

MÉTODOS PARA AUMENTAR LA VISCOSIDAD DE UNA SOLUCIÓN DE POLIACRILAMIDA

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a métodos para producir una solución de poliacrilamida con mayor viscosidad en comparación con una solución de referencia y soluciones de poliacrilamida que se pueden obtener mediante tales métodos, en donde la solución de poliacrilamida se produce mediante polimerización de soluciones acuosas de acrilamida que tienen una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,4, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,15, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,12, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,075, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05. Asimismo, la presente invención se refiere a una solución de acrilamida que tiene una OD_{600} en el rango de 0,6 a 0,001 y al uso de tales soluciones de acrilamida para la elaboración de una solución de poliacrilamida que tiene mayor viscosidad.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El siguiente análisis de los antecedentes de la invención se proporciona meramente para ayudar al lector a comprender la invención y no describe ni constituye el estado de la técnica a la presente invención.

Las poliacrilamidas se usan ampliamente como floculados y espesantes en el tratamiento de aguas y procesos como fabricación de papel. La poliacrilamida se puede suministrar en forma de polvo o líquido, en donde la forma líquida se subcategoriza como polímero de emulsión y solución. Otro uso común de la poliacrilamida y sus derivados es en aplicaciones subsuperficiales, tales como la recuperación mejorada de petróleo. Si después de la recuperación primaria y secundaria de petróleo, continuar la promoción mediante métodos convencionales ya no resulta propicio, se usan métodos para aumentar la movilidad del petróleo a fin de mejorar los resultados de extracción en la recuperación terciaria de petróleo. Uno de estos métodos es la inyección de soluciones acuosas que contienen polímeros tales como poliacrilamida, que permite recuperar 5 % a 15 % más del petróleo del yacimiento (K.C. Taylor, J.A. Nasr-El-Din, *J. Petr. Sci. Ang.* 1998, 19, 265-280, K.C. Taylor, Annual Transactions of the Nordic Rheology Society, vol. 11, 2003).

En general, la materia prima para la poliacrilamida es su monómero acrilamida. En principio, existen dos métodos diferentes para producir acrilamida a escala industrial: La síntesis química y la síntesis biológica, en donde los métodos de síntesis biológica aumentan cada vez más debido a condiciones de reacción más leves y seguridad de proceso inherente. Debido a las condiciones de reacción más leves, la ausencia de catalizador de cobre y la conversión cuantitativa del nitrilo, las etapas de procesamiento corriente abajo costosas, tales como destilación o intercambio iónico, se pueden evitar en la síntesis biológica, y esto da como resultado plantas más económicas con un impacto medioambiental drásticamente reducido.

Los dos métodos de síntesis usan acrilonitrilo como sustancia de inicio. Mientras que el método de síntesis química usa catalizadores de cobre (US4048226, US3597481), el método de síntesis biológica utiliza biocatalizadores para hidratar acrilonitrilo a fin de obtener acrilamida. En general, los biocatalizadores son microorganismos que pueden producir la enzima nitrilo hidratasa (nomenclatura IUBMB desde julio de 2013: EC 4.2.1.84; N.º CAS 2391-37-5; también denominada, por ejemplo, NHasa). Los microorganismos que producen nitrilo hidratasa se distribuyen ampliamente en el medioambiente y comprenden, entre otros, representantes del género *Rhodococcus* (por ejemplo, *Rhodococcus rhodochrous*, *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus ruber*), *Nocardia* (por ejemplo, *Nocardia transvalensis*), *Pseudonocardia* (por ejemplo, *Pseudonocardia thermophila*), *Bacillus* (por ejemplo, *Bacillus subtilis*), *Pseudomonas* (por ejemplo, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas chlororaphis*), *Pyrococcus* (por ejemplo, *Pyrococcus abyssi*), *Comomonas* (por ejemplo, *Comomonas testosteroni*), y *Corynebacterium* (por ejemplo, *Corynebacterium propinquum*) (ver, por ejemplo, Prasad, *Biotechnology Advances* (2010), 28(6): 725-741). La enzima nitrilo hidratasa es dependiente de hierro o cobalto (es decir, posee un átomo de hierro o cobalto coordinado en su centro de actividad) que se caracteriza particularmente por su capacidad para catalizar la conversión de acrilonitrilo para obtener acrilamida mediante la hidratación de acrilonitrilo (Kobayashi, *Nature Biotechnology* (1998), 16: 733 - 736). La capacidad de los microorganismos para actuar como biocatalizadores para convertir acrilonitrilo en acrilamida depende, básicamente, de dos parámetros: Crecimiento suficiente de los microorganismos y su tasa de reproducción de nitrilo hidratasa.

Muchos procesos para eliminar el biocatalizador de la solución de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida se conocen en el estado de la técnica y se aplican, principalmente, para eliminar impurezas de la

solución de reacción. En términos generales, se entiende que aún cantidades pequeñas de impurezas pueden afectar la polimerización de monómeros de acrilamida o incluso evitar que la polimerización se produzca. WO02/088372 describe, por ejemplo, un método y dispositivo para separar el biocatalizador de la solución de acrilamida usando una centrífuga de tubos o una centrífuga de espacio anular, opcionalmente, en combinación con floculación. El biocatalizador se lava con agua para eliminar el monómero residual y luego se usa en la reacción de bioconversión posterior.

De manera alternativa, el biocatalizador inmovilizado se usa para la producción de acrilamida como se describe, por ejemplo, en US4248968, WO2013188844 y TW411350 con los fines de evitar la elución de impurezas del biocatalizador, mejorar la capacidad de separación del biocatalizador del producto de reacción y mejorar la aplicabilidad del biocatalizador al uso repetido.

La eliminación del biocatalizador después de completarla conversión de acrilonitrilo en acrilamida también se puede llevar a cabo mediante distintas técnicas de filtración, como se describe, por ejemplo, en EP2019146 y CN203319905, cada una con el objeto de eliminar impurezas de la solución de reacción.

Sin embargo, la presencia de biocatalizadores en la solución de acrilamida también parece ser conveniente, como se informa en EP2264003 y US2011006258, en donde las células microbianas que tienen actividad de nitrilo hidratasa se agregan exclusivamente para estabilizar la solución acuosa de acrilamida. Asimismo, como se divulga en WO2005/054488, también se prevé que el biocatalizador no se elimine en gran medida de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida. En su lugar, el documento describe un proceso para preparar una solución polimérica, en donde el monómero contiene material celular y/o componentes del caldo de fermentación. Tales polímeros parecen tener incluso características y propiedades específicamente diseñadas, sin necesidad de eliminar el biocatalizador o el caldo de fermentación.

Aunque se conocen diversos métodos que describen la producción de soluciones de poliacrilamida en el estado de la técnica, el uso de poliacrilamidas en la recuperación terciaria de petróleo permite mayores mejoras. Por ejemplo, la inyectabilidad en capas de rocas de la solución acuosa de poliacrilamida es de particular relevancia cuando se introduce la solución de polímeros en el suelo. Más precisamente, cuando se usa el método de síntesis biológica para la preparación de acrilamida, se debe evitar que las células del biocatalizador que tienen un tamaño de

magnitud similar a los poros de las rocas ingresen en la mezcla de polimerización. No obstante, separar el biocatalizador después de la polimerización no es posible en términos económicos.

En síntesis, existe una necesidad en el estado de la técnica de proporcionar nuevos medios y métodos para producir soluciones de poliacrilamida con propiedades mejoradas y alto rendimiento para usar en la recuperación terciaria de petróleo, a fin de aumentar aún más la movilidad del petróleo y elevar la tasa de recuperación del petróleo del yacimiento. El problema técnico subyacente de la presente solicitud es, por lo tanto, satisfacer esta necesidad. El problema técnico se resuelve al proporcionar las formas de realización reflejadas en las reivindicaciones, descritas en la descripción e ilustradas en los ejemplos y figuras a continuación.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

La presente invención se basa, al menos parcialmente, en el descubrimiento inesperado de que separar un biocatalizador de una solución acuosa de acrilamida biocatalíticamente preparada, de manera que la OD_{600} de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,4, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,15, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,12, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,075, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, y, posteriormente, polimerizar la solución acuosa de acrilamida para obtener poliacrilamida, proporciona una solución de poliacrilamida que tiene mayor viscosidad. En particular, la viscosidad de dicha solución de poliacrilamida aumenta en comparación con una solución de referencia, en donde la solución de referencia es una solución de poliacrilamida preparada de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD_{600} mayor de 0,6, y en donde la solución de referencia se prepara mediante el mismo método sin separar el biocatalizador.

El valor de OD_{600} indica la absorbancia, o densidad óptica, de una muestra líquida medida a una longitud de onda de 600 nm. Es un método preferido para determinar la concentración o cantidad de un biocatalizador descrito en la presente en una solución acuosa, tal como una solución acuosa de acrilamida. En consecuencia, se mide la OD_{600} de una solución acuosa, y así se determina la cantidad o concentración de un biocatalizador.

Por ende, la viscosidad de la solución de poliacrilamida preparada mediante el método de la presente invención puede depender de la cantidad residual de

biocatalizador que permanece en la solución acuosa de acrilamida. Esto no se podía prever, ya que no se informó hasta ahora que la cantidad de biocatalizador restante después de la bioconversión puede influir directamente sobre el valor de viscosidad de una solución de poliacrilamida. La cantidad residual de biocatalizador se puede determinar midiendo la OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida.

Una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD₆₀₀ que es igual o inferior a 0,6 se puede lograr, por ejemplo, mediante separación con discos apilados que se realiza a baja velocidad de flujo de alimentación.

En algunas formas de realización, la separación del biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida se realiza mediante centrifugación. Preferentemente, la centrifugación se lleva a cabo mediante un separador centrífugo de discos apilados.

En formas de realización específicas, la centrifugación se lleva a cabo con una velocidad de flujo de alimentación menor de 600 l/h, preferentemente, menor de 500 l/h, con mayor preferencia, menor de 400 l/h, aun con mayor preferencia, menor de 300 l/h, aun con mayor preferencia, menor de 200 l/h o 100 l/h.

La separación del biocatalizador de la solución de acrilamida se puede realizar mediante filtración a baja velocidad de flujo de alimentación. Esto puede producir una solución de poliacrilamida con alta viscosidad. Además, se puede mejorar la filtrabilidad de acuerdo con API RP 63 de la solución de poliacrilamida resultante.

Por lo tanto, otro aspecto de la invención se refiere a un método para producir una solución de poliacrilamida que tiene mayor viscosidad en comparación con una solución de referencia, que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,
- (b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida de la etapa (a) mediante separador con discos apilados que se realiza a una velocidad de flujo de alimentación menor de 600 l/h,
- (c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida,

en donde la solución de referencia se prepara mediante el mismo método sin separar el biocatalizador.

La presente invención también se refiere a un método para aumentar la viscosidad de una solución de poliacrilamida preparada mediante la conversión biocatalizada de acrilonitrilo en acrilamida que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de

acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,

(b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida, de manera que la OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,4, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,15, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,12, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,075, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05,

(c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida.

Como se divulga en la presente, la viscosidad de la solución de poliacrilamida se puede influenciar mediante técnicas de separación que separan selectivamente el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida, y producen una OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida igual o inferior a 0,6.

En conjunto, los datos de la presente invención sugieren, por primera vez, que la separación del biocatalizador de una solución acuosa de acrilamida que debe producir, preferentemente, una solución de acrilamida con una OD₆₀₀ igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,4, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, a fin de obtener una solución de poliacrilamida con mayor viscosidad en comparación con una solución de referencia, en donde los valores de viscosidad son ≥ 60 mPas a temperatura ambiente en agua de mar artificial. Esto fue inesperado, ya que nunca se mencionó en el estado de la técnica que separar el biocatalizador de una solución acuosa de acrilamida antes de la polimerización dé lugar a una mayor viscosidad de la solución de poliacrilamida resultante.

