

P.- 43.228

F-7237

| |
|------------------------|
| SECCION TECNICA |
| CLASIFICACION I. P. C. |
| CLASE <u>C-12</u> |
| SUBCLASE <u>B</u> |

373639

Memoria descriptiva



para solicitar PATENTE DE INVENCION por 20 años

a nombre de MOBIL OIL CORPORATION

entidad / ~~de nacionalidad~~ norteamericana

con domicilio en 150 East 42nd Street, Nueva York, N.Y.,
Estados Unidos de América

por: "UN APARATO PARA CULTIVAR MICROORGANISMOS AEROBIOS"
(Clase Internacional C12b)



Esta invención se refiere al cultivo de microor-
ganismos.

Se pueden cultivar microorganismos en mezclas -
de cultivo utilizando dispositivos mecánicos para agitar
5 la mezcla de cultivo. Puede utilizarse también aire a al-
ta presión para agitar la mezcla y para suministrar oxígeno a la misma.

La invención se refiere a un aparato que com- -
prende una o más cámaras o secciones de fermentación alar-
10 gadas para contener una mezcla de cultivo, medios para su-
ministrar mezcla de cultivo y aire a las mismas, y para -
eliminarlos de la mezcla. Cada una de dichas cámaras - -
tiene un cierto número de zonas de agitación en las cua--
les la mezcla de cultivo se pone en contacto con aire a -
15 baja presión, preferiblemente a una presión comprendida -
entre 1,27 y 15 centímetros de mercurio, y en las cuales -
se produce una circulación continua de la mezcla de cul--
tivo a través de las zonas. La mezcla de cultivo puede -
desplazarse poco a poco a través de cada una de las cáma-
20 ras. El aire agita la mezcla, y, al mismo tiempo, sumi--
nistra oxígeno. Por comparación con un equipo convencio-
nal que emplee agitadores mecánicos o aire a presión ele-
vada, el presente aparato permite una reducción importan-
te en las necesidades de energía para llevar a cabo las -
25 fermentaciones.

El microorganismo aerobio se reproduce en la --
mezcla de cultivo, en presencia de oxígeno, preferiblemen-
te a una temperatura de 20 a 55° C aproximadamente.

El cultivo de microorganismos es importante de-
30 bido a la aptitud de un gran número de especies para pro-

373639



ducir sustancias valiosas, tales como proteína intracelular, hecho éste que los hace valiosos como alimentos para el ganado y otros animales, incluyendo los seres humanos. Aunque la invención es útil para muchos géneros de microorganismos, y si bien pueden utilizarse muchas fuentes distintas para proporcionar carbono asimilable para la producción de energía y para el crecimiento, se prefiere cultivar microorganismos que consumen hidrocarburos y utilizar hidrocarburos de bajo precio como fuente de carbono. Así pues, la mezcla de cultivo comprende un hidrocarburo, una solución acuosa de nutriente mineral, y las células del microorganismo, y dicha mezcla se encuentra en forma de una emulsión, preferiblemente de una emulsión del tipo de agua en aceite, ó Aq./Ac., tipo por el que se entiende una emulsión de fase aceitosa continua en la que el aceite es un hidrocarburo. Para obtener una emulsión del tipo Aq./Ac., se utiliza preferiblemente un agente emulsificante que promueva esta clase de emulsión. En tal forma, la mezcla de cultivo tiene una viscosidad relativamente baja, lo que equivale a decir que es más fácil de agitar y de bombear que una emulsión de fase acuosa continua, y es al propio tiempo una emulsión estable, lo que significa que puede reproducirse una y otra vez de un modo controlado. Además, se pueden introducir a través de la fase continua hidrocarburada de tal emulsión cantidades mayores de oxígeno que en el caso de las emulsiones de fase acuosa continua, debido a la mayor solubilidad del oxígeno en los hidrocarburos que en el agua. Así pues, es accesible a las células una mayor cantidad de oxígeno, por tender aquéllas a concentrarse en la fase



acuosa.

5 Para llevar a la práctica el procedimiento que antecede, la invención proporciona un aparato de fermentación de capacidad amplia y variable en el cual se lleva a cabo una elevación por aire de la mezcla de cultivo para agitar la misma y para suministrar el oxígeno requerido. Tal elevación por aire se efectúa mediante aire a -- baja presión, y la altura de la elevación está relacionada con la presión del aire a baja presión utilizado. El
10 aparato se ilustra en los dibujos que se acompañan, en -- los cuales:

la Figura 1 es una vista lateral en corte del -- aparato que muestra tres plataformas, dispuestas unas sobre otras, sobre las cuales están soportadas las cámaras o secciones de fermentación;
15

la Figura 2 es una vista en planta, asimismo -- en corte, del aparato de la Figura 1 con el techo retirado;

la Figura 3 es una vista en corte parcial amplia da de una cámara de fermentación tomada a lo largo de -- la línea 3-3 de la Figura 2, correspondiendo la vista a -- una cámara intermedia entre una cámara superior y una cámara inferior;
20

la Figura 4 es una vista en corte parcial tomada a lo largo de la línea 4-4 de la Figura 3;
25

la Figura 5 es una vista como la de la Figura -- 2, pero representando un aparato modificado;

la Figura 6 es una vista en sección parcial, -- ampliada y cortada, de una cámara de fermentación, tomada a lo largo de la línea 6-6 de la Figura 5, mostrando --
30

373639



dicha vista porciones extremas de la cámara; y

la Figura 7 es una vista en corte parcial tomada a lo largo de la línea 7-7 de la Figura 6.

5 Como se vé en la Figura 1, el aparato comprende una estructura de plataformas múltiples o de pisos múltiples, mostrándose tres plataformas espaciadas verticalmente en 10, 11 y 12, aunque pueden utilizarse más o menos de tres. Cada plataforma tiene una o más cámaras de fermentación en forma de largos canales o secciones, dos 10 de los cuales se muestran uno al lado del otro en 13 y 14, y se entenderá que pueden existir tantos como se desee. Estas cámaras están completamente cerradas; por ejemplo, la cámara 13 está cerrada por tabiques de techo y suelo 15 y 16, tabiques laterales 17 y 18, y tabiques 15 extremos 19 y 20. Cada plataforma tiene un pasillo en el espacio comprendido entre las cámaras, uno de los cuales se muestra en 22, al cual puede tenerse acceso por escaleras, tal como se muestra en 23 y 24.

20 Las cámaras de fermentación se mantienen con arreglo a una disposición separada verticalmente, descansando sobre vigas en I que se prolongan verticalmente, una de las cuales se muestra en 25 (Figura 4); cada una de estas vigas en I se extiende entre y está soportada por un par de pilares dispuestos en oposición, tales como 25 los pilares 26 y 27. Los pilares están separados longitudinalmente a lo largo de cada uno de los lados del aparato en toda su longitud, identificándose algunos de ellos en la Figura 1 como 26, 28 y 29. Sobre los tabiques de techo de las cámaras de la plataforma más alta se dispone 30 una serie de viguetas o piezas transversales separadas



longitudinalmente y que se extienden transversalmente ----
 30, 31, 32, etc., descansando cada una de ellas sobre un
 par de pilares dispuestos en oposición y sirviendo para
 soportar las armaduras del tejado, dos de las cuales se
 indican en 33 y 34. Dichas armaduras soportan el tejado
 5 35.

