

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

(19) ES (21) (22)	(11) NUMERO 474112	(10) AT
	FECHA DE PRESENTACION 11.OCT.1978	

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

5 MAR. 1979

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES: (51) NUMERO P 27 00 697.9 P 27 00 698.0			(32) FECHA 10-1-77 10-1-77			(33) PAIS Rep. Fed. Alemana " " "		
(17) FECHA DE PUBLICIDAD		(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL C 12 B		(52) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA Nº 465.852				
(64) TITULO DE LA INVENCION "UN DISPOSITIVO PARA LA OBTENCION MICROBIOLOGICA DE PROTEINAS UNICELULARES A PARTIR DE ETANOL"								
(71) SOLICITANTE (S) JOSEF HUBERT SCHLICK Sch 51/20 Div.								
DOMICILIO DEL SOLICITANTE Mozartstrasse 10, Köln, Pesch, República Federal Alemana								
(72) INVENTOR (ES) El mismo solicitante								
(73) TITULAR (ES)								
(74) REPRESENTANTE D. ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ (P.- 70.113)								

MCG.

1 La invención se refiere a un dispositivo para
la obtención microbiológica de proteínas unicelulares, es-
pecialmente bajo el empleo de etanol, describiéndose tam-
bién un procedimiento conforme al cual opera este disposi-
5 tivo.

 Originado por el creciente aumento de población,
existe una demanda creciente de productos alimenticios de
alta calidad. Por ello la producción de albúmina a partir
de hidrocarburos encuentra un interés creciente. Una posi-
10 bilidad de obtención de productos albuminosos la represen-
ta la obtención microbiológica de proteínas unicelulares
(denominadas "single cell protein" o abreviadamente "SCP")
mediante cultivo de microorganismos productores de SCP ta-
les como levaduras o bacterias. Para este menester se han
15 propuesto ya algunos procedimientos para efectuar los pro-
cesos biológicos fermentativos habiéndose verificado diver-
sas materias primas como substratos para la obtención de
SCP. De tal modo se emplearon ya residuos de hidratos de
20 carbono procedentes de la industria tales como melazas, se-
rrín de la transformación de maderas, así como lijas sul-
fúricas procedentes de la industria de la celulosa. Proce-
dimientos más modernos emplean como substrato productos
obtenidos del petróleo. Se seleccionaron microorganismos,
que pueden multiplicarse en crudos de petróleo, parafinas
25 lineales, metano, metanol y etanol.

 No obstante, la obtención de SCP en calidad apta
para el consumo humano presenta hasta la fecha considera-
bles dificultades. Utilizando parafinas lineales como subs-
trato se emplean frecuentemente bacterias, que hacen que
30 el gobierno de los procesos y el peligro de infecciones

1 del medio de cultivo sean problemas insuperables, presen-
tándose además dificultades en el mantenimiento homogéneo
de las cuatro fases de mezcla formada por las parafinas
lineales, agua, aire (u oxígeno) y sustancia sólida. Los
5 substratos a base de crudos y parafinas lineales contienen
además sustancias tóxicas, que han de ser eliminados me-
diante costosos procedimientos de purificación bien del
sustrato o del producto final, es decir, de la biomasa.
Una total purificación y la obtención de una biomasa, que
10 no contenga trazas de dichas indeseadas sustancias, no es
posible en la práctica. Por esta razón es por lo que has-
ta la fecha han encontrado dichos productos unicelulares
la oposición de las autoridades y de las organizaciones
de consumidores al presentarlos a la homologación como
piensos.

15 Para salvar estas dificultades se propusieron ya
el metanol y el etanol para su empleo como sustrato para
la obtención de SCP. Se conocen procedimientos biosintéti-
cos en los que determinados cultivos bacterianos, como por
ejemplo *Methylomas species*, *Methylomonas methanolica*, -
20 *Methylotrophic bacterium*, *Pseudomonas methanica*, o bien
cultivos bacterianos de las series *Bacillus*, *Actinomyces*,
Protaminobacter, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, entre otros,
pueden multiplicarse fermentativamente en un medio de cul-
25 tivo sintético conteniendo como única o primordial fuente
de carbono al metanol. Otra posibilidad más es el empleo
de levaduras en substratos a base de metanol o etanol, don-
de especialmente se emplean levaduras *Candida*. En ambos ti-
pos de procedimiento se obtienen rendimientos de substra-
30 to que oscilan entre el 40 y el 45 %, siendo el rendimien-

1 to del oxígeno del orden del 20 al 25 %. El contenido proteico del producto de albúmina obtenido empleando levaduras oscila por el 60 % y empleando bacterias aproximadamente por el 80 %.

