

4 1 7 6 4 1

17 SET.

P.- 54.819

K 1273 SPA



MEMORIA DESCRIPTIVA

Cl. Cl. C12B

para solicitar PATENTE DE INVENCION por VEINTE años

a nombre de SHELL INTERNATIONALE RESEARCH MAATSCHAPPIJ
B.V.

entidad holandesa

con domicilio en Carel van Bylandtlaan 30, La Haya
Holanda.

por: "UN METODO DE GENERAR UNA CONCENTRACION CRECIENTE DE
NUTRIENTE DE METANOL EN UN MEDIO ALIMENTADO A UN CUL
TIVO DE MICROORGANISMOS EN DESARROLLO"

(Clase Internacional C12d)

Prioridad reivindicada: Gran Bretaña, 9 de Agosto de
1972, N° 37173/72.

10.9.75

- 1 -



P.-54.819
K 1273 SPA

5 Esta invención se refiere a un método para suministrar un medio nutriente líquido a un cultivo en desarrollo de microorganismos, y a un procedimiento para la producción de microorganismos empleando este método de suministro de medio.

10 En un procedimiento típico para cultivar microorganismos, un medio nutriente líquido estéril es inoculado a un cultivo que contiene un número relativamente pequeño de microorganismos, que después se dejan desarrollarse en condiciones cuidadosamente controladas de temperatura, aireación, agitación, pH, etc. El desarrollo de microorganismos continúa exponencialmente hasta un máximo, es decir se alcanza un estado llamado estacionario, que depende del microorganismo particular y de las condiciones empleadas.

15 Se ha encontrado en varios casos que si un material nutriente particular está presente en una concentración demasiado grande durante las primeras etapas del desarrollo, inhibe en realidad el desarrollo del microorganismo. Esta situación se da, por ejemplo, en el cultivo de microorganismos que



consumen metanol, cuyo desarrollo puede ser inhibido seriamente por la presencia de altas concentraciones de metanol.

5 En estos casos es deseable aumentar gradualmente la concentración del componente particular del medio nutriente, partiendo de un valor relativamente bajo cuando el medio es inoculado por primera vez.

10 Hasta ahora, ésto se ha conseguido principalmente por dos métodos:

1. usando una bomba dosificadora para suministrar medio adicional que contiene una proporción exponencialmente creciente del material nutriente particular.

15 Sin embargo, estas bombas son necesariamente complicadas y costosas.

2. alimentando medio que contiene concentraciones crecientes del nutriente a una velocidad de alimentación lineal constante, o de manera consecutiva.

20 Aunque estos procedimientos son más sencillos que el uso de bombas dosificadoras, dan como resultado un aumento relativamente lento de la velocidad de desarrollo de los microorganismos.

25 La presente invención se refiere a un método



do sencillo de suministrar medio que tiene una concentración creciente de un nutriente particular, que puede dar como resultado un aumento relativamente rápido del desarrollo de microorganismos.

5 Según ello, la invención proporciona un método de generar una concentración creciente de sustancia nutriente en un medio suministrado a microorganismos en desarrollo, método que comprende suministrar el medio a un caudal F_2 , desde un recipiente que
10 contiene inicialmente un volumen V_0 de medio de concentración C_0 de sustancia nutriente, y al que se suministra medio adicional de concentración C_1 a un caudal F_1 , siendo la concentración C_1 más elevada que C_0 y el caudal F_2 mayor que F_1 .

15 En estas condiciones, la concentración de sustancia nutriente aumenta desde el valor C_0 hasta el valor superior C_1 , y en cualquier tiempo particular t , la concentración en el recipiente (y por lo tanto la concentración suministrada a los microorganismos) está dada por la ecuación:

$$C_2(t) = C_1 - (C_1 - C_0) \left(1 - \frac{t F_1}{V_0} \right)^\alpha \quad (I)$$

25

23.6.73



donde $\alpha = \frac{F_1}{F_2 - F_1}$

5 Los valores de C_0 , C_1 , F_1 , F_2 y V_0 pueden elegirse entre límites amplios, pero preferiblemente se escogen de modo que den un valor de $C_2(t)$ que corresponde a la concentración de entrada ($S_R(t)$) ideal para los microorganismos en desarrollo. Expresada matemáticamente, esta concentración ideal de entrada está dada en función del tiempo por la ecuación siguiente:

10

$$S_R(t) = \frac{u^1 x_0 e^{-(u^1 - F_2/V_2)t}}{Y^1 F_2/V_2} + S \quad (\text{II})$$

15

donde u^1 e Y^1 son la velocidad de desarrollo y el factor de rendimiento de los microorganismos a la baja concentración (S) de nutriente en el cultivo en desarrollo, V_2 es el volumen del cultivo, y x_0 es la concentración inicial de microorganismos.

20

La invención se ilustrará ahora como ejemplo haciendo referencia a los dibujos anejos.

La Fig. 1 es una representación esquemática de una disposición para suministrar medio que con-

25



tiene una concentración creciente de una sustancia
nutriente a un cultivo de microorganismos que se de-
sarrolla continuamente. El recipiente agitado A con-
tiene inicialmente medio de concentración C_0 y volu-
men V_0 , y se le suministra medio más concentrado
5 (concentración C_1) a un caudal F_1 . El recipiente A
tiene una salida que conduce a un recipiente B de fer-
mentación que contiene un volumen fijo (V_2) de medio
que contiene el cultivo en desarrollo. El caudal (F_2)
10 desde el recipiente A al recipiente B de fermentación
se escoge de modo que sea mayor que F_1 , de modo que
la concentración (C_2) de medio suministrado es aumen-
tada en el intervalo de C_0 a C_1 a medida que disminu-
ye el volumen en el recipiente A, y en cualquier tiem-
15 po t está dada por la ecuación I:

En la Fig. 2 se muestran gráficamente los
resultados de un experimento efectuado usando la dis-
posición de la Fig. 1 al comienzo de la fermentación
de un cultivo mixto de microorganismos denominados
20 JMS 72, y que se describe completamente en la soli-
citud de N° 8198/73 de la firma solicitante. Este cul-
tivo asimila metanol a baja concentración, pero su
desarrollo es inhibido por concentraciones elevadas
de metanol. Los valores de los varios volúmenes y
25 caudales, y las concentraciones de metanol dentro



del depósito A y en la alimentación al mismo, se escogieron como sigue:

$$C_1 = 800 \text{ g/l.} \quad V_2 = 3,8 \text{ l.} \quad F_2 = 1,1 \text{ litro/hora}$$

5

$$C_0 = 27 \text{ g/l.} \quad V_0 = 15 \text{ l.} \quad F_1 = 0,019 \text{ litros/hora}$$

La línea continua de la Fig. 2 indica el aumento de la concentración (x) de microorganismos en el recipiente B de fermentación, y la línea de trazos indica el perfil de la concentración $C_2(t)$. Usando la expresión.

$$\text{productividad} = \frac{F_2}{V_2} \times x$$

15

puede deducirse que sólo se tardaron 7,8 horas para que la productividad del cultivo aumentase a 2 g/l.hora. En experimentos comparativos usando una alimentación lineal o una adición consecutiva, el tiempo requerido para alcanzar la misma productividad fue de más de 30 horas.

25

23.6.73



REIVINDICACIONES

5 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 que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

10 1ª.- Un método de generar una concentración creciente de nutriente de metanol en un medio alimentado a un cultivo de microorganismos en desarrollo, que comprenden de suministrar el medio a un caudal F_2 a partir de un recipiente que inicialmente contiene un volumen V_0 de medio de concentración C_0 de nutriente, y al que se suministra medio adicional de concentración C_1 a un caudal F_1 , en el
15 que la concentración C_1 es más alta que C_0 , y el caudal F_2 es mayor que F_1 :

20 2ª.- Un método según la reivindicación 1ª, en el que los valores de C_0 , C_1 , F_1 , F_2 y V_0 son elegidos de tal modo que en cualquier tiempo t particular la concentración de nutriente en el recipiente corresponde concentración ideal de entrada para los microorganismos en desarrollo (tal como se ha definido anteriormente en lo que antecede).

25 3ª.- Un método según las reivindicaciones 1ª ó 2ª, en el que la sustancia nutriente es metanol y los

10.9.75

mE



microorganismos son microorganismos que consumen metanol.

4ª.- UN METODO DE GENERAR UNA CONCENTRACION CRECIENTE DE NUTRIENTE DE METANOL EN UN MEDIO ALIMENTADO A UN CULTIVO DE MICROORGANISMOS EN DESARROLLO.

5

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 nueve hojas escritas a máquina por una sola cara.

10

Madrid,
P.A.

11 SET. 1975

Alberto de ~~Alonso~~
Por Poder

9.9.75

A.C.M