En los extremos respectivos de cada cámara es-
 tán dispuestos tubos de entrada y salida para introducir
 la mezcla de cultivo en aquélla y para retirar la misma,
 10 junto con medios para mover la mezcla a lo largo de las
 cámaras. Así, 40 es un tubo de alimentación de mezcla -
 de cultivo que tiene una bomba 41 incorporada, de la cual
 arranca el tubo 42 que lleva la alimentación a los tubos
 de entrada de todas las cámaras, representándose estos -
 15 últimos tubos en 43-47. En los extremos de salida de las
 cámaras, tubos de salida 48-52 retiran la mezcla de cul-
 tivo y hacen pasar la misma al tubo de descarga 53. De-
 be entenderse que estos tubos de entrada y de salida es-
 tán provistos de válvulas adecuadas para permitir el fun-
 20 cionamiento de una cualquiera o más cámaras, incluyendo
 todas ellas. La bomba 41 sirve para mover gradualmente
 la mezcla de cultivo a lo largo de las diversas cámaras,
 siendo la velocidad del movimiento variable y estando ba-
 jo control del operador. Si se desea, la fuente de la -
 25 mezcla de cultivo (no representada) puede ser un depósi-
 to elevado, a fin de que la mezcla pueda ser impulsada -
 a lo largo de las cámaras por la fuerza de la gravedad.

Están provistos medios de entrada y de salida
 para introducir aire a baja presión en las cámaras y pa-
 30 ra evacuar el mismo, así como medios para que el aire se

373639



desplace a lo largo de las cámaras. Así, el aire atmosférico es aspirado por la soplante 55 en su entrada 56 - y bombeado a baja presión a través del distribuidor vertical 57 y de los conductos 58-61, hasta los conductos -
5 de aire de diámetro reducido que se muestran en 62-65, - uno de los cuales está dispuesto en la parte exterior, - es decir, en la parte alejada del pasillo, de cada una - de las cámaras, contiguo a la porción inferior de la - - misma y prolongándose longitudinalmente desde un extre-
10 mo al otro de la cámara. En el extremo de salida de cada cámara, cada uno de tales conductos de aire termina - en un extremo cerrado, como se vé en 66 y 67 para los -- conductos 62 y 63.

La construcción interna de una cámara se muestra en las Figuras 3 y 4, debiendo entenderse que todas -
15 las cámaras tienen esta misma construcción. La cámara - que se muestra en las Figuras 3 y 4 se identifica como - 68, véase la Figura 1, estando situada entre la cámara - superior 13 y la cámara inferior 69. Tiene un suelo - -
20 70, un techo 71, una pared interior 72, y una pared exterior 73, véase la Figura 1. Una viga de soporte en - I está visible en 74, y una viga superior en I 75 ayuda a soportar el suelo 76 de la cámara superior. En la pared interior 72 existe una abertura de observación 77 --
25 tapada por una puerta, a través de la cual un observador que se encuentre en el pasillo puede inspeccionar el interior de la cámara, estando tales aberturas espaciadas a lo largo de la pared 72.

En la porción inferior de la cámara 68 exis- -
30 ten una pluralidad de zonas de agitación, espaciadas - -

373639



unas de otras longitudinalmente en toda la longitud de la cámara. En la Figura 3 se muestran tres de dichas zonas, identificadas como 78, 79 y 80. Cada zona está definida por un par de tabiques o placas de desviación separados - uno del otro y del suelo 70 y que se extienden de lado a lado, es decir, desde la pared interior 72 a la pared exterior de la cámara 73; así la zona 78 está definida por los tabiques 78a y 78b, la zona 79 por los tabiques 79a y 79b, y la zona 80 por los tabiques 80a y 80b. La zona 78 está provista de una pluralidad de borboteadores de -- aire espaciados transversalmente, usualmente en número -- de catorce, aunque este número es variable, tres de los -- cuales se muestran en 78c, 78d y 78e (Figura 4), junto -- con las tuberías de entrada de aire correspondientes 78f, 78g, y 78h, cada una de las cuales tiene la forma general de una U invertida. Se observará que el tabique 78a tiene una serie de prolongaciones separadas 78i, 78j, y 78k (Figura 4) en las cuales están soportados los borboteadores y las tuberías de entrada de aire. El tabique 78a es tá provisto también de una prolongación en forma de canal 78m adyacente a su extremo inferior, en la cual está dispuesto un tubo 78n de entrada de aire. En su extremo exterior 78o (Figura 4), el tubo 78n está conectado con el -- conducto de aire 64, mientras que su extremo interior (no representado) está herméticamente cerrado. Conectadas al tubo 78n en toda su longitud se encuentran las ramificaciones más largas de las tuberías de aire en forma de U invertida 78f, 78g, y 78h. Así pues, el aire procedente del conducto de aire 64 pasa al tubo de alimentación 78n y a continuación a las tuberías de aire 78f, 78g, y 78h,-

373639



que lo conducen a los borboteadores 78c, 78d, y 78e.

Dado que la construcción de las zonas 79 y 80 - es similar a la descrita para la zona 78, no es preciso - repetirla.

5 Cada una de las cámaras está adaptada para con-
tener la mezcla de cultivo hasta una altura suficiente --
para llenar prácticamente las zonas de agitación. Por --
ejemplo, en la Figura 3 el nivel de la mezcla de cultivo
en la cámara 68 se muestra en 81, y este nivel se mantie-
10 ne esencialmente disponiendo el tubo de salida 49 (Figura
1) a una distancia por encima del suelo 70 tal que corres-
ponda a la altura de las zonas de agitación. Por otra --
parte, el tubo de entrada 46 se dispone bastante por enci-
ma del nivel 81.

15 Considerando la zona 78, a medida que el aire -
es descargado por los borboteadores en la mezcla de culti-
vo, eleva dicha mezcla, o porciones de la misma, hacia --
arriba de tal modo que la mezcla rebosa por encima de los
tabiques 78a y 78b, por así decirlo, y desciende por sus
20 caras externas. Durante tal acción de subida, la densi-
dad de la mezcla aireada ascendente en la zona de agitación
tiende a disminuir, y cierta cantidad de mezcla proceden-
te del exterior de la zona, como son las regiones identi-
ficadas por A, pasa a la parte inferior de la zona para -
25 igualar la densidad; así pues, se establece una circula-
ción a través de la zona 78. A veces se denomina dicha -
circulación "efecto de chimenea". En las zonas 79 y 80 -
se establecen circulaciones similares, y de hecho en to--
das las zonas de la cámara. Por otra parte, como la mez-
30 cla de cultivo está entrando continuamente en la cámara -

373639



y saliendo de la misma, se establece un flujo en la dirección indicada por la flecha B.

La altura a la que es levantada la mezcla de cultivo por la corriente de aire en la zona 78 está relacionada con la presión de aire. Por ello, con objeto de utilizar aire de baja presión, esto es, comprendida en el intervalo de aproximadamente 6,35 mm a 15 cm de mercurio, preferiblemente de 1,27 a 15 cm, medida en las zonas de agitación, las ventajas de lo cual se indican más adelante, la altura de la zona deberá corresponder a esta presión. Esta relación entre la presión del aire y la altura de la zona puede establecerse con anterioridad a la construcción del aparato. En la presente invención, se ha encontrado satisfactoria una altura de zona de hasta 61 cm aproximadamente; en cambio, la longitud y la anchura de la cámara de fermentación pueden variarse para hacerla de la capacidad que se desee. A título de ejemplo, un aparato diseñado para tratar 3.785 metros cúbicos de mezcla de cultivo en una sola operación puede tener las siguientes dimensiones en las cámaras de fermentación: longitud, 119 metros, anchura 9,15 m, altura 61 cm, estando constituido por seis de tales cámaras, dispuestas como se ha indicado. En términos más generales, y por comparación con el siguiente ejemplo ilustrativo, la altura de la zona puede llegar hasta 1,83, 1,98, ó 2,13 m, aunque para estos valores es preferible reducir la longitud y/o la anchura de las cámaras. Con alturas de hasta 1,83 a 2,13 metros, es todavía posible contar con las ventajas que acompañan al empleo de aire de baja presión.