5 Empleando metanol como sustrato se pueden emplear la biomasa obtenida solamente para piensos, mientras las prohibiciones gubernativas continúen vigentes respecto a su empleo para la dieta humana. Empleando bacterias existe además el peligro de infección por bacterias extrañas, que resulta favorecida por transcurrir dichos procesos entre unos índices de pH que oscilan entre el 6 y el 7. Dicho campo de pH ofrece a las bacterias extrañas unas condiciones de crecimiento ideales. El empleo de levaduras, especialmente de determinados subgeneros de las - - Saccharomycesoideae y Cryptococcoideae, homologadas por la 10 American Food and Drug Administration para su directo empleo en la dieta humana, sobre etanol como sustrato, permite la obtención de SCP, proteína, apropiada como alimento directo para consumo humano.

20 El objetivo de la invención es lograr un procedimiento de este tipo, que contrariamente a los procedimientos conocidos trabaje con un rendimiento de sustrato y oxígeno superior, obteniendo productos de proteína unicelular de superior pureza.

25 Esta misión se soluciona mediante un procedimiento de obtención microbiológica de proteína unicelular sobre base de etanol, en el que en un medio acuoso, presentando un medio de cultivo con un pH de 2,5 a 4, conteniendo sales nutrientes, fosfato ácido y sustancia nitrogenada, en presencia de etanol y oxígeno levaduras capaces de 30

1 consumir etanol a temperaturas de 20 a 40 °C bajo condi-
ciones aerobias en una zona de fermentación, se obtiene
una biomasa, que es separada y secada como producto pro-
teico. La solución a la tarea objeto de la invención es-
triba en que el medio de cultivo se mantiene en constante
5 movimiento en circuito cerrado, en el que en un punto del
circuito de dicho ciclo se aporta en sentido tangencial,
gaseandolo para ello con oxígeno dispersado de 1 a 7 mi-
cras, degaseando la biomasa obtenida sin formación de bol-
nas de gases en la zona de fermentación haciendola circu-
10 lar a su través fuera de la zona de fermentación, y aju-
tando el tiempo de permanencia de la mezcla de gas-líquido-
-sustancia sólida en la zona de fermentación a 0,2 á 1,0
h⁻¹.

15 Para impedir la formación de espuma y la forma-
ción de bolsas de gases por encima de la mezcla, se condu-
ce ésta a través de la zona del fermentador con una presión
tal, que se arrastran las burbujas de gas que se formen
evacuandose al exterior de la zona de fermentación antes
de la formación de bolsas de gas.

20 Se ha demostrado ser práctico el empleo de oxí-
geno puro. Los superiores costosos por ello originados se
compensan nuevamente por las ventajas obtenidas. Asi por
ejemplo no se produce nitrógeno, que favorece la formación
de espumas y que solamente ha de ser evacuado. El gas emi-
25 tido está formado por ello exclusivamente por dióxido de
carbono y oxígeno no consumido. Además el producto albumi-
noso final no precisa ser sometido a tratamiento de puri-
ficación alguno. Es suficiente un grado de pureza del oxí-
30 geno del 95 %. Puede emplearse tambien aire enriquecido

1 con oxígeno. No es perturbador un contenido de humedad del oxígeno.

Es conveniente también el refrigerar la biomasa tomada de la zona de fermentación. Para ello se la conduce a través de una zona de intercambio de calor, en cuya parte superior también se desgasifica.

5 En el procedimiento que se patenta se trabaja convenientemente con un valor del pH del medio de cultivo del 3,5 y se ha visto como sumamente favorable el gasear oxígeno hasta una dispersión de 3 micras.

10 El procedimiento que se patenta tiene la ventaja de que se alcanzan muy altos rendimientos de substrato que oscilan entre el 70 y 80 %, así como altos rendimientos de oxígeno de aproximadamente el 80 % y más, obteniéndose simultáneamente producto SCP de máxima pureza.