La presente invención aporta al estado de la técnica el descubrimiento de que separar el biocatalizador de una solución acuosa de acrilamida de manera que la OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida esté en el rango de 0,6 a 0,001, tal como igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, pero más de 0,025 o más; 0,01 o más;

0,005 o más; o 0,001 o más, produce una solución de poliacrilamida con una mayor viscosidad de 60 mPas o más a temperatura ambiente en agua de mar artificial en comparación con una solución de referencia. De manera alternativa o adicional al límite inferior de OD₆₀₀ cuando se hace referencia a este en la presente (es decir, pero más de 0,025 o más; 0,01 o más; 0,005 o más; o 0,001 o más), se prevé que la solución acuosa de acrilamida no contenga biocatalizador inmovilizado.

Aunque se conocían diversas técnicas de separación en el estado de la técnica, hasta ahora no se ha informado la interacción directa entre la cantidad residual de biocatalizador en la solución acuosa de acrilamida y los valores de viscosidad de la solución de poliacrilamida resultante. De manera sorprendente, los inventores descubrieron que una solución de acrilamida con baja cantidad residual de biocatalizadores produce una solución de acrilamida con una mayor viscosidad. Además, por primera vez se demuestra que una solución de acrilamida con una OD₆₀₀ que es menor de 0,6 produce una solución de poliacrilamida con una mayor viscosidad. Existe una demanda de un método para producir una solución de poliacrilamida con mayor viscosidad, ya que la aplicación de soluciones de poliacrilamida en recuperación terciaria de petróleo es especialmente valioso en soluciones poliméricas con valores altos de viscosidad acompañados por una solubilidad reducida, que es importante a fin de mejorar el resultado de extracción de petróleo del yacimiento de capas de rocas más profundas. Por ende, los inventores de la presente solicitud establecieron un método para mejorar significativamente la calidad de una solución de poliacrilamida.

En un primer aspecto de, la presente invención se refiere a un método para producir una solución de poliacrilamida que tiene mayor viscosidad en comparación con una solución de referencia, que comprende las siguientes etapas:

(a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,

(b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida, de manera que la OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05,

(c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida.

La presente invención también se refiere a un método para aumentar la viscosidad de una solución de poliacrilamida preparada mediante la conversión biocatalizada de acrilonitrilo en acrilamida que comprende las siguientes etapas:

(a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,

(b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida, de manera que la OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05,

(c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida.

En consecuencia, la presente invención se refiere a un método para producir una solución de poliacrilamida que tiene mayor viscosidad en comparación con una solución de referencia, que comprende las siguientes etapas:

(a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,

(b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida de la etapa (a), de manera que la OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05,

(c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida,

en donde la solución de referencia es una solución de poliacrilamida preparada de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD₆₀₀ mayor de 0,6, y en donde la solución de referencia se prepara mediante el mismo método sin separar el biocatalizador.

Además, la presente invención se refiere a un método para preparar una solución de poliacrilamida preparada mediante la conversión biocatalizada de acrilonitrilo en acrilamida que comprende las siguientes etapas:

(a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de

acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,

(b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida de la etapa (a) mediante separador con discos apilados que se realiza con un área de asentamiento específica de 19,6 m²h/l o más,

(c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida.

En una forma de realización preferida, la OD se mide directamente después de separar el biocatalizador.

En algunas formas de realización de la presente invención, cualquiera de los métodos descritos en la presente también comprende al menos una de las siguientes etapas:

(d) secar la poliacrilamida;

(e) triturar y/o aplastar la poliacrilamida; y/o

(f) disolver la poliacrilamida en una solución acuosa.

De acuerdo con la presente invención, la solución de referencia es una solución de poliacrilamida preparada de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD₆₀₀ mayor de 0,6, producida mediante cualquiera de los métodos descritos en la presente sin separar el biocatalizador.

Asimismo, la viscosidad de la solución de poliacrilamida de la presente invención es, preferentemente, mayor de 60 mPas a temperatura ambiente. En una forma de realización preferida, la viscosidad de la solución de poliacrilamida es mayor de 62 mPas a temperatura ambiente. En una forma de realización de aun mayor preferencia, la viscosidad de la solución de poliacrilamida es mayor de 65 mPas a temperatura ambiente. En algunas formas de realización de la presente invención, la poliacrilamida se disuelve en agua de mar artificial. En algunas formas de realización de la presente invención, la poliacrilamida se disuelve en agua de mar natural.

Preferentemente, la separación del biocatalizador se inicia dentro de las 5 h, preferentemente, 2 h, con mayor preferencia, 1 h, con máxima preferencia, dentro de los 30 minutos posteriores a completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida. En una forma de realización de mayor preferencia, la separación se inicia dentro de los 20 minutos posteriores a completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida. En una forma de realización de aun mayor preferencia, la separación se inicia dentro de los 10 minutos posteriores a completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida.

En algunas formas de realización de la presente invención, la separación del biocatalizador se realiza mediante un separador centrífugo de discos apilados. En

algunas formas de realización, la separación del biocatalizador se realiza mediante un separador centrífugo de discos apilados con una velocidad de flujo de alimentación menor de 600 l/h, con una velocidad de flujo de alimentación menor de 500 l/h, con una velocidad de flujo de alimentación menor de 400 l/h, con una velocidad de flujo de alimentación menor de 300 l/h o con una velocidad de flujo de alimentación menor de 200 l/h o 100 l/h.

Se prefieren los valores de área de asentamiento específica en el contexto de la presente invención, en particular, en la etapa de separación de medios, tales como un producto o una composición, métodos o usos de la presente invención. En consecuencia, en una forma de realización preferida de los medios, métodos y usos de la presente invención, la separación del biocatalizador se realiza de manera que el área de asentamiento específica sea 19,67 m²h/l o más, preferentemente, de 23,6 m²h/l o más, con mayor preferencia, 29,5 m²h/l o más, aun con mayor preferencia, 39,3 m²h/l o más, aun con mayor preferencia, 59,0 m²h/l o más, con máxima preferencia, 118,0 m²h/l o más. Preferentemente, si la separación se realiza de manera que el área de asentamiento específica sea 19,67 m²h/l o más, preferentemente, de 23,6 m²h/l o más, con mayor preferencia, 29,5 m²h/l o más, aun con mayor preferencia, 39,3 m²h/l o más, aun con mayor preferencia, 59,0 m²h/l o más, o con máxima preferencia, 118,0 m²h/l o más, la viscosidad de una solución de poliacrilamida aumentará en comparación con una solución de referencia (no sometida a dicha etapa de separación). Por ende, la etapa de separación de un método o uso de la presente invención se realiza, preferentemente, de la siguiente manera: separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida mediante filtración de manera que el área de asentamiento específica sea 19,67 m²h/l o más, preferentemente, de 23,6 m²h/l o más, con mayor preferencia, 29,5 m²h/l o más, aun con mayor preferencia, 39,3 m²h/l o más, aun con mayor preferencia, 59,0 m²h/l o más, o con máxima preferencia, 118,0 m²h/l o más. Luego se pueden establecer valores de área de asentamiento específica en relación con los valores de OD₆₀₀ (después de la separación). Por ende, como se explicó anteriormente, los valores de OD₆₀₀ a los que se hace referencia en la presente pueden corresponder a valores de área de asentamiento específica. Por lo tanto, se prevé que los valores de OD₆₀₀ también se pueden reemplazar con valores de área de asentamiento específica.

Por lo tanto, otro aspecto de la invención se refiere a un método para producir una solución de poliacrilamida que tiene mayor viscosidad en comparación con una

solución de referencia, que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,
- (b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida de la etapa (a) mediante separador con discos apilados, que se lleva a cabo con una velocidad de flujo de alimentación menor de 600 l/h, preferentemente, menor de 500 l/h, con mayor preferencia, menor de 400 l/h, aun con mayor preferencia, menor de 300 l/h, aun con mayor preferencia, menor de 200 l/h o 100 l/h.
- (c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida,

en donde la solución de referencia se prepara mediante el mismo método sin separar el biocatalizador.

En algunas formas de realización del método descrito en la presente, el biocatalizador se flocula antes de la separación.

En algunas formas de realización de la presente invención, la separación del biocatalizador se realiza mediante filtración. En algunas formas de realización, el método de filtración es una filtración a presión, tal como filtración de lecho profundo o filtración con formación de torta. En algunas formas de realización, el método de filtración es filtración con recubrimiento previo. En algunas formas de realización, el método de filtración es filtración por membrana.

En algunas formas de realización, la separación del biocatalizador se realiza mediante inmovilización. En algunas formas de realización, la técnica de inmovilización es fijación covalente a una superficie. En algunas formas de realización, la técnica de inmovilización es reticulación. En algunas formas de realización, la técnica de inmovilización es separación por membranas. En algunas formas de realización, la técnica de inmovilización es aprisionamiento.

En algunas formas de realización, la solución acuosa de acrilamida, después de la separación del biocatalizador en la etapa (b), tiene una OD₆₀₀ de 0,01 o más, de 0,02 o más, de 0,03 o más.

En algunas formas de realización de la presente invención, el biocatalizador es un biocatalizador con actividad de nitrilo hidratasa. De acuerdo con la presente invención, el biocatalizador que tiene actividad de nitrilo hidratasa es uno seleccionado del grupo que consiste en microorganismos que pertenecen a *Rhodococcus*, *Aspergillus*, *Acidovorax*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*,

Klebsiella, *Mesorhizobium*, *Moraxella*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Serratia*, *Amycolatopsis*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Pseudonocardia*, *Trichoderma*, *Myrothecium*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Hanseniaspora*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Escherichia*, *Geobacillus*, *Comomonas*, y *Pyrococcus*, y células microbianas transformadas en las que se introduce un gen de nitrilo hidratasa. En formas de realización preferidas de la invención, el biocatalizador se selecciona de bacterias de los géneros *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Escherichia* y *Geobacillus*.

En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Rhodococcus erythropolis*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Rhodococcus equi*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Rhodococcus ruber*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Rhodococcus opacus*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Rhodococcus pyridinovorans*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Aspergillus niger*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Acidovorax avenae*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Acidovorax facilis*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Agrobacterium tumefaciens*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Agrobacterium radiobacter*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Bacillus subtilis*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Bacillus pallidus*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Bacillus smithii*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Bacillus sp* BR449. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Bradyrhizobium oligotrophicum*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Bradyrhizobium diazoefficiens*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Bradyrhizobium japonicum*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Burkholderia cenocepacia*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Burkholderia gladioli*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Klebsiella oxytoca*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Klebsiella pneumonia*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Klebsiella variicola*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Mesorhizobium cicero*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Mesorhizobium opportunistum*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Mesorhizobium sp* F28. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Moraxella*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Pantoea endophytica*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Pantoea*

agglomerans. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Pseudomonas chlororaphis*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Pseudomonas putida*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Rhizobium*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Rhodopseudomonas palustris*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Serratia liquefaciens*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Serratia marcescens*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Amycolatopsis*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Arthrobacter*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Brevibacterium sp* CH1. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Brevibacterium sp* CH2. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Brevibacterium sp* R312. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Brevibacterium imperial*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Corynebacterium nitrilophilus*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Corynebacterium glutamicum*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Corynebacterium hoffmanii*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Microbacterium imperial*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Microbacterium smegmatis*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Micrococcus luteus*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Nocardia globerula*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Nocardia rhodochrous*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Pseudonocardia thermophile*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Trichoderma*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Myrothecium verrucaria*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Aureobasidium pullulans*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Candida famata*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Candida guilliermondii*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Candida tropicalis*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Cryptococcus flavus*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Cryptococcus sp* UFMG- Y28. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Debaryomyces hanseii*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Geotrichum candidum*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Geotrichum sp* JR1. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Hanseniaspora*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Kluyveromyces thermotolerans*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Pichia kluyveri*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es

Rhodotorula glutinis. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Escherichia coli*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Geobacillus sp.* RAPc8. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Comomonas testosterone*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Pyrococcus abyssi*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Pyrococcus furiosus*. En algunas formas de realización, el biocatalizador es *Pyrococcus horikoshii*.

