

SECCION TECNICA	
CLASIFICACION I. P. C.	
CLASE <u>Q12</u>	_____
SUBCLASE <u>D</u>	_____

389907

MEMORIA DESCRIPTIVA



— PATENTE DE INVENCION.

DURACION: VEINTE AÑOS

OBJETO: "PROCEDIMIENTO PERFECCIONADO PARA BIOSINTETIZAR PROTEINAS, AMINOACIDOS, GOMAS Y OTROS VALIOSOS PRODUCTOS MICROBIANOS DE FERMENTACION, PARTIENDO DE HIDROCARBUROS OXIGENADOS SOLUBLES EN AGUA".

— PRIORIDAD : País de origen : Estados Unidos de Norteamerica.

Serial número : 28.074.

Fecha de depósito: 13 de Abril de 1.970.

Solicitante: PHILLIPS PETROLEUM COMPANY.

Residencia: BARTLESVILLE, Oklahoma, U.S.A.

Nacionalidad: norteamericana.



Los métodos conocidos en la especialidad para biosintetizar proteínas, aminoácidos, gomas y otros valiosos productos de fermentación microbiana partiendo de hidrocarburos, tienen, desgraciadamente, muchos inconvenientes. Las bajas velocidades de solubilidad de los materiales hidrocarbonados alimentados en los medios de fermentación han causado bajas velocidades de productividad microbiana. Generalmente, se necesitan unos complejos procedimientos de separación y de purificación si se quieren obtener productos eficaces libres de toda contaminación de aceite y de aromáticos. Los tiempos de retención de los hidrocarburos alimentados al fermentar son elevados. Resumiendo, los métodos anteriores de fabricación de proteínas por conversión microbiana de hidrocarburos son decepcionantemente antieconómicos.

15 Cuando como sola fuente de energía para la fermentación microbiana, se usan los productos de oxidación solubles en agua de materiales hidrocarbonados o carbónicos, puede conseguirse de manera económica y eficiente una producción en gran escala de proteína (véase por ejemplo la Patente belga 20 719.328).

Así, un material hidrocarbonado o carbonoso puede ser oxidado y los productos de oxidación solubles en agua - como los alcoholes, los aldehídos, las cetonas y los ácidos carboxílicos - pueden ser empleados como materiales de alimentación para la fermentación microbiana, o bien el material carbonoso puede ser oxidado o convertido de otro modo en anhídrido carbónico, óxido de carbono e hidrógeno y estos productos pueden ser convertidos en una síntesis de Fischer-Tropsch o por otro proceso de síntesis química, para producir hidrocarburos 25 oxigenados solubles en agua, destinados a ser empleados como 30

389907



materiales de alimentación para la fermentación microbiana.

35 Los productos microbianos así producidos están esencialmente exentos de contaminantes y es innecesario todo largo procedimiento de separación y de purificación para obtener un producto eficaz exento de aceite y de contaminantes aromáticos.

40 El hidrocarburo u otro material carbonoso para oxidar puede ser cualquier hidrocarburo oxidable, como por ejemplo metano. Puede obtenerse de gas natural, fracciones de petróleo, productos procedentes de la craquización de asfalto, o similares.

45 Debe quedar entendido que el término "oxidado" o "hidrocarburo oxigenado" comprende no sólo los productos obtenidos efectivamente por oxidación, sino también los compuestos que contienen oxígeno aunque hayan sido obtenidos por algún otro proceso distinto de la oxidación directa.

50 En las conversiones bacterianas del tipo descrito es altamente deseable que sean excluidas del sistema de conversión las bacterias extrañas. Una fuente por la cual puede penetrar la contaminación es el medio mineral empleado. Según la presente invención, se impide la contaminación por organismos microbianos extraños e indeseados añadiendo al medio mineral una cantidad esterilizante de un alcohol. El alcohol es añadido antes de que el medio mineral alcance la zona de conversión bacteriana o de fermentación. Con este fin, puede usarse cualquier alcohol soluble en agua. Sin embargo, los preferidos por su fácil disponibilidad son el metanol y el etanol.

60 Otro tipo de material que ha causado problemas en el pasado, debido a sus efectos deletéreos sobre las bacterias usadas para la síntesis de la proteína, son los aldehídos, espe-

389907,



65 cialmente en una concentración relativamente elevada. La presente invención resuelve este problema añadiéndole al material de alimentación, cuando se está en presencia de concentraciones biocidas de aldehídos, un compuesto de nitrógeno que reacciona con el aldehído, convirtiéndolo en derivados fácilmente convertibles por las bacterias usadas.

70 Según otro aspecto de la invención, se mantiene sobre un valor óptimo la eficiencia de la conversión alcohólica conservando una pequeña concentración de alcohol sin convertir en el efluente procedente de la zona de conversión o de fermentación. En general, esta concentración es de 0,01 a 1% en volumen. Cuando el componente principal de alimentación está constituido por metanol y es convertido mediante una levadura, la concentración de metanol en el efluente es mantenida dentro
75 del campo comprendido entre 0,2 y 1,0% en volumen, y preferiblemente entre 0,6 y 0,8% en volumen.

80 La figura 1, es un diagrama de proceso que ilustra una forma de realización de la invención, en la cual el medio mineral es esterilizado con alcohol y el contenido de alcohol del efluente de fermentación está sometido a control.

La figura 2, es otro diagrama de proceso que ilustra otra forma de realización, en la que las concentraciones biocidas de aldehídos son hechas inocuas.

85 Los derivados de hidrocarburos oxigenados que pueden ser empleados como materiales directos de alimentación comprenden los alcoholes alifáticos, las cetonas, los aldehídos, los ácidos carboxílicos, los éteres y los polioles solubles en agua.

90 Son algunos ejemplos de ellos : el metanol, etanol, propanol, butanol, pentanol, hexanol, 1,7-heptandiol, ácido pentanoico, ácido 2-metilbutanoico, ácido fórmico, ácido acético,

389907



95 ácido propanoico, formaldehído, acetaldehído, propanal, butanal, ácido glutárico, ácido hexanoico, ácido heptandioico, 4-heptanona, 2-heptanona, glicerina, glicol etilénico, glicol propilénico, 2-propanona, 2-butanona, éter dietílico, éter metiletílico, éter dimetílico y éter dipropílico.

100 El proceso de fermentación es ejecutado según las condiciones conocidas generalmente en la especialidad para favorecer la fermentación microbiana. Generalmente, se emplean temperaturas comprendidas entre aproximadamente 15° C. y aproximadamente 60° C. y presiones comprendidas aproximadamente entre 0,1 y 100 atmósferas absolutas. Normalmente, se emplean presiones comprendidas aproximadamente entre 1 y 30 atmósferas. Con frecuencia, por razones de conveniencia, se emplea la presión atmosférica. Los microorganismos para emplear en el proceso de fermentación pueden ser cualquier microorganismo que
105 utilice materiales oxigenados de alimentación como fuente de carbono y de energía. Las bacterias adecuadas que utilizan hidrocarburos pueden ser cultivadas y multiplicadas como sigue:

110 Una muestra de terreno es sacada de cualquier parcela deseada meramente desde debajo de la superficie de terreno. Las muestras de terreno tomadas en una formación que contenga hidrocarburos contendrán, generalmente, más microorganismos consumidores de hidrocarburo que las muestras de terreno tomadas en un área que no contenga hidrocarburos. Se prefiere tomar
115 la muestra de terreno debajo de la superficie del terreno a una profundidad suficiente para evitar toda contaminación desde la superficie. Generalmente, se eligen profundidades que van de 15 cm. a 1 metro, siendo preferidas las profundidades comprendidas entre 60 cm. y 1 metro. Al sacar las muestras, debería
120 velarse por que la muestra de terreno fuera una muestra de te-

389907



125 terreno relativamente no removido, tomada a la profundidad deseada. Un método conveniente de toma de muestras es el de excavar un agujero mediante un excavador corriente de hoyos de postes, aproximadamente hasta la profundidad deseada. Luego con una barena de mano, se toma del hoyo una muestra de terreno sin remover a la profundidad deseada.