15 El procedimiento que se patenta funciona con un rápido movimiento de circulación en circuito cerrado del medio de cultivo. Esto hace que en la zona de fermentación no se forme bolsa de gas alguna y el que las burbujas de gas que se formen con el oxígeno y el dióxido de carbono sean eliminados inmediatamente de la zona del fermentador.

20 El proceso que se patenta contiene un proceso de fermentación aerobio, en el que se cultivan microorganismos en un medio de cultivo conteniendo como sustrato etanol como fuente de carbono manteniendo además una muy determinada distribución de gas-liquido así como efecto mezclador entre el medio de cultivo y el oxígeno aportado para gasear el medio de cultivo.

25 Se encontró sorprendente que al gasear con burbujas de oxígeno ultrafinas de aproximadamente 1 a 7 micras

1 el medio de cultivo aportado tangencialmente a la cámara
de gaseado, empleándose preferentemente 3 micras, se puede
obtener una dispersión estable del gas-líquido-sustancia
sólida, que puede hacerse pasar a través de la cámara de
5 fermentación a una velocidad relativamente elevada, sin
que se destruya y sin que se presente la formación de es-
puma como en los conocidos procedimientos de este tipo. Se
vió también que el crecimiento de la levadura es óptimo en
un medio así dispersado, conduciendo en contra de la tecnolo-
10 gía natural, sorprendentemente a elevados rendimientos de
substrato y de oxígeno.

El procedimiento que se patente puede trabajar
con numerosas cepas de levadura. Levaduras ventajosamente
empleadas son por ejemplo las levaduras de "flor", que co-
mo consecuencia de su elevado nivel alcohol deshidrogenasa
15 se pueden multiplicar en medios con relativamente alta con-
centración de etanol, como las especies *S. cheresiensis*,
S. beticus, *S. montuliensis* y *S. rouxii*, así como levadu-
ras de panadería, tal como diversas cepas de la especie
S. Cerevisiae. Pueden emplearse también las demás levadu-
20 ras apropiadas conocidas para este fin, tales como las es-
pecies *Hansenula anomala*, *Candida utilis* y *Rhodotirula*
Glutinis así como los demás tipos de *Candida*, como *Candida*
curvata, *Candida lipilytica*, *Candida pulcherima*, *Candida*
parapsilosis, demás tipos de *Hansenula*, como *Hansenula*
25 *miso*, *Hansenula wickerhamii* y tipos de *Saccharomyces*, ta-
les como *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces*
cerevisiae, *Saccharomyces fragilis* y tipos de *Pichia*, como
Pichia pastoris y *Pichia haplophyla* sobre diversos substra-
30 tos. Todas las levaduras empleadas consumen etanol como -

02108

POOR
QUALITY

1 — fuente de carbono con rendimientos aceptables. Entre estas levaduras ha dado especialmente buen resultado la levadura *Hansenula anomala* (cepa 926) respecto al rendimiento del etanol, velocidad de crecimiento y especialmente alta calidad del producto albuminoso obtenible.

5 El etanol empleado puede ser de origen natural o sintético y por ejemplo ser obtenido por adición de agua a etileno puro.

10 El etanol se aporta al medio de cultivo en concentración relativamente alta. Dicha concentración es favorable de 1 a 13 %, preferentemente del 10 %, estando limitada hacia arriba por el límite de tolerancia para las células de la levadura, que oscila entre el 15 al 20 %.

15 Los medios de cultivo usualmente empleados contienen de forma usual, fuentes asimilables de nitrógeno, sales minerales, como por ejemplo sales que contienen magnesio, calcio, potasio, azufre y sodio así como cobre, manganeso, molibdeno, cinc, hierro, boro, yodo o similares conteniendo minerales-traza. Las dosis relativas de dichas sustancias nutrientes pueden oscilar en la forma conocida
20 con dependencia del microorganismo especial empleado. El medio de cultivo puede contener además vitaminas en la forma sabida, si su presencia fuese necesaria para el desarrollo del microorganismo. En los medios de cultivo convenientemente a emplear pueden encontrarse por ejemplo los siguientes componentes en las dosis indicadas:
25

1	Ortofosfato potasico o la correspondiente dosis de ácido fosfórico	0,02	a	0,2 %
5	Sulfato amónico o la correspondiente dosis de nítrógeno resultante de urea	0,02	a	1,0 %
	Sulfato magnésico	0,01	a	1,0 %
	Demás factores de crecimiento	0,1	a	10,0 %

Entre los demás factores de crecimiento cuentan por ejemplo NaCl, KCl, CaCl₂, KJ, FeCl₃, ZnSO₄, CuSO₄, MnSO₄, CoCl₂ y H₃PO₃.