En una forma de realización preferida de la presente invención, el biocatalizador es *Rhodococcus rhodochrous*. En algunas formas de realización de la presente invención, el biocatalizador es de la cepa *Rhodococcus rhodochrous* NCIMB 41164. En algunas formas de realización de la presente invención, el biocatalizador es de la cepa *Rhodococcus rhodochrous* J-1 (número de acceso: FERM BP-1478). En algunas formas de realización, el biocatalizador es de la cepa *Rhodococcus rhodochrous* M8 (número de acceso: VKPMB-S926). En algunas formas de realización de la presente invención, el biocatalizador es de la cepa *Rhodococcus rhodochrous* M33. En algunas formas de realización, el biocatalizador es de la cepa *Escherichia coli* MT-10822 (número de acceso: FERM BP-5785).

En otras formas de realización preferidas de la presente invención, el biocatalizador es *Rhodococcus pyridinovorans*.

En algunas formas de realización, el biocatalizador utilizado en la presente se secó antes de preparar la solución acuosa de acrilamida. En algunas formas de realización, el método de secado es liofilización. En algunas formas de realización, el método de secado es secado por pulverización. En algunas formas de realización, el método de secado es secado por calor. En algunas formas de realización, el método de secado es secado al aire. En algunas formas de realización, el método de secado es secado al vacío. En algunas formas de realización, el método de secado es secado en lecho fluidizado. En algunas formas de realización, el método de secado es granulación por pulverización.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de una solución de acrilamida acuosa que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05 para la elaboración de una solución de poli(acrilamida) que tiene mayor viscosidad, en donde el biocatalizador se separa de la solución acuosa de acrilamida antes de la polimerización. La solución acuosa de

acrilamida se produce esencialmente mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador. Después de la separación, la solución tiene, preferentemente, una OD₆₀₀ de 0,01 o más, tal como 0,02 o más. En algunas formas de realización, la solución tiene una OD₆₀₀ de 0,01 o más.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD₆₀₀ en el rango de 0,6 a 0,001, por ejemplo, que tiene una OD₆₀₀ igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,05, pero que tiene una OD₆₀₀ de 0,025 o más; de 0,01 o más; de 0,005 o más; o de 0,001 o más, en donde la solución acuosa de acrilamida se produce mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador y separando dicho biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida.

En otro aspecto de la presente invención, se proporciona una solución de poliacrilamida producida mediante cualquiera de los métodos descritos en la presente.

En otro aspecto, la presente invención divulga una poliacrilamida que tiene una viscosidad de al menos 60 mPas a temperatura ambiente en agua de mar artificial y se produce mediante la polimerización de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD₆₀₀ igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, pero que tiene una OD₆₀₀ de 0,025 o más; de 0,01 o más; de 0,005 o más; o de 0,001 o más, en donde la solución acuosa de acrilamida se produce mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador y separando dicho biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método para producir una solución de poliacrilamida que tiene una viscosidad mayor de 60 mPas a temperatura ambiente, que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,
- (b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida, de manera que la OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6,

- preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05,
- (c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida.

Además, la invención se refiere a un método para producir una solución de acrilamida que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,
- (b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida de la etapa (a) de modo tal que la OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6.

Además, la invención se refiere al uso de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD₆₀₀ igual o inferior a 0,6, para aumentar la viscosidad de una solución de poliacrilamida preparada a partir de dicha solución de acrilamida.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La siguiente descripción incluye información que puede ser útil para comprender la presente invención. Esto no es un reconocimiento de que cualquiera de los datos proporcionados en la presente sea parte del estado de la técnica o relevante para las invenciones reivindicadas en la presente, o que cualquier publicación a la que se hace referencia de manera específica o implícita sea parte del estado de la técnica.

Cabe destacar que, como se usan en la presente, las formas singulares "un/una" y "el/la" incluyen las referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "un reactivo" incluye uno o más de los diferentes reactivos, y la referencia a "el método" incluye la referencia a etapas y métodos equivalentes conocidos por las personas del oficio de nivel medio que se podrían modificar o que podrían sustituir los métodos descritos en la presente.

Las personas del oficio de nivel medio reconocerán, o podrán determinar, usando no más que experimentos de rutina, muchos equivalentes de las formas de realización específicas de la invención que se describen en la presente. La presente invención abarca tales equivalentes.

A menos que se indique lo contrario, la expresión "al menos" antes de una serie de elementos se refiere a todos los elementos en la serie. Las personas del oficio

de nivel medio reconocerán, o podrán determinar, usando no más que experimentos de rutina, muchos equivalentes de las formas de realización específicas de los métodos y usos que se describen en la presente. La presente invención abarca tales equivalentes.

Se citan varios documentos a lo largo del texto de la presente divulgación. Cada uno de los documentos citados en la presente (que incluyen todas las patentes, solicitudes de patente, publicaciones científicas, especificaciones del fabricante, instrucciones, etc.), ya sea más arriba o más abajo, se incorpora en la presente por referencia en su totalidad. En la medida en que el material incorporado por referencia contradiga o sea inconsistente con la presente memoria descriptiva, la memoria descriptiva reemplazará cualquier material. Nada en la presente se debe interpretar como un reconocimiento de que la invención no puede anteceder dicha divulgación en virtud de una invención anterior.

A lo largo de la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones posteriores, a menos que el contexto exija lo contrario, la palabra "comprenden", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", implican la inclusión de un entero o una etapa, o un grupo de enteros o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro entero, etapa, o grupo de enteros o etapas. Cuando se usa en la presente, la expresión "que comprende" se puede sustituir con la expresión "que contiene" o, en algunos casos, con la expresión "que tiene".

Cuando se usa en la presente, la expresión "consiste en" excluye cualquier elemento, etapa o ingrediente no especificado en el elemento de la reivindicación. Cuando se usa en la presente, la expresión "que consiste esencialmente en" no excluye materiales o etapas que no afectan considerablemente las características básicas y novedosas de la reivindicación. En cada caso de la presente, cualquiera de las expresiones "que comprende", "que consiste esencialmente en" y "que consiste en" se puede reemplazar por cualquiera de las otras dos expresiones.

Como se usa en la presente, la expresión de conjunción "y/o" entre múltiples elementos mencionados abarca tanto las opciones individuales como las combinadas. Por ejemplo, cuando dos elementos se unen mediante "y/o", una primera opción se refiere a la aplicabilidad del primer elemento sin el segundo. Una segunda opción se refiere a la aplicabilidad del segundo elemento sin el primero. Una tercera opción se refiere a la aplicabilidad del primer y segundo elementos juntos. Cualquiera de estas opciones se incluye en el significado y, por lo tanto, satisface el requisito de la expresión "y/o" como se usa en la presente. La aplicabilidad concurrente de más de

una de las opciones también se incluye en el significado y, por lo tanto, satisface el requisito de la expresión "y/o" como se usa en la presente.

Como se usa en la presente, la expresión "alrededor de" se refiere a un valor que se encuentra dentro de un margen de error aceptable para el valor particular según lo determina una persona del oficio de nivel medio, que dependerá, en parte, de cómo se mide o se determina el valor, es decir, de las limitaciones del sistema de medición. Por ejemplo, "alrededor de" puede significar dentro de 1 o más de 1 de desviación estándar, de acuerdo con la práctica en el estado de la técnica. La expresión "alrededor de" también se usa para indicar que la cantidad o el valor en cuestión puede ser el valor designado o algún otro valor que sea aproximadamente el mismo. La frase sugiere que los valores similares promueven resultados o efectos equivalentes de acuerdo con la invención. En este contexto, la expresión "alrededor de" se puede referir a un rango por encima y/o por debajo de hasta 10 %. En algunas formas de realización, la expresión "alrededor de" se refiere a un rango por encima y por debajo de un valor determinado que es de hasta 5 %, tal como hasta 2 %, hasta 1 % o hasta 0,5 % por encima o por debajo de ese valor. En una forma de realización, la expresión "alrededor de" se refiere a un rango de hasta 0,1 % por encima y por debajo de un valor determinado.

Como se indicó anteriormente, la presente invención divulga por primera vez que separar un biocatalizador de una solución acuosa de acrilamida preparada biocatalíticamente, de manera que la OD_{600} de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,05, pero que tiene una OD_{600} de 0,025 o más; de 0,01 o más; de 0,005 o más; o de 0,001 o más, y posteriormente, polimerizar la solución acuosa de acrilamida para obtener poliacrilamida, produce una solución de poliacrilamida que tiene una mayor viscosidad en comparación con una solución de referencia, en donde la solución de referencia es una solución de poliacrilamida preparada de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD_{600} mayor de 0,6, y en donde la solución de referencia se prepara mediante el mismo método sin separar el biocatalizador.

A pesar de que no hubo ningún indicio en el estado de la técnica, los inventores de la presente invención descubrieron, de manera inesperada, que existe una correlación directa entre la cantidad residual de biocatalizador que permanece en la

solución de acrilamida y la viscosidad de la solución de poliacrilamida resultante. Estos descubrimientos fueron imprevisibles, ya que si bien se describe una amplia variedad de métodos de separación en el estado de la técnica, no se informó anteriormente una influencia directa de la cantidad de un biocatalizador en una solución acuosa de acrilamida sobre la viscosidad de la solución de poliacrilamida resultante. En consecuencia, los métodos descritos en la presente permiten la producción de una solución de poliacrilamida con mayor viscosidad y mejor calidad, lo que también se puede aplicar en la recuperación terciaria de petróleo.

La presente invención proporciona, entre otros, un método para producir una solución de poliacrilamida que tiene mayor viscosidad en comparación con una solución de referencia, que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,
- (b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida, de manera que la OD_{600} de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05,
- (c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida,

En particular, la presente invención se refiere a un método para producir una solución de poliacrilamida que tiene mayor viscosidad en comparación con una solución de referencia, que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,
- (b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida de la etapa (a) de modo tal que la OD_{600} de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6,
- (c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida,

en donde la solución de referencia es una solución de poliacrilamida preparada de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD_{600} mayor de 0,6, y en donde la solución de referencia se prepara mediante el mismo método sin separar el

biocatalizador.

Las expresiones “mayor viscosidad” o “aumentar la viscosidad” , cuando se usan en cualquiera de los aspectos de la presente invención en el contexto de una solución de poliacrilamida, se refieren a un valor de viscosidad considerablemente más alto de dicha solución de poliacrilamida en comparación con una solución de referencia. En general, la viscosidad es una medida de la resistencia de un fluido, y cuanto más viscoso es el fluido, menor es su facilidad de movimiento. Por lo tanto, la expresión “mayor viscosidad”, cuando se usa en la presente, significa que la solución de poliacrilamida es más espesa y, por ende, más difícil de mover en comparación con una solución de referencia. De acuerdo con la presente invención, la viscosidad de la solución de poliacrilamida preparada de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, es al menos 10 % mayor que el valor de viscosidad de la solución de referencia. Preferentemente, la viscosidad de la solución de poliacrilamida preparada de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, es al menos 15 % mayor que el valor de viscosidad de la solución de referencia. Con máxima preferencia, la viscosidad de la solución de poliacrilamida preparada de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, es al menos 20 % mayor que el valor de viscosidad de la solución de referencia.

