



405923

Int. Cl.: C12B/C12C

F.C. 23-5-75

MEMORIA DESCRIPTIVA

correspondiente a la solicitud de concesión de un.....

PATENTE DE INVENCION

SOLICITANTE: Philipp Berdelle-Hilge, de nacionalidad alemana

RESIDENCIA: 6501 Bodenheim bei Mainz - Hilgestrasse

República federal alemana

ENUNCIADO: MEJORAS INTRODUCIDAS EN LOS

PROCEDIMIENTOS DE FERMENTACION RAPIDA "

Inventores: Philipp Berdelle-Hilge y Peter Hellich, que ceden sus derechos al solicitante

Prioridad: Patente alemana n.º 21.42228 del 23-8-71

405923



1 La presente memoria descriptiva tie-
ne como fin la declaración del objeto sobre el cual ha de re-
caer el privilegio de explotación industrial y comercial ex-
clusivo en el territorio nacional de una Patente de Invención
5 de acuerdo con la vigente Legislación sobre Propiedad Indus-
trial que, como el enunciado indica, se trata de "MEJORAS
INTRODUCIDAS EN LOS PROCEDIMIENTOS DE FERMENTACION RAPIDA".

10 La invención se refiere a un procedi-
miento para el mando del rendimiento productivo de microorga-
nismos, que se hallan retenidos en una capa de reacción, co-
mo mínimo, atravesada por un substrato en breve tiempo de
contacto.

15 En numerosos procedimientos con uti-
lización de microorganismos, en especial para la síntesis
biológica con ayuda de microorganismos, se introduce continua-
mente, como mínimo ampliamente, a tales microorganismos, un
substrato que se mejora por ellos o se transforma; si los
microorganismos se encuentran en suspensión dentro de una
20 cantidad mayor de substrato, y se mantiene en movimiento esta
suspensión para mejorar el contacto entre los microorganismos
y el substrato, por ejemplo, mediante agitación, entonces apa-
rece una mezcla más o menos homogénea de substrato y microor-
ganismos, en el que se regulan (una vez vencida una fase ini-
cial) condiciones físicas y químicas prácticamente invariables,
25 y también permanece constante, al menos aproximadamente, el
rendimiento productivo. Si se trata de procedimientos conti-
nuos, en los que el substrato, por ejemplo mosto de cerveza,
se lleva en una corriente continua a través de varios lechos
fluidizados de microorganismos, dispuestos uno sobre otro en
30 el interior de una "torre de fermentación" y el substrato ex-

405923



1 perimenta ya modificaciones en las respectivas capas o lechos
fluidizados por separado, aparecen en cada una de las capas
fluidizadas condiciones diferentes, que provocan reacciones
diferentes en estas capas fluidizadas en dependencia con el co-
5 rrespondiente estado del moso. Por otra parte, en semejantes
casos, el estado de los microorganismos (en el caso de la fer-
mentación continua de las células de levadura), ofrece dife-
rencias en estas capas fluidizadas.

10 En el caso de procedimientos conti-
nuos pueden darse diferencias aún más acusadas, en las que
el substrato se conduce a través de por lo menos una capa de
reacción; que consta esencialmente de microorganismos reteni-
dos, dentro de la cual tienen lugar las transformaciones pre-
tendidas, siendo corto el tiempo de contacto.

15 Sobre todo, en el método de trabajo
citado en último lugar, se ha comprobado ahora que el produc-
to, que sale de la capa de microorganismos, se halla sometido
en el curso del tiempo a ciertas oscilaciones en lo que se
refiere a su estado físico y químico; las fluctuaciones o
20 cambios de estado dependen de cómo se forman enzimas o siste-
mas de enzimas dentro de la capa de microorganismos, o bien de
cada uno de los estratos de esta capa de microorganismos, de
cómo alcanzan el punto máximo de su eficacia, y por último
de cómo ceden de nuevo en su eficacia.