Como fuentes nitrogenadas por ejemplo junto a las sales amónicas inorgánicas como el sulfato amónico, fosfato amónico, cloruro amónico y nitrato amónico están las combinaciones orgánicas nitrogenadas como la urea y los aminoácidos.

El cultivo tiene lugar a temperaturas de aproximadamente 20 a 40 °C y dentro de un campo de pH de aproximadamente 2,5 a 4, preferentemente a 35 °C y pH 3,5.

En el procedimiento que se patenta se produce el movimiento relativo requerido del medio fluyente y del oxígeno aportado favorablemente por aportación tangencial del líquido de cultivo moviéndose en circuito respecto al oxígeno inyectado de abajo hacia arriba.

Los microorganismos pueden separarse del medio de cultivo mediante por medio de procesos conocidos, tal como por ejemplo centrifugado o filtrado, en su caso combinado con una etapa de floculación. El producto final se obtiene en tal alta pureza que despues de un simple lavado

1 y secado puede emplearse directamente para el fin deseado.

El procedimiento que se patenta contiene tambien un dispositivo para realizar el proceso arriba descrito, provisto de alimentadores para la solución de cultivo, inóculo así como oxígeno y tomas para la biomasa y gases
5 emitidos, deseandolo incluso con alimentador(es) para sus tancias auxiliares y válvula de muestreo en el fermentador de producción y un dispositivo de bombeo para el movimiento del medio de cultivo. El dispositivo que se patenta se caracteriza por estar ligado por medio de conductos de tu-
10 beria a un intercambiador de calor separado, la bomba para efectuar el circuito cerrado del medio de cultivo a través del fermentador, una tubería superior, el intercambiador de calor y una tubería inferior, va dispuesta en la tubería inferior, encontrándose por encima del fondo del fer-
15 mentador la incidente alimentación de oxígeno y sobre ésta un difusor de gas, que presenta poros de tamaño de 1 a 7 micras y la tubería inferior en forma de una tubería tangencial para líquidos directamente por encima del difusor de gas en su entrada al fermentador, hallándose en el sen-
20 tido de circulación entre el fermentador y el intercambiador de calor una cámara de desgasificación y la tubería superior en forma de una tubería para líquidos dispuesta con incidencia desde arriba hasta abajo en la cámara de desgasificación.

25 Este dispositivo que se patenta hace posible el gaseado de la solución de cultivo, llevando a una extraordinaria distribución de gas-líquido-sustancia sólida y teniendo un efecto mezclador tal que la mezcla mantenida en
30 circulación continua permanece esencialmente homogénea re

1 duciéndose eficazmente la formación de espuma. La elimina-
ción prácticamente total de espumas se logra por haberse
situado en sentido de circulación entre el fermentador y
el intercambiador de calor una cámara de desgaseado y por
5 haberse previsto el conducto de unión superior entre fer-
mentador e intercambiador de calor en forma de una tubería
para líquidos incidente de arriba hacia abajo penetrando
en la cámara de desgaseado. En la cámara de desgaseado se
desgasifica el medio de cultivo líquido eliminando como
gases de emisión el oxígeno no consumido y el dióxido de
10 carbono producido durante el proceso fermentativo. La por
lo demás tan molesta producción de espumas se impide así
con seguridad. La bomba trabajademás con una potencia tal
que por la presión originada se expulsan inmediatamente
los gases que pudieran formarse en el fermentador de pro-
15 ducción y una vez en la cámara de desgaseado bajo forma-
ción de espumas reducir su tensión. El fermentador de pro-
ducción trabaja constantemente a plena carga. Se impide la
formación de bolsas de gases.

20 Se ha demostrado ser de gran utilidad el cons-
truir el difusor de gas de una o varias placas sinteriza-
das.

Favorablemente se ha situado la cámara de desga-
seado en el intercambiador de calor propiamente dicho en
su parte superior por encima del dispositivo intercambia-
25 dor. De ello resulta que la biomasa producida despues de
su desgasificación y como consecuencia de su propio peso
circula a través del intercambiador de calor de arriba
hacia abajo.