Cuando se mide la viscosidad de la solución de poliacrilamida preparada mediante cualquiera de los métodos descritos en la presente, la poliacrilamida preparada se disuelve en agua de mar artificial. En algunas formas de realización, la solución de poliacrilamida preparada mediante cualquiera de los métodos proporcionados en la presente se disuelve en agua de mar natural. De acuerdo con la presente invención, se prevé que la viscosidad de la solución de poliacrilamida se determine mediante cualquier método convencional usando cualquier tipo de

viscosímetro, tal como un viscosímetro capilar, viscosímetro giratorio, un vaso de precipitados para viscosidad, viscosímetro de peso descendente, viscosímetro de proceso, viscosímetro de cuarzo y similares, preferentemente, a temperatura ambiente (19-26 °C), con mayor preferencia, a 25 °C +/- 1 °C. La viscosidad se puede medir mediante un reómetro. Preferentemente, la viscosidad se mide a una velocidad de cizallamiento de 7 1/s a temperatura ambiente en un reómetro con geometría de doble espacio según DIN.

La expresión "agua de mar artificial" se refiere a una solución preparada mediante el estándar ASTM D1141-98, es decir, 24,53 g/l de NaCl, 5,20 g/l de MgCl₂, 4,09 g/l de Na₂SO₄, 1,16 g/l de CaCl₂, 0,695 g/l de KCl, 0,201 g/l de NaHCO₃, 0,101 g/l de KBr, 0,027 g/l de H₃BO₃, 0,025 g/l de SrCl₂, 0,003 g/l de NaF.

De acuerdo con la presente invención, la solución de referencia es una solución de poliacrilamida preparada de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD₆₀₀ mayor de 0,6, y en donde la solución de referencia se prepara mediante el mismo método sin separar el biocatalizador. En una forma de realización preferida, la solución de referencia es una solución acuosa de acrilamida preparada mediante cualquiera de los métodos de la presente invención sin separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida antes de la polimerización. Por lo tanto, la solución de referencia se prepara, en general, mediante los métodos de la presente invención sin realizar la etapa de separación (b).

La viscosidad de la solución de poliacrilamida de la presente invención es, esencialmente, mayor de 60 mPas a temperatura ambiente. Preferentemente, la viscosidad de la solución de poliacrilamida preparada mediante los métodos de la presente invención es mayor de 62 mPas a temperatura ambiente. Con mayor preferencia, la viscosidad de la solución de poliacrilamida preparada mediante los métodos de la presente invención es mayor de 65 mPas a temperatura ambiente.

En una medición de OD₆₀₀ de una solución acuosa de acrilamida como se describe en la presente, se puede usar el siguiente valor de referencia preferido: la OD₆₀₀ de una solución saturada de acrilamida en agua o agua desmineralizada. De manera alternativa, el valor de referencia puede ser aquel que se mide después de que una solución acuosa, tal como una solución acuosa de acrilamida que contiene el biocatalizador, se somete a filtración, en donde el tamaño de poro del filtro puede ser 0,1 µm. Por ejemplo, la filtración se puede realizar con un filtro que tenga un poro de 0,4 µm, y luego filtración con un filtro que tenga un poro de 0,2 µm y, posteriormente,

filtración con un filtro que tenga un poro de 0,1 μm . En un tamaño de poro de 0,2 μm o 0,1 μm , se prevé que ni las células del biocatalizador ni los residuos celulares atravesarán el filtro y, por ende, el filtrado estará esencialmente libre del biocatalizador utilizado. Por lo tanto, siempre que la OD₆₀₀ de una solución acuosa se mide en la presente, dicho valor de referencia se usa, preferentemente, en relación con un valor de OD₆₀₀ descrito en el contexto de los medios, métodos y usos de la presente invención. En el contexto de la medición de la OD₆₀₀ de un biocatalizador, el biocatalizador incluye células vivas, células muertas y/o residuos celulares, tales como paredes celulares, membranas celulares y organelas. Por ende, cuando la OD₆₀₀ de una solución acuosa que incluye biocatalizador se mide en la presente, la medición incluye células vivas, células muertas, residuos celulares y similares de un biocatalizador. La OD₆₀₀ se puede medir, por ejemplo, mediante fotometría, tal como espectroscopía UV/VIS.

En consecuencia, la presente invención también proporciona un método para producir una solución de poliacrilamida que tiene una viscosidad mayor de 60 mPas a temperatura ambiente, que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,
- (b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida de la etapa (a), de manera que la OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05,
- (c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida.

Preferentemente, el biocatalizador se separa de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida.

La expresión “convertir” o “conversión”, cuando se usa en el contexto de la presente invención, se refiere a la reacción total o parcial del reactivo acrilonitrilo para obtener el producto de acrilamida en solución acuosa usando un biocatalizador. Más precisamente, “conversión” o “convertir” significa que el acrilonitrilo se puede someter a una reacción de hidratación usando un biocatalizador en solución acuosa a fin de obtener una solución de reacción de acrilamida con una concentración deseada. De

acuerdo con la presente invención, esta reacción de hidratación se puede realizar de cualquier manera convencional. La concentración del acrilonitrilo no es específicamente restringida, siempre que se obtenga la solución de reacción de acrilamida de una concentración deseada. Aunque el límite superior de la concentración de acrilonitrilo no es específicamente restringido, la alimentación de acrilonitrilo excesivo implica una cantidad catalítica grande para completar la reacción, un reactor que tenga un volumen excesivo y un intercambiador de calor más grande para eliminar el calor, de manera que los costos en términos de equipamiento se vuelven muy elevados. En el caso de acrilonitrilo, se prefiere cargar el acrilonitrilo en una cantidad tal que la concentración de solución de acrilamida producida prevista en la solución de reacción de (a) en el reactor sea de 42 a 80 p/p % cuando todo el acrilonitrilo se convierta en la acrilamida correspondiente. Más específicamente, se prefiere cargar acrilonitrilo en una cantidad de 0,4 a 1,5 partes en peso en función de 1 parte en peso del medio acuoso.

En el contexto de cualquiera de los métodos de la presente invención, el acrilonitrilo se puede agregar al reactor antes de que el agua se agregue, después de que el agua se agregue, o se puede agregar junto con el agua. De acuerdo con cualquiera de los métodos descritos en la presente, el acrilonitrilo se puede agregar de manera continua o intermitente. La adición de acrilonitrilo puede ser a una velocidad de alimentación constante o variable, o en lotes. De manera adicional, en cualquiera de los métodos descritos y proporcionados en la presente, el agua se agrega al reactor en la etapa (a). El agua se puede agregar como tal, puede ser parte del biocatalizador como se describe en la presente, puede ser parte de una solución de acrilonitrilo como se describe en la presente, o se puede agregar de otra manera. El catalizador microbiano se puede usar en cualquier cantidad siempre que se obtenga la solución de reacción de acrilamida (I) de una concentración deseada, y la cantidad de este se determina de manera adecuada de acuerdo con las condiciones de reacción, el tipo de catalizador y la forma de este. Sin embargo, la cantidad de catalizador microbiano en el rango de, en general, 10 a 50000 ppm en peso, preferentemente, 50 a 30000 ppm en peso, en términos del peso de la célula bacteriana seca, en función del medio acuoso.

El tiempo de reacción de la reacción de hidratación tampoco es específicamente restringido, siempre que se obtenga la solución de reacción de acrilamida de una concentración deseada. Aunque el tiempo de reacción depende de la cantidad de catalizador utilizado y las condiciones tales como temperatura, se

encuentra específicamente en el rango de, en general, 1 a 80 horas, preferentemente, 2 a 40 horas, en función de un reactor. Aunque la reacción de hidratación se lleva a cabo generalmente a presión atmosférica, se puede llevar a cabo bajo presión a fin de aumentar la solubilidad de acrilonitrilo en el medio acuoso. La temperatura de reacción no es específicamente restringida, siempre que no sea inferior al punto de congelamiento del medio acuoso. No obstante, es conveniente producir la reacción a una temperatura de, en general, 0 a 50 °C, preferentemente, 10 a 40 °C. El valor de pH del medio acuoso en la reacción de hidratación no es específicamente restringido y puede ser cualquier valor siempre que se mantenga la actividad de nitrilo hidratasa. Sin embargo, se desea que el valor de pH del medio acuoso esté en el rango de, preferentemente, 6 a 10, con mayor preferencia, 7 a 9. La reacción de hidratación se puede producir mediante cualquiera de un proceso en lotes y un proceso continuo, y la reacción se puede producir seleccionando su sistema de reacción de sistemas de reacciones tales como lecho suspendido, lecho fijo, lecho fluidizado y similares, o combinando diferentes sistemas de reacción de acuerdo con la forma del catalizador.

Mediante dicha reacción de hidratación, se obtiene la solución de reacción de acrilamida de la etapa (a). Esta solución de reacción contiene acrilamida, el medio acuoso, el catalizador microbiano disuelto y, además, en algunos casos contiene materias sólidas, tales como el catalizador microbiano fijado sobre un portador y células bacterianas muertas. La concentración de acrilamida obtenida en la etapa (a) está en el rango de, en general, 42 a 80 p/p %. La concentración de acrilamida en la solución de reacción o la solución acuosa se puede medir mediante un método convencional, tal como cromatografía de líquidos de alta resolución, cromatografía de gas o un método para usar un refractómetro. Las personas del oficio de nivel medio conocen numerosos métodos y condiciones que permiten a un profesional preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador.

De acuerdo con la divulgación de la presente invención, después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida, el biocatalizador se separa esencialmente de la solución acuosa de acrilamida. El término “separado” no indica necesariamente una separación completa del biocatalizador y/o sus componentes de la solución acuosa de acrilamida. Por ende, la solución acuosa de acrilamida puede comprender partes residuales de biocatalizador después de la separación. En algunas formas de realización, el biocatalizador y/o sus componentes se retiran parcialmente. En algunas formas de realización, el biocatalizador y/o sus componentes se retiran

completamente. En el contexto de la presente invención, el término "separar" también se puede entender como la eliminación total o parcial del biocatalizador utilizado para convertir acrilonitrilo en acrilamida de la solución acuosa de acrilamida biocatalíticamente preparada, lo que genera una OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05. En cualquiera de las formas de realización divulgadas en la presente, los términos "separar" o "separación" se pueden reemplazar por los términos "descargar" o "descarga". De acuerdo con la presente invención, preferentemente, en dicha separación se elimina 80 p/p % o más del biocatalizador en función del biocatalizador presente en la solución acuosa de acrilamida cuando se completa la reacción. Con mayor preferencia, en dicha separación se elimina 90 p/p % o más del biocatalizador en función del biocatalizador presente en la solución acuosa de acrilamida cuando se completa la reacción. Aun con mayor preferencia, en dicha separación se elimina 95 p/p % o más del biocatalizador en función del biocatalizador presente en la solución acuosa de acrilamida cuando se completa la reacción. Con máxima preferencia, en dicha separación se elimina 99 p/p % o más del biocatalizador en función del biocatalizador presente en la solución acuosa de acrilamida cuando se completa la reacción. En consecuencia, en dicha separación se elimina la cantidad residual del biocatalizador en la solución acuosa de acrilamida, que es igual o inferior a 20 p/p % en función del biocatalizador presente en la solución acuosa de acrilamida cuando se completa la reacción. Preferentemente, la cantidad residual del biocatalizador en la solución acuosa de acrilamida es igual o inferior a 10 p/p % en función del biocatalizador presente en la solución acuosa de acrilamida cuando se completa la reacción. Con mayor preferencia, la cantidad residual del biocatalizador en la solución acuosa de acrilamida es igual o inferior a 5 p/p % en función del biocatalizador presente en la solución acuosa de acrilamida cuando se completa la reacción. Con máxima preferencia, la cantidad residual de biocatalizador en la solución acuosa de acrilamida es igual o inferior a 2 p/p %, preferentemente, inferior a 1 p/p %, con mayor preferencia, inferior a 0,5 p/p % en función del biocatalizador presente en la solución acuosa de acrilamida cuando se completa la reacción. De acuerdo con la presente invención, en algunas formas de realización, la cantidad del biocatalizador restante es superior a 0,5 p/p % en función del biocatalizador presente en la solución acuosa de acrilamida cuando se completa la

reacción.