El aire de baja presión descrito puede obtener-

373639

18N



se y mantenerse de cualquier manera deseada, por ejemplo, empleando medios de regulación de presión adecuadamente pre-ajustados, los cuales no se representan, en la tubería situada entre la soplante 55 y las cámaras de fermentación. Otro método, arriba indicado, comprende adecuar la altura o profundidad de la mezcla de cultivo (dentro del campo precedente) en las zonas de agitación a la presión de aire seleccionada de tal manera que esta última sea justamente efectiva para hacer circular la mezcla hacia arriba a través de las zonas.

Con respecto al uso de aire de baja presión, -- cuya presión esté comprendida dentro del campo indicado, -- se ha encontrado que tal uso da lugar a una economía importante en lo que se refiere a las necesidades de energía para llevar a cabo las fermentaciones. Hasta ahora, en las fermentaciones aerobias, se creía que eran precisas una elevada intensidad de cizallamiento, tal como la producida por agitación mecánica, y una fuerte agitación, para la creación de superficies y para ayudar al transporte de oxígeno al sistema. En el caso de la agitación por medio de aire a alta presión, se creía que habían de utilizarse presiones elevadas, por ejemplo, 1,76 a 2,11 -- kg/cm² manom., para obtener una buena distribución a través de los borboteadores y para un control y reproducibilidad de las condiciones que pudiesen considerarse satisfactorios. En contraposición con esta técnica y creencia anteriores, se pueden obtener a las presiones realmente bajas descritas una agitación satisfactoria de la mezcla de cultivo, junto con una buena distribución del aire a través de los borboteadores y un buen control y reproduc

373639



bilidad. Los requisitos de energía con tal aire de baja presión son solamente de 1/15 a 1/3, y generalmente no más de 1/2, de los necesarios en un procedimiento similar pero en el que la agitación se lleve a cabo por medios mecánicos o con aire a alta presión.

5

En la cámara 68, como se muestra en la Figura 3, el aire que borbotea a través de la mezcla de cultivo en cada zona de agitación pasa al espacio existente sobre la mezcla, y a continuación se desplaza gradualmente hacia el extremo de salida de la cámara, donde pasa al conducto 82, y seguidamente al tubo vertical 83, y de éste a la atmósfera. Tal movimiento del aire es efectuado por el dispositivo de soplado 55, y si se desea, puede instalarse un dispositivo de soplado adicional en el tubo vertical a fin de asegurar una evacuación más eficaz del aire de las cámaras. Es también factible colocar una soplante en cada conducto que extraiga el aire de una sola cámara, es decir, en los conductos identificados como 82, 84, 85 y 86, obsérvense las Figuras 1 y 2, y omitir el dispositivo de soplado en el tubo vertical.

10

15

20

25

30

La mezcla de cultivo en la cámara 68 se somete a un mezclado continuo por retroceso, dado que es posible que la mezcla fluya hacia adelante o hacia atrás a través del espacio comprendido entre los tabiques de desviación y el suelo de la cámara. Asimismo, los tabiques de desviación impiden cualquier tendencia de la mezcla a formar canales. Así, en una operación en condiciones estacionarias, cualquier parte de la mezcla tiene un tiempo de residencia en la cámara igual al menos al de la mezcla total o principal.

373639



La mezcla de cultivo en las cámaras puede ca-
lentarse a la temperatura de fermentación por cualquier -
medio deseado.

5 El funcionamiento del aparato puede ser por --
cargas o continuo, y por supuesto, se prefiere el último
tipo de operación. En el funcionamiento continuo, la mez-
cla de cultivo y el aire se introducen continuamente en -
las diversas cámaras y se retiran también continuamente, -
aunque son posibles una introducción y retirada intermi-
10 tentes. La mezcla de cultivo que se retira puede separar
se en fases de manera continua o intermitente, volviéndo-
se a utilizar la fase de aceite mediante recirculación, -
y separándose y recuperándose las células de la fase acu-
sa. La fase acuosa usada puede volver a utilizarse como
15 tal, o puede reconstituirse primeramente por adición de -
sales minerales y volver a utilizarse después; o bien, --
si no se encuentra en condiciones adecuadas, puede purifi-
carse por eliminación de las sustancias tóxicas, o puede
desecharse. Si se desea, puede recircularse una parte de
20 las células producidas, antes o después de la separación
de la fase acuosa, dado que tal recirculación puede produ-
cir un estímulo para el crecimiento ulterior del cultivo.

Como se ha descrito, la mezcla de cultivo que -
entra en las cámaras de fermentación contiene el microor-
ganismo a cultivar. Convenientemente, se habrá inoculado
25 previamente con el microorganismo en un recipiente, no --
representado, desde el cual es aspirada por la bomba 41.-
Si se desea, la inoculación puede hacerse dentro de cada
fermentador, preferiblemente en el extremo de entrada o -
30 cerca del mismo, por ejemplo, añadiendo el microorganismo



a través de las aberturas de observación 77 a la mezcla de nutriente acuoso e hidrocarburo que se encuentra en -- las cámaras.

5 Volviendo a la modificación de las Figuras 5-7, ésta difiere del aparato ya descrito en lo que se refiere a ciertas características, las cuales se describirán a -- continuación detalladamente, en tanto que no se describirán nuevamente las estructuras que permanecen inaltera-- das.

10 En la Figura 5, se introduce el aire en las cá-- maras de fermentación por una pluralidad de puntos con -- ayuda de las soplantes de aire 90, 91, 92 y 93, dos de -- las cuales están dispuestas en cada lado del aparato, y -- cada una de las cuales es accionada por un motor, como se
15 indica en 90a, 91a, 92a, y 93a. El aire atmosférico se -- bombea a un conducto vertical 90b, 91b, 92b, y 93b, del -- cual son visibles únicamente los extremos superiores, y -- cada uno de estos conductos dirige el aire a un colector que se extiende longitudinalmente, dispuesto en la cara --
20 externa de cada cámara. Existen tres de tales colectores en cada lado del aparato, dos de los cuales se muestran -- en 94 y 95 para las cámaras superiores 96 y 97. Estos co-- lectores están cerrados herméticamente en ambos extremos. En cada extremo de cada grupo de plataformas superpuestas
25 están situadas chimeneas verticales para la evacuación -- del aire 98, 99, 100 y 101, y cada una de las cámaras es-- tá conectada a una chimenea por un corto conducto que se prolonga desde el extremo de la cámara. Cuatro de tales conductos se muestran en 102, 103, 104, y 105.

30 Como puede verse claramente, el aire entra en --

373639



5 cada uno de los colectores por dos puntos separados, y en cada uno de tales puntos se bifurca la corriente de aire, fluyendo hacia derecha e izquierda, como lo indican las flechas pintadas en los colectores 94 y 95. Considerando el colector 95 como representativo, el aire pasa desde el mismo a una pluralidad de tubos de alimentación de aire 106, 107 y 108 (véase la Figura 6) en la cámara 97, tubos que, al igual que el tubo 78n de las Figuras 3 y 4, llevan el aire a la mezcla de cultivo, y al abandonar dicha mezcla el aire sale de la cámara 97 por los conductos 104 y 105, pasando luego a las chimeneas 100 y 101, y finalmente a la atmósfera.

10 En 109 puede verse la tubería de entrada de la mezcla de cultivo, y en 109a se encuentra la tubería de salida de la misma, omitiéndose la bomba correspondiente a 41 para simplificar el esquema.