30 Para la toma de la biomasa despues de su paso

1 - por el intercambiador de calor se ha demostrado ser con-
veniente el que la tubería de toma para la biomasa obteni-
da esté conectada directamente al flujo descendente de la
bomba en la tubería inferior. De este modo se dispone de
la presión total de bomba incluso para la evacuación de la
5 biomasa.

La alimentación de la solución de nutrientes es
convenientemente acoplada al tramo ascendente de la tube-
ría inferior al fermentador de producción a cierta distan-
cia de la evacuación de la biomasa. Entre la evacuación y
10 la alimentación queda una distancia vertical de aproxima-
damente 2 metros.

El dispositivo que se patenta puede emplearse
también para otros procesos fermentativos bajo el empleo
de los substratos que se deseen como materia prima, como
15 por ejemplo para la fabricación de antibióticos, enzimas,
o incluso para el tratamiento biológico de aguas residua-
les, así como para la obtención de proteínas unicelulares
sobre la base de hidrocarburos y metanol.

El dispositivo que se patenta pasa a ser descri-
20 to con más detalle conforme al adjunto dibujo.

La fig. 1 es una vista esquemática, parcialmen-
te en corte, de una forma de ejecución del dis-
positivo que se patenta.

La fig. 2 es una vista en planta del dispositi-
25 vo representado en la fig. 1.

El fermentador de producción 1, por ejemplo de
acero, preferentemente chapeado con acero fino, puede te-
ner una capacidad de aproximadamente 20 a 150 m³. Durante
30 el funcionamiento está el fermentador cargado con solución

1 - nutriente en circulación. Esta solución se gasea por el
fondo del fermentador 1 mediante oxígeno por medio de la
tubería 7, penetrando en la solución a través del fondo
8 equipado por ejemplo con placas sinterizadas porosas.
Las placas sinterizadas poseen un tamaño de poro de 1 a 7
5 micras, preferentemente de 3 micras. La tubería 9 penetra
en el interior de la cámara de desgaseado 2 terminando en
forma de embudo, esta tubería 9 une la cabeza del fermentador 1 con la cabeza del segundo cuerpo, cuya parte superior ha sido diseñada como cámara de desgaseado 2 y su
10 parte inferior como intercambiador de calor 3. El líquido
procedente del fermentador sale verticalmente de arriba
hacia abajo, desgaseando en la cámara de desgaseado eliminándose del líquido el oxígeno y el dióxido de carbono.
Para dichos gases de emisión se ha previsto una evacuación
15 13 en la cabeza de la cámara de desgaseado. Para reforzar
el efecto desgasificador se ha previsto por debajo de la
boca 18 de la tubería 9 un dispositivo de rebote 17 de forma
piramidal. El flujo del medio de cultivo incide sobre
este distribuyéndose de tal modo que las partículas de gas
20 arrastradas quedan en libertad. En el intercambiador de
calor 3, por cuya tubería de admisión de agua refrigerante 15 entra agua fría y por cuya tubería de evacuación 16 sale el agua fría calentada, se elimina el calor producido como consecuencia del energético proceso fermentativo
25 exotérmico del medio de cultivo. Para dicho fin sirven
los dispositivos intercambiadores de calor 19 por los que
circula el agua de refrigeración en el intercambiador de
calor 3. El medio de cultivo retorna nuevamente al fermentador 1 a través de la tubería 10 que sale del fondo del
30

1 - intercambiador de calor 3. Por medio de varias sondas térmicas 14 y de dispositivos de regulación de temperatura (no señalados) se mantiene constante la temperatura deseada. Una bomba 4 dispuesta en la tubería 10 impulsa la solución de nutrientes en circuito cerrado a la velocidad deseada.

5 En la forma de por sí ya conocida se pueden anteponer al fermentador de producción 1 prefermentadores o en su caso fermentadores intermedios, cuya misión es la de producir las cantidades de inóculo y de substrato necesarias, y que al comienzo del proceso se introducen en el fermentador 1 por medio de la tubería 11. Durante el funcionamiento normal se alimenta el substrato por medio de la tubería de admisión 5. Para la evacuación de la biomasa producida se ha previsto el evacuador 6. Este se halla situado directamente a continuación de la bomba 4 y a una mayor distancia vertical de aproximadamente 2 metros por debajo de la alimentación 5.

