular. (Este periodo de desarrollo es denominado como "fase retardada"). Seguidamente la proporción de desarrollo debe aumentar a una proporción elevada de desarrollo; el periodo de esta elevada proporción de desarrollo es denominado "fase exponencial" y seguidamente otra vez la densidad celular debe ponerse constante (la "fase estacionaria").

Una provisión del microorganismo para iniciar el proceso siguiente debe preferiblemente ser apartado antes del término de la fase esponencial.

La operación de desarrollo debe generalmente ser interrumpida antes de la fase estacionaria.

En estas etapas debe ser generalmente posible separar el microorganismo, contaminado con algo de material de carga, desmetabolizado y medio nutritivo acuoso de la masa de la fracción de material de carga desmetabolizado. De preferencia la separación



es lograda por medio de una decantación; adicionalmente o alternativamente la centrifugación puede ser empleada. La fracción conteniendo el microorganismo es ahora sometida a tratamiento con medio de tratamiento acuoso comprendiendo agua, una sal de metal y un agente tensoactivo que consiste de o contiene un detergente no-iónico. De preferencia el tratamiento es efectuado usando una o más de las condiciones antes descritas.

El producto recuperado del fermentador es decantado para separar una fracción, consistiendo de cerca dos tercios por volumen del producto y consistiendo principalmente de medio nutritivo consumido, de una fracción de producto conteniendo substancialmente la totalidad del producto microorganismo y del hidrocarburo residual junto con algo de medio nutritivo consumido. A la fracción del producto es adicionada una mezcla en una cantidad tal que se obtiene una mezcla resultante que contiene cerca 10 gms/litro de sales minerales. A esta mezcla resultante es adicionado un agente tensoactivo no-iónico y la mezcla resultante es centrifugada, convenientemente en una máquina Sharples D 62.

De preferencia la mezcla es centrifugada a 25-35°C, por ejemplo a cerca 30°C.

De preferencia el detergente no-iónico comprende, en la molécula, una cadena de grupos óxido de etileno. De preferencia el detergente tiene la fórmula $A-(CH_2CH_2O)_nH$ en la que A es un grupo residual alcohol o un grupo residual ácido, el compuesto H-A siendo elegido de los siguientes alcoholes y ácidos y el valor de n situado en un orden como antes se ha mostrado, el orden variando según el compuesto H-A elegido:-



<u>H-A</u>	<u>Término medio del valor n en el orden</u>
Alcohol láurico	7-2 10
Alcohol mirístico	7.5 - 11
Alcohol oleico	13 - 15
5 Acido palmítico	14 - 17
Acido oleico	8,5 - 11
Acido esteárico	15,5 - 19

Como una alternativa a los citados preferidos detergentes puede ser usado un detergente obtenido por condensación de óxido de etileno con una mezcla de alcohol láurico y alcohol mirístico para formar un producto que tiene una cadena óxido de etileno de un término medio de 2 a 10 grupos de óxido de etileno por grupo terminal y más particularmente es preferido que el valor dentro de este orden sea 8.5.

La fracción conteniendo el microorganismo es obtenida del centrifugador como una pasta o crema; esta fracción es lavada con agua dulce y otra vez centrifugada.

La fracción conteniendo el microorganismo así obtenida puede ser tratada por

(a) desecación, convenientemente por secado por aspersión o secado por tambor y luego extraída con una mezcla azeotrópica de hexano y alcohol, o

(b) extracción con una mezcla de hexano y alcohol y luego secado, convenientemente por secado por aspersión o secado por tambor.

Los métodos preferidos para emplear en el cultivo del microorganismo y para recuperar el producto están descritos en la Especificación francesa nº 1393517 donde, apropiadamente, se describen métodos o procedimientos con sus condiciones para ser empleadas en el procedimiento de la presente invención.



La invención es ilustrada; pero sin carácter limitativo alguno, con referencia al ejemplo siguiente:

El experimento que sigue es suministrado con el propósito de ilustración y no constituye operación de acuerdo con la invención.

EJEMPLO

El fermento *Candida lipolytica* fué desarrollado en fermentador de operación continua de 50 m³ de capacidad en presencia de un medio nutritivo acuoso teniendo la composición siguiente

		<u>g/ litro</u>
10	(NH ₄) ₂ H PO ₄	2.0
	KCl	1.15
	Mg SO ₄ · 7 H ₂ O	0.65
	Mn SO ₄ · 4 H ₂ O	0.06
	Fe SO ₄ · 7 H ₂ O	0.124
15	Zn SO ₄ · 7 H ₂ O	0.306

con una proporción de aeración de 60 v/v/hr. empleando una agitación torbellino.

