

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 043**

51 Int. Cl.:

C12M 3/00 (2006.01)

C12M 1/26 (2006.01)

C12M 3/04 (2006.01)

C12M 1/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2007 E 07254716 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.03.2017 EP 1990403**

54 Título: **Recipiente y procedimiento de producción de biomembrana**

30 Prioridad:

11.05.2007 CN 200710098296

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

01.08.2017

73 Titular/es:

**Hsu, Connie Hui-Ju (100.0%)
No. 42 Hwan-Gong Road
Yung-Kang City, Tainan, Taiwan, CN**

72 Inventor/es:

HSU, CONNIE HUI-JU

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 628 043 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Recipiente y procedimiento de producción de biomembrana

Antecedentes de la invención

1. Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un recipiente y a un procedimiento para la producción de una biomembrana y, más particularmente, a un recipiente y a un procedimiento de usar microorganismos para producir polímero que forma una biomembrana.

2. Descripción de la técnica relacionada

10 En el mercado, existen diversas máscaras para el fin de satisfacer la necesidad de mantener las condiciones cutáneas del ser humano. En general, se usa tela sin tejer como base de máscaras para contener diversos cosméticos y medicamentos. Este tipo de tela sin tejer no es una tela tejida mediante subproceso, sino un material de fibra sin haber sido tejido por procedimientos textiles. Por lo tanto, la tela sin tejer tiene propiedades de permeabilidad al aire, higroscopicidad, durabilidad, tolerancia a los fármacos, aislamiento, etcétera. Sin embargo, debido a la buena higroscopicidad de la tela sin tejer, se exponen diversos cosméticos y medicamentos activos contenidos en el presente documento en una dirección de dos vías. De este modo, los cosméticos y medicamentos activos se descomponen o evaporan fácilmente de forma que las máscaras no pueden presentar todas sus funciones.

15 Actualmente, se ha desarrollado una biomembrana fabricada de polímero producido por microorganismos. Este tipo de biomembrana puede procesarse en, por ejemplo, fibras dietéticas para la alimentación, máscaras para el mantenimiento de la piel y similares. La biomembrana tiene un alto nivel de absorción de agua como para transportar grandes cantidades de nutrientes. Si la biomembrana se fabrica en una máscara, la máscara puede proporcionar nutrición para la piel. Además, la biomembrana tiene muchas propiedades ventajosas de, por ejemplo, tener grupos funcionales libres que pueden absorber la suciedad de la piel.

20 Para evitar cubrir órganos como los ojos, nariz, boca, etc. en la cara del usuario y así no impedirle ver, oler, comer o hablar, las máscaras fabricadas de tela sin tejer o fabricadas de biomembranas se procesan todas para formar agujeros predeterminados de forma que los requisitos anteriormente mencionados del usuario sean satisfechos. Sin embargo, la formación de los agujeros predeterminados necesita troquelado, lo que ocasiona etapas complejas en su fabricación y el deterioro en el borde de las máscaras o los agujeros predeterminados. Por consiguiente, el rendimiento de las máscaras se nivela a la baja de forma que los costes de la producción para las máscaras aumentan. Los documentos US5,605,836 y GB2413652 desvelan un recipiente que comprende una serie de protusiones, en el que el recipiente es adecuado para el cultivo de células que forman una biomembrana. El documento US2006/0286434 se refiere a compuestos celulósicos y procedimientos para fabricar tales compuestos. El documento US6,071,727 se refiere a procedimientos para producir geles de película de celulosa microbiana. El documento CN100367925C desvela una película facial de gel de celulosa y su procedimiento de producción.

Resumen de la invención

25 A la vista de las deficiencias anteriormente mencionadas, un objeto de la presente invención es proporcionar un recipiente para la producción de una biomembrana que no necesite cambiar la forma de la misma. Además, los recipientes pueden apilarse verticalmente para obtener más espacio horizontal para la producción. Los recipientes apilados de forma vertical siguen teniendo una buena ventilación entre los mismos.

30 Otro objeto de la presente invención es proporcionar un procedimiento para la producción de una biomembrana. A través de cepas bacterianas que producen polímeros de forma natural tales como polisacárido, poliglutamato, etc. en un recipiente predeterminado, puede formarse una biomembrana para que tenga una forma de acuerdo con el recipiente predeterminado. Asimismo, cuando la biomembrana se procesa en una máscara, no se necesitan procedimientos para cambiar la biomembrana. Por lo tanto, el rendimiento de las máscaras aumenta. De otro modo, la máscara fabricada puede usarse para el mantenimiento de la piel y suministro de humedad para la piel.

35 Para conseguir el objeto, se proporciona un recipiente para cultivar una biomembrana de acuerdo con la presente reivindicación 1, que incluye una placa de fondo; una pared lateral como se define en la reivindicación 1 dispuesta en la placa de fondo y rodeando la periferia de la placa de fondo para formar un espacio interior; y al menos una protusión situada en la superficie de la placa de fondo en la que una pluralidad de los recipientes son capaces de apilarse verticalmente mediante la inserción de vástagos en los agujeros, en los que se forma un hueco vertical entre los recipientes apilados para ventilar los recipientes, en los que se sitúan diversos rebajes en la superficie externa de la pared lateral; y en los que hay cuatro protusiones dispuestas en un patrón facial que corresponde a los ojos, boca y nariz para una máscara facial humana.

40 En el recipiente anteriormente mencionado, la pared lateral puede tener un borde de rebaje y un borde prominente, el borde de rebaje está en la parte superior de la pared lateral y el borde prominente está en la parte inferior de la

pared lateral. Además, se definen diversos agujeros en la superficie superior de la pared lateral, y se colocan diversos vástagos que se corresponden con los agujeros en la superficie inferior de la pared lateral. Si los recipientes de apilan de forma vertical uno por uno, se puede ahorrar espacio horizontal para el cultivo. Asimismo, a través de la inserción de vástagos en los agujeros o el borde prominente que corresponde al borde de rebaje, los recipientes apilados pueden ser más estables y no aflojarse fácilmente para caer. La profundidad de los agujeros puede ser igual o menor que la altura de los vástagos. Además, la sección transversal de la parte superior de los vástagos puede ser igual o mayor que la de los vástagos.