Como se describió en la presente anteriormente, de acuerdo con la presente invención, la cantidad de biocatalizador en una solución acuosa de acrilamida antes de la polimerización se reduce considerablemente después de la separación de dicho biocatalizador mediante cualquiera de las técnicas de separación descritas en otra parte de la presente. Por lo tanto, en otro aspecto, la presente invención también proporciona un método para reducir la cantidad de biocatalizador en una solución acuosa de acrilamida biocatalíticamente preparada a una cantidad restante de biocatalizador igual o inferior a 20 p/p %, preferentemente, inferior a 10 p/p % en función del peso total del biocatalizador en la solución acuosa de acrilamida, en donde el método comprende separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida antes de la polimerización, en donde una solución de poli(acrilamida) preparada de la solución acuosa de acrilamida con una cantidad restante de biocatalizador igual o inferior a 20 p/p %, preferentemente, inferior a 10 p/p % en función del peso total del biocatalizador en la solución acuosa de acrilamida tiene una mayor viscosidad en comparación con una solución de referencia.

En cualquiera de los métodos descritos y proporcionados en la presente, la separación del biocatalizador se inicia después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador. La expresión “después de completar”, cuando se usa en la presente, se puede entender como el punto temporal en donde se alcanza la concentración de acrilamida deseada en la solución acuosa de acuerdo con la presente invención. La expresión “después de completar” puede hacer referencia al punto temporal en donde se convirtió 99,99 % de la cantidad total del acrilonitrilo cargado en la mezcla de reacción. En otras palabras, la expresión “después de completar” puede hacer referencia al punto temporal en donde se convirtió la cantidad total de acrilonitrilo cargado en la mezcla de reacción de manera que la concentración de acrilonitrilo restante sea igual o inferior a 100 ppm, en donde ppm se refiere a las partes en peso en función del peso total de la solución acuosa de acrilamida. La separación se puede iniciar inmediatamente después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida, o dentro de un intervalo de tiempo específico. En una forma de realización preferida de la presente invención, la separación se inicia dentro de las 5 h, preferentemente, 2 h, con mayor preferencia, 1 h, con mayor preferencia, 30 minutos posteriores a completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida. En una forma de realización de mayor preferencia, la separación comienza dentro de los 20 minutos posteriores a completar la conversión de acrilonitrilo en

acrilamida. En una forma de realización de máxima preferencia, la separación se inicia dentro de los 10 minutos posteriores a completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida.

El rendimiento de separación se especificó mediante la biomasa restante en la solución acuosa de acrilamida medida como densidad óptica a 600nm (OD_{600}). Las mediciones de OD_{600} se realizaron usando un espectrofotómetro de doble haz Shimadzu Europe UV-1650PC, y las muestras se midieron en cubetas semimicro de poliestireno con paso de luz de 1 cm en comparación con una solución de referencia. Se usó agua desmineralizada como muestra de referencia. Los resultados se muestran en las Tablas 1 y 2, que indican que las velocidades inferiores de flujo de alimentación producen valores bajos de OD_{600} , lo que indica una menor cantidad de biocatalizadores restantes en la solución acuosa de acrilamida.

De acuerdo con la presente invención, una acrilamida acuosa que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05 se puede usar para la elaboración de una solución de poliacrilamida que tiene mayor viscosidad, en donde el biocatalizador se separa de la solución acuosa de acrilamida antes de la polimerización. En particular, la solución acuosa que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, se puede usar para la elaboración de una solución de poliacrilamida que tiene una viscosidad mayor de 60 mPas. Preferentemente, la solución acuosa que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, se puede usar para la elaboración de una solución de poliacrilamida que tiene una viscosidad mayor de 62 mPas. Con máxima preferencia, la solución acuosa que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, se puede usar para la

elaboración de una solución de poliacrilamida que tiene una viscosidad mayor de 65 mPas. La solución acuosa de acrilamida que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05 usada para la elaboración de una solución de poliacrilamida, como se describe en la presente, se prepara esencialmente mediante la conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador y separando dicho biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida luego de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida. Como se divulga en la presente, la cantidad remanente de biocatalizador en una solución acuosa de acrilamida que contiene 20 % p/p o menos, preferentemente, menos de 10 % p/p del biocatalizador como se indicó en el peso total de la solución acuosa de acrilamida es, después de la separación, más de 0,015 % p/p, preferentemente, 0,01 % p/p en función del peso total de la solución acuosa de acrilamida. En algunas formas de realización, la cantidad remanente es < 0,4 % p/p, preferentemente, < 0,1 % p/p, con mayor preferencia, < 0,05 % p/p, con máxima preferencia, < 0,025 % p/p en función de la cantidad total de la solución acuosa de acrilamida. La expresión “cantidad remanente” o “cantidad residual”, cuando se usa en la presente, se refiere a la cantidad de biocatalizador que no se separa de la solución acuosa de acrilamida mediante ninguna técnica de separación descrita en la presente. De acuerdo con la presente invención, en algunas formas de realización, la etapa de separación de (b) en cualquiera de los métodos proporcionados en la presente no genera una descarga completa del biocatalizador, sino que una parte permanece en la solución acuosa de acrilamida.

La separación del biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida se puede realizar mediante cualquiera de las técnicas divulgadas y descritas en la presente por referencia. Preferentemente, la separación del biocatalizador se puede realizar mediante un separador centrífugo de discos apilados. Mediante el uso de un separador centrífugo de discos apilados, los sólidos se pueden separar de los líquidos en un proceso continuo usando fuerzas centrífugas extremadamente grandes. Con esta fuerza, los sólidos son presionados hasta la máxima densidad contra la pared interior del tambor giratorio y la fase líquida con la densidad más baja se recolecta en el centro del tambor en fases. Los modelos de separadores centrífugos de discos apilados adecuados para el uso en cualquiera de los métodos de la presente invención son conocidos por las personas del oficio de nivel medio.

En particular, los inventores descubrieron que con el uso de un separador centrífugo de discos apilados para separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida con un área de asentamiento específica de 19,67 m²h/l o más, la viscosidad de la solución de poliacrilamida resultante aumenta en comparación con la solución de referencia según la velocidad de separación (Tablas 1 y 2). La solución de referencia en el alcance de la presente invención se define más adelante en la presente. En particular, cuando se usa un separador centrífugo de discos apilados para separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida con un área de asentamiento específica igual o superior a 19,67 m²h/l, la viscosidad de la solución de poliacrilamida resultante siempre era igual o superior a 60 mPas, un área de asentamiento específica igual o superior a 29,5 m²h/l, igual o superior a 62 mPas, y para un área de asentamiento específica igual o superior a 39,3 m²h/l, igual o superior a 63 mPas en comparación con una solución de referencia, respectivamente (Tablas 1 y 2). Además, los inventores descubrieron que un área de asentamiento específica igual o superior a 23,6 m²h/l genera una mejor filtrabilidad de la solución de poliacrilamida con valores de “velocidad de filtración Millipore” (valores MPFR) de acuerdo con API RP 63 menores de 1,3 a un diámetro de poro de filtro de 3 μm y 5 μm. Además, los inventores descubrieron que un área de asentamiento específica igual o superior a 29,5 m²h/l genera una mejor filtrabilidad de la solución de poliacrilamida con valores de “velocidad de filtración Millipore” (valores MPFR) de acuerdo con API RP 63 menores de 1,3 a un diámetro de poro de filtro de 2 μm, 3 μm y 5 μm. Además, los inventores descubrieron que un área de asentamiento específica igual o superior a 39,3 m²h/l genera una mejor filtrabilidad de la solución de poliacrilamida con valores de “velocidad de filtración Millipore” (valores MPFR) de acuerdo con API RP 63 menores de 1,3 a un diámetro de poro de filtro de 1,2 μm, 2 μm, 3 μm y 5 μm (Tablas 1 y 2). Los valores de MPFR se determinaron como se describe en la presente.

El área de asentamiento específica puede ser menor de 500 m²h/l, menor de 400 m²h/l, menor de 300 m²h/l, menor de 200 m²h/l o menor de 150 m²h/l.

Cuando se usa un separador centrífugo de discos apilados para separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida con una velocidad de flujo de alimentación de 200 a 600 l/h, la viscosidad de la solución de poliacrilamida resultante puede ser igual o superior a 60 mPas, para una velocidad de flujo de alimentación de 200 a 400 l/h igual o superior a 62 mPas, y para una velocidad de flujo de alimentación de 200 a 300 l/h igual o superior a 63 mPas en comparación a una solución de

referencia, respectivamente (Tablas 1 y 2). Además, la velocidad de flujo de alimentación de 200 a 500 l/h puede generar una mejor filtrabilidad de la solución de poliacrilamida con valores de “velocidad de filtración Millipore” (valores MPFR) de acuerdo con API RP 63 menores de 1,3 a un diámetro de poro de filtro de 3 μm y 5 μm . Además, la velocidad de flujo de alimentación de 200 a 400 l/h puede generar una mejor filtrabilidad de la solución de poliacrilamida con valores de “velocidad de filtración Millipore” (valores de MPFR) de acuerdo con API RP 63 menores de 1,3 a un diámetro de poro de filtro de 2 μm , 3 μm y 5 μm . Además, la velocidad de flujo de alimentación de 200 a 300 l/h puede generar una mejor filtrabilidad de la solución de poliacrilamida con valores de “velocidad de filtración Millipore” (valores de MPFR) de acuerdo con API RP 63 menores de 1,3 a un diámetro de poro de filtro de 1,2 μm , 2 μm , 3 μm y 5 μm (Tablas 1 y 2). Los valores de MPFR se determinaron como se describe en la presente.

Consecuentemente, en un aspecto, la presente invención proporciona una solución de poliacrilamida con viscosidad aumentada y una mejor filtrabilidad en comparación con la solución de referencia, que se obtiene mediante los métodos descritos en la presente. En particular, separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida luego de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida, de forma tal que la OD_{600} de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, puede generar una solución de poliacrilamida resultante que tiene una mayor viscosidad y una mejor filtrabilidad de acuerdo con API RP 63 en comparación con una solución de referencia. La filtrabilidad es la capacidad de una solución de atravesar una membrana de filtro que tiene un diámetro de poro definido. La expresión “mejor filtrabilidad”, cuando se usa en la presente, se refiere a una solución que puede atravesar con mayor facilidad una membrana de filtro que tiene un diámetro de poro definido en comparación con una solución de referencia. API RP 63 se refiere a “prácticas recomendadas para la evaluación de polímeros usados en operaciones de recuperación mejorada de petróleo”. La filtrabilidad se mide como un valor de MPFR (velocidad de filtración Millipore) como se describe en la presente. En algunas formas de realización, la filtrabilidad de la solución de poliacrilamida de la presente invención es menos de 1,3 a un diámetro de poro de filtro de 1,2 μm , 2 μm , 3 μm y 5 μm . En una forma de realización preferida, la filtrabilidad de la solución de

poliacrilamida de la presente invención es menos de 1,2 a un diámetro de poro de filtro de 1,2 μm , 2 μm , 3 μm y 5 μm .

Por lo tanto, las condiciones de separación impactan directamente en la cantidad residual del biocatalizador remanente, lo cual se refleja en una mejor filtrabilidad y una mayor viscosidad de la solución de poliacrilamida resultante. Por ende, se prefieren las velocidades de flujo de alimentación más lentas debido a una mayor descarga de biomasa de la solución de acrilamida. Además, se descubrió sorprendentemente que la cantidad remanente de biocatalizador en la solución acuosa de acrilamida luego de la separación define e impacta directamente sobre la viscosidad de la solución de poliacrilamida resultante, en donde la viscosidad de la solución de poliacrilamida resultante es mayor cuando se separa más biocatalizador. Es por ello que, de acuerdo con la presente invención, la velocidad de flujo de alimentación preferida cuando se usa un separador centrífugo de discos apilados es menor de 600 l/h. Con mayor preferencia, la velocidad de flujo de alimentación es menor de 500 l/h. Aun con mayor preferencia, la velocidad de flujo del separador es menor de 400 l/h. Aun con mayor preferencia, la velocidad de flujo del separador es menor de 300 l/h. Con máxima preferencia, la velocidad de flujo del separador es menor de 200 l/h o 100 l/h, o menos. La OD_{600} luego de la separación es igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05.