25 Así en la fermentación continua de
cerveza dentro de una capa de arrastre de levaduras se ha com-
probado el hecho de que la capa de levaduras fabricada por me-
dio de arrastre o aluvión delante de un filtro y esponjada
mediante aditivos, transforma el mosto llevado sobre ella en
30 una cerveza nueva, si se diera el caso, ya considerablemente

405923



1 fermentada, cuyo pH desciende en las dos primeras horas has-
ta 3'5; elevandose en las tres siguientes horas hasta 5'5,
para acabar marcando un valor de alrededor de 4. Ahora se
ha descubierto que tales oscilaciones en las propiedades del
5 producto creado biosintéticamente se pueden neutralizar nota-
blemente por medio de maniobras adecuadas de regulación.

10 En el ejemplo anteriormente menciona-
do de la fermentación de mosto de cerveza se han podido expe-
rimentar las posibilidades de regulación, que vienen a conti-
nuación:

15 a).- El valor pH se puede regular
variando el contingente de paso por medio de una modificación
de la presión de alimentación del mosto. Así cabe estabilizar
el comportamiento del valor pH elevando la presión desde 0'5
hasta 2 atmosferas relativas dentro del alcance teórico del
valor pH de 4'4.

20 b).- También es posible una regula-
ción del valor pH introduciendo nuevas levaduras; al descen-
der el valor pH se puede estabilizar la curva pH añadiendo
hasta el 5% de levaduras al mosto.

25 c).- Existe otra posibilidad de regu-
lación, variando la temperatura del mosto introducido; una
refrigeración del mosto acarrera el descenso del valor pH en el
producto, y un calentamiento produce un aumento del pH; se ha
comprobado a este respecto, que a una variación de más o menos
5° C. correspondió otra variación del valor pH de aproximada-
mente 1.

30 También en el contingente de fermenta-
ción se dieron en el ejemplo anteriormente mencionado, en el
curso de los ensayos, notables diferencias, que, sin embargo

405923



1 se pueden compensar variando la carga de mosto; cambiando la
carga de mosto dentro de una relación de 1:10 se había podi-
do mantener prácticamente constante el contingente de fermen-
tación a lo largo de períodos prolongados de tiempo.

5 A una variación de la carga correspon-
de así mismo otra variación de la presión del mosto introduci-
do, que pueda hallarse también en relación de 1:10:

10 En posteriores ensayos con la fermen-
tación rápida de mosto en una capa de levadura, retenida de-
lante de un filtro (con tiempos de contacto de pocos minutos)
se ha descubierto, por otra parte que en las primeras -20 ho-
ras del trabajo con una capa de levadura nuevamente aportada
ha aparecido un valor de diacetilo relativamente elevado en
la cerveza nueva que sale de la capa levadura; de este hecho
15 se puede deducir que las reductasas-diacetilo que disgregan
con más intensidad el diacetilo en la fermentación normal,
sólo se forman después de un cierto tiempo de trabajo-entrada
dentro del arrastre o aluvión de la levadura. La observación
de que después de un determinado tiempo más prolongado de ser-
vicio (24 horas) tenía lugar una desintegración o degrada-
20 ción del diacetilo, prácticamente suficiente, en la misma
capa de aluvión o depósito de levadura, llevó a la conclu-
sión de lograr el rendimiento productivo más favorable utili-
zando levadura "previamente envejecida" para la formación
25 de la torta de levadura y/o trabajando con mosto aireado;
merced a los cambios físicos y químicos de estado en el
sistema microorganismos-substrato, cabe estabilizar el estado
óptico, una vez conseguido, de los microorganismos, en rela-
ción al rendimiento productivo, especialmente deseado.

30 Semejantes medidas hacen posible

405923



1 desintegrar en cantidad suficiente subproductos no deseados,
en especial productos secundarios de la fermentación, no sólo
en la cerveza, sino también en el vino, durante el proceso
de fermentación de marcha rápida, en un sistema o proceso
5 continuo o de paso, dentro de una capa de microorganismos
relativamente delgada, retenida delante de un filtro.