Asimismo, diversos rebajes se sitúan en la superficie externa de la pared lateral, y estos no se limitan en ninguna forma. La forma de la pared lateral que rodea la periferia de la placa de fondo no se limita a, pero preferentemente es circular, elíptica, poligonal, irregular u oval. La protrusión no está limitada a, pero preferentemente es en forma de columna, ahusada o laminada. La protrusión puede disponerse mediante las características correspondientes faciales de una persona, es decir, ojos, nariz, boca, etcétera. La placa de fondo puede ser plana o no, la última significa que la placa de fondo es una superficie inclinada.

En el recipiente anteriormente mencionado, la protrusión puede formarse haciendo una hendidura desde la superficie exterior de la placa de fondo hasta la superficie interior de la placa de fondo. De este modo, el material del recipiente puede ahorrarse mediante el procedimiento anteriormente mencionado. Además, el material del recipiente no se limita a, pero preferentemente es un material orgánico transparente o no transparente (tal como PVC, PP y PE) o un metal antioxidante. La superficie del recipiente puede recubrirse selectivamente con PEP.

Además, la presente invención también desvela un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7 para la producción de una biomembrana que comprende utilizar un recipiente para cultivar una biomembrana de acuerdo con la reivindicación 1, que incluye las siguientes etapas:

(a) proporcionar un primer medio y una cepa microbiana en el mismo, y agitarlas para formar un cultivo de siembra; (b) poner el cultivo de siembra en el recipiente de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene un segundo medio; y (c) cultivar el cultivo de siembra hasta que se forme una biomembrana que tenga un espesor predeterminado, en el que la biomembrana formada tiene una máscara facial humana integral después de retirarse del recipiente.

En el procedimiento anteriormente mencionado de la presente invención, la cepa microbiana es preferentemente *Acetobacter* spp., *Gluconacetobacter* spp., *Xanthomonas* spp., o *Bacillus* spp. Más preferentemente, la cepa microbiana del *Acetobacter* spp. es *A. xylinum*; la cepa microbiana del *Gluconacetobacter* spp. es *G. xylinus* subsp. *Xylinus*, o *G. Hansenii*; la cepa microbiana del *Xanthomonas* spp. es *X. campestris* y la cepa microbiana del *Bacillus* spp. es *B. subtilis* var *Natto*.

Además, el primer medio y el segundo medio pueden comprender un carbohidrato, un compuesto que contiene N, un mineral y un cofactor de crecimiento. El contenido del carbohidrato 10, el compuesto que contiene N, el mineral y el cofactor de crecimiento preferentemente es 1-30 %, 0,1-6%, 0,05-3 % y 0,05-2 %, respectivamente. El carbohidrato no está limitado a, pero preferentemente es uno seleccionado de monosacárido, disacáridos, polisacáridos, o compuestos que contienen carboxilo. El compuesto que contiene N no se limita a, pero preferentemente es uno seleccionado de extracto de levadura, peptona, polvos de soja o gelatina. El mineral no está limitado a, pero preferentemente es uno seleccionado de sal de cloruro, sal de amonio, sal de sulfuro, sal de potasio, fosfato, sal de magnesio o sal de sodio. El cofactor de crecimiento no está limitado a, pero preferentemente es uno seleccionado de vitamina, ácido nicotínico, ácido cítrico o derivados del mismo.

Para obtener cultivo de siembra a gran escala para la producción, el procedimiento desvelado en la presente invención puede comprender adicionalmente una etapa (al): amplificar el cultivo de siembra para proporcionar mayor cantidad de cultivo de siembra para la producción en masa después de que se haya conseguido la etapa (a).

La biomembrana fabricada mediante el procedimiento de la presente invención puede procesarse en una máscara facial, una máscara de ojos, una máscara pectoral o una máscara labial. Las máscaras anteriormente mencionadas pueden proporcionar de forma eficaz agua para mantener las condiciones cutáneas. Asimismo, estas máscaras no necesitan cambiar su forma mediante etapas posteriores ya que la biomembrana en la presente invención puede formarse en la forma final. Además, la biomembrana de la presente invención no tiene las deficiencias de las máscaras convencionales que necesitan que su forma se cambie. De este modo, la membrana de la presente invención puede tener un buen rendimiento sin ningún deterioro debido al procedimiento de cambio de forma.

Otros objetos, ventajas y características novedosas de la invención serán más evidentes a partir de la siguiente descripción en detalle cuando se aborde en conjunto con los dibujos adjuntos.

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1a es una vista en perspectiva de un recipiente para la producción de una biomembrana en la presente invención;

La FIG. 1b es una vista en perspectiva de un recipiente cuando se produce la producción de una biomembrana en el ejemplo de la presente invención;

La FIG. 2 es una vista en perspectiva de un recipiente cuando se produce la producción de una biomembrana en el ejemplo de la presente invención;

La FIG. 3 es una vista en perspectiva de un recipiente cuando se produce la producción de una biomembrana en el ejemplo de la presente invención;

5 La FIG. 4 es una vista en perspectiva de un recipiente cuando se produce la producción de una biomembrana en el ejemplo de la presente invención;

La FIG. 5 es una vista superior de una biomembrana producida a partir de los ejemplos de la presente invención;

10 La FIG. 6 es un gráfico de producción de biocelulosa entre los ejemplos 1 a 30 de la presente invención; y la FIG. 7 es un gráfico de producción de biocelulosa entre los ejemplos 31 a 60 en la presente invención.

Descripción detallada de la realización preferente

En los siguientes ejemplos, la cepa microbiana usada en la presente invención es *Acetobacter* spp., *Gluconacetobacter* spp., *Xanthomonas* spp., o *Bacillus* spp. En el *Acetobacter* spp., se usa *A. xylinum*; en el *Acetobacter* spp., se usa *G. xylinus* subsp. *Xylinus* ATTC 10821, *G. xylinus* subsp. *Xylinus* ATTC 700187, o *G. Hansenii* ATTC 23769; en el *Xanthomonas* spp., se usa *Xcamperastris*; y en el *Bacillus* spp., se usa *B. subtilis* var *Natto*. En lo anteriormente mencionado, aunque *A. xylinum* no se denomina como *G. xylinus*, son el mismo microorganismo.