El área de asentamiento equivalente o superficie de clarificación equivalente es un parámetro que describe la centrífuga. El área de asentamiento equivalente puede ser, por ejemplo, 11800 m^2 .

La expresión “área de asentamiento específica” es un parámetro que describe el proceso de separación. El área de asentamiento específica se define como el área de asentamiento equivalente de la centrífuga de discos apilados dividida por la velocidad de flujo de alimentación. El parámetro es particularmente útil para describir el proceso de separación.

Preferentemente, la OD_{600} se mide directamente después de separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida. Esto significa que el valor de OD_{600} se obtiene mediante la separación del biocatalizador y no mediante otras mediciones, tales como dilución de la solución acuosa de acrilamida.

En otra forma de realización de la presente invención, la separación del

biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida se puede realizar mediante filtración. Los métodos de filtración adecuados se describen en el estado de la técnica, por ejemplo, en EP2019146 y CN203319905. Los métodos de filtración preferidos de acuerdo con la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en filtración a presión, filtración con recubrimiento previo y filtración por membrana. Para la filtración a presión, preferentemente, se pueden usar filtros en capas y filtros en módulos, en donde la biomasa se mantiene en la torta de filtro hecha con celulosa, mientras que la fase líquida con el producto de acrilamida puede atravesar esta capa. Cuando se usa una filtración por recubrimiento previo, a menudo se aplican filtros de cartucho, en donde una capa de filtro (por ejemplo, celulosa) se acumula antes de la filtración real de la suspensión de reacción. Con estas condiciones, el biocatalizador permanece, en parte, sobre la capa de recubrimiento previo y, en parte, dentro de la capa de recubrimiento previo. Otro método de filtración usando una película de flujo transversal se describe en detalle en WO2004089518 y se puede aplicar de igual manera en cualquiera de los métodos de acuerdo con la presente invención. El resultado del rendimiento de la filtración se puede medir determinando la cantidad de biocatalizador residual en la solución acuosa de acrilamida, por ejemplo, mediante medición de la OD de la mezcla de reacción, como se describe en la presente.

En una forma de realización particular de la presente invención, el biocatalizador se flocula antes de la separación. Dentro del alcance de la presente invención, floculación significa que las impurezas suspendidas o coloidales de la solución acuosa, tal como el biocatalizador, como se divulga en la presente, se coagulan con el fin de separarse mejor del agua mediante sedimentación o filtración y para ser eliminadas. En algunas formas de realización, la floculación se puede llevar a cabo en el reactor en donde el acrilonitrilo se convierte en acrilamida. Preferentemente, la floculación se lleva a cabo en un tanque de floculación separada. De acuerdo con la presente invención, la floculación se puede realizar usando cualquiera de los floculantes conocidos en el estado de la técnica. Preferentemente, el floculante usado en la presente es sulfato de aluminio, cloruro de aluminio, cloruros de polialuminio, sulfato férrico, cloruro férrico, polielectrolitos y/o un polímero aniónico, tal como Praestol[®] 2510 o Praestol[®] como se describe en WO02/088372 y DE19828467. Preferentemente, la floculación se lleva a cabo a un pH de 6,8 a 8,0. Con mayor preferencia, la floculación se lleva a cabo a un pH de 7,0 a 7,5.

De acuerdo con otra forma de realización de la presente invención, la separación del biocatalizador se realiza mediante inmovilización. Inmovilización

significa que el biocatalizador, como se usa en la presente, está espacialmente fijo en partículas de gel, cápsulas o en espacios de reacción unidos, lo que genera un cambio en la actividad catalítica. Los biocatalizadores inmovilizados se han utilizado en procesos para producir acrilamida, que tiene la ventaja de aislamiento, purificación y regeneración del biocatalizador inmovilizado con mayor facilidad después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida. Las técnicas de inmovilización comúnmente utilizadas comprenden fijación covalente a una superficie, reticulación, separación de membrana y aprisionamiento, los cuales se pueden aplicar en cualquiera de los aspectos descritos en la presente invención. A modo de ejemplo, un biocatalizador se puede inmovilizar en un gel de poliacrilamida, alginato, carragenano o resina de intercambio de iones. En una forma de realización particular de la presente invención, el biocatalizador inmovilizado de la presente invención se mantiene de manera sustancial e irreversible en el interior de un polímero altamente hidrófilo poroso y abierto, en donde hay una ausencia esencial de generación de residuos de la actividad metabólica del microorganismo durante la bioconversión metabólica como se describe en WO2013188844. Además, las columnas llenas de biocatalizadores inmovilizados que tienen actividad de nitrilo hidratasa, como se divulga en US4248968, se pueden usar de acuerdo con la presente invención. En resumen, la inmovilización del biocatalizador de la presente invención se puede llevar a cabo de cualquier manera convencional conocida por la persona del oficio de nivel medio.

De manera alternativa, el biocatalizador de la etapa a) no se inmoviliza.

En otra forma de realización, el biocatalizador de la etapa a) no se inmoviliza y tampoco se inmoviliza en una etapa adicional antes de la etapa b) de separación.

Para remover los materiales sólidos tales como biocatalizador de una solución acuosa de acrilamida, otras técnicas tales como centrifugación y separación de película se describen en el estado de la técnica, por ejemplo, en WO02/088372, que también se encuentra dentro del alcance de la presente invención. Las centrífugas preferidas utilizadas en cualquiera de los métodos o usos de la presente invención son centrífugas autodrenantes y centrífugas de espacio anular.

Luego de separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida después de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida, la solución acuosa de acrilamida que tiene una OD₆₀₀ igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, pero

superior a 0,025 o más; 0,01 o más; 0,005 o más; o 0,001 o más, se polimeriza para obtener poliacrilamida. La poliacrilamida resultante tiene una viscosidad de al menos 60 mPas a temperatura ambiente en agua de mar artificial cuando se produce mediante polimerización de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, pero superior a 0,025 o más; 0,01 o más; 0,005 o más; o 0,001 o más. El término “polimerización” o “polimerizado”, como se usa en la presente, se refiere a un proceso de hacer reaccionar moléculas de monómeros junto con una reacción química para formar cadenas de polímeros en redes tridimensionales. En el contexto de la presente invención, el término “polimerización” o “polimerizado” se refiere a que la solución acuosa de acrilamida obtenida mediante cualquiera de los métodos descritos en la presente se convierte en su homopolímero o copolímero. Con respecto a esto, en el caso de un homopolímero, el término “polimerización” se refiere a una reacción de homopolimerización, mientras que en el caso de un copolímero, el término “polimerización” se refiere a una reacción de copolimerización. La homopolimerización y copolimerización se pueden llevar a cabo usando una solución acuosa que se puede obtener o que se obtiene mediante cualquiera de los métodos descritos en la presente. De acuerdo con la presente invención, a modo de ejemplo de polimerización de la solución acuosa de acrilamida que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05, pero superior a 0,025 o más; 0,01 o más; 0,005 o más; o 0,001 o más se puede llevar a cabo como se describe en detalle en los Ejemplos de la presente. La poliacrilamida obtenida se puede secar, triturar y/o aplastar adicionalmente para obtener una poliacrilamida y/o disolver en una solución acuosa como se describe en los ejemplos a fin de obtener la solución acuosa de poliacrilamida de la presente invención. Otros métodos para secar, triturar y/o aplastar una poliacrilamida obtenida de una solución acuosa de acrilamida son conocidos por las personas del oficio de nivel medio. La poliacrilamida en polvo de poliacrilamida se puede disolver en cualquier solución acuosa apropiada. Preferentemente, la poliacrilamida de la presente invención se disuelve posteriormente en agua de mar artificial o natural.

Consecuentemente, en algunas formas de realización, los métodos descritos y proporcionados en la presente también pueden comprender al menos una de las siguientes etapas:

- (d) secar la poliacrilamida;
- (e) triturar y/o aplastar la poliacrilamida; y/o
- (f) disolver la poliacrilamida en una solución acuosa.

De acuerdo con la presente invención, la solución de poliacrilamida que tiene una viscosidad aumentada en comparación con una solución de referencia se puede producir mediante cualquiera de los métodos divulgados o descritos en la presente. En particular, la solución de poliacrilamida de la presente invención que tiene una viscosidad de 60 mPas o más a temperatura ambiente se puede preparar mediante cualquiera de los métodos divulgados o descritos en la presente.

La viscosidad de la solución de poliacrilamida es mayor de 60 mPas, preferentemente, mayor de 65 mPas a temperatura ambiente cuando la poliacrilamida se disuelve a una concentración de 4000 ppm en agua de mar artificial, en donde ppm se refiere a las partes en peso en función del peso total de la solución de poliacrilamida. Preferentemente, la viscosidad de la solución de poliacrilamida es menor de 200 mPas, preferentemente, 150 mPas. En particular, la viscosidad de la solución de poliacrilamida es menor de 200 mPas, preferentemente, 150 mPas, cuando la poliacrilamida se disuelve a una concentración de 4000 ppm en agua de mar artificial.

La expresión “solución acuosa” o “medio acuoso”, cuando se usa en la presente, se refiere a un líquido acuoso para usar en la presente invención, en donde un agente amortiguador, tal como fosfato, una sal inorgánica, tal como sulfato o carbonato, un hidróxido de un metal alcalino, un compuesto de amida o similares, se disuelve en una concentración adecuada. En la solución acuosa o el medio acuoso, el acrilonitrilo y el biocatalizador se agregan para iniciar la bioconversión. Luego de completar la bioconversión, la acrilamida resultante está presente de igual manera en dicho líquido acuoso.

El término “bioconversión”, cuando se usa en el contexto de la presente invención, se refiere a una reacción, en donde el acrilonitrilo se convierte en acrilamida en presencia de agua y un biocatalizador. La expresión “biocatalíticamente preparado”, como se usa en la presente, se refiere a cualquier método usado para producir una solución acuosa de acrilamida, en donde se lleva a cabo una bioconversión.

Como se usa con respecto a cualquiera de las formas de realización descritas

en la presente, el término “biocatalizador” comprende, en particular, microorganismos (por ejemplo, bacterias o eucariotas protozoos) y enzimas que son capaces de convertir acrilonitrilo en acrilamida. Los métodos para determinar la capacidad de un determinado biocatalizador (por ejemplo, microorganismo o enzima) para convertir acrilonitrilo en acrilamida se conocen en el estado de la técnica. El término “biocatalizador” puede comprender además material celular en forma de células completas o células fracturadas, o parte de estas, que incluyen preparaciones de enzimas semipurificadas o purificadas y, opcionalmente, comprende caldo de fermentación. El material celular puede incluir cualquiera de los constituyentes de una célula microbiana, por ejemplo, que incluye material de pared celular, material de ácido nucleico celular (por ejemplo, ADN o ARN), citoplasma o proteínas.