15 Por comparación con las Figuras 1-4, la modificación de las Figuras 5-7, descrita arriba en relación con la Figura 5, está adaptada para proporcionar más aire para las cámaras de fermentación, haciendo así tal modificación más adecuada para la instalación en climas más templados en los cuales las necesidades de aire para la fermentación, agitación, y especialmente para el enfriamiento, son mayores. El empleo de una pluralidad de soplantes tiene el efecto de reducir las pérdidas de presión del aire y de proporcionar una distribución del aire más uniforme. Se comprenderá que si bien se representan dos medios de entrada de aire para cada colector, tales como los conductos 92b y 93b para el colector 95, se pueden disponer más de dos, incluyendo soplantes para

373639



los mismos, en caso necesario. Análogamente, pueden disponerse más de dos medios de salida del aire paracada cámara.

5 En las Figuras 6 y 7, pueden verse algunos cambios en la construcción 106 co-interna de una cámara por comparación con las Figuras 3 y 4. En este caso, la cámara es la 97 de la Figura 5, y sobre ella se encuentra la estructura del techo. Considerando la zona de agitación 110 de la cámara 97, los tabiques de desviación 110a y --
10 110b están soportados en extremos opuestos mediante soportes angulares de hierro, dos de los cuales se muestran en 110c y 110d, estando fijados ambos de éstos a la pared lateral 111 de la cámara y al suelo 112. El tubo de alimentación de aire 108 está soportado en posición contigua al extremo superior de la zona 110 y algo separado del mismo,
15 existiendo un espacio libre o retranqueo 110e entre el tubo y el extremo superior del tabique 110 a para el reboso de la mezcla de cultivo a su través. El tubo de alimentación de aire 108 está soportado entre las paredes
20 laterales opuestas de la cámara por medios que no se representan. Se verá también que la tubería de aire de conexión entre el tubo 108 y el borboteador 110f se ha acortado a la pieza 110g.

25 Las zonas de agitación 113 y 114 son semejantes a la zona 110, por lo que no requieren descripción adicional.

30 En la Figura 6, se muestra en 115 la tubería de entrada de la mezcla de cultivo, y se verá que esta tubería se prolonga bastante por debajo del nivel 116 de la mezcla de cultivo; el extremo inferior de la tubería es-

373639

18 NO



tá provisto de medios para introducir la mezcla de cultivo por debajo del nivel 116, comprendiendo dichos medios un tubo 117 que se prolonga horizontalmente, el cual tiene una pluralidad de orificios, no representados, para --
5 descargar la mezcla de cultivo. Esta disposición evita -- las salpicaduras de la mezcla sobre las paredes laterales y asegura una buena distribución de la misma profundamente dentro de la masa del líquido. La mezcla de cultivo --
10 sale de la cámara por la tubería 115a, frente a cuya abertura está dispuesto un medio en forma de un rebosadero -- 118 que se extiende transversalmente a fin de mantener -- un nivel prácticamente constante de líquido en la cámara, y para este fin se entenderá que la altura de los espacios libres 110e, 113e, y 114e puede variarse a medida --
15 que sea necesario, por ejemplo, disponiendo los tubos de alimentación de aire 108, 107 y 106 más cerca o más lejos del tabique de desviación adyacente.

En 119 se muestra un conducto de evacuación de aire a través del cual el aire pasa a la chimenea 100.

20 En la figura 7, se muestra el tubo de alimentación de aire 106 conectado a la porción superior del colector 95.

Debe entenderse que el funcionamiento de la modificación correspondiente a las Figuras 5-7 es esencialmente como el de las Figuras 1-4.

25 Como se ha indicado, la invención está relacionada preferiblemente con especies de microbios aerobios -- que son capaces de utilizar un hidrocarburo como fuente -- única de carbono para energía y crecimiento, incluyendo --
30 especies de bacterias, hongos, levaduras, y mohos que uti

373639



lizan hidrocarburos. Se prefieren los organismos no delicados, es decir, aquéllos que pueden cultivarse en medios salinos simplificados sin necesidad de adiciones de compuestos orgánicos. Se excluyen las especies que son gérmenes patógenos activos para los animales o el hombre, aunque si por alguna razón se desea cultivarlos, puede hacerse ello en el aparato descrito.

5

De las bacterias, géneros adecuados incluyen Pseudomonas, Bacillus, Flavobacterium, Sarcina, etc. Especies ilustrativas de estos géneros son P. aeruginosa, P. oleovorans, P. putida, P. boreopolis, P. methanica, P. fluorescens, P. pyocyanea; B. aureus, B. acidi, B. subtilis, B. urici, B. cereus, B. coagulans, B. mycoides, B. circulans, B. megaterium; Flavobacterium aquatile; Sarcina alba, Sarcina luteum.

10

15

Otros géneros preferidos son Achromobacter y Nocardia, ilustrados por especies tales como A. xerosis, A. agile, A. gutatus, A. superficialis, A. parvulus, A. cycloclastes; N. salmonicolor, N. asteroides, N. minimum, N. opaca, N. corallina, N. rubra, y N. paraffinae. Es útil el género Mycobacterium, particularmente especies tales como M. parafficum, M. phlei, M. lacticola, M. rhodochrous, M. smegmatis, M. rubrum, M. luteum, M. album, y M. byalinicum.

20

25

Todavía otras bacterias que utilizan hidrocarburos son Methanomonas methanica y Methanomonas sp.; Micrococcus paraffinae; B. aliphaticum, B. hidium, y B. benzoli, pertenecientes al género Bacterium; y especies de Micromonospora. Otros géneros útiles incluyen Brevibacterium, Aerobacter, y Corynebacterium.

30

373639



De entre los hongos, el método es aplicable a cualquier hongo comprendido dentro de la clasificación - Eumicetos u hongos verdaderos, pero preferiblemente a - los de la clase Fungi Imperfecti o a los de la clase Ficomicetos. Hongos preferidos de la clase Fungi Imperfecti son especies de los géneros Aspergillus y Penicillium, ilustrados por A. niger, A. glaucus, A. oryzae, A. flavus, A. terreus, A. itaconicus; P. notatum, P. chrysogenum, P. glaucum, P. griseofulvum, P. expansum, P. digitatum, P. italicum, etc. Otros organismos adecuados incluyen diversas especies de los géneros Monilia, Helminthosporium, Alternaria, Fusarium, y Myrothecium. Los hongos preferidos de la clase Ficomicetos incluyen especies de los géneros Rhizopus y Mucor, tales como R. nigricens, - R. oryzae, R. delemar, R. arrhizus, R. stolonifer, R.sp.; M. mucedo, M. genevensis.

Algunos de los géneros de hongos anteriores se identifican también como mohos, tales como Aspergillus, Penicillium, Rhizopus, y Mucor, pero se entenderá que todos ellos son hongos verdaderos o Eumicetos.

De entre las levaduras, los organismos preferidos son de la familia Cryptococcaceae, y particularmente de la sub-familia Cryptococcoidae. Géneros preferidos son Torulopsis (o Torula) y Candida. Especies preferidas son Candida lipolytica, Candida pulcherrima, Candida utilis, Candida utilis Variati major, Candida tropicalis, Candida intermedia, y Torulopsis colliculosa. Otras especies útiles son Hansenula anomala, Oidium lactia, y Neurospora sitophila.