10 La conexión de la tubería 10 en el fermentador 1 se halla inmediatamente por encima del fondo 8 equipado con placas de metal sinterizado y dispuesto lateralmente de tal modo que el medio de cultivo fluye tangencialmente al recinto del fermentador. Debido a la entrada tangencial del líquido fermentativo, que circula en circuito cerrado y debido a la aportación de oxígeno en la forma finamente distribuida se logra en el fermentador de producción 1 y favorable distribución y mezcla de gas-líquido.

20 Con el empleo del dispositivo que se patentará para la obtención de proteínas unicelulares sobre base etanol, se llena primeramente el fermentador 1 con culti-

1 -vos de levadura crecidos con anterioridad en armarios de
incubación o bien en prefermentadores o fermentadores in-
termedios. Al efectuar esta carga se llena también el in-
tercambiador de calor 3 hasta el nivel indicado con un
triángulo en el dibujo 1. Seguidamente se conecta la bom-
5 ba, que alimenta la totalidad del medio de cultivo del in-
tercambiador de calor 3 tangencialmente en el fermentador
1. Presenta éste un agujero de hombre 12, para hacerlo
practicable a su interior, como por ejemplo para susti-
tuir y controlar las placas sinterizadas del fondo 8.

10 El líquido durante el proceso fermentativo se
bomba en el sentido indicado de 10 a 100 veces, preferen-
temente 30 veces a la hora. El gaseado se efectúa con oxí-
geno, que se transporta a través de la tubería 7 y de las
placas sinterizadas, porosas 8.

15 El tiempo de permanencia de la mezcla de gas-lí-
quido-sustancia sólida producida en el fermentador 1 es
preferentemente de $0,6 \text{ h}^{-1}$. Con un volumen de fermentador
de 20 m^3 y circulación de 30 veces a la hora permanece el
contenido en el fermentador en cada caso 1,66 minutos. La
20 temperatura de entrada al fermentador se regula entre 25
y $35 \text{ }^\circ\text{C}$, preferentemente $33 \text{ }^\circ\text{C}$, y la temperatura de sali-
da a la salida del fermentador entre 35 a 40°C , preferen-
temente a $39 \text{ }^\circ\text{C}$.

25 El proceso de fermentación en el dispositivo
puede efectuarse por cargas o en sistemas continuo. En
funcionamiento por cargas se alcanza el mayor crecimiento
de los microorganismos dentro de 12 a 24 horas de inicia-
do el cultivo, evacuándose el contenido total del fermenta-
30 dor una vez transcurrido el tiempo de permanencia desea

1 do, es decir, preferentemente según $0,6 \text{ h}^{-1}$. En la fermentación continua se aporta en el punto de alimentación 5, de acuerdo con el tiempo de permanencia en el fermentador 1, la correspondiente dosis de substrato fresco, mientras que en el punto de evacuación 6 se toma la correspondiente

5 cantidad de suspensión de levadura.

En el transcurso del cultivo por cargas durante la fase de crecimiento logarítmico del microorganismo se puede pasar a funcionamiento continuo con el correspondiente tiempo de permanencia.

10 Con el dispositivo que se patenta se pueden lograr elevados rendimientos de volumen-tiempo y elevadas concentraciones de biomasa así como excepcionales calidades de producto acabado. El consumo de energía es comparativamente bajo, la eliminación de calor de reacción excelente.

15

Ejemplo

Se emplea el siguiente substrato:

20	KH_2PO_4	2,0 ml
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,2 g
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	1,0 g
	Solución de otros factores de crecimiento	10,0 ml

en 1 litro de solución acuosa.

25 La composición de los demás factores de crecimiento tiene la siguiente composición:

1	CuSO ₄ .5 H ₂ O	0,06 g
	ZnSO ₄ .7 H ₂ O	1,0 g
	MnSO ₄ . H ₂ O	0,4 g
	FeCl ₃ .6 H ₂ O	

5 en 1 litro de solución acuosa.