De acuerdo con cualquiera de los métodos de la presente invención, el biocatalizador capaz de convertir acrilonitrilo en acrilamida puede ser un microorganismo que codifica la enzima nitrilo hidratasa y que tiene actividad de nitrilo hidratasa. Al respecto, no es relevante para la presente invención si el microorganismo codifica de manera natural nitrilo hidratasa, o si se sometió a ingeniería genética para codificar la enzima, o si un microorganismo que codifica de manera natural nitrilo hidratasa se modificó para que pueda producir más nitrilo hidratasa y/o nitrilo hidratasa mejorada. Como se usa en la presente, la expresión “biocatalizador (por ejemplo, microorganismo) *que codifica* (la enzima) nitrilo hidratasa” o similar significa generalmente que el microorganismo puede, en general, producir y mantener de manera estable nitrilo hidratasa. Esto quiere decir que, como se usa en la presente y como la persona del oficio de nivel medio comprende fácilmente, un biocatalizador (por ejemplo, un microorganismo) que se desea usar de acuerdo con la presente invención que codifica (de manera natural o no natural) nitrilo hidratasa también es capaz en general de producir y mantener de manera estable nitrilo hidratasa. Sin embargo, de acuerdo con la presente invención, también es posible que estos microorganismos solo produzcan nitrilo hidratasa durante el cultivo (o fermentación) del microorganismo - y así luego contienen nitrilo hidratasa - antes de que se agreguen a un reactor de acuerdo con la etapa (a) de cualquiera de los métodos descritos y proporcionados en la presente. En ese caso, es posible que los microorganismos ya no produzcan nitrilo hidratasa durante los métodos descritos y proporcionados en la presente, sino que actúen solo mediante las unidades de nitrilo hidratasa que produjeron antes y que aún contienen. Como lo comprenderán fácilmente las personas del oficio de nivel medio, también es posible que algunas moléculas de nitrilo hidratasa puedan salir del

microorganismo (por ejemplo, debido a lisis del microorganismo) y actuar libremente en la solución como biocatalizador. Como tal, también es posible que el término “biocatalizador”, como se usa en la presente, abarque la enzima nitrilo hidratasa en sí misma, siempre que pueda convertir acrilonitrilo en acrilamida como se describe y se ejemplifica en la presente. En el contexto de la presente invención, también es posible utilizar directamente nitrilo hidratasa como biocatalizador.

En el contexto de la presente invención, el microorganismo que codifica de manera natural nitrilo hidratasa, que se puede usar como biocatalizador en cualquiera de los métodos descritos en la presente, comprende una especie que pertenece a un género seleccionado del grupo que consiste en *Rhodococcus*, *Aspergillus*, *Acidovorax*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Mesorhizobium*, *Moraxella*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas*, *Serratia*, *Amycolatopsis*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Pseudonocardia*, *Trichoderma*, *Myrothecium*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Hanseniaspora*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Escherichia*, *Geobacillus*, *Comomonas*, y *Pyrococcus*. En formas de realización preferidas de la invención, el biocatalizador se selecciona de bacterias de los géneros *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Escherichia* y *Geobacillus*.

Los biocatalizadores preferidos que se desean usar en el contexto de cualquiera de los métodos de la presente invención comprenden representantes del género *Rhodococcus*. Las especies adecuadas como biocatalizadores que se desean utilizar en el contexto de cualquiera de los métodos de la presente invención pueden comprender, por ejemplo, *Rhodococcus rhodochrous* (por ejemplo, NCIMB 41164 o J1/FERM-BP 1478, M8 (N.º de acceso: VKPMB-S926), M33), *Rhodococcus pyridinovorans*, *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus equi*, *Rhodococcus ruber*, *Rhodococcus opacus*, *Aspergillus niger*, *Acidovorax avenae*, *Acidovorax facilis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium radiobacter*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pallidus*, *Bacillus smithii*, *Bacillus* sp BR449, *Bradyrhizobium oligotrophicum*, *Bradyrhizobium diazoefficiens*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia gladioli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella variicola*, *Mesorhizobium ciceri*, *Mesorhizobium opportunistum*, *Mesorhizobium* sp F28, *Moraxella*, *Pantoea endophytica*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas putida*, *Rhizobium*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens*, *Amycolatopsis*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium* sp CH1, *Brevibacterium* sp CH2, *Brevibacterium* sp R312, *Brevibacterium imperiale*,

Brevibacterium casei, *Corynebacterium nitrilophilus*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium hoffmanii*, *Microbacterium imperiale*, *Microbacterium smegmatis*, *Micrococcus luteus*, *Nocardia globerula*, *Nocardia rhodochrous*, *Nocardia* sp 163, *Pseudonocardia thermophila*, *Trichoderma*, *Myrothecium verrucaria*, *Aureobasidium pullulans*, *Candida famata*, *Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus flavus*, *Cryptococcus* sp UFMG- Y28, *Debaryomyces hanseii*, *Geotrichum candidum*, *Geotrichum* sp JR1, *Hanseniaspora*, *Kluyveromyces thermotolerans*, *Pichia kluyveri*, *Rhodotorula glutinis*, *Comomonas testosteroni*, *Pyrococcus abyssi*, *Pyrococcus furiosus*, *Escherichia coli* MT-10822 (N.º de acceso: FERM BP-5785), *Geobacillus* sp. RAPc8, o *Pyrococcus horikoshii*. Los microorganismos antes mencionados se pueden cultivar mediante cualquier método que sea adecuado para una especie microbiana determinada. De acuerdo con una forma de realización preferida de los métodos de la presente invención, el biocatalizador que se desea usar pertenece a la especie *Rhodococcus rhodochrous*. Los ejemplos particulares de cepas que pertenecen a *Rhodococcus rhodochrous* que se pueden usar en el contexto de cualquiera de los métodos de la presente invención comprenden NCIMB 41164, J1 (FERM-BP 1478), M8 (N.º de acceso: VKPMB-S926) y M33. De manera adicional o alternativa a *Rhodococcus rhodochrous*, el biocatalizador utilizado en cualquiera de los métodos descritos en la presente puede ser *Rhodococcus pyridinovorans*. De manera adicional o alternativa, el biocatalizador puede ser *Escherichia coli* MT-10822 (N.º de acceso: FERM BP-5785).

De acuerdo con la presente invención, las combinaciones de estos microorganismos también se pueden usar. Además, los microorganismos antes mencionados se pueden cultivar mediante cualquier método que sea adecuado para una especie microbiana determinada. El biocatalizador microbiano de la presente invención que se prepara de microorganismos se refiere a una solución de cultivo obtenida mediante el cultivo de microorganismos, células obtenidas mediante un proceso de cultivo, o similares, células alteradas mediante ultrasonido, o similares, o aquellas preparadas luego de la alteración celular que incluye una enzima cruda, una enzima parcialmente purificada o una enzima purificada. Un modo para el uso del catalizador microbiano se puede seleccionar apropiadamente según la estabilidad de la enzima, la escala de producción, y similares.

En algunas formas de realización de la presente invención, el biocatalizador utilizado para la conversión de acrilonitrilo en acrilamida, como se describe en la presente, se puede lavar antes del uso en dicha reacción. En algunas formas de

realización, el biocatalizador se puede lavar una vez con agua, un amortiguador, o similares, y luego con ácido acrílico antes de la reacción. En algunas formas de realización, el biocatalizador utilizado en la presente se lava con ácido acrílico antes de la reacción, como se describe en detalle en EP1380652. En algunas formas de realización, el biocatalizador se puede lavar con ácido acrílico inmediatamente antes de la reacción. Asimismo, se puede utilizar cualquiera de los métodos de lavado. Los ejemplos de dicho método que se puede aplicar de acuerdo con la presente invención incluyen un método que comprende repeticiones de lavado y centrifugación, y un método de lavado usando una membrana de fibra hueca. Asimismo, el biocatalizador inmovilizado se puede lavar mediante repetición de agitación y precipitación de los catalizadores inmovilizados en un lavado y la eliminación del sobrenadante. Cualquier método de lavado y cualquier cantidad de lavados se pueden establecer adecuadamente considerando la eficacia de lavado, estabilidad de la enzima, y similares. La concentración de ácido acrílico para usar en el lavado es, preferentemente, de 0,01 % en masa a 10 % en masa en una solución acuosa de acrílico. Con mayor preferencia, la concentración es de 0,05 % en masa a 1 % en masa y, con máxima preferencia, es 0,1 % en masa.

En el contexto de la presente invención, los microorganismos que codifican nitrilo hidratasa que no codifican nitrilo hidratasa de manera natural pueden ser microorganismos modificados por ingeniería genética que no contienen de manera natural un gen que codifica nitrilo hidratasa, pero que fueron manipulados para contener un polinucleótido que codifica una nitrilo hidratasa (por ejemplo, mediante transformación, transducción, transfección, conjugación u otros métodos adecuados para transferir o insertar un polinucleótido dentro de una célula que son conocidos en el estado de la técnica; cf. Sambrook y Russell 2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, CSH Press, Cold Spring Harbor, NY, EE. UU.), lo que permite a los microorganismos producir y mantener de manera estable la enzima nitrilo hidratasa. Con este fin, también se puede requerir la inserción de polinucleótidos adicionales que pueden ser necesarios para permitir la transcripción y traducción del gen de nitrilo hidratasa o mRNA, respectivamente. Estos polinucleótidos adicionales pueden comprender, entre otros, secuencias promotoras, colas poliT o poliU, u orígenes de replicación u otras secuencias de control de plásmidos. En este contexto, los microorganismos modificados por ingeniería genética que no contienen de manera natural un gen que codifica una nitrilo hidratasa pero que fueron manipulados para contener un polinucleótido que codifica una nitrilo hidratasa pueden ser

microorganismos procariotas o eucariotas. Los ejemplos de microorganismos procariotas incluyen, por ejemplo, representantes de la especie *Escherichia coli*. Los ejemplos de microorganismos eucariotas incluyen, por ejemplo, levadura (por ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae*).

En el contexto de la presente invención, la expresión “nitrilo hidratasa” (también denominada en la presente NHasa) significa generalmente una enzima que es capaz de catalizar la conversión (es decir, hidratación) de acrilonitrilo en acrilamida. La enzima puede ser, por ejemplo, la enzima registrada con la nomenclatura IUBMB desde el 1 de abril de 2014: EC 4.2.1.84; N.º CAS 2391-37-5. Sin embargo, la expresión “nitrilo hidratasa”, como se usa en la presente, también abarca enzimas modificadas o mejoradas que, por ejemplo, son capaces de convertir acrilonitrilo en acrilamida más rápidamente, o que se pueden producir en una relación rendimiento/tiempo más alta, o que son más estables, siempre que sean capaces de catalizar la conversión (es decir, hidratación) de acrilonitrilo en acrilamida. Los métodos para determinar la capacidad de un determinado biocatalizador (por ejemplo, microorganismo o enzima) de catalizar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida se conocen en el estado de la técnica. A modo de ejemplo, en el contexto de la presente invención, la actividad de un determinado biocatalizador de actuar como una nitrilo hidratasa en el sentido de la presente invención se puede determinar de la siguiente manera: En primer lugar, haciendo reaccionar 100 µl de una suspensión celular, un lisado celular, un polvo de enzima disuelto o cualquier otra preparación que contenga la supuesta nitrilo hidratasa con 875 µl de un amortiguador de fosfato de potasio 50 mM y 25 µl de acrilonitrilo a 25 °C en un agitador de tubos Eppendorf a 1.000 rpm durante 10 minutos. Después de 10 minutos de tiempo de reacción, las muestras se pueden retirar e inactivar inmediatamente agregando el mismo volumen de 1,4 % de ácido clorhídrico. Después de mezclar la muestra, las células se pueden retirar mediante centrifugación durante 1 minuto a 10.000 rpm, y la cantidad de acrilamida formada se determina analizando el sobrenadante transparente mediante HPLC. Para afirmar que una enzima será nitrilo hidratasa en el contexto de la presente invención, la concentración de acrilamida debe ser de 0,25 a 1,25 mmol/l - de ser necesario, la muestra se debe diluir en consecuencia, y la conversión se debe repetir. La actividad enzimática luego se puede deducir de la concentración de acrilamida dividiendo la concentración de acrilamida derivada del análisis de HPLC por el tiempo de reacción, que fue de 10 minutos, y multiplicando este valor por el factor de dilución entre la muestra de HPLC y la muestra original. Las actividades >5 U/mg de peso celular seco,

preferentemente, >25 U/mg de peso celular seco, con mayor preferencia, >50 U/mg de peso celular seco, con máxima preferencia, >100 U/mg de peso celular seco indican la presencia de un biocatalizador funcional, y se considera que el biocatalizador es capaz de convertir acrilonitrilo en acrilamida en el contexto de la presente invención.