El hidrocarburo es un hidrocarburo que se en--

373639



cuenta en fase líquida a la temperatura de incubación -
a fin de que sea capaz de formar una emulsión de agua en
aceite. Se prefieren hidrocarburos alifáticos, los cua-
les pueden ser hidrocarburos saturados o insaturados, de
5 cadena recta o ramificada, que tengan hasta 20 ó 30 ó 40
ó más átomos de carbono. Son particularmente deseables
hidrocarburos saturados de cadena recta que tengan hasta
20 átomos de carbono. Pueden utilizarse también hidro-
carburos cíclicos, comprendiendo compuestos aromáticos y
10 alicíclicos, con inclusión de compuestos cíclicos alco-
hil-sustituídos que tengan 1, 2 ó más alcohol-sustituyen-
tes cada uno de los cuales tenga longitud de cadena, con
figuración de cadena y grado de saturación cualesquiera,
y en los cuales el resto cíclico sea aromático o ciclo-
15 parafínico. Los hidrocarburos aromáticos alcohol-susti-
tuídos incluyen tolueno, los diversos xilenos, mesitile-
no, etilbenceno, p-cyameno, los dietilbencenos, y los --
propilbencenos, butilbencenos, amilbencenos, heptilbence-
nos, y octilbencenos isómeros. Entre las cicloparafinas
20 alcohol-sustituídas útiles se encuentran el metilciclo-
pentano, los di- y trimetilciclopentanos, etilciclopenta-
no, los dietilciclopentanos, y los diversos propil-, bu-
til-, amil-, hexil-, y octilciclopentanos. Asimismo, --
los alcoholciclohexanos, los cuales están sustituidos de
25 una manera semejante a los alcoholciclopentanos preceden-
tes, y que incluyen ulteriormente compuestos tales como
los diversos tetrametilciclohexanos, metiletilciclohexa-
nos, metilpropilciclohexanos, etcétera.

Pueden utilizarse también petróleos crudos, --
30 así como diversas fracciones de petróleo, residuos, --



etc.

Se tendrá en cuenta que el hidrocarburo puede estar en fase líquida no sólo por tener un punto de fusión adecuado, sino también por hallarse disuelto en un disolvente apropiado. Los hidrocarburos considerados en los párrafos que preceden son aquéllos que son normalmente líquidos a la temperatura de incubación. Sin embargo, otros hidrocarburos útiles son aquéllos que son normalmente gaseosos a la temperatura de incubación, tales como metano, etano, propano, butano, y otros hidrocarburos C_3 a C_5 . Estos hidrocarburos gaseosos pueden disolverse en un hidrocarburo normalmente líquido, tal como una fracción de petróleo perteneciente al intervalo de ebullición de la gasolina o el keroseno, o en un alcano tal como el octano, nonano, decano, etc.; o bien pueden disolverse en cualquier otro disolvente convencional de los mismos que sea inerte en el procedimiento y no-tóxico para las células. Asimismo, se pueden utilizar hidrocarburos normalmente sólidos como fuente de carbono disolviéndolos en un disolvente hidrocarburado, de la manera descrita, o en cualquier otro disolvente convencional inerte y no-tóxico.

El nutriente acuoso de sales minerales comprende una fuente de nitrógeno tal como un nitrato o nitrito o una sal amónica o urea, e iones tales como potasio, magnesio, fosfato, y sulfato, así como iones de elementos traza como molibdeno, cobalto, etc. Pueden estar presentes trazas de manganeso, hierro y calcio. Como el nutriente contiene agua, la mayor parte de estos iones estarán presentes usualmente en cantidad suficiente en los sumi-

373639



nistros ordinarios de agua potable. Sin embargo, es de-
 seable añadir los iones al nutriente para asegurar su --
 presencia en cantidad suficiente para el cultivo. Usual-
 mente el nutriente está constituido fundamentalmente por
 5 agua, la cual puede formar el 99 %, o más, en peso del -
 nutriente, aún cuando puede constituir también una menor
 proporción, que puede ser incluso sólo del 50 % de aquél.
 Generalmente puede utilizarse cualquier proporción de --
 agua empleada hasta ahora en los cultivos de microbios.--
 10 Un nutriente adecuado de sales minerales puede estar cons-
 tituido como sigue, disolviéndose los componentes en su-
 ficiente cantidad de agua para formar un litro de solu-
 ción:

15

Tabla 1

| | | |
|----|---------------------------------|-------|
| | Monohidrogenofosfato de potasio | 6,0 g |
| | Dihidrogenofosfato de sodio | 9,0 |
| 20 | Molibdato sódico | 0,006 |
| | Cloruro cobáltico | 0,006 |
| | Sulfato magnésico | 0,6 |
| | Sulfato amónico | 6,0 |

25


Otro nutriente adecuado de sales minerales es -
 como sigue:

Tabla 2

30

| | |
|-------------------------------|---------|
| Monohidrogenofosfato de sodio | 9 g/lit |
|-------------------------------|---------|

373639

| | | | |
|----|-------------------------------|-------|---|
| | | 18 |  |
| | Dihidrogenofosfato de potasio | 6 | |
| | Sulfato amónico | 6 | |
| | Sulfato magnésico | 0,6 | |
| | Carbonato sódico | 0,3 | |
| 5 | Cloruro cálcico | 0,03 | |
| | Sulfato ferroso | 0,015 | |
| | Sulfato de manganeso | 0,006 | |
| | Cloruro de cobalto | 0,006 | |
| | Molibdato sódico | 0,006 | |
| 10 | | | |

Haciendo referencia a la mezcla de cultivo, de be entenderse que ésta puede encontrarse en forma de una emulsión de aceite en agua así como de una emulsión de agua en aceite, aunque se prefiere la última. La emulsión, cualquiera que sea su forma, puede formarse y mantenerse por medio de agitación con aire exclusivamente o, lo que es preferible, mediante tal agitación junto con el empleo de un agente emulsificante, esto es, un agente soluble en aceite para una emulsión de agua en aceite y un agente soluble en agua para una emulsión de aceite en agua.

Se entenderá que la invención es susceptible de variaciones evidentes sin apartarse de su objeto.

Teniendo en cuenta la descripción precedente, se reivindica lo siguiente.

Esta solicitud que corresponde a la presentada en los Estados Unidos de América, el 8 de enero de 1.969, bajo el número 789.726, se acoge a los beneficios del ar-

373639



tículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

5

- REIVINDICACIONES -

10

15

Los puntos de Invención, propia y nueva, que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención, en España, por VEINTE años, son los siguientes:

20

1.- Un aparato para cultivar microorganismos aerobios utilizando aire de baja presión como fuente de oxígeno y como medio de agitación, que comprende una pluralidad de plataformas separadas situadas unas sobre otras y teniendo cada una de ellas un par de cámaras de fermentación cerradas separadas horizontalmente, que se extienden longitudinalmente, y un pasillo en el espacio comprendido entre cada par de cámaras, un tubo de entrada en un extremo de cada cámara para introducir la mezcla de cultivo en la misma y un tubo de salida en el otro extre-

25

30

373639



mo de cada cámara para retirar la mezcla de cultivo, y -
 una bomba en dicho tubo de entrada para desplazar la mez-
 cla de cultivo a lo largo de la cámara, un conducto de --
 aire de baja presión que se extiende longitudinalmente en
 5 cada cámara a todo lo largo de la misma, junto a su por-
 ción inferior y al lado de la misma que se encuentra ale-
 jado de dicho pasillo, medios de conducción de entrada pa-
 ra suministrar aire a cada uno de dichos conductos de ai-
 re, medios de conducción de salida para extraer el aire -
 10 de cada uno de los conductos de aire, medios de bombeo --
 en uno de dichos medios de conducción para hacer que el -
 aire se desplace a través de todos y cada uno de dichos -
 conductos de aire, teniendo cada una de dichas cámaras --
 en la porción inferior de la misma una pluralidad de zo-
 15 nas de agitación separadas longitudinalmente unas de --
 otras a todo lo largo de la longitud de cada cámara, es--
 tando definida cada una de dichas zonas por un par de ta-
 biques separados entre sí y del suelo de la cámara, y que
 se prolongan de un lado a otro de dicha cámara, teniendo
 20 cada zona una pluralidad de borboteadores de aire separa-
 dos transversalmente, adyacentes al fondo de la misma, --
 una tubería de aire conectada a cada borboteador, y, dis-
 puesto fuera de la zona, un tubo de alimentación de aire
 que conecta dicho conducto de aire con dichas tuberías de
 25 aire, estando adaptada cada cámara para contener mezcla -
 de cultivo hasta una altura suficiente para llenar dichas
 zonas, y estando adaptada la mezcla de cultivo en cada --
 zona para ser levantada hacia arriba dentro de la misma
 por el aire de baja presión descargado de dichos borbotea-
 30 dores y para rebosar por la parte superior de la zona, --

373639



consiguiéndose así que la mezcla circule continuamente --
 a través de la zona, y estando relacionada la altura de --
 cada zona con la presión de dicho aire de baja presión pa
 ra efectuar dicha circulación continua, y sirviendo dicha
 5 bomba de la mezcla de cultivo para mover gradualmente la
 mezcla de cultivo a todo lo largo de la longitud de cada
 cámara.