La fuente de carbono fué suministrada por un gasoil obtenido de petróleo crudo Iraq y teniendo las características siguientes

20	Gravedad específica	0.870
	Punto de fluidez	+ 15°C
	Campo de ebullición	300 - 390°C

Una mezcla de gasoil y medio nutritivo acuoso en las relativas proporciones de 22/172 partes por volumen fué alimentada al fermentador a la proporción de 200 litros por metro cúbico de fermentador por hora y el producto fué continuamente removido.



El fermentador fué mantenido a 30°C y a un pH de 4 por admisión continua de amoniaco acuoso.

El producto por metro cúbico del mismo tenía la composición siguiente

5	Gasoil residual	133 litros
	Candida lipolytica	7 Kgs.
	Agua + sales residuales	860 litros

Por decantación fueron separados 660 litros de fase acuosa por metro cúbico de producto y reemplazados por 160 litros de 10 agua de mar más 200 litros de agua corriente dando entonces una mezcla por metro cúbico de

	Gasoil residual	133 litros
	Candida lipolytica	7 Kgs.
	Fase acuosa:	
15	Agua de mar 160 litros	
	Agua corriente 200 litros	360 litros

A esta mezcla, por metro cúbico fué adicionado 0.5 Kg. de un detergente no-iónico vendido bajo la marca NI 29 y siendo el producto obtenido por condensación una mezcla de alcohol láurico 20 y alcohol mirístico con óxido de etileno, teniendo el producto una cadena de óxido de etileno de 8.5 unidades por término medio por grupo terminal.

Este fué mezclado continuamente y centrifugado en un auto- 25 yector DG2 centrífugo para obtener como productos separados, por 700 litros de mezcla de alimento:



Pasta de fermento	35 Kg
Gasoil residual	133 litros
Fase acuosa	532 litros

5. Este fermento contenía 1.0% por peso de gasoil residual (estimado en peso de fermento seco).

Este fermento fué mezclado con 665 litros de agua corriente y otra vez centrifugado.

La pasta de fermento recuperada contenía 0.8% por peso de gasoil residual (estimado en peso de fermento seco).

10 Esta pasta fué secada al tambor con vapor a 4 kgs, de presión dando una temperatura de aproximadamente 140°C en la piel del tambor.

15 El fermento seco fué extraído por disolución con una mezcla azeotrópica de hexano normal e isopropanol a una proporción de 2 partes de mezcla azeotrópica por 1 parte de fermento seco. La extracción por disolvente fué repetida cinco veces para dar un hidrocarburo-producto libre.

EXPERIMENTO

20 Un experimento similar fué efectuado, en el que el agua de mar fué omitida. Fué empleada solamente agua corriente en las etapas de lavado; y después centrifugación en un autoyector DG2 Sharples, los productos separados por 700 litros de mezcla alimentada fueron:

25	Pasta de fermento + gasoil residual	32 Kgs.
	Gasoil residual	130 litros
	Fase acuosa + fermento residual + petróleo	538 litros



- 15 -

La pasta de fermento contenía 2.2% por peso de gasoil residual (estimado en peso por fermento seco).

5 El mismo tratamiento de acabado empleado en el Ejemplo se le dió a esta pasta de fermento. Pero con el fin de obtener un hidrocarburo-producto libre, la extracción por disolvente fué repetida 10 veces. La pérdida de fermento según esta manera de proceder fué excesiva.

10 Las etapas del procedimiento aquí descrito pueden ser efectuadas de manera discontinua, si se desea, no obstante, una o más o realmente todas las etapas del procedimiento pueden ser operadas de manera continua.

N O T A

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

20 1.- Un procedimiento para el cultivo y recuperación de microorganismos, caracterizado por el hecho de que comprende el cultivo del microorganismo en presencia de un material de carga que consiste o contiene hidrocarburo, en presencia de un medio nutritivo acuoso y en presencia de un gas que contiene oxígeno libre y después la separación de parte del medio nutritivo acuoso; tratamiento luego con un medio de tratamiento acuoso del producto restante o parte del mismo que comprende el microorganismo en mezcla con a lo menos parte del hidrocarburo residual
25 y a lo menos parte del medio nutritivo residual, dicho medio acuoso comprendiendo agua, una sal de metal y un agente tensoactivo que consiste de o contiene un detergente no-iónico y después sane-



5 timiento de la mezcla así obtenida a un tratamiento separado para la recuperación de una fracción en la que predomina el hidrocarburo, una fracción en la que predomina el medio acuoso y una fracción que consiste o contiene una mezcla del microor-

ganismo y agua.