Una muestra de 200 gramos de terreno, obtenida como se ha dicho, es mezclada, durante 1 minuto aproximadamente, con 1000 ml. de un medio estéril de la composición siguiente :

130

Medio mineral nº 1

	H ₂ O	1000	g.
	MgSO ₄	0,1	g.
	K ₂ HPO ₄	0,5	g.
	CaSO ₄	0,1	g.
135	NH ₄ NO ₃	1,0	g.

140 Entonces, se regula sobre 7 el PH de la suspensión de terreno con cualquier base no deletérea, mientras se agita la suspensión. Luego, se añade 1 ml. de la suspensión de terreno a 100 ml. de dicho medio mineral estéril, para obtener una suspensión de terreno en dilución al 1 - 100. Luego, se añade 1 ml. de la dilución al 1 - 100 a 100 ml. del medio mineral para obtener una suspensión de terreno en dilución al 1 - 10.000. Entonces, se mezcla la suspensión de terreno al 1 - 10.000 con una cantidad de metanol suficiente para producir una mezcla de metanol al 5% en volumen. Entonces se incuban los cultivos durante 145 6 días a 37° C. aproximadamente, después de lo cual se hacen estrías en cajas de Petri que contienen agar preparado de acuerdo con la receta siguiente :

389907



19

150	NH ₄ NO ₃	1,0 g
	MgSO ₄	0,1 g
	K ₂ HPO ₄	0,5 g
	CaSO ₄	0,1 g
	Agar-Agar	15,0 g
	H ₂ O destilada	1000 g

155 Metanol suficiente para obtener metanol al 1,5% en volumen.

Se incuban las cajas de Petri durante 6 días a 37^o C. aproximadamente. Colonias vitales son vueltas a aplicar en otras cajas de Petri como antes, para purificar las colonias.

160 Entonces se trasladan colonias individuales a medios comprendidos según la receta del Medio Mineral n^o 1 y que contienen metanol suficiente para comprender un 1-2% en volumen del medio total.

165 Son ejemplos de microorganismos útiles la *Pseudomonas methanica*, que ha recibido la designación numérica NRRL B-3449 de la Northern Utilization Research and Development Division, Peoria, Illinois; la *Pseudomonas fluorescens*, designación numérica NRRL B-3452; la *Methanomonas methanica*, designación numérica NRRL B-3450; la *Methanomonas methanoxidans*, designación numérica NRRL B-3451; el *Arthobacter parafficum*, designación numérica NRRL B-3453; y el *Corynebacterium simplex*, designación numérica NRRL B-3454. Los microorganismos de *Pseudomonas sp.* fueron empleados de manera general en todos los ejemplos de tandas de la presente exposición.

175 Los géneros *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Actinomyces* y *Nocardia* son otros ejemplos ilustrativos de microorganismos que han sido ensayados y que han resultado ser bacterias adecuadas que utilizan productos oxigenados. Otros ejemplos de



180 microorganismos comprenden los géneros : Micrococcus; Rhodoba
cillus; Chromatium; Nitrosomonas; serratia; Nitrobacter; Rhizo
bium; Azotobacter; Aerobacter; Escherichia; Streptococcus;
Bactrillum; Clostridium; y Corynebacterium. Otras clases de
adecuados microorganismos comprenden las levaduras, los moldes,
los hongos y similares. También pueden emplearse combinaciones
185 de microorganismos.

Las levaduras siguientes son bien adecuadas para la
asimilación de hidrocarburos oxigenados como el metanol, y
pueden ser empleadas convenientemente. Son ejemplos de ellas :
las levaduras de las especies Candida, como por ejemplo la
190 Candida mycoderma, Candida rugosa, Candida utilis, Candida ste
llatoidea, Candida robusta, Candida claussenii, Candida krusei,
las especies del género Saccharomyces, como por ejemplo la
Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces fragilis, Saccharomy
ces rosei, Saccharomyces acidifaciens, Saccharomyces elegans,
195 Saccharomyces rouxii, Saccharomyces lactis, Saccharomyces
fractum, las levaduras de las especies Pichia, como Pichia
farinosa, Pichia polymorpha, Pichia membranefaciens, las leva
duras de las especies Debaryomyces, como Debaryomyces vini,
Debaryomyces nicotianae, las levaduras de las especies Hansenula,
200 como Hansenula minuta, Hansenula saturnus, Hansenula californica,
Hansenula mrakii, Hansenula sylvicola, las levaduras de las
especies Lipomyces, como Lipomyces stakeyi, las levaduras de
las especies Cryptococcus, como Cryptococcus neoformans,
Cryptococcus albus, Cryptococcus luteolus, las levaduras de
205 las especies Nematospora, como Nematospora coryli, las levan
das de las especies Torulopsis como Torulopsis candida, Toru
lopsis bolmii, Torulopsis versatilis, las levaduras de las es
pecies, como Brettanomyces bruxellensis, y similares.



210 Una fuente de nitrógeno obtenible biológicamente es también cargada en el reactor. Los ejemplos de fuentes adecuadas comprenden el hidróxido de amonio, el nitrato de amonio, la urea y el amoníaco.

215 Generalmente, se añaden agua suficiente, minerales adecuados, factores de crecimiento, vitaminas y similares al proceso de fermentación, para satisfacer las necesidades particulares de los microorganismos empleados.

220 El medio mineral, incluidos los factores de crecimiento, las vitaminas y similares, es esterilizado según la presente invención, antes de su carga en el fermentador microbiano, mezclando con dicho medio mineral una suficiente cantidad de alcohol alifático soluble en agua, como por ejemplo metanol, para conseguir una concentración alcohólica comprendida aproximadamente entre 5 y 99 % en peso de la mezcla de medio mineral y alcohol, y preferiblemente comprendida entre 8 y 15% en peso.

230 La mezcla comprende ahora un material de alimentación hidrocarbonado y oxigenado soluble en agua en un medio mineral esterilizado para su carga directa en un fermentador microbiano. Ella puede constituir la sola alimentación, pero también pueden añadirse otros materiales de alimentación oxigenados como los mencionados anteriormente.

235 Para realizar una operación de fermentación en estado constante, esta mezcla de medio mineral y alcohol es regulada, en lo que concierne la velocidad de carga al fermentador y/o la concentración de alcohol contenido de modo que se obtenga una concentración de alcohol en el efluente de fermentador comprendida aproximadamente entre 0,01 y 1% en peso. Pueden emplearse convenientemente cualesquiera bacterias adecuadas que puedan

389907



240 utilizar la alimentación alcohólica como fuente de alimento
para su metabolismo. Manteniendo dentro de los límites des-
critos anteriormente la concentración de alcohol en el efluen-
te de fermentador, se consigue una eficiencia máxima del fer-
mento microbiano empleado. Se consigue esta ventaja indepen-
245 dientemente del microorganismo particular empleado, de su ve-
locidad particular de crecimiento y similares, de modo que di-
cho fermento puede obtenerse una producción máxima de produc-
tos celulares.

Debido a los contenidos variados del efluente de
fermentador, es generalmente más deseable analizar el gas o el
250 vapor encima del efluente del fermentador para determinar la
concentración del alcohol en el líquido mismo cuando se desea
un análisis continuo. Esto permite un control continuo de la
corriente de efluente sin contaminar ni obstruir el analizador.