2.- El aparato de la reivindicación 1, en el
 que dichos borboteadores, tuberías de aire, y tubo de ali
 10 mentación de aire de cada zona están soportados sobre uno
 de dichos tabiques que definen las zonas.

3.- El aparato de la reivindicación 1, en el
 que cada cámara tiene en el lado contiguo a dichopasillo
 una pluralidad de aberturas de observación cerradas con --
 15 puertas, por encima del nivel de la mezcla de cultivo.

4.- El aparato de la reivindicación 1, en el
 que dichos borboteadores, tuberías de aire, y tubo de ali
 mentación de aire de cada zona están soportados sobre los
 20 tabiques laterales opuestos que ayudan a definir dicha cá
 mara.

5.- Un aparato para cultivar microorganismos
 aerobios utilizando aire de baja presión como fuente de --
 oxígeno y como medio de agitación que comprende como míni
 25 mo una plataforma que tiene al menos una cámara de fermen
 tación cerrada que se extiende longitudinalmente, tube
 rías de entrada y de salida en cada una de dichas cámaras
 para introducir y retirar la mezcla de cultivo, y medios
 para mover la mezcla de cultivo a través de la cámara, un
 conducto de aire de baja presión que se extiende longitu
 30 dinalmente en dicha cámara, medios de conducción de entra

373639

18 NOV 1965



de y de salida en dicho conducto de aire para el suministro y la extracción del aire, y medios para mover el aire a lo largo de dicho conducto de aire, teniendo cada una de dichas cámaras en la porción inferior de la misma una pluralidad de zonas de agitación longitudinalmente espaciadas unas de otras a todo lo largo de la cámara, estando definida cada una de dichas zonas por un par de tabiques espaciados uno del otro y del suelo de la cámara y que se extienden de un lado a otro de dicha cámara, teniendo cada zona una pluralidad de borboteadores de aire espaciados transversalmente y contiguos al fondo de la misma, y medios para suministrar aire de baja presión a cada borboteador desde dicho conducto de aire, estando adaptada cada cámara para contener mezcla de cultivo hasta una altura suficiente para llenar esencialmente dichas zonas, estando adaptada la mezcla de cultivo en dichas zonas para ser levantada hacia arriba dentro de las mismas por el aire de baja presión descargado de los borboteadores y para rebosar por encima de la parte superior de las zonas, consiguiéndose así que la mezcla circule continuamente a través de las zonas, y estando relacionada la altura de cada zona con la presión del aire de baja presión para efectuar dicha circulación continua.

6.- El aparato de la reivindicación 5, en el que dicha cámara tiene una pluralidad de medios de conducción para el aire de entrada.

7.- El aparato de la reivindicación 6, en el que dicha cámara tiene una pluralidad de medios de conducción para el aire de salida.

8.- El aparato de la reivindicación 5, en el

373639



que dicho tubo de entrada de la mezcla de cultivo está provisto de medios para la introducción de la mezcla de cultivo por debajo del nivel de la misma en dicha cámara.

5 9.- El aparato de la reivindicación 5, en el que dicha cámara está provista de medios para mantener un nivel prácticamente constante de líquido en la misma.

10 10.- Un aparato para cultivar microorganismos aerobios utilizando aire de baja presión como fuente de oxígeno y como medio de agitación, que comprende al menos una cámara de fermentación alargada para contener la mezcla de cultivo, medios para suministrar mezcla de cultivo y aire de baja presión a dicha cámara, una pluralidad de zonas de agitación en dicha cámara, en cada una de las cuales se pone en contacto la mezcla de cultivo con aire de baja presión a una presión comprendida en el intervalo de 6,35 mm a 15 cm de mercurio aproximadamente (manométricos), teniendo cada zona una altura que está relacionada con dicha presión del aire a fin de que se establezca una circulación continua de la mezcla de cultivo en dicha zona, y medios para mover gradualmente la mezcla de cultivo a lo largo de dicha cámara.

20 11.- Un aparato para cultivar microorganismos aerobios.

373639

18 NOV 1969



Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, representado en los dibujos que se acompañan y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de treinta hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, 18 NOV. 1969

P.A.

Attestado
Por el Sr. *[Handwritten Signature]*

10

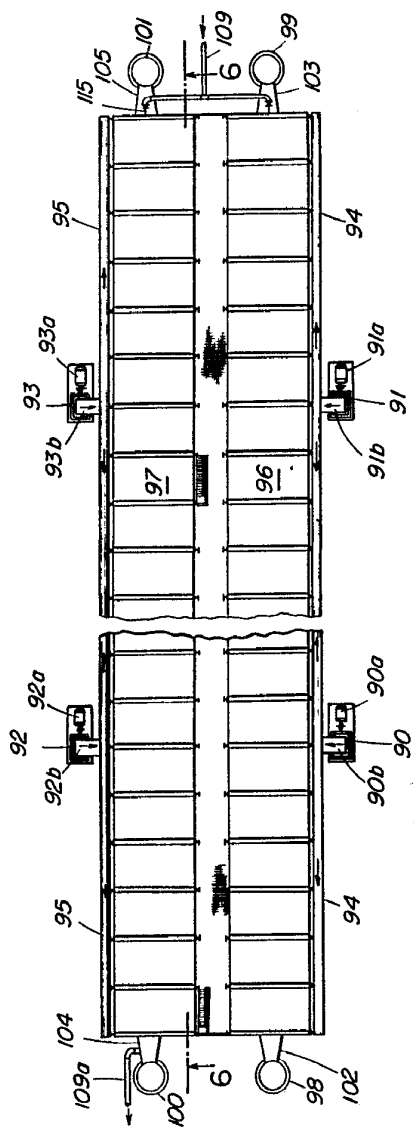
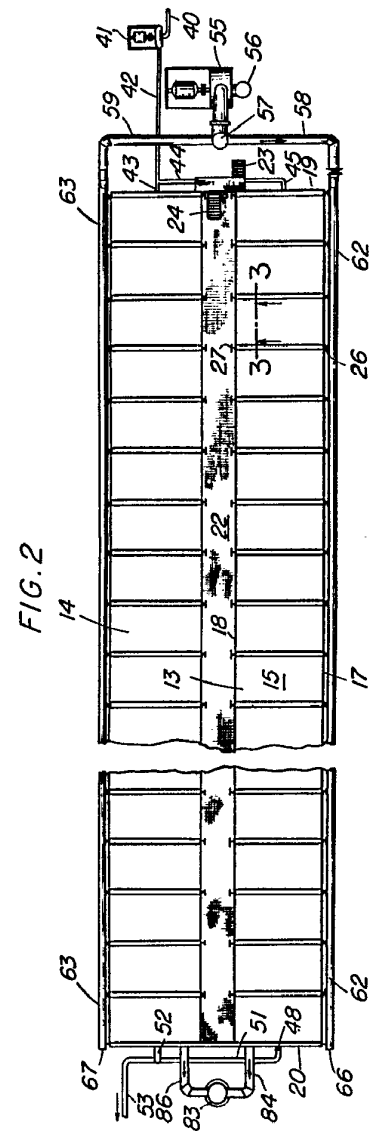
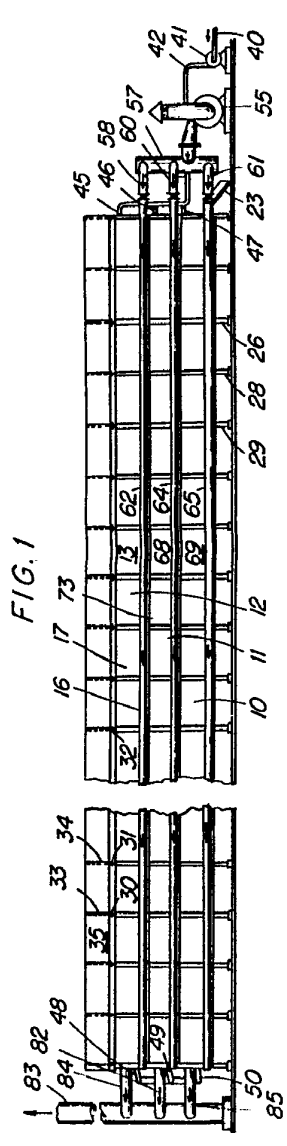
15