Por consiguiente, resulta convenien-
te, en un procedimiento continuo de paso, que los microorga-
nismos, que se emplean en este procedimiento, logren por de
10 pronto, bajo el mando de regulación consciente de los compo-
nentes arriba mencionados, aquel estado fisiológico que garan-
tiza un óptimo para el aprovechamiento de la respectiva acti-
vidad enzimática en el sentido de mejor rendimiento produc-
tivo; posteriormente, se pueden retener estos microorganismos
15 en una capa de reacción, que ha de atravesar el substrato,
y mantenerlos allí en circunstancias muy favorables para con-
trarrestar o impedir la desintegración de las enzimas, bajo
condiciones óptimas de trabajo, previendo una regulación de
pH del substrato, una variación del contingente de carga,
20 condiciones anaerobias de funcionamiento etc., a fin de con-
trarrestar de este modo la autólisis así como el desarrollo
ulterior de los ciclos de enzimas mediante desintegración va-
liéndose de la RNasa que se forma.

Permítasenos enumerar a continuación
25 algunas posibilidades ventajosas, experimentadas ya en su ma-
yor parte, para la aplicación del procedimiento, de acuerdo
con la invención:

1).- La importancia de la hidrógena-
30 sa del alcohol para la formación del acetaldehído es cosa
sabida; su actividad específica se encuentra bajo condiciones



1 normales de fermentación en el quinto día de fermentación
con una actividad entre cinco y seis veces mayor que la del
primer día de la fermentación. Ahora se pueden reprimir hi-
drogenasas del alcohol e hidrogenasas de malato por medio de
5 glucosa. A tenor de la invención, para el tratamiento prefe-
rido de líquidos con hidrogenasas de alcohol e hidrogenasas
de malato, se pueden someter al tratamiento estos líquidos
en un estado de fermentación final, en el que prácticamente
no se sigue ofreciendo más glucosa, que efectuaría una regre-
10 sión de las hidrogenasas del alcohol.

2.- Las levaduras cultivadas por vía anaerobia y aquellas que se cultivan con elevada concentra-
ción de glucosa, no poseen prácticamente mitocondrios y, por
ende, carecen de actividad respiratoria. Como tan sólo enzi-
15 mas oxidables forman aldehidos, se puede lograr una fermenta-
ción con formación mínima de aldehido, a través de una reali-
zación de nuestro procedimiento, de acuerdo con la invención,
empleando levaduras cultivadas por vía anaerobia. Dado que
es un hecho sabido, que con intensidad baja de fermentación
20 esta formación de acetaldehido resulta muy intensa, se la
puede reducir considerablemente (en el substrato en la fermenta-
ción forzada de paso, esto es, con una elevación de la car-
ga en el substrato.

3.- De especial importancia para la
25 maduración del vino es la degradación o desintegración del
ácido málico. Esto puede efectuarse muy especialmente por
medio de bacterias de ácido láctico y levaduras especiales,
como schizo-saccharomyces y saccharomyces-cerevisiae, con el-
vado rendimiento en tiempo muy corto. La degradación del
30 ácido málico o bien la correspondiente descarboxilación puede

405923



1 llevarse a cabo en el lecho o una capa de aluvión o arrastre
de los microorganismos específicamente indicados y preparados.

4.- Se conocen levaduras, que ciertamente son débiles en su rendimiento fermentativo, pero ofrecen una acción destacada en cuanto a la formación de ácidos.
5 Resulta, pues conveniente utilizar esta clase de levaduras en la fabricación del vino, haciendo pasar el vino ya fermentado ampliamente, a través de una capa de tales levaduras en un estado que provoca especialmente la formación de ácidos.

10 La aplicación o aprovechamiento del procedimiento de acuerdo con la invención para la regulación o control del rendimiento productivo de microorganismos, se puede realizar ahora no sólo en aparatos de un solo paso, en los que el substrato a tratar atraviesa únicamente una o varias capas iguales de microorganismos; también se puede
15 trabajar en ciclos o fases separadas, lo cual supone una ventaja esencial del sistema a objeto de la invención. En estas fases independientes se efectúan controles o regulaciones diferentes.