10 A este substrato de pH 3,5 se le añade un 10 % de etanol de síntesis. Seguidamente se le añade un cultivo de la especie de levadura Hansenula anomala preparada como inóculo aportandose el medio de cultivo en circuito cerrado al fermentador 1. A través de las placas sinterizadas 8 y desde abajo hacia arriba en sentido vertical oxígeno puro superfinamente distribuido con un tamaño de burbuja de 3 micras por termino medio aportandose en dicho punto tangencialmente además el medio de cultivo. Con este movimiento relativo del medio de cultivo aportado tangencialmente y oxígeno inyectado se obtiene la deseada dispersión del gas-líquido-sustancia sólida. Con el volumen de fermentador seleccionado de 20 m³ y la circulación de 30 veces a la hora permanece el contenido en cada caso 1,66 minutos dentro del fermentador 1. El calor manifestado durante la multiplicación se elimina por medio de agua refrigerante. La temperatura de entrada en el fermentador es de aproximadamente 33 °C, la temperatura de salida es de aproximadamente 39 °C. El consumo del substrato y etanol por el cultivo de levadura de Hansenula se inicia en primer lugar por reducción del etanol a acetaldehido mediante enzima alcohol dehidrogenasa. El acetaldehido obtenido entra por via de la acetil-coenzima A en el ciclo del ácido cítrico. Por este ciclo de los ácidos tiscarbo

1 - xilicos se fijan la energía y las estructuras de los hidrocarburos para la formación del microorganismo.

Se logran los siguientes resultados:

	Temperatura media del fermentador	35°C aprox.
	pH	3,5
5.	Concentración del substrato	0,01 %
	Tiempo de permanencia	0,6 h ⁻¹
	Productividad	45 kg/m ³ h
	Rendimiento de substrato	75 %
	Rendimiento de oxígeno	80 %

10

Productividad referida a levadura seca.

Con una capacidad de circulación de 600 m³h se extraen por hora 12 m³ de medio de cultivo aportándose aproximadamente por hora unos 12 m³ de solución nutriente fresca.

15

El contenido proteico del producto así obtenido oscila por el 70 % de proteína bruta.

20

25

30

1

5

REIVINDICACIONES

10

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:

15

1ª.- Un dispositivo para la obtención microbiológica de proteínas unicelulares a partir de etanol, en el que se dispone de un fermentador de producción (1) con alimentadores para la solución de nutrientes, inóculo así como oxígeno y extractores para la biomasa y gases de emisión,

20

en el caso de desearse adicionalmente con alimentador(es) para sustancias auxiliares y valvula de muestreo, así como un dispositivo de bombeo para la circulación del medio de cultivo, y caracterizado además porque el fermentador de producción (1) está unido por medio de tuberías

25

(9) y (10) a un intercambiador de calor separado (3), la bomba (4) para efectuar la circulación en circuito cerrado del medio de cultivo a través del fermentador (1), tubería superior (9), intercambiador de calor (3) y tubería inferior (10) va situada en la tubería inferior (10), por encima del alimentador de oxígeno (7) incidiendo por encima del fondo del fermentador (1) se halla situado un distribuidor del

30

07108

1 -flujo de gas (8) provisto con poros de 1 a 7 micras de tamaño y la tubería inferior (10) con forma de un alimentador tangencial para líquidos va situada directamente por encima del distribuidor de flujo de gas (8) incidiendo en el fermentador (1), y caracterizándose además porque en el sentido de circulación entre el fermentador (1) y el intercambiador de calor (3) se encuentra una cámara de degaseado (2) y por ir la tubería superior (9) dispuesta con incidencia desde arriba hasta abajo en la cámara de degaseado, (2) en forma de un alimentador de líquidos vertical.

2ª.- Un dispositivo según la reivindicación 1ª, caracterizado además porque se dispone como distribuidor del flujo de gas (8) de una o varias placas sinterizadas.

3ª.- Un dispositivo según las reivindicaciones 1ª y 2ª, caracterizado además porque la cámara de degaseado (2) está dispuesta en el intercambiador de calor (3) por encima del dispositivo de intercambio de calor (19).

4ª.- Un dispositivo según las reivindicaciones 1ª, 2ª y 3ª, caracterizado además porque la tubería de salida (6) para la biomasa obtenida va conectada directamente a continuación de la bomba (4) a la tubería inferior (10).