2.- Un procedimiento para el cultivo y recuperación de microorganismos, caracterizado por el hecho de que comprende el cultivo del microorganismo en presencia de un material de carga que consiste o contiene hidrocarburo, en presencia de un medio nutritivo acuoso y en presencia de un gas que contiene oxígeno libre y después la separación de parte del medio nutritivo acuoso; tratamiento luego con un medio de tratamiento acuoso del producto restante o parte del mismo que comprende el microorganismo en mezcla con a lo menos parte del hidrocarburo residual y a lo menos parte del medio nutritivo residual; dicho medio de tratamiento acuoso comprendiendo agua y una sal de metal, luego tratamiento de la mezcla así obtenida con un medio tensoactivo, que consiste de o que contiene un detergente no-iónico y luego sometimiento de la mezcla así obtenida a un tratamiento para la recuperación de una fracción en la que predomina el hidrocarburo, una fracción en la que predomina un medio acuoso y una fracción que consiste de o que contiene una mezcla del microorganismo y agua.

3.- Un procedimiento, tal como el especificado en 1 o 2, caracterizado por el hecho de que la sal de metal es un haluro de una sal de metal.

4.- Un procedimiento, tal como el especificado en 3, caracterizado por el hecho de que la sal es cloruro sódico.

5.- Un procedimiento, tal como el especificado en 2, carac-



terizado por el hecho de que el medio de tratamiento acuoso consiste de o comprende una mezcla de agua de mar y agua dulce.

5 6.- Un procedimiento, tal como el especificado en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por el hecho de que el material de carga es una fracción derivada del petróleo.

7.- Un procedimiento, tal como el especificado en 6, caracterizado por el hecho de que el material de carga es un gasoil.

10 8.- Un procedimiento, tal como el especificado en 6, caracterizado por el hecho de que el material de carga es Kerosina.

9.- Un procedimiento, tal como el especificado en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por el hecho de que el hidrocarburo parafínico de cadena recta que consume el microorganismo es un fermento.

15 10.- Un procedimiento, tal como el especificado en 9, caracterizado por el hecho de que el fermento es de la familia Cryptococcaceae.

20 11.- Un procedimiento, tal como el especificado en 10, caracterizado por el hecho de que el fermento es de la subfamilia Cryptococcoideae.

12.- Un procedimiento, tal como el especificado en 11, caracterizado por el hecho de que el fermento es del género *Torulopsis*.

13. Un procedimiento, tal como el especificado en 11, caracterizado por el hecho de que el fermento es del género *Candida*.

25 14.- Un procedimiento, tal como el especificado en 13, caracterizado por el hecho de que el fermento es *Candida lipolytica*.

15.- Un procedimiento, tal como el especificado en 1 o 2, caracterizado por el hecho de que el microorganismo es una bacteria.



19

16.- Un procedimiento, tal como el especificado en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por el hecho de que una fracción del producto conteniendo el microorganismo y agua es sometida a extracción disolvente por medio de un disolvente que comprende un hidrocarburo.

17.- Un procedimiento, tal como el especificado en 16, caracterizado por el hecho de que el disolvente que comprende un hidrocarburo es una mezcla de un hidrocarburo y un disolvente polar.

18.- Un procedimiento, tal como el especificado en 17, caracterizado por el hecho de que el disolvente polar es un alcohol.

19.- Un procedimiento, tal como el especificado en 18, caracterizado por el hecho de que el disolvente es etanol.

20.- Un procedimiento, tal como el especificado en 18, caracterizado por el hecho de que el disolvente es isopropanol.

21.- Un procedimiento, tal como el especificado en 16 o 17, caracterizado por el hecho de que el hidrocarburo es hexano normal.

22.- Un procedimiento, tal como el especificado en 17, caracterizado por el hecho de que la mezcla hidrocarburo y disolvente polar es una mezcla azeotrópica.

23.- "Un procedimiento para el cultivo y recuperación de microorganismos".

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

Barcelona, 19 de Octubre de 1966.

E. LAVIN REYNALDO
p. p.