20 Los medios usados en el procedimiento de la presente invención comprenden un carbohidrato, un compuesto que contiene N, un mineral y un cofactor de crecimiento. En los siguientes ejemplos, el contenido del carbohidrato es 1~30%; el contenido del compuesto que contiene N es 0,1~6%; el contenido del mineral es 0,05~3%; y el contenido del cofactor de crecimiento es 0,05~2%. Además, al menos uno de monosacárido, disacáridos, polisacáridos y compuestos que contienen carboxilo se usa como carbohidrato; al menos uno de extracto de levadura, peptona, polvos de soja y gelatina se usa como compuesto que contiene N; al menos uno de sal de cloruro, sal de amonio, sal de sulfuro, sal de potasio, fosfato, sal de magnesio y sal de sodio se usa como mineral; y al menos uno de vitamina, ácido nicotínico, ácido cítrico, y los derivados del mismo se usa como cofactor de crecimiento.

30 En el procedimiento de la presente invención, la forma del recipiente que se usa es en vista de la forma de biomembrana que se necesita, por ejemplo, si se necesita una biomembrana rectangular, puede usarse un recipiente cuboide, o si se necesita una membrana circular, puede usarse un recipiente cilíndrico. En los siguientes ejemplos, el recipiente usado en el presente documento es como se muestra en las FIG. 1a~4, pero sin limitarse a ellas. El recipiente puede fabricarse de PVC, PP, PE o metales antioxidantes. Además, el recipiente puede recubrirse selectivamente con PEP. PEP es una membrana que protege contra la oxidación de alto peso molecular, y que puede evitar que se propague gas corrosivo recubriendo el recipiente y neutralizando el gas corrosivo que se propaga.

Ejemplos 1-30

35 Alrededor de 1~5 bucles de *A. xylinum* se transfieren del cultivo inclinado a un medio líquido estéril (como la siguiente tabla 1). El medio líquido se cultiva durante 1~3 días a 37 °C mediante agitación, y después se amplifica con medio líquido estéril de 2~30-concentraciones. Esta ampliación puede realizarse durante 1~2 días en un tanque de fermentación o una incubadora con agitación para obtener cultivo de siembra para producción a gran escala.

Tabla 1

Componentes	Contenido (%)
Glucosa	2
Peptona	1
Extracto de levadura	1
Ácido cítrico	0,1
Bifosfato de sodio	0,3

40 El recipiente para cultivar usado en los presentes ejemplos se muestra en la FIG. 1a. El recipiente una placa de fondo 11; una pared lateral 12 dispuesta en la placa de fondo 11 y rodeando la periferia de la placa de fondo 11, en la que un espacio interior está rodeado por la pared lateral 12 y la placa de fondo 11; y al menos una protrusión 13 que se sitúa en la superficie de la placa de fondo 11. La protrusión 13 anteriormente mencionada puede tener cualquier forma, por ejemplo, la primera protrusión 132 es un cilindro elíptico; la primera protrusión 133 es un cono; y la tercera protrusión 133 es un pilar en forma de hoja. Además, la protrusión 13 puede situarse en cualquier lugar de acuerdo con la forma de la biomembrana que se necesite.

- 5 Como se muestra en la FIG. 1b, alrededor del 1 %~50 % del cultivo de siembra se mezcla con el medio de cultivo en la tabla 2 y este se cultiva en el espacio interior del recipiente anteriormente mencionado. Se forma una biomembrana 20 con una forma de acuerdo con la del recipiente. Se cultiva la biomembrana 20 a una temperatura constante, hasta que tenga un espesor predeterminado. Después, se extrae la biomembrana 20. Como se muestra en la FIG. 5, la biomembrana 20 tiene varias aberturas 232, 233 y 234 respectivamente que corresponden con la primera protrusión 132, la segunda protrusión 133 y la tercera protrusión 133.

Componente (%)	Ejemplo														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Peptona	1														
MgSO ₄	0,1														
Extracto de levadura	1														
CaCO ₃	0					0,1					0,3				
Glucosa	2,5	5	10	20	30	2,5	5	10	20	30	2,5	5	10	20	30

Tabla 2-continua

Componente (%)	Ejemplo														
	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Peptona	1														
MgSO ₄	0,1														
Extracto de levadura	1														
CaCO ₃	0					0,1					0,3				
Glucosa	2,5	5	10	20	30	2,5	5	10	20	30	2,5	5	10	20	30

- 10 A través de las pruebas de los ejemplos 1~30, el resultado se muestra en la FIG. 6. De acuerdo con el peso de formación de la biomembrana 20, el medio de cultivo que comprende un 1 % de extracto de levadura, un 0,1 % de CaCO₃, y un 2,5% de glucosa puede ser un medio óptimo para cultivar una biomembrana que tenga un peso de producción óptimo.

Ejemplos 31~60

- 15 Alrededor de 1~5 bucles de *A. xylinum* se transfieren del cultivo inclinado a un medio líquido estéril (como la tabla 1 en los ejemplos 1~30). El medio líquido se cultiva durante 1~3 días a 37 °C mediante agitación, y después se amplifica con medio líquido estéril de 2~30-concentraciones. Esta ampliación puede realizarse durante 1~2 días en un tanque de fermentación o una incubadora con agitación para obtener cultivo de siembra para producción a gran escala.
- 20 En los presentes ejemplos, el recipiente usado en los mismos es como se muestra en la FIG. 2 y aproximadamente es similar al recipiente que se muestra en la FIG. 1a. Sin embargo, el recipiente en la FIG. 2 tiene diversos agujeros 123 a través de la superficie superior de la pared lateral 12 y diversos vástagos 124 en la superficie interior de la pared lateral 12. Los vástagos 124 se sitúan a través de los agujeros 123 correspondientes.

- 25 Alrededor del 1 %~50 % del cultivo de siembra se mezcla con el medio de cultivo en la tabla 2 y este se cultiva en el espacio interior del recipiente anteriormente mencionado. Además, los recipientes pueden apilarse de forma vertical uno por uno. A través de los vástagos 124 que se insertan a través de los agujeros 123, los recipientes apilados pueden convertirse en una estructura vertical estable. Asimismo, los recipientes apilados no se caen fácilmente o se aflojan. De este modo, puede ahorrarse el espacio horizontal para la producción. Se forma una biomembrana 20 con una forma de acuerdo con la del recipiente. Se cultiva la biomembrana 20 a una temperatura constante, hasta que la biomembrana 20 tiene un espesor predeterminado. Después, se extrae la biomembrana 20 como se muestra en la FIG. 5.
- 30

Tabla 3

Componente (%)	Ejemplo														
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
Peptona	1														
MgSO ₄	0,1														
Extracto de levadura	0,5														
CaCO ₃	0					0,1					0,3				
Glucosa	2,5	5	10	20	30	2,5	5	10	20	30	2,5	5	10	20	30

Tabla 3-continua

Componente (%)	Ejemplo														
	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
Peptona	1														
MgSO ₄	0,1														
Extracto de levadura	0,5														
CaCO ₃	0					0,1					0,3				
Glucosa	2,5	5	10	20	30	2,5	5	10	20	30	2,5	5	10	20	30

- 5 A través de las pruebas de los ejemplos 31~60, el resultado se muestra en la FIG. 7. De acuerdo con el peso de formación de la biomembrana 20, el medio de cultivo que comprende un 0,5% de extracto de levadura, un 2 % de CaCO₃, y un 5% de glucosa puede ser un medio óptimo para cultivar una biomembrana que tenga un mejor peso de producción.