Pueden emplearse analizadores automáticos en un sis-
255 tema completamente automático, en el que se emplean señales de
caudal procedentes de un analizador para hacer funcionar o pá-
rar válvulas, bombas o similares que pueden regular la carga
de medios y de alcohol al fermentador. Así, en respuesta a un
medio analizador, puede emplearse un medio de control de flujo
260 para alterar la velocidad y/o la concentración de mezcla de
alimentación de alcohol y de medios minerales cargada en el
fermentador.

Se puede emplear un medio analizador como el anali-
zador cromatográfico y programador descrito en las Patentes USA
265 3.119.995 y 3.121.160 para medir directa o indirectamente la
concentración del alcohol contenido en el efluente de fermen-
tador.

Generalmente, es perfectamente satisfactorio el empleo



270

de un analizador que puede controlar de manera continua el efluente de fermentador de modo que puedan realizarse los correspondientes ajustes en la concentración y/o la velocidad de la mezcla de alimentación de alcohol y de medios minerales para asegurarse de que la concentración de alcohol en el efluente de fermentador quede comprendida entre 0,01 y 1% en peso.

275

280

285

290

Segun la figura 1, se suministran a una zona de mezcla (3) medios minerales procedentes de (12) y alcohol de (13). Los medios minerales y el alcohol son puestos en contacto, generalmente, durante 30 minutos a 24 horas. La mezcla esterilizada de alcohol y medios minerales es cargada por el conducto (4) en el fermentador (5), donde se verifica el proceso de biosíntesis descrito anteriormente. El efluente de fermentador es eliminado del fermentador (5) por el conducto (6) para su ulterior tratamiento y/o recuperación. Una muestra de líquido o de gas puede ser tomada por el conducto (7) del conducto (6) del efluente del fermentador y conducida al medio analizador (8). Una señal de caudal procedente del medio analizador (8) puede ser alimentada por el conducto (9) a los medidores (10 y 11) de control de paso, para aumentar o disminuir la concentración y/o la velocidad de los ingredientes cargados en el fermentador.

295

La presente invención comprende también un procedimiento en el cual la alimentación microbiana que contiene concentraciones biocidas de aldehídos es puesta en contacto con compuestos nitrogenados reactivos a los aldehídos. Los aldehídos modificados por o en presencia del compuesto nitrogenado son alimentos eficaces y la mezcla resultante puede ser alimentada directamente a un fermentador como material nutritivo de carbono e hidrógeno, para producción celular por los microorganismos en condiciones adecuadas para la fermentación. Se pre-



300 fiere que sean alimentados al fermentador sólo los productos solubles en agua de la mezcla resultante.

El etileno puede ser convertido en acetaldehído y el acetaldehído y otros productos oxidados solubles en agua resultantes del proceso de oxidación pueden ser usados como material de alimentación una vez que han sido mezclados con amoniaco o compuestos nitrogenados, como por ejemplo urea. Como, para el crecimiento celular, se necesita nitrógeno tanto para neutralizar los ácidos producidos como para proporcionar nitrógeno para la síntesis de la proteína, el método de mez-
305 clar un compuesto nitrogenado, como por ejemplo amoniaco o urea antes de la fermentación cumple eficazmente el requisito anterior además de hacer no tóxico el material de alimentación si están presentes aldehídos. El anhídrico carbónico producido por el metabolismo microbiano en el proceso de fermentación
310 puede ser incorporado al proceso completo por reciclado y conversión, para el uso en una síntesis de Fischer-Tropsch, u otros procesos químicos de síntesis conocidos en la especiali-
315 dad.

Como se muestra en la figura 2, una alimentación de hidrocarburo o carbonosa cruda o impura, procedente de la
320 fuente (20), puede ser oxidada en el recipiente (21). El derivado de hidrocarburo oxidado puede ser alimentado por el conducto (22) al recipiente (23), donde puede ser mezclado con el compuesto nitrogenado procedente de la fuente (24). La mezcla de reacción de los mismos puede ser alimentada directamente,
325 por el conducto (25), al fermentador (26) como material de alimentación microbiana, para la producción celular. El empleo discrecional del recipiente (30) es objeto de discusión a continuación.

389907



330

Según otra variante, una alimentación que contiene aldehído procedente de la fuente (20) puede ser alimentada por el conducto (28) al recipiente (23), donde puede ser mezclada con el compuesto nitrogenado procedente de la fuente (24), y la mezcla resultante puede ser conducida por el conducto (25) al fermentador (26). Otras modificaciones, como por ejemplo el empleo del recipiente (21) para la síntesis de Fischer-Tropsch de derivados hidrocarbonados oxigenados y la alimentación del hidrocarburo oxigenado por el conducto (22) al recipiente (23), donde es mezclado con compuestos nitrogenados procedentes de la fuente (24), y la conducción de la mezcla resultante por el conducto (25), al fermentador (26) y el reciclado de anhídrido carbónico procedente del fermentador (26), por el conducto (29), nuevamente al recipiente (21), son también posibles.

335

340

345

En otra variante más, un hidrocarburo oxigenado procedente de la fuente (20) puede ser alimentado al recipiente (21) y el compuesto nitrogenado procedente de la fuente (24) puede ser mezclado con él y la mezcla resultante puede ser alimentada por el conducto (22) al recipiente (23), lavada en él con agua y los productos solubles en agua de los mismos pueden ser alimentados por el conducto (25) y por el recipiente (30) de separación de agua al fermentador (26) en forma de alimentación de hidrocarburo oxigenado soluble en agua.

350

355

Se cree probable que la transformación de aldehídos deletéreos para la vida, como por ejemplo formaldehído, en productos como la hexametilentetramina y similares, es responsable, dentro de amplios límites, de la aptitud de estos materiales como materiales de alimentación.

Una forma crítica de realización de la presente in-

389907



360 vención es que los compuestos nitrogenados reactivos a los aldehídos sean mezclados con los compuestos oxigenados usados como material de alimentación antes de la introducción en el fermentador de la mezcla resultante.

365 Los ejemplos que ilustran los compuestos nitrogenados adecuados que pueden ser empleados comprenden el amoniaco, el hidróxido amónico, el sulfato amónico, el nitrato amónico, el fosfato amónico, el acetonitrilo, la urea, la guanidina y el ácido úrico. Actualmente, se prefieren el amoniaco o los compuestos amónicos.

370 Deberían añadirse cantidades de compuesto nitrogenado suficientes para hacer inocua una cantidad importante del material deletéreo en el material de alimentación. Normalmente, aproximadamente un 0,01 - 10 de equivalentes molares de dicho compuesto nitrogenado debería estar previsto para cada mol de aldehído.

375 Una vez alcanzado el grado deseado de fermentación, los productos microbianos de fermentación, como la proteína, los aminoácidos, las vitaminas, los factores de crecimiento, las gomas y similares pueden ser separados por cualquier medio conocido en la especialidad, como por ejemplo por centrifugación, filtración, extracción de disolvente, depuración de volátiles o adición de antidisolventes, como por ejemplo acetona, etanol o metanol, que hacen precipitar los productos de la conversión.

380 El proceso integrado durante el cual se oxida el hidrocarburo o el material carbonoso y los productos solubles en agua de oxidación son conducidos a un proceso biológico de fermentación está representado en los Ejemplos siguientes, que demuestran la eficacia y los perfeccionamientos de la presente invención. Dichos Ejemplos son solo ilustrativos y no tienen

385

390



que ser interpretados como una limitación del alcance de la presente invención.

E J E M P L O 1

395 Se carga un reactor con metano y oxígeno en una relación molar de 81:10. La presión del reactor es de 107 atmósferas absolutas y la temperatura es de 350° C. La duración de la reacción es de 5,5 minutos. El efluente de la reacción es enfriado a 50° aproximadamente y conducido a través de agua. Cada 100 moles de metano convertido, se recuperan en forma de
400 solución acuosa 16,6 moles de metanol y 0,3 moles de formaldehído. El metano y los productos de reacción como el anhídrido carbónico y el oxígeno carbónico y similares, no están incluidos en la solución acuosa debido a su baja solubilidad.