20 Como las posibilidades interior de regulación de la célula se hallan en relación con la formación de determinados productos finales, se gradúa la síntesis de enzimas especiales dentro de los microorganismos, caso de no disponerse de suficiente número de compuestos reaccionantes para la formación de la enzima en cuestión. La velocidad de la reacción química en la síntesis de enzimas y la
25 difusión, en esencia se mantienen constantes, es decir, un aumento de la velocidad de la reacción química provoca también un incremento del aflujo de material y un aumento de la síntesis de las enzimas.
30

405923

1 En el procedimiento de acuerdo con
la invención, especialmente en aquellas realizaciones en las
que el substrato recorre en un tiempo muy breve una capa reac-
5 tiva de microorganismos, se pone a disposición de estos últi-
mos un contingente muy elevado de los reactivos requeridos
en un contacto íntimo, de suerte que se realice una introduc-
ción óptima de las enzimas.

10 De este modo se puede lograr (en
este caso) junto a un metabolismo glicolítico o anaerobio,
una regresión de los sedimentos de enzimas de respiración,
en tanto que en el caso de metabolismo aerobio, que se puede
graduar mediante la correspondiente composición del substrato
y las demás condiciones de reacción, cabe conseguir una
15 represión de las enzimas glicolíticas, y una síntesis de
RNasa y de las enzimas respiratorias en función de las fosfo-
rilización oxidativa.

20 En consecuencia, utilizando el siste-
ma objeto de la invención, es posible llevar a cabo un trata-
miento microbiano de un substrato, intencionado, o bien, con-
trollado en el sentido de una inclusión o exclusión del meta-
bolismo respiratorio, anaerobio (glicolítico) o aerobio, en
sucesión temporal dentro de un lecho de microorganismos o
también separadamente en los lechos de microorganismos o tam-
25 bién separadamente en dos lechos de microorganismos conecta-
dos en serie respecto al flujo del substrato. Así por ejem-
plo, se puede trabajar en una primera fase glicolíticamente
y en otra segunda fase aerobiamente con distintos sistemas
de enzimas diferentes; en el caso de procedimientos conoci-
dos de síntesis microbiológica no resulta posible semejante
30 separación; en estos sólo cabe lograr parcialmente una prefe-

405923



1 rencia de la reacción en cuestión mediante el predominio de uno u otro sistema enzimas-metabolismo.

5 Habría que tener en cuenta que en aquellos casos, que son posibles merced a la aplicación del procedimiento de acuerdo con la invención, se puede graduar un rendimiento óptimo de la producción mediante el aprovechamiento total de las condiciones más favorables de la actividad.

10 Resumiendo, habría que decir que el procedimiento, objeto de la invención, se puede aplicar para el control o regulación del rendimiento productivo de microorganismos siempre que se pueda echar mano, a expensas de una medición de determinadas propiedades del producto, inmediatamente de medidas reguladoras, que provocan los cambios pretendidos, cuantitativos y/o cualitativos, de las relaciones de contacto entre substrato y microorganismos, debiéndose citar entre otras, como magnitudes reguladas, la carga o caudal del substrato, la presión, la proporción de cantidades de microorganismos respecto a substrato en la capa de reacción, y 15 variaciones de las sustancias contenidas y/o de los estados químicos o bien físicos de substrato.

20 Para la realización del procedimiento, objeto de la invención, resultan adecuados, los dispositivos para el tratamiento continuo de líquidos con portadores o sustancias-soporte de enzimas, tal como se describen y exponen, por ejemplo en el DOS 1 517 814 del 11.12.1969 o bien quedan descritos en el DOS 2 000 292.

25 Describida suficientemente la naturaleza del presente invento, así como su realización industrial, 30 sólo cabe añadir que en su conjunto y partes constitutivas es

-11-

405923



1 posible introducir cambios de forma, materia y disposición
 en cuanto tales alteraciones no supongan variación sustancial
 del mismo.

5 El solicitante, al amparo de los Con-
 venios Internacionales sobre Propiedad Industrial, se reser-
 va el derecho de extender esta demanda a los países extran-
 jeros si fuera posible, reivindicando la misma prioridad de
 la presente solicitud.