Ejemplos 61~63

- 10 Alrededor de 1~5 bucles de *G. xylinus* subsp. *Xylinus* ATTC 10821, *G. xylinus* subsp. *Xylinus* ATTC 700187, y *G. Hansenii* ATCC 23769 se transfieren del cultivo inclinado a un medio líquido estéril (como la siguiente tabla 4). El medio líquido se cultiva durante 1~3 días a 37 °C mediante agitación, y después se amplifica con medio líquido estéril de 2~30-concentraciones. Esta ampliación puede realizarse durante 1~2 días en un tanque de fermentación o una incubadora con agitación para obtener cultivo de siembra para producción a gran escala.
- 15 En los presentes ejemplos, el recipiente usado en los mismos es como se muestra en la FIG. 3 y aproximadamente es similar al recipiente que se muestra en la FIG. 2. Sin embargo, la pared lateral 12 del recipiente en la FIG. 3 tiene un borde de rebaje 121 en la parte superior de la misma y un borde prominente 122 en la parte inferior de la misma. Además, la sección transversal de la parte superior de los vástagos 124 es mayor que la sección transversal de los agujeros 123.
- 20 Alrededor del 1 %~50 % del cultivo de siembra se mezcla con el medio de cultivo en la tabla 2 y este se cultiva en el espacio interior del recipiente anteriormente mencionado. Aunque la FIG 3 muestra que el borde de rebaje 121 y el borde prominente 122 se sitúan en el interior de la pared lateral 12, estos también pueden situarse en el exterior de la pared lateral 12. De este modo, el recipiente puede apilarse de forma vertical uno por uno a través del borde de rebaje 121 y el borde prominente 122 insertados de forma correspondiente con cada uno.
- 25 Además, el recipiente también puede apilarse de forma vertical uno por uno como se muestra en la FIG. 3. A través de los vástagos 124 que se insertan a través de los agujeros 123, hay un hueco vertical entre los recipientes vecinales. De este modo, el aire puede ventilar el recipiente para promover el crecimiento de la biomembrana. Se forma una biomembrana 20 con una forma de acuerdo con la del recipiente. Se cultiva la biomembrana 20 a una temperatura constante, hasta que la biomembrana 20 tenga un espesor predeterminado. Después, se extrae la biomembrana 20 como se muestra en la FIG. 5.
- 30

Tabla 4

Componente	Contenido (%)
Glucosa	2
Peptona	1
Extracto de levadura	1
CaCO ₃	0,5
MgSO ₄	0,1

Ejemplo 64

- 5 Alrededor de 1~5 bucles de *X. campestris* se transfieren del cultivo inclinado a un medio líquido estéril (como la siguiente tabla 5). El medio líquido se cultiva durante 1~3 días a 37 °C mediante agitación, y después se amplifica con medio líquido estéril de 2~30-concentraciones. Esta ampliación puede realizarse durante 1~2 días en un tanque de fermentación o una incubadora con agitación para obtener cultivo de siembra para producción a gran escala.

Tabla 5

Componente	Contenido (%)
Glucosa	4
Fructosa	2
Peptona	2
Extracto de levadura	2
Ácido cítrico	0,2
Bifosfato de potasio	0,2

- 10 En los presentes ejemplos, el recipiente usado en los mismos es como se muestra en la FIG. 4 y aproximadamente es similar al recipiente que se muestra en la FIG. 2. Sin embargo, la pared lateral 12 tiene diversos rebajes 125 en la superficie externa de la misma. Además, los rebajes 125 no se limitan a formarse en toda la superficie externa de la pared lateral 12, sino que también pueden formarse en una, dos o tres superficies externas de la misma.

- 15 Alrededor del 1 %~50 % del cultivo de siembra se mezcla con el medio de cultivo en la tabla 2 y este se cultiva en el espacio interior del recipiente anteriormente mencionado. Además, el recipiente también puede apilarse de forma vertical uno por uno como se muestra en la FIG. 3. De este modo, el aire puede ventilar el recipiente para promover el crecimiento de la biomembrana a través de los rebajes 125. Se forma una biomembrana 20 con una forma de acuerdo con la del recipiente. Se cultiva la biomembrana 20 a una temperatura constante, hasta que la biomembrana 20 tiene un espesor predeterminado. Después, se extrae la biomembrana 20 como se muestra en la FIG. 5.

Ejemplo 65

- 20 Alrededor de 1~5 bucles de *B. subtilis var Natto* se transfieren del cultivo inclinado a un medio líquido estéril (como la tabla 5 del ejemplo 65). El medio líquido se cultiva durante 1~3 días a 37 °C mediante agitación, y después se amplifica con medio líquido estéril de 2~30-concentraciones. Esta ampliación puede realizarse durante 1~2 días en un tanque de fermentación o una incubadora con agitación para obtener cultivo de siembra para producción a gran escala.
- 25 En los presentes ejemplos, los recipientes usados en los mismos son como se muestran en las FIG. 1~4. Alrededor del 1 %~50 % del cultivo de siembra se mezcla con el medio de cultivo en la tabla 2 y este se cultiva en el espacio interior de los recipientes anteriormente mencionados. Se forma una biomembrana 20 con una forma de acuerdo con la del recipiente. La biomembrana 20 se cultiva a una temperatura constante hasta que la biomembrana 20 tiene un espesor predeterminado. Después, se extrae la biomembrana 20 como se muestra en la FIG. 5.
- 30 Las biomembranas preparadas anteriormente en ejemplo 1~65 se tratan previamente con solución alcalina y se tratan con solución ácida. Después, las biomembranas se procesan mediante etapas convencionales para biomembranas en el campo tal como ebullición, lavado, etc. y después se somete a procedimientos siguientes de

fabricación de máscaras tales como esterilización, adición de compuestos eficientes, empaquetado, marcado, etcétera. De este modo, pueden formarse máscaras biológicas con composiciones eficientes.

5 Durante la fabricación, las biomembranas fabricadas mediante el procedimiento de la presente invención no necesitan cambiar en forma mediante etapas posteriores tales como moldeado, corte, etcétera. Además, la biomembrana de la presente invención no tiene las deficiencias de las máscaras convencionales que necesitan que su forma se cambie. De este modo, la biomembrana de la presente invención puede tener un buen rendimiento sin ningún deterioro debido al procedimiento de cambio de forma. Asimismo, el coste de fabricación puede reducirse ya que no se genera ningún residuo.

10 Debido a las realizaciones específicas que ilustran la práctica de la presente invención, todo experto en la materia puede entender fácilmente otras ventajas y eficiencia de la presente invención a través del contenido desvelado en el presente documento.

REIVINDICACIONES

1. Un recipiente para cultivar una biomembrana (20) que comprende:
 - una placa de fondo (11);
 - una pared lateral (12) situada en la placa de fondo y rodeando y conectando la periferia de la placa de fondo para formar un espacio interior, en el que diversos agujeros (123) se definen en la superficie superior de la pared lateral y se sitúan diversos vástagos (124) que se corresponden con los agujeros en la superficie inferior de la pared lateral; y
 - al menos una protrusión (13) situada en la superficie de la placa de fondo, en la que una pluralidad de los recipientes es capaz de ser apilada de forma vertical mediante la inserción de los vástagos en los agujeros, en los que se forma un hueco vertical entre los recipientes apilados para ventilar los recipientes, en el que diversos rebajes (125) se sitúan en la superficie externa de la pared lateral; y en el que hay cuatro protrusiones (132, 133, 134) dispuestas en un patrón facial que corresponde a los ojos, boca y nariz para una máscara facial humana.
2. El recipiente de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la pared lateral tiene un borde de rebaje (121) y un borde prominente (122), el borde de rebaje está en la parte superior de la pared lateral y el borde prominente está en la parte inferior de la pared lateral.
3. El recipiente de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la profundidad de los agujeros es menor o igual a la altura de los vástagos.
4. El recipiente de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el área de la sección transversal de la parte superior de los vástagos es mayor o igual que el área de la sección transversal de los agujeros.
5. El recipiente de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la protrusión tiene forma de columna, ahusada o laminada y forma al menos un espacio vacío en la biomembrana.
6. El recipiente de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la forma de la pared lateral que rodea la periferia de la placa de fondo es circular, elíptica, poligonal, irregular u oval.
7. Un procedimiento para la producción de una biomembrana (20), que comprende utilizar un recipiente para cultivar una biomembrana de acuerdo con la reivindicación 1 y que comprende adicionalmente las siguientes etapas:
 - (a) proporcionar un primer medio y una cepa microbiana en el mismo, y agitarlos para formar un cultivo de siembra;
 - (b) poner el cultivo de siembra en el recipiente de acuerdo con la reivindicación 1 que tiene un segundo medio; y
 - (c) cultivar el cultivo de siembra hasta que se forme una biomembrana que tenga un espesor predeterminado, en el que la biomembrana formada tiene una máscara facial humana integral después de retirarse del recipiente.
8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la cepa microbiana es *Acetobacter spp.*, *Gluconacetobacter spp.*, *Xanthomonas spp.* o *Bacillus spp.*
9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la cepa microbiana del *Acetobacter spp.* es *A. xylinum*.
10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la cepa microbiana del *Gluconacetobacter spp.* es *G. xylinus* subsp. *Xylinus* o *G. Hansenii*.
11. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la cepa microbiana del *Xanthomonas spp.* es *X. campestris*.
12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la cepa microbiana del *Bacillus spp.* es *B. subtilis* var *Natto*.
13. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el primer medio y el segundo medio comprenden un carbohidrato, un compuesto que contiene N, un mineral y un cofactor de crecimiento.
14. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que el contenido del carbohidrato, el compuesto que contiene N, el mineral y el cofactor de crecimiento es 1~30 %, 0,1~6%, 0,05~3% y 0,05~2% respectivamente.
15. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que al menos un carbohidrato se selecciona del grupo que consiste en monosacárido, disacáridos, polisacáridos y compuestos que contienen carboxilo.
16. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que al menos un compuesto que contiene N se selecciona del grupo que consiste en extracto de levadura, peptona, polvos de semilla de soja y gelatina.
17. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que al menos un mineral se selecciona del grupo que

consiste en sal de cloruro, sal de amonio, sal de sulfuro, sal de potasio, fosfato, sal de magnesio y sal de sodio.

18. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que al menos un cofactor de crecimiento se selecciona del grupo que consiste en vitamina, ácido nicotínico, ácido cítrico y los derivados del mismo.

19. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, que comprende adicionalmente una etapa (a1):

- 5 amplificar el cultivo de siembra para proporcionar mayor cantidad de cultivo de siembra para la producción en masa después de que se haya conseguido la etapa (a).

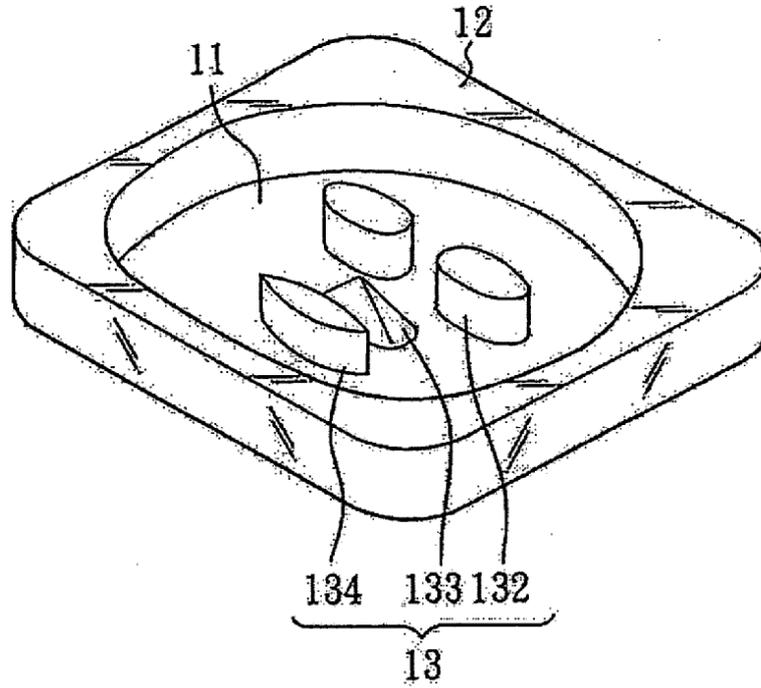


FIG. 1a

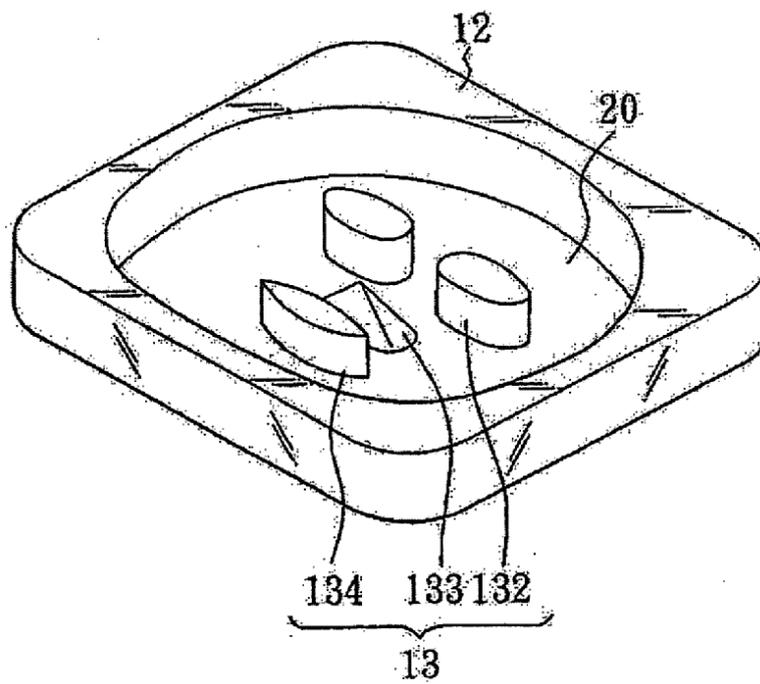


FIG. 1b

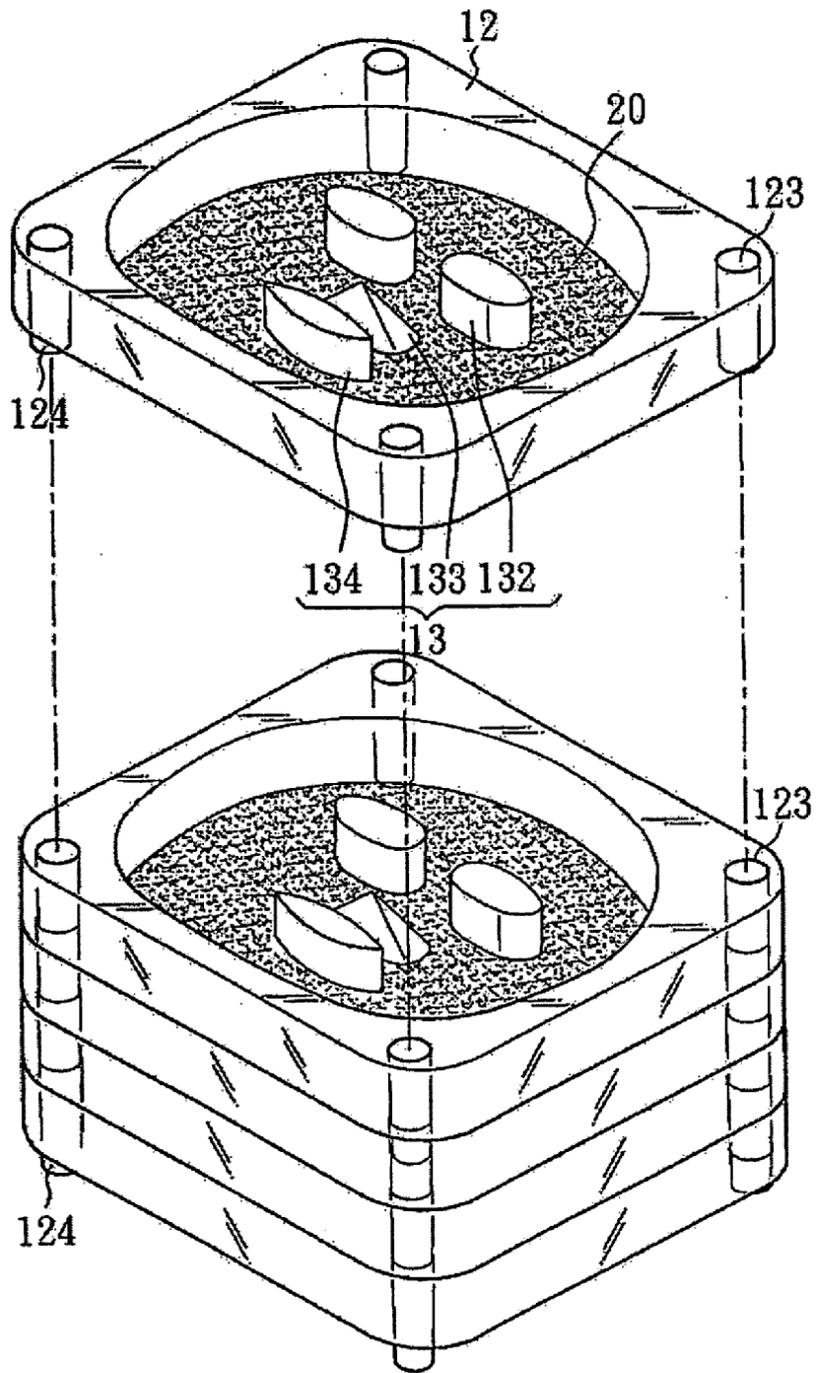