405 Los hidrocarburos oxidados solubles en agua contenidos en la solución acuosa comprenden el 98,3 por ciento en peso de metanol y el 1,7 por ciento en peso de formaldehído. La solución acuosa así formada, cuando contiene el 15 por ciento en peso aproximadamente de agua, es enfriada a 34° C. aproximadamente y conducida, en forma de material hidrocarbonado
410 oxidado soluble en agua de oxidación, a un fermentador con agitador New Brunswick de una capacidad de 14 litros. En todas las tandas, se emplean temperaturas comprendidas entre 32 y 40° C. En el fermentador, se cargan previamente 7 litros de medio de base (1) y 500 cm³ del mencionado inoculante, que es
415 elegido y acondicionado para que se pueda usar metanol como fuente de carbono y de energía. El proceso continuo de fermentación es realizado mientras el material de alimentación es alimentado de manera continua al reactor y los productos de producción microbiana son recuperados. El proceso de oxidación

389907



420 es equilibrado con el proceso de fermentación de modo que el material alimentado es suministrado de acuerdo con la velocidad de fermentación producida por dichos microorganismos, para conseguir rendimientos óptimos. La estabilidad del proceso es controlada durante las 52 a 72 horas de trabajo. La Tabla I demuestra las condiciones de trabajo empleadas durante la 425 tanda y los resultados de la síntesis microbiana de proteína durante este proceso continuo.

T A B L A I

Condiciones durante las tandas

430	Medio de base (1)	BH6 (1)	
	Factores de crecimiento	Ninguno	
	Entrada de aire	10	litros/min ³
	Agitador	1.000	rpm
	Presión	1	atm. abs. ³
435	<u>Velocidad de alimentación</u>		
	Material acuoso alimentado	0,140	litros/h.
	NH ₄ OH (22-26% NH ₃)	0,028	litros/h.
	Medio mineral (1)	1,200	litros/h.
	Indicios de mineral (2)	0,016	litros/h.
440	Velocidad total de alimentación	1,384	litros/h.
	Volumen de fermento en estado estable	5,5	litros.

Basándose en estas condiciones, pueden hacerse los cálculos siguientes

445	Tiempo de retención en el fermentador	3,97	horas
	Concentración celular del fermento (3)	27,15	g/litro
	Rendimiento de células secas cada 100 kgs. de metanol consumido	18,0	kgs
	Rendimiento de células secas cada 100 kgs. de CH ₄ consumidas (4)	36,0	kgs
450	Productividad del fermentador (5)	6,84	g/litro/hora
	Contenido de hidrocarburo de las células	0	

(1) El medio de base BH6 comprende las cantidades siguientes de materiales por litro de medio acuoso:

455	KH ₂ PO ₄	2,5	gramos
	K ₂ HPO ₄	2,5	gramos
	(NH ₄) ₂ SO ₄	2,0	gramos
	NaCl	0,1	gramo
	MgSO ₄ · 7 H ₂ O	3,0	gramos
460	CaCl ₂	0,02	gramos
	Indices Minerales (2)	10	ml.

389907



(2) Solución de indicios minerales, solución acuosa que contiene las cantidades siguientes de los minerales que se indican por litro de solución:

465	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.06 gramos
	KI	0.08 gramos
	FeCl ₃ ·6H ₂ O	4.80 gramos
	MnSO ₄ ·H ₂ O	0.20 gramos
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.20 gramos
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	2.00 gramos
470	H ₃ BO ₃	0.02 gramos

(3) Peso en seco de células por litro de producto de fermento.

(4) Suponiendo un 100% de la conversión teórica CH₄ en CH₃OH.

475 (5) Productividad en gramos de células secas por litro de fermento y por hora de retención en el fermentador. El análisis de los productos de células secas indicó constantemente más del 65% de proteína.

480 El ejemplo anterior es un ejemplo del proceso químico biológico de conversión de la presente invención y del elevado contenido de proteína celular conseguido con la misma. La Adición de una parte de la alimentación de metanol al medio mineral antes del paso al fermentador - de modo que el contenido de metanol de la mezcla resultante sea del 10 por ciento en peso - asegura la exclusión de toda bacteria extraña procedente del sistema.

485 E J E M P L O II

490 Se introdujo en el fermentador, como material de alimentación, un metanol del comercio que comprendía un 80 a 85% en peso de metanol, un 5 a 10 por ciento en peso de agua y el resto éter dimetálico, acetona, aldehidos y otros productos similares. La operación y los resultados de la síntesis de proteína microbiana durante la operación en estado permanente del fermentador son esencialmente idénticos al Ejemplo I. Por cada 100 libras de metanol consumido, se obtuvo un rendimiento de

389907



aproximadamente 39 libras de células secas. El análisis de las
 495 células secas reveló un contenido de proteína de más del 65%.

El ejemplo II demuestra la eficiencia, digo eficiente
 utilización de una fuente comercial hidrocarbonada del comercio
 empleada para conseguir una elevada producción de proteína ce-
 lular.

500

E J E M P L O III

Se empleó un cultivo de *Pseudomonas*, sp, en el fer-
 mentador New Brunswick, en una tanda esencialmente idéntica a
 la del Ejemplo I, pero cargándose sucesivamente en el fermen-
 tador etanol, acetaldehído y n-propanol después de mezclarlos
 505 con hidróxido amónico. Estos hidrocarburos oxigenados resulta-
 ron ser materiales de alimentación eficaces y aceptables por
 los microorganismos.

E J E M P L O IV

Se empleó un fermentador con una alimentación de
 510 CH_3OH y NH_4OH en estado estable. Se concluyó la alimentación
 de CH_3OH y NH_4OH . Se añadieron al fermentador 35 ml. de
 acetaldehído mezclados con 9.25 ml. de hidróxido amónico (solu-
 ción acuosa al 25 por ciento en peso). Estas funciones contro-
 ladas indicaron que el fermento bacteriano utilizaba la mezcla
 515 resultante de acetaldehído- NH_4OH tan bien o mejor que la ali-
 mentación de $\text{CH}_3\text{OH-NH}_4\text{OH}$.

Después de cargar la mezcla de alimentación de acetal-
 dehído- NH_4OH , se devolvió el reactor al funcionamiento en esta-
 do permanente con alimentación de $\text{CH}_3\text{OH-NH}_4\text{OH}$. Este ejemplo de-
 520 muestra claramente que el acetaldehído que había sido previamen-
 te mezclado con un compuesto nitrogenado es adecuado como mate-

389907



rial de alimentación para fermentadores según el proceso de la presente invención.

525 Como se ha dicho anteriormente, se ha descubierto que en el proceso de fermentación conducido esencialmente según el Ejemplo I, existen en el efluente del producto considerables cantidades de gomas polímeras. La goma puede ser recuperada por los medios agotados de fermentación mediante precipitación con disolvente orgánicos polares, pudiendo entonces ser secada
530 en un polvo que se presta a ser almacenado y usado convenientemente.

Pueden obtenerse variantes de la goma polímera empleando varios de los microorganismos mencionados o variando la composición del medio. Se han conseguido rendimientos superiores
535 a 50 gramos/litro de peso seco de goma y de células. Estas gomas polímeras aumentan - se ha descubierto - la viscosidad de las composiciones acuosas.

Dichas gomas pueden ser usadas como aditivos en inundaciones de agua, como por ejemplo en la recuperación de
540 aceite, formando una mezcla con el agua, de modo que la viscosidad resultante es igual a la del aceite "in situ", de modo que puede conseguirse una mayor eficiencia en la recuperación de dicho aceite.

La goma puede también ser usada como un aditivo del barro de perforación y como agente de control de la pérdida
545 de agua. La adición de goma aumenta la viscosidad de la composición de barro de perforación hasta la viscosidad deseada, manteniendo sólidos en suspensión el barro de perforación. Tiene una sensibilidad de núcleo a las sales y es compatible
550 con otros aditivos del barro.

La goma polímera puede también ser usada como un

389907



555 agente selectivo de obstrucción y viscosificación para uso en yacimientos de petróleo. La goma polímera puede ser solubilizada e inyectada en el yacimiento con un Ph inferior a 10. En este campo de pH, el polímero entra en la zona deseada o actúa a modo de viscosificador. El pH puede ser regulado con álcalis sobre cuando menos un 11-11,5. Con este pH, las gomas polímeras son gelificadas y forman una masa tenaz y correosa. Los alcalis pueden así ser inyectados en la formación, de modo que la goma se solidifica y forma un bloque. Influyendo en el pH, el material puede ser hecho muy viscoso para una mayor recuperación de aceite, o formado en un sólido que constituye un bloque. En otras situaciones, puede ser deseable inyectar primero el álcali y hacerlo seguir luego de la goma soluble, usando, de ser necesario, una zona separada de agua para que no se produzca una solidificación prematura, excepto en la zona de penetración máxima del agua. El material está protegido contra la degradación microbiana por el elevado pH. También es posible gelificar este material gomoso añadiendo agentes desnaturalizantes, como por ejemplo acetona, alcoholes y similares.

560

565

570

E J E M P L O V

575 La viscosidad del producto efluente que contiene dichas gomas polímeras obtenidas de un fermentador conducido típicamente como en el Ejemplo I fué medida en un viscosímetro Brookfield LVT y comprobada de 14.000 CPS, 3.800 CPS, 1.200 CPS, 384 CPS y 247 CPS a 0,3, 1,5, 6,0, 30 y 60 r.p.m. (con un husillo nº 2 respectivamente).

580 El producto efluente fué diluido con 3 partes de salmuera por cada parte de producto efluente y la viscosidad

38907



de la mezcla diluida fué medida en el viscosímetro Brookfield empleando el husillo nº 2. Se observaron viscosidades de 100 CPS, 40 CPS, 20 CPS y 18 CPS a 1,5, 60, 30,0 y 60,9 r.p.m. respectivamente.

585 Los ensayos anteriores demuestran eficazmente que las gomas polímeras producidas según la presente invención son útiles como viscosificadores de agua y de soluciones acuosas.

E J E M P L O VI

590 El producto efluente, que contenía las gomas polí-
595 ras empleadas en el Ejemplo V, fué diluido como antes con 3 partes de salmuera preparadas para obtener la concentración de la sal - por ejemplo (40,3 g. de NaCl, 10,5 g. de CaCl₂, 4,8 g. de MgCl₂·6 H₂O cada litro de solución acuosa) - del Campo Petro-
600 lífero Burbank de Oklahoma por cada parte de producto. Arena procedente de un yacimiento Nacatock (la formación Nacatock es la arena productora del campo Smackover de Arkansas) es carga-
605 da en un tubo de una longitud de 1,8 m. La arena está saturada de petróleo crudo procedente del Campo Burbank. Luego, la columna de arena es calentada a la temperatura del yacimiento del Campo Burbank y mantenida sobre la misma, mientras se hace pa-
sar por la columna de arena salmuera de Burbank hasta que no es eluido más petróleo. Manteniendo la temperatura como antes, la mezcla anterior 1:3 de producto efluente y de salmuera de Burbank es conducida luego a través de la arena hasta que no es eluido más petróleo. La cantidad total de petróleo adicional producida por lavado con el producto efluente y la salmuera equivale al 7,8% del volumen de poros de la columna de arena. Por consiguiente, los ensayos anteriores demuestran que el lavado con la mezcla de producto efluente de goma polímera y de

389907



610 salmuera de Burbank se tradujo en una mayor recuperación de petróleo.

Se ha comprobado que la goma polímera posee también cualidades adhesivas adecuadas para sustituir los adhesivos de proteína de caseína o de soja y para mezclar formando agentes de revestimiento de papel.

E J E M P L O VII

La goma polímera producida como se ha dicho anteriormente en el Ejemplo I fué empleada para juntar substratos de madera descubriéndose que poseía una resistencia adhesiva de corte de 14 kgs./cm², según el Ensayo ASTM nº D-1002-53T; lo que constituye un ejemplo de las características adhesivas de esta goma polímera.

Se ha descubierto que cantidades anormalmente elevadas de triptofano, lisina, leucina, treonina, valina, alanina y ácido glutámico, que son suplementos necesarios para los alimentos deficientes, pueden ser sintetizadas, según el Ejemplo VIII indicado a continuación, por los microorganismos anteriormente mencionados e indicados con números usando un material de alimentación de metanol-formaldehído-hidróxido amónico en los medios de sales minerales. Estos microorganismos crecen en un proceso aeróbico continuo de fermentación y usan este material de alimentación como fuente tanto de carbono como de nitrógeno y producen en los medios los aminoácidos solubles en agua triptofano, lisina, treonina, valina, alanina y ácido glutámico. Según la presente realización, las células microbianas son recuperadas y vendidas como proteína y el medio de cultivo agotado es extraído, recuperándose los aminoácidos. La identificación por cromatografía de papel establece que cuando los microorga-

388907



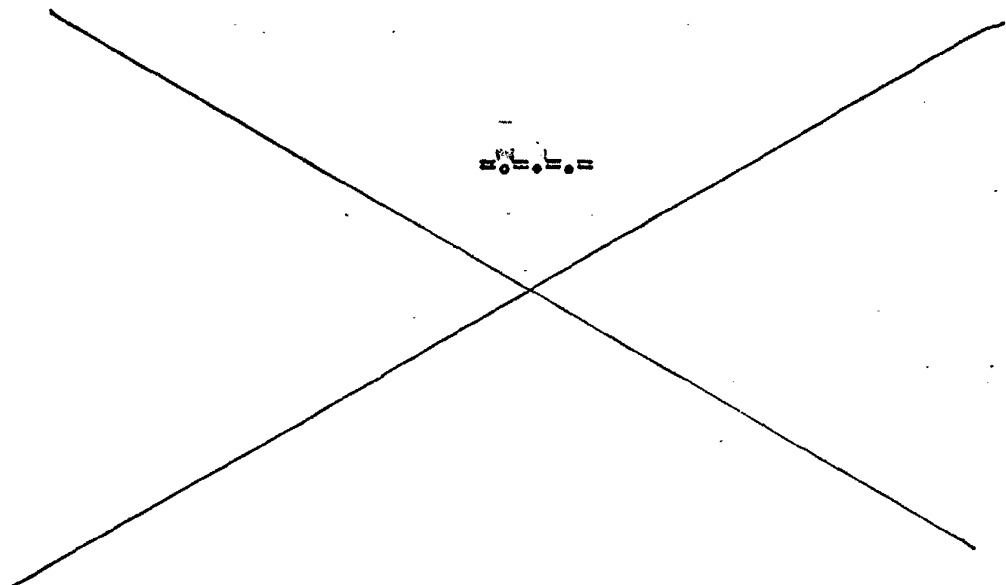
640 nismos anteriormente designados son cultivados en un material de alimentación de metanol-formaldehído-hidróxido de amonio, estos siete aminoácidos son producidos esencialmente en concentraciones anormalmente elevadas y excretados en los medios proporcionando así un producto doble.

645 La *Pseudomonas methanica* produjo una producción particularmente elevada de triptofano, lisina y treonina; la *Pseudomonas fluorescens*, de lisina treonina, leucina, triptofano y valina; y el *Corynebacterium simplex*, de leucina, lisina, treonina, triptófano y alanina.