5ª.- Un dispositivo según las reivindicaciones 1ª, 2ª, 3ª y 4ª, caracterizado además porque el alimentador (5) para la solución de nutrientes va conectado al tramo ascendente de la tubería inferior (10) al fermentador de producción (1) a una distancia de la tubería de salida (6).

6ª.- Un dispositivo para la obtención microbiológica de proteínas unicelulares a partir de etanol.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que ante-

1 cede, representado en los dibujos que se acompañan y para los fines que se han especificado.

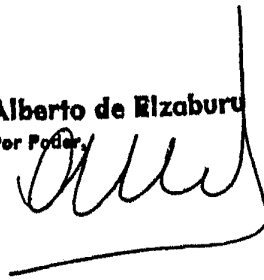
Esta Memoria consta de veinte hojas escritas a máquina por una sola cara.

5

Madrid, 11.OCT.1978

P.A.

Alberto de Elizaburu
Por Poder.



10

15

20

25

30

07108

jga

FIG. 1

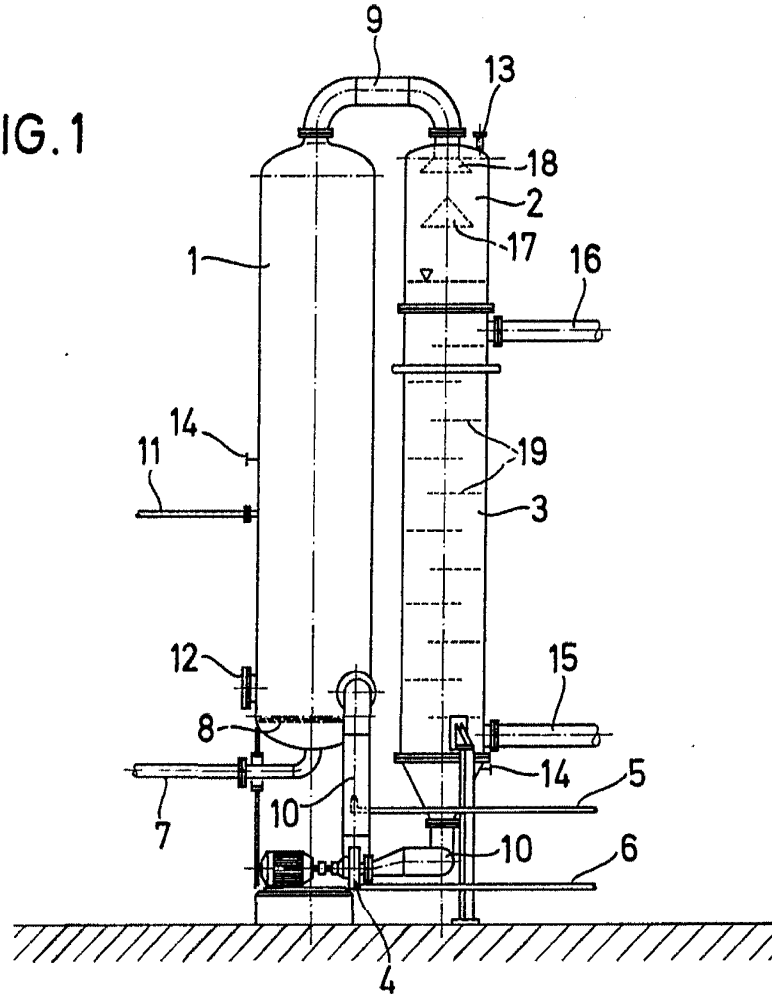
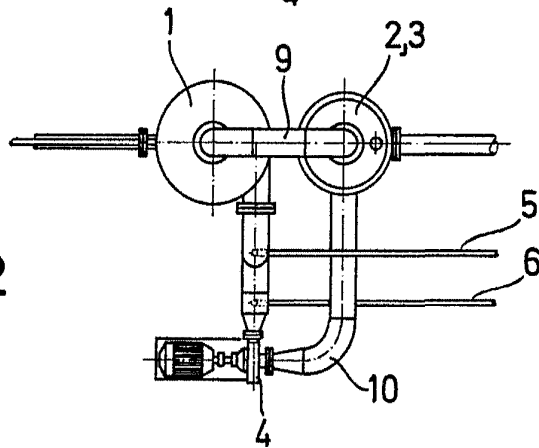


FIG. 2



Alberto de Alzaburu
Por Poder,