20

25

30

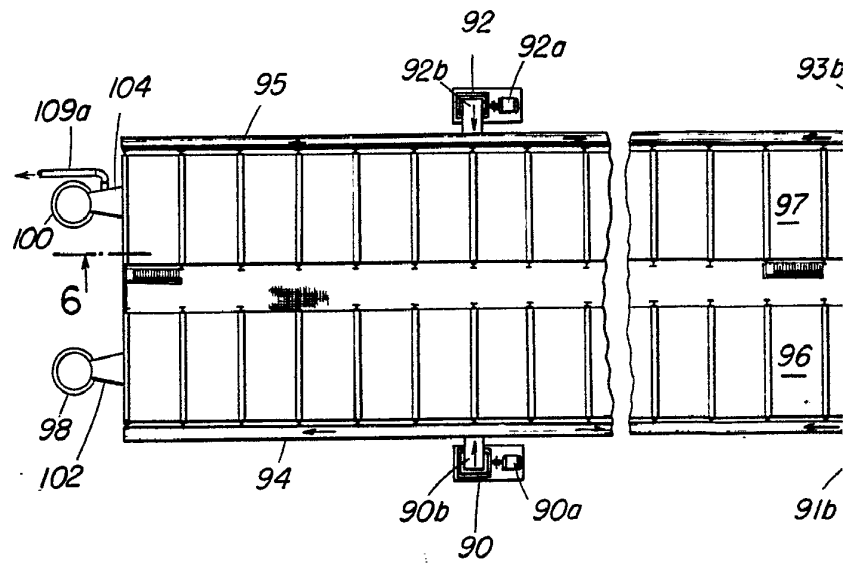
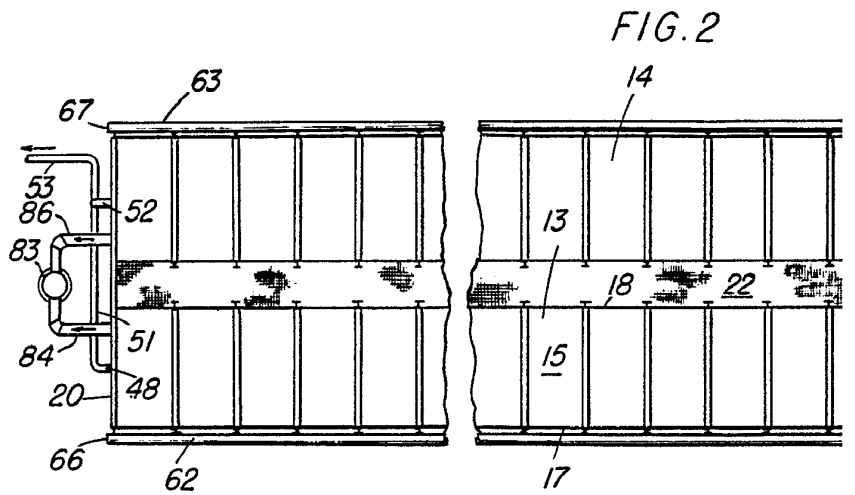
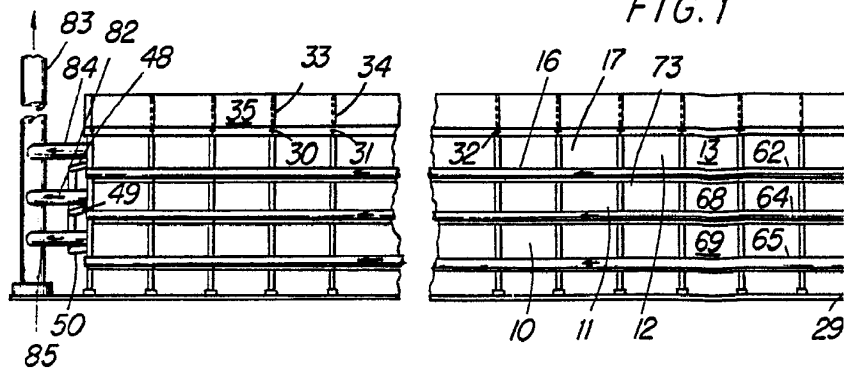
373639