E J E M P L O VIII

650 Se cargó con 7 litros de un adecuado medio de base (1) y con 500 cm³ de inoculación de *Pseudomonas* sp. un fermentador con agitador New Brunswick, de 14 litros y de temperatura controlada entre 32-40° C. Los materiales fueron cargados en el reactor y el efluente fué eliminado hasta que las bacterias habían alcanzado una velocidad exponencial de crecimiento y que se había alcanzado un estado permanente. Los datos siguientes ilustran el estado permanente del funcionamiento del fermentador (47-70 horas a partir del comienzo).

655



389907



Condiciones durante la Tanda Tanda 1

660	Medio de base (1) Entrada de aire Agitador Factores de crecimiento	BH6 (1) 10 litros/min. 1000 r.p.m. ninguno
-----	---	---

Velocidades de alimentación

665	Metanol : producto formaldehido (2) NH ₄ OH (22-26% NH ₃) (3) Medio de base (1) Indicios de minerales	0,1452 litros/hora 0,0291 litros/hora 1,200 litros/hora 0,016 litros/hora
670	Velocidad total de alimentación Volumen de fermentador en estado permanente Contenido de alcohol del efluente	1,3708 litros/hora 3,5 litros 1,13%

A base de estas condiciones, pueden hacerse los siguientes calculos :

675	Tiempo de retención en el fermentador Concentración celular (peso en seco) Rendimiento de células secas/100 kgs. de metanol consumido	2,55 horas 26,1 g/litro 16,4 kgs.
680	Rendimiento de células secas/100 kgs. de (5) metano consumido Porcentaje de proteína de las células (6) Productividad del fermentador	32,8 kgs. 69,4 % 10,23 g/litro/hora

1. El medio de base BH6 tiene las cantidades siguientes de materiales por litro de solución acuosa :

685	KH ₂ PO ₄ K ₂ HPO ₄ (NH ₄) ₂ SO ₄ NaCl MgSO ₄ ·7H ₂ O CaCl ₂	2,5 g 2,5 g 2,0 g 0,1 g 3,0 g 0,04 g
690	Solución de minerales indiciales (4)	10 ml

2. Metanol : el producto formaldehido comprende :

14 partes de metanol
1 parte de HCHO acuoso al 37%

3. El NH₄OH fué mezclado con el producto metanol : formaldehido antes de ser conducido al fermentador.

695

4. La solución de minerales indiciales tenía las cantidades siguientes de los compuestos que se indican, por litro de solución :

389907



700	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.06	g
	KI	0.08	g
	FeCl ₃ ·6H ₂ O	4.80	g
	MnSO ₄ ·H ₂ O	0.30	g
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.20	g
705	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	2.00	g
	H ₃ BO ₃	0.02	g

5.º Suponiendo un 100% de conversión teórica de CH₄ en CH₃OH si el metano es oxidado primero en metanol.

6.º El porcentaje de proteína iguala el porcentaje N x 6,25.

710 7.º La productividad del fermentador es en g. de células secas por litro de fermento y por hora de tiempo de retención en el fermentador.

Se realizó una tanda de la manera anteriormente descrita excepto que se cargó separadamente en el fermentador el hidróxido amónico sin antes mezclarlo con el material de alimentación metanol:formaldehído. Se eliminó el cultivo y la fermentación cesó.

720 El Ejemplo II demuestra la criticidad de mezclar el compuesto que contiene nitrógeno de la presente invención con el material de alimentación que contiene el hidrocarburo oxidado antes de conducir el material alimentado al fermentador.

E J E M P L O IX

725 Se empleó un fermentador New Brunswick de 14 litros, de temperatura controlada, en el campo comprendido entre 32-40°C, en condiciones de estado permanente y empleando bacterias como en el Ejemplo VIII, pero según las condiciones siguientes:

<u>Condiciones durante la Tanda</u>	<u>Tanda 3</u>
Medio de base	BH-5 (8)
Entrada de aire agitador	8 litros/min.
Factores de crecimiento	1000 r.p.m.
	ninguno

730

389907



Velocidades de alimentación

735 Metanol- 15 partes en volumen
 HCHO (37% en peso de sol. acuosa) 1 parte en volumen 0,165 l/h
 NH₄OH. (25% en peso de sol. acuosa) 3 partes en volumen
 Medio de base 1,33 litros/hora
 Minerales indiciales 0,005 litros/hora
 Concentración celular (peso en seco) 23 g/litro

740 (4) Véase el Ejemplo I.
 (8) El medio de base BH-5 comprende :

745 KH₂PO₄ 2.5 g/litro
 K₂HPO₄ 2.5 g/litro
 (NH₄)₂SO₄ 2.0 g/litro
 NaCl 0.1 g/litro
 MgSO₄·7H₂O 3.0 g/litro
 CaCl₂ 0.02 g/litro
 Solución de minerales indiciales (4) 3.75 ml/litro

750 El fermentador fué controlado mediante : (a) pH del medio; (b) medición del O₂ disuelto en el medio; (c) cromatografía gaseosa del efluente, es decir concentración de CH₃OH y HCHO; y (d) medición de la densidad celular del medio.

755 Se terminó la entrada de la mezcla de metanol-formaldehído-hidróxido amónico y agua y la mezcla de medio de base-minerales indiciales. Inmediatamente, se cargó en el fermentador - cuando lo requería el pH, para mantener el pH sobre 6,5 - una alimentación que comprendía 14 partes en volumen de CH₃OH, 5 partes en volumen de solución de HCHO (37% en peso de solución acuosa), y 3 partes en volumen de solución de NH₄OH (solución acuosa al 25% en peso). Se cargó en el fermentador un total de
 760 50 cm³ de esta mezcla. Las funciones controladas fueron, por ejemplo, el pH = 6,5, la absorción de O₂, la ausencia de CH₃OH o HCHO en el efluente y la densidad de 23 g/litro quedó constante. Esto demostró que el fermento utilizaba sin dificultad la mayor concentración de HCHO.

389907



765

Cuando 50 cm³ de la alimentación anterior habían sido conducidos al fermentador, se concluyó la alimentación. Inmediatamente, se cargó en el fermentador, cuando lo requería el pH para mantenerse sobre 6,5, una alimentación que comprendía 14 partes en volumen de CH₃OH, 5 partes en volumen de solución de HCHO (37% en peso de solución acuosa) y 5 partes en volumen de solución de NH₄OH (solución acuosa al 25% en peso). Un total de 160 cm³ de esta mezcla fué cargada en el fermentador. Las funciones controladas fueron, por ejemplo : pH = 6,5, absorción de O₂, ausencia de CH₃OH o HCHO en el efluente, y la densidad celular de 23 g/litro quedó constante. Esto demostró que el fermento continuaba utilizando el mayor nivel de HCHO de la alimentación cuando se empleaba un mayor nivel de NH₄OH.

770

775

780

785

Cuando 160 cm³ de la alimentación anterior habían pasado al fermentador, se terminó esa alimentación. Inmediatamente se cargó una alimentación que comprendía 1 parte en volumen de solución HCHO (37% en peso de solución acuosa) y 1 parte en volumen de solución de NH₄OH (25% en peso de solución acuosa) en el fermentador, al requerirlo el pH para mantenerse sobre 6,5. Se cargó en el fermentador un total de 85 cm³ de esta mezcla. Las funciones controladas que se han mencionado siguieron siendo constantes.

790

Cuando 85 cm³ de la alimentación anterior habían sido conducidas al fermentador, se terminó dicha alimentación. Inmediatamente, se cargó en el fermentador una alimentación que comprendía esencialmente 37% en peso de solución acuosa de HCHO, al requerirlo el pH para mantenerse sobre 6,5. Casi inmediatamente, la fermentación terminó, como se comprobó por dichas funciones controladas. Se concluyó el cultivo antes de que 25 cm³ de HCHO hubieran pasado al fermentador.