FIG. 2

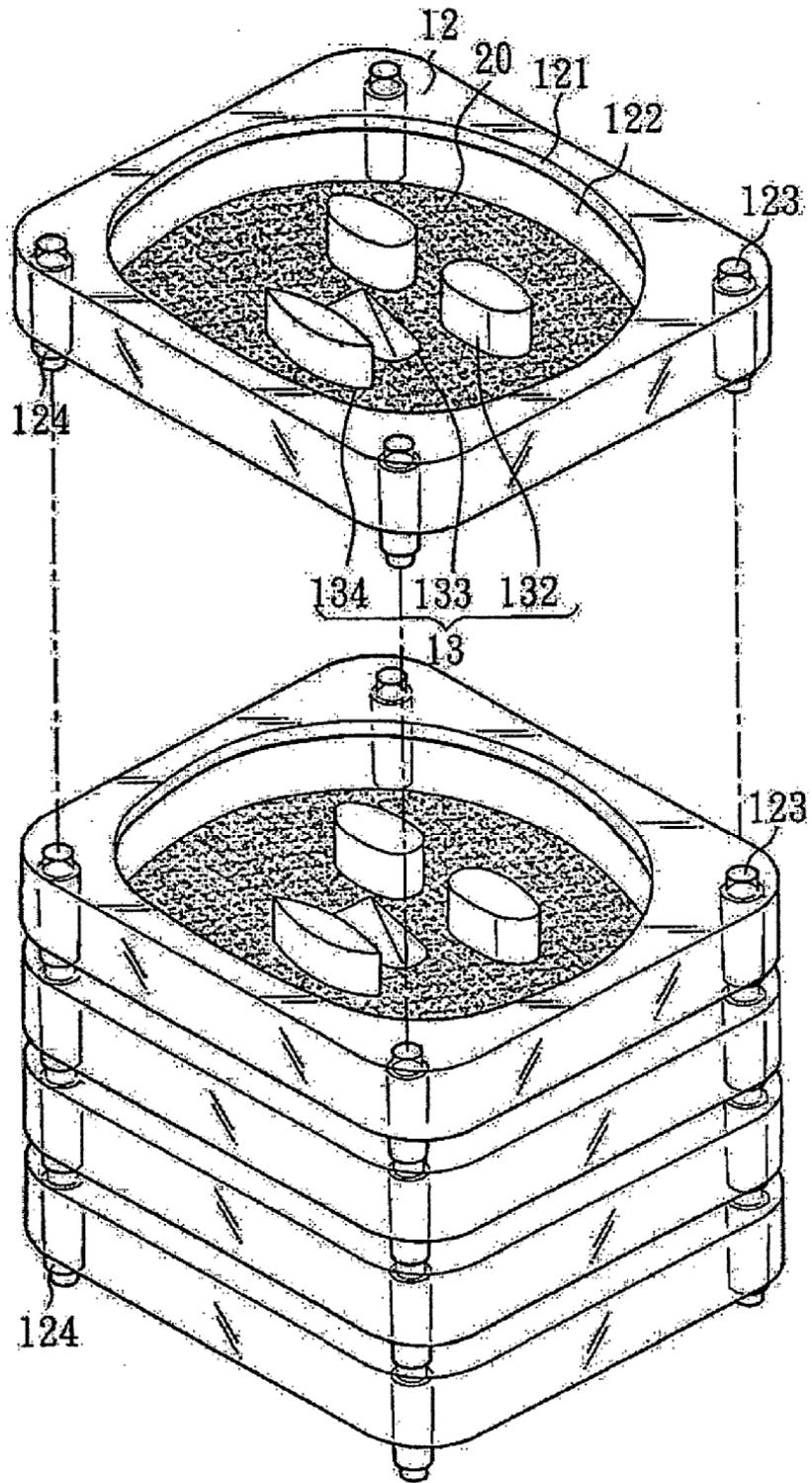


FIG. 3

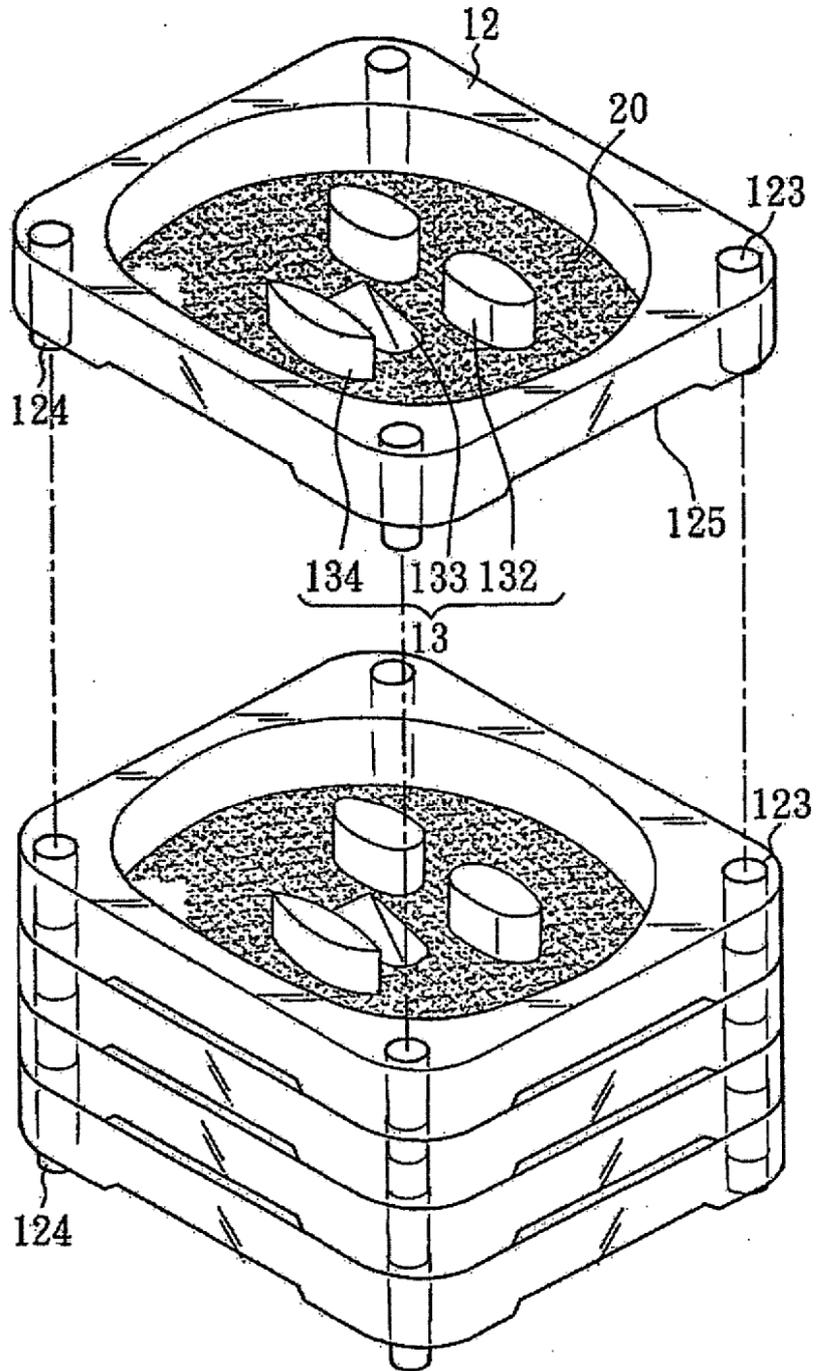


FIG. 4