10 Igualmente el solicitante se reser-
 va el derecho de introducir en la presente invención cuantos
 perfeccionamientos sobre la misma puedan derivarse, mediante
 la solicitud de los correspondientes Certificados de Adición
 en la forma señalada por la Ley.

N O T A

15 La Patente de Invención que se soli-
 cita como nueva en España por veinte años, de acuerdo con la
 vigente Legislación sobre Propiedad Industrial, deberá recaer
 sobre "MEJORAS INTRODUCIDAS EN LOS PROCEDIMIENTOS DE FERMEN-
 TACION RAPIDA", en todo de acuerdo con las siguientes:

R E I V I N D I C A C I O N E S

20 1.- Mejoras introducidas en los
 procedimientos de fermentación rápida, caracterizadas porque
 encontrándose tales microorganismos retenidos en una capa,
 por lo menos, de reacción atravesada por un substrato en bre-
 25 ve tiempo de contacto, se gradúa el rendimiento productivo
 deseado, mediante una variación pretendida, cuantitativa y/o
 cualitativa, de las relaciones de contacto entre substrato
 y microorganismos, como por ejemplo las de la carga o caudal
 del substrato en la capa reactiva, las de las sustancias con-
 30 tenidas y/o las de los estados químicos o bien físicos del

405923



1 substrato.

2.- Mejoras introducidas en los procedimientos de fermentación rápida, en todo de acuerdo con la anterior reivindicación, caracterizadas porque, una vez efectuado el primer ajuste o graduación del rendimiento del producto, éste se estabiliza mediante compensación y/o evitación de reacciones secundarias no deseadas, condicionadas fisiológicamente, que proceden de cambios de los sistemas de enzimas de los microorganismos, de aparición espontánea.

10 3.- Mejoras introducidas en los procedimientos de fermentación rápida, en todo de acuerdo con las anteriores reivindicaciones, caracterizadas porque se provoca un complejo de sistemas de enzimas de los microorganismos dentro de la capa de reacción, el cual resulta óptimo para el rendimiento productivo deseado, y se impide una degradación o desintegración de este complejo de enzimas mediante el cambio adecuado del estado.

15 4.- Mejoras introducidas en los procedimientos de fermentación rápida, en todo de acuerdo con las anteriores reivindicaciones, caracterizadas porque se efectúa la creación del complejo óptimo de enzimas en una fase preliminar, si se diera el caso, con composiciones especiales de substrato, haciéndose pasar luego en una fase posterior de producción el substrato apto para la producción a través de la capa reactiva preparada en la fase preliminar.

25 5.- Mejoras introducidas en los procedimientos de fermentación rápida, en todo de acuerdo con las anteriores reivindicaciones caracterizadas porque se hace pasar el substrato sucesivamente a través de dos o más capas de reacción con sistemas de enzimas, regulados y/o estabiliza-

30

-18-

405923



1 dos distintamente.

5 6.- Mejoras introducidas en los procedimientos de fermentación rápida, en todo de acuerdo con las anteriores reivindicaciones, caracterizadas porque en el caso de fermentación de paso de un mosto de cerveza o de vino en una capa reactiva que contiene una levadura, se compensa un descenso del valor pH del substrato que sale, aumentando la presión y la carga o caudal del substrato, mediante adición de levadura al substrato y/o calentando el substrato introducido; en tanto que se suprime una elevación del valor pH refrigerando el substrato introducido.

10 7.- Mejoras introducidas en los procedimientos de fermentación rápida. en todo de acuerdo con la anterior reivindicación, caracterizadas porque se regula el contingente de fermentación modificando la carga o caudal del substrato o bien, aumentando la presión.

15 8.- "MEJORAS INTRODUCIDAS EN LOS PROCEDIMIENTOS DE FERMENTACION RAPIDA".

20 Según queda sustancialmente descrito en la presente memoria descriptiva que consta de catorce hojas mecanografiadas por una sola cara acompañada de sus correspondientes dibujos.

25

30

-14-

405923



1

Madrid, 17 AGO. 1972

El Agente Oficial

MIGUEL FERNANDEZ LOAYSA
P. P.

5

10

15

20

25

30