389907



795 Lo anteriormente expuesto demuestra la posibilidad
de la utilización de formaldehído como única fuente de ener-
gía de carbono para la producción celular por los microorga-
nismos, y demuestra además lo crítica que es la mezcla del
compuesto nitrogenado de la presente invención con el mate-
800 rial de alimentación que contiene hidrocarburo oxidado antes
de pasar al fermentador el material de alimentación.

E J E M P L O X

Se hizo funcionar un fermentador con una alimentación
de CH_3OH y NH_4OH en condiciones de estado permanente. Se termi-
805 nó la alimentación de CH_3OH y NH_4OH . Se añadieron al fermenta-
dor 35 ml. de acetaldehído mezclados con 9,25 ml. de hidróxido
de amonio (solución acuosa al 25% en peso). Dichas funciones
controladas demostraron que el fermento bacteriano utilizaba
la mezcla resultante de acetaldehído y NH_4OH tan bien o mejor
810 que la alimentación $\text{CH}_3\text{OH-NH}_4\text{OH}$.

Después de cargar la mezcla de alimentación de acetal-
dehído- NH_4OH , se devolvió el reactor al funcionamiento en esta-
do permanente con alimentación de $\text{CH}_3\text{OH-NH}_4\text{OH}$.

E J E M P L O XI

815 Se realizaron varias fermentaciones aerobias de mane-
ra continua y empleando especies del género Cándida como fer-
mento y metanol como única fuente de carbono. Especies del gé-
nero Cándida fueron depositadas en el centro de cultivos de la
Northern Utilization Research and Development División, Peoria,
820 Illinois, y fueron numéricamente indicadas con NRRL B- Y-7236,
NRRL B- Y-7237 y NRRL B- Y-7238. Dichos cultivos fueron de-
positados en la inteligencia de que tenían que ser libremente

389907



825 accesibles al público general. Las tandas de fermentación continua duraron aproximadamente 265 horas. En las Tandas, se empleó la composición de medios siguiente:

Composición de medios

	<u>AMF/litro</u>
H ₂ PO ₄ (85%)	2 ml
KCl	1,0 g.
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1,5 g.
830 CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,2 g.
NaCl	0,2 g.
Solución de minerales indiciales (1)	5 ml
Mezcla de vitaminas (2)	2 ml
835 Metanol	9% en peso de la composición de los medios.

(1) Composición de los minerales indiciales

	<u>gramos/litro</u> <u>Solución madre</u>
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,060
840 KI	0,080
FeCl ₃ ·6H ₂ O	4,8
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,30
NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0,20
ZnCl ₂	2,0
H ₃ BO ₃	0,02

845 (2) Mezcla de vitaminas

	<u>Solución madre</u> <u>mg/100 ml.</u>
Tiamina	40
Niacina	40
850 Pantotenato de Ca	40
HCl de piridoxina	40
Acido p-aminobenzoico	20
Riboflavina	20
Biotina	0,2
855 Acido fólico	0,2

860 Debería notarse que, aun cuando la concentración de metanol en la composición de alimentación de los medios era de aproximadamente 9% en peso, pueden emplearse concentraciones mucho más grandes o más pequeñas siempre que la concentración de metanol en los medios del fermentador quede dentro de

389907



los límites de 0,2 - 1,0 % en volumen. Asimismo, los cultivos no requieren necesariamente todas las vitaminas empleadas en la mezcla, sino que éstas son añadidas en todas las tandas para convenientes fines de ensayo. Las condiciones de trabajo y los resultados del proceso de síntesis de la proteína empleando especies del género Candida NRRL B- Y-7236 están indicadas en la Tabla II.

T A B L A II

Condiciones de fermentación

870	Velocidad de alimentación de los medios	450	ml/h
	Velocidad de alimentación de NH ₄ OH	15,5	ml/h
	Velocidad total de alimentación	465,5	ml/h
	Volumen de los medios en el fermentador	4500	ml
	Agitación	1000	r.p.m.
875	Aireación	6	litros/min.
	Temperatura, ° C.	30	
	pH	5,2	
	Tiempo de retención	9,7	horas
	Concentración de levadura en el efluente	22,3	g/litro (peso en seco)
880	Metanol residual en el efluente	0,23	
	% en volumen (equivalente a la cantidad de metanol en los medios del fermentador)		

Resultados

885	Contenido de proteína de levadura, 55%	
	%, rendimiento basado en el metanol usado	29,6

Los procesos de fermentación fueron conducidos según el Ejemplo anterior, excepto que la concentración de metanol en el efluente del fermentador estaba fuera de los límites anteriormente indicados y se tradujo en una importante y repentina caída de las velocidades de crecimiento.

Todo aquello que sea accesorio en la realización del procedimiento descrito, podrá ser objeto de modificaciones y las cuestiones de forma, dispositivos y máquinas utilizadas en

389907



925 rizado por el hecho de que la concentración del alcohol en el medio mineral está comprendida entre el 5 y el 99 por ciento en peso.

930 3). Procedimiento perfeccionado para biosintetizar proteínas, aminoácidos, gomas y otros valiosos productos microbianos de fermentación, partiendo de hidrocarburos oxigenados solubles en agua, según la reivindicación 2), caracterizado por el hecho de que la concentración está comprendida entre el 8 y el 15 por ciento en peso.

935 4). Procedimiento perfeccionado para biosintetizar proteínas, aminoácidos, gomas y otros valiosos productos microbianos de fermentación, partiendo de hidrocarburos oxigenados solubles en agua, según cualquiera de las anteriores reivindicaciones, caracterizado por el hecho de que el material inicial se establece conteniendo uno o más alcoholes, cetonas, aldehidos, ácidos carboxílicos, éteres o polímeros.

940 5). Procedimiento perfeccionado para biosintetizar proteínas, aminoácidos, gomas y otros valiosos productos microbianos de fermentación, partiendo de hidrocarburos oxigenados solubles en agua, según cualquiera de las anteriores reivindicaciones, caracterizado por el hecho de que el material inicial es producido por oxidación con aire de uno o más hidrocarburos y por extracción con agua del efluente de oxidación.

945 6). Procedimiento perfeccionado para biosintetizar proteínas, aminoácidos, gomas y otros valiosos productos microbianos de fermentación, partiendo de hidrocarburos oxigenados solubles en agua, según las reivindicaciones 4) ó 5), caracterizado por el hecho de que el material inicial comprende concentraciones esterilizantes de aldehído y se hace reac-

389907



955 cionar con un compuesto de nitrógeno que hace no tóxico el material inicial, para las bacterias usadas con fines de fermentación.

960 7). Procedimiento perfeccionado para biosintetizar proteínas, aminoácidos, gomas y otros valiosos productos microbianos de fermentación, partiendo de hidrocarburos oxigenados solubles en agua, según la reivindicación 6), caracterizado por el hecho de que el compuesto de nitrógeno es elegido entre el grupo de amoniaco, hidróxido de amonio, sulfato de amonio, nitrato de amonio, fosfato de amonio, acetonitrilo, urea, guanidina o ácido úrico, en tanto que el aldehído utilizado es formaldehído o acetaldehído.

970 8). Procedimiento perfeccionado para biosintetizar proteínas, aminoácidos, gomas y otros valiosos productos microbianos de fermentación, partiendo de hidrocarburos oxigenados solubles en agua, según las reivindicaciones 6) é 7), caracterizado por el hecho de que el compuesto de nitrógeno es añadido a la alimentación en una cantidad comprendida entre 0,01 y 10 equivalentes molares por mol de aldehído.

975 9). Procedimiento perfeccionado para biosintetizar proteínas, aminoácidos, gomas y otros valiosos productos microbianos de fermentación, partiendo de hidrocarburos oxigenados solubles en agua, según cualquiera de las anteriores reivindicaciones, caracterizado por el hecho de que la concentración alcohólica del efluente procedente de la zona de fermentación es mantenida en el campo comprendido entre 0,01 y 1 por ciento en volumen.

980 10). Procedimiento perfeccionado para biosintetizar proteínas, aminoácidos, gomas y otros valiosos productos microbianos de fermentación, partiendo de hidrocarburos oxige-



389907



985

nados solubles en agua, según la reivindicación 9), caracterizado por el hecho de que la alimentación comprende principalmente metanol y de que la concentración del metanol en el efluente de fermentación es mantenida dentro del campo comprendido entre 0,2 y 1,0 por ciento en volumen.

990

11). Procedimiento perfeccionado para biosintetizar proteínas, aminoácidos, gomas y otros valiosos productos microbianos de fermentación, partiendo de hidrocarburos oxigenados solubles en agua, según las reivindicaciones 9) ó 10), caracterizado por el hecho de que la conversión bacteriana es realizada mediante una levadura elegida entre los géneros siguientes : candida, saccharomyces, pichia, debarymyces, hanse-nula, lipomyces, cryptococcus, torulopsis o brettanomyces.

995

1.000

12). Procedimiento perfeccionado para biosintetizar proteínas, aminoácidos, gomas y otros valiosos productos microbianos de fermentación, partiendo de hidrocarburos oxigenados solubles en agua, según las reivindicaciones 10) u 11) caracterizado por el hecho de que la concentración de metanol es mantenida dentro del campo comprendido entre 0,6 y 0,8 por ciento en volumen.

1.005

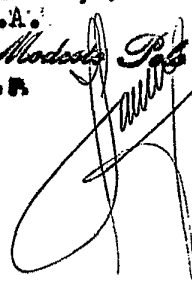
13). "PROCEDIMIENTO PERFECCIONADO PARA BIOSINTETIZAR PROTEÍNAS, AMINOÁCIDOS, GOMAS Y OTROS VALIOSOS PRODUCTOS MICROBIANOS DE FERMENTACIÓN, PARTIENDO DE HIDROCARBUROS OXIGENADOS SOLUBLES EN AGUA".

Todo ello según queda expuesto en la presente Memoria, que consta de treinta y cuatro hojas foliadas y mecanografiadas por una sola cara, y dos hojas de dibujos que se acompañan.

MADRID, 5 de Abril de 1.971.

P.A.

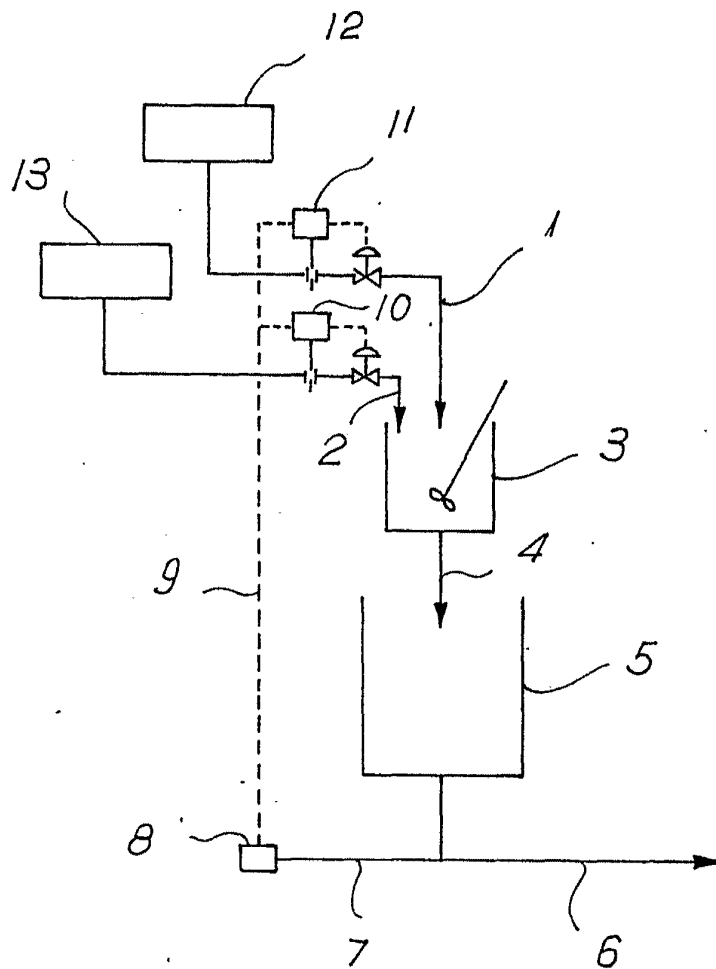
Modesta Pals
R.R.



389907



FIG. 1.



Madrid. 5 ABR. 1971

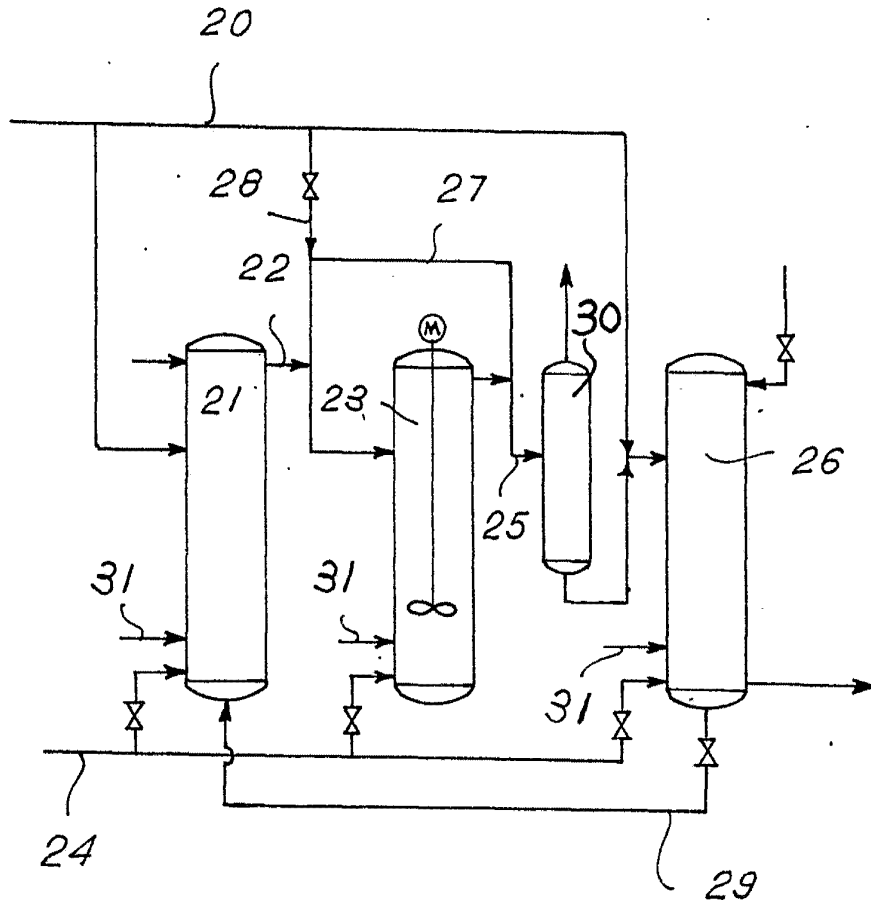
Alfonso Polo
P.R.

ESCALA VARIABLE.

389907



FIG. 2.



Madrid. 5 ABR. 1971

Modesto Polo
P. P.

ESCALA VARIABLE.