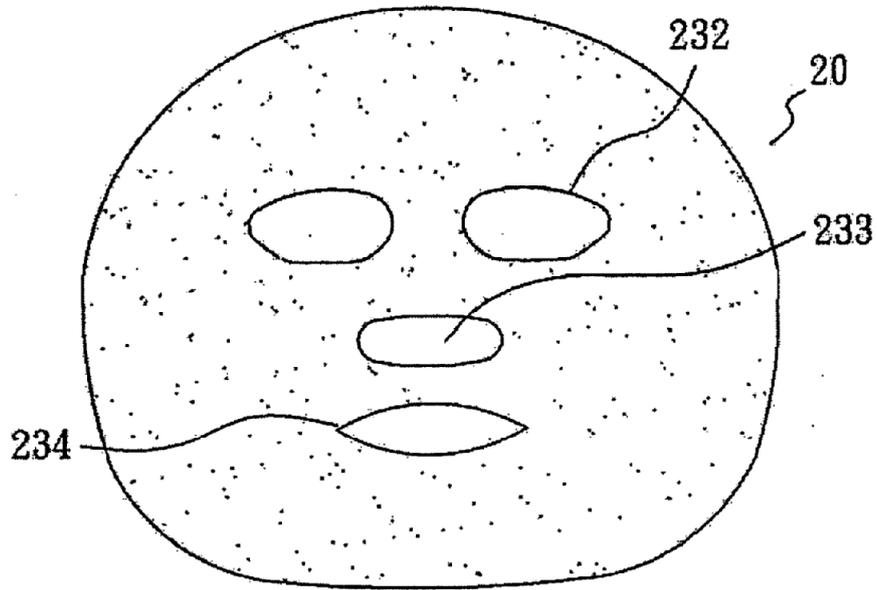


FIG. 5

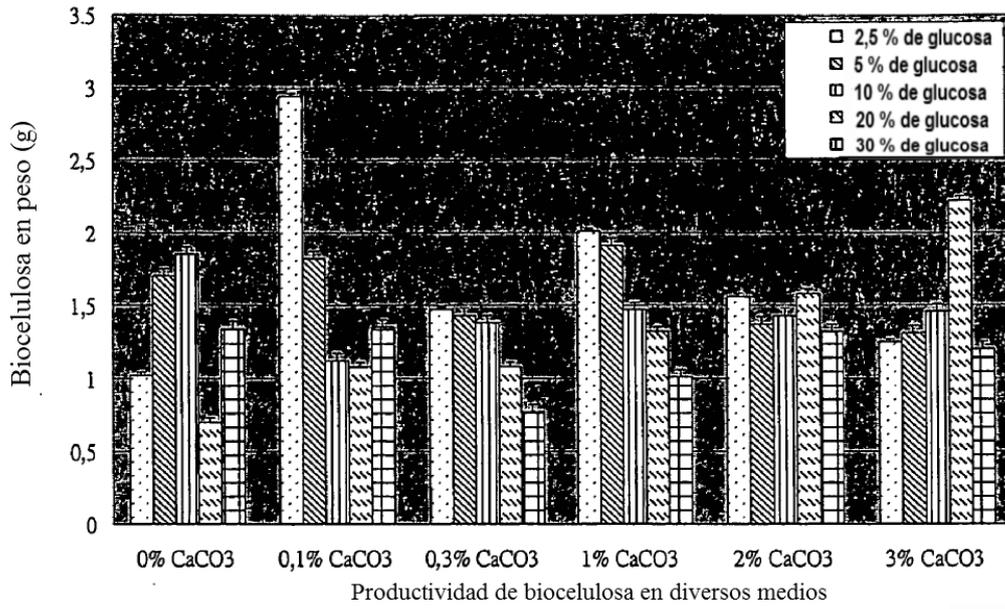


FIG. 6

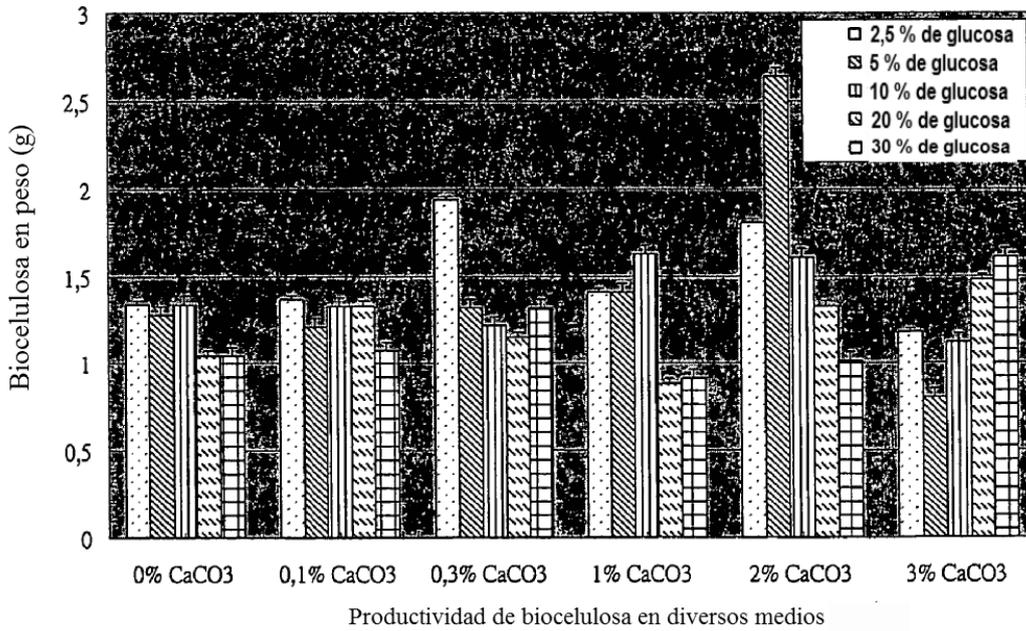


FIG. 7