File

FIG. 5

373870

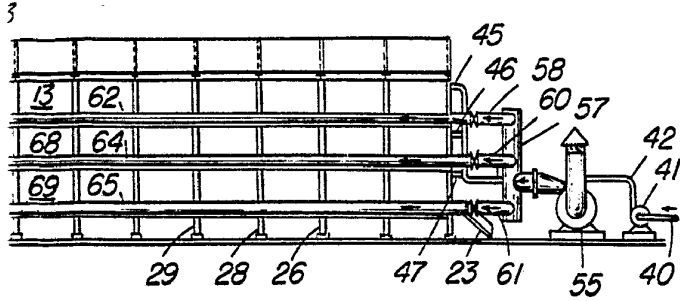


373

P43228



G.1



G.2

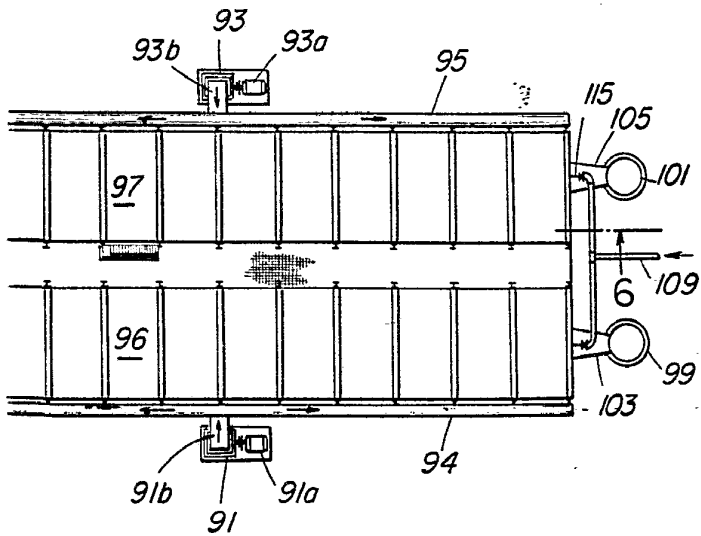
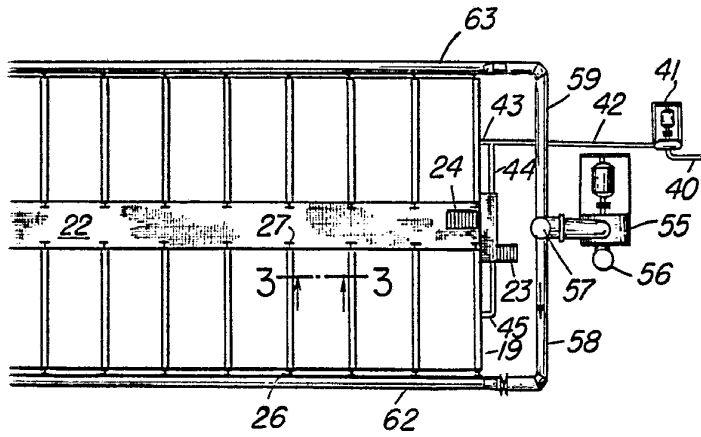


FIG. 5

File



373639

18 NOV 1970

FIG. 3

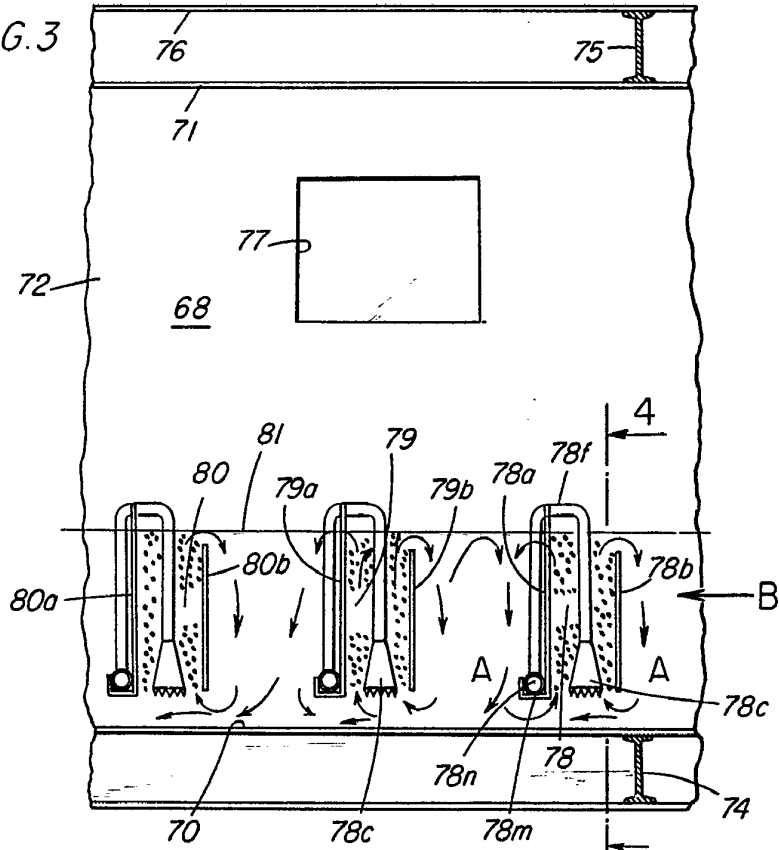
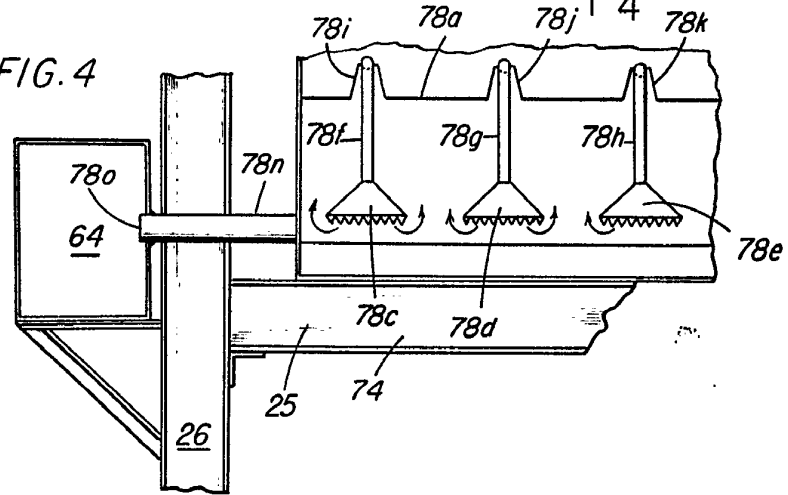


FIG. 4



Carver
or Podar



373659

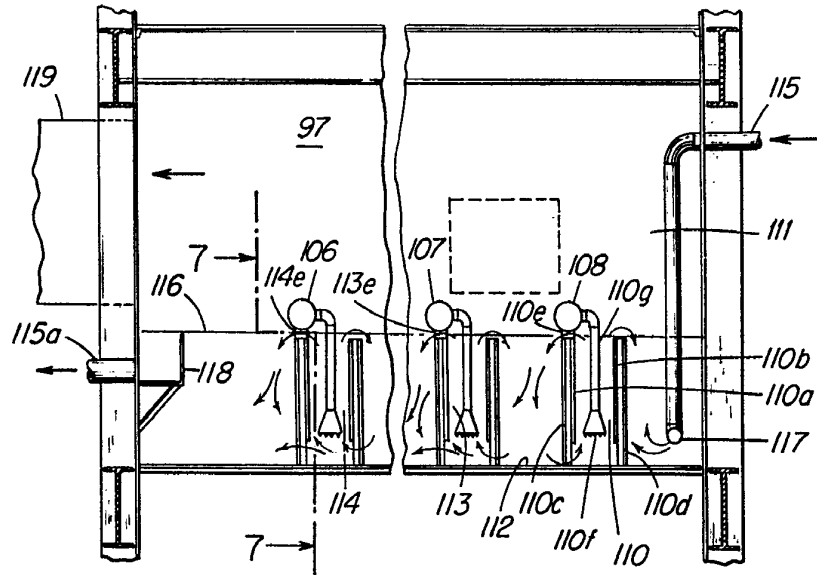


FIG. 6

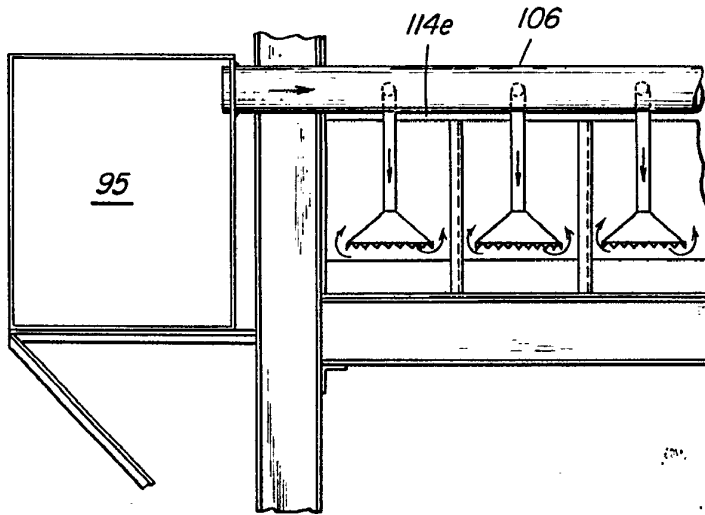


FIG. 7

Handwritten signature or name
for Podley