En el contexto de la presente invención, la nitrilo hidratasa puede ser un polipéptido codificado mediante un polinucleótido que comprende o consiste en una secuencia de nucleótidos que es al menos 70 %, preferentemente, al menos 75 %, con mayor preferencia, al menos 80 %, con mayor preferencia, al menos 85 %, con mayor preferencia, al menos 90 %, con mayor preferencia, al menos 95 %, con mayor preferencia, al menos 96 %, con mayor preferencia, al menos 97 %, con mayor preferencia, al menos 98 %, con mayor preferencia, al menos 99 %, con mayor preferencia, al menos 99,5 % y, con máxima preferencia, 100 % idéntica a la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1 (subunidad alfa de nitrilo hidratasa de

Rhodococcus

rhodochrous:

GTGAGCGAGCACGTCAATAAGTACACGGAGTACGAGGCACGTACCAAGGCGATC
GAAACCTTGCTGTACGAGCGAGGGCTCATCACGCCCGCCGCGGTGACCGAGTC
GTTTCGTA CTACGAGAACGAGATCGGCCCGATGGGCGGTGCCAAGGTCGTGGCC
AAGTCCTGGGTGGACCCTGAGTACCGCAAGTGGCTCGAAGAGGACGCGACGGC
CGCGATGGCGTCATTGGGCTATGCCGGTGAGCAGGCACACCAAATTTTCGGCGGT
CTTCAACGACTCCCAAACGCATCACGTGGTGGTGTGCACTCTGTGTTCTGTCTAT
CCGTGGCCGGTGCTTGGTCTCCCGCCCGCCTGGTACAAGAGCATGGAGTACCGG
TCCCGAGTGGTAGCGGACCCTCGTGGAGTGCTCAAGCGCGATTTCGGTTTTCGAC
ATCCCCGATGAGGTGGAGGTCAGGGTTTGGGACAGCAGCTCCGAAATCCGCTAC
ATCGTCATCCCGGAACGGCCGGCCGGCACCGACGGTTGGTCCGAGGAGGAGCT
GACGAAGCTGGTGAGCCGGGACTCGATGATCGGTGTCAGTAATGCGCTCACACC
GCAGGAAGTGATCGTATGA) y/o a la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 3

(subunidad beta de nitrilo hidratasa de *Rhodococcus rhodochrous*:

ATGGATGGTATCCACGACACAGGCGGCATGACCGGATACGGACCGGTCCCCTAT
CAGAAGGACGAGCCCTTCTTCCACTACGAGTGGGAGGGTCGGACCCTGTCAATT
CTGACTTGATGCATCTCAAGGGCATATCGTGGTGGGACAAGTCGCGGTTCTTCC
GGGAGTCGATGGGGAACGAAACTACGTCAACGAGATTCGCAACTCGTACTACAC
CCACTGGCTGAGTGCGGCAGAACGTATCCTCGTCGCCGACAAGATCATCACCGA
AGAAGAGCGAAAGCACCGTGTGCAAGAGATCCTTGAGGGTCCGTACACGGACAG
GAAGCCGTCGCGGAAGTTTCGATCCGGCCAGATCGAGAAGGCGATCGAACGGCT
TCACGAGCCCCACTCCCTAGCGCTTCCAGGAGCGGAGCCGAGTTTCTCTCTCGG

TGACAAGATCAAAGTGAAGAGTATGAACCCGCTGGGACACACACGGTGCCCGAA
 ATATGTGCGGAACAAGATCGGGGAAATCGTCGCCTACCACGGCTGCCAGATCTAT
 CCCGAGAGCAGCTCCGCCGGCCTCGGCGACGATCCTCGCCCGCTCTACACGGT
 CGCGTTTTCCGCCAGGAAGTGTGGGGCGACGACGGAAACGGGAAAGACGTAGT
 GTGCGTCGATCTCTGGGAACCGTACCTGATCTCTGCGTGA), siempre que el
 polipéptido codificado mediante el polinucleótido sea capaz de catalizar la hidratación
 de acrilonitrilo para obtener acrilamida (es decir, tiene actividad de nitrilo hidratasa)
 como se describe y ejemplifica en la presente. También en el contexto de la presente
 invención, la nitrilo hidratasa puede ser un polipéptido que comprende o consiste en
 una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, preferentemente, al menos 75
 %, con mayor preferencia, al menos 80 %, con mayor preferencia, al menos 85 %, con
 mayor preferencia, al menos 90 %, con mayor preferencia, al menos 95 %, con mayor
 preferencia, al menos 96 %, con mayor preferencia, al menos 97 %, con mayor
 preferencia, al menos 98 %, con mayor preferencia, al menos 99 %, con mayor
 preferencia, al menos 99,5 % y, con máxima preferencia, 100 % idéntica a la
 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 (subunidad alfa de nitrilo hidratasa de
Rhodococcus rhodochromus: VSEHVNKYTE YEARTKAIET LLYERGLITP
 AAVDRVVSYY ENEIGPMGGA KVVAKSWVDP EYRKWLEEDA TAAMASLGYA
 GEQAHQISAV FNDSQTHHV VCTLCSCYPW PVLGLPPAWY KSMEYRSRVV
 ADPRGVLKRD FGFDIPDEVE VRVWDSSSEI RYIVIPERPA GTDGWSEEEEL
 TKLVS RD SMI GVS NAL TPQE VIV) y/o a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:
 4 (subunidad beta de nitrilo hidratasa de *R. rhodochromus*: MDGIHDTGGM
 TGYGPVPYQK DEPFPHYWE GRTLSILTWM HLKGISWWDK SRFFRESMGN
 ENYVNEIRNSY YTHWLSAAE RILVADKIIT EEERKHRVQE ILEGRYTDRK
 PSRKFDPAQI EKAIERLHEP HSLALPGAEP SFSLGDKIKV KSMNPLGHTR
 CPKYVRNKIG EIVAYHGCQI YPESSSAGLG DDP RPLYTVA FSAQELWGDD
 GNGKDVVCVD LWEPYLISA), siempre que el polipéptido sea capaz de catalizar la
 hidratación de acrilonitrilo para obtener acrilamida como se describe y ejemplifica en la
 presente.

El nivel de identidad entre dos o más secuencias (por ejemplo, secuencias de
 ácido nucleicos o secuencias de aminoácidos) se puede determinar fácilmente
 mediante métodos conocidos en el estado de la técnica, por ejemplo, mediante
 análisis BLAST. En general, en el contexto de la presente invención, si dos secuencias
 (por ejemplo, secuencias de polinucleótidos o secuencias de aminoácidos) que se
 deben comparar mediante, por ejemplo, comparaciones de secuencia, difieren en

identidad, entonces el término "identidad" se puede referir a la secuencia más corta y a la parte de la secuencia más larga que coincide con la secuencia más corta. Por lo tanto, cuando las secuencias que se comparan no tienen la misma longitud, el grado de identidad se puede referir, preferentemente, al porcentaje de residuos de nucleótidos en la secuencia más corta que son idénticos a los residuos de nucleótidos en la secuencia más larga o al porcentaje de nucleótidos en la secuencia más larga que son idénticos a la secuencia de nucleótidos en la secuencia más corta. En este contexto, la persona del oficio de nivel medio puede determinar fácilmente la parte de una secuencia más larga que coincide con la secuencia más corta. Además, como se usa en la presente, los niveles de identidad de las secuencias de ácidos nucleicos o secuencias de aminoácidos se pueden referir a la longitud total de la secuencia respectiva y, preferentemente, se evalúan en pares, en donde cada espacio se debe contar como un error de apareamiento. Estas definiciones para comparaciones de secuencias (por ejemplo, establecimiento de valores de "identidad") se deben aplicar a todas las secuencias descritas y divulgadas en la presente.

Asimismo, el término "identidad", como se usa en la presente, significa que existe una equivalencia funcional y/o estructural entre las secuencias correspondientes. Las secuencias de ácidos nucleicos/aminoácidos que tienen los niveles de identidad determinados con las secuencias de ácidos nucleicos/aminoácidos particulares descritas en la presente pueden representar derivados/variantes de estas secuencias que, preferentemente, tienen la misma función biológica. Pueden ser variaciones naturales, por ejemplo, secuencias de otras variedades, especies, etc., o mutaciones, y dichas mutaciones se pueden haber formado naturalmente o pueden haber sido producidas mediante mutagénesis deliberada. Además, las variaciones pueden ser secuencias producidas sintéticamente. Las variantes pueden ser variantes naturales o variantes producidas sintéticamente o variantes producidas mediante técnicas de ADN recombinante. Las desviaciones de las secuencias de ácidos nucleicos descritas anteriormente se pueden haber producido, por ejemplo, mediante eliminación, sustitución, adición, inserción y/o recombinación. El término "adición" se refiere a agregar al menos un residuo de ácido nucleico/aminoácido al extremo de la secuencia determinada, mientras que "inserción" se refiere a insertar al menos un residuo de ácido nucleico/aminoácido dentro de una secuencia determinada. El término "eliminación" se refiere a eliminar o retirar al menos un residuo de ácido nucleico o un residuo de aminoácido en una secuencia determinada. El término "sustitución" se refiere al

reemplazo de al menos un residuo de ácido nucleico/residuo de aminoácido en una secuencia determinada. De nuevo, estas definiciones como se usan en la presente aplican, *mutatis mutandis*, para todas las secuencias proporcionadas y descritas en la presente.

En general, como se usan en la presente, las expresiones “polinucleótido” y “ácido nucleico” o “molécula de ácido nucleico” se deben interpretar como sinónimos. En general, las moléculas de ácido nucleico pueden comprender, entre otros, moléculas de ADN, moléculas de ARN, tiofosfatos de oligonucleótido, ribo-oligonucleótidos sustituidos o moléculas de APN. Asimismo, la expresión “molécula de ácido nucleico” se puede referir a ADN o ARN, o híbridos de estos o cualquier modificación de estos que se conoce en el estado de la técnica (véanse, por ejemplo, US 5525711, US 471 1955, US 5792608 o EP 302175 para ejemplos de modificaciones). La secuencia de polinucleótidos puede ser monocatenaria o bicatenaria, lineal o circular, natural o sintética, y sin limitación de tamaño. Por ejemplo, la secuencia de polinucleótidos puede ser ADN genómico, cADN, ADN mitocondrial, mARN, ARN antisentido, ARN ribosómico o un ADN que codifica tales ARN o quimeroplastos (Gamper, Nucleic Acids Research, 2000, 28, 4332 - 4339). Esta secuencia de polinucleótidos puede ser en forma de vector, plásmido o de ADN o ARN virales. En la presente también se describen moléculas de ácido nucleico que son complementarias a las moléculas de ácido nucleico descritas anteriormente y moléculas de ácido nucleico que se pueden hibridar con moléculas de ácido nucleico descritas en la presente. Una molécula de ácido nucleico descrita en la presente también puede ser un fragmento de las moléculas de ácido nucleico en el contexto de la presente invención. En particular, tal fragmento es un fragmento funcional. Los ejemplos de tales fragmentos funcionales son moléculas de ácido nucleico que pueden funcionar como cebadores.

Cuando se agrega el biocatalizador al reactor en cualquiera de los métodos de la presente invención, el biocatalizador se puede tomar directamente del caldo de fermentación. De manera alternativa, el biocatalizador se puede secar previamente. Con respecto a esto, el biocatalizador se puede secar antes de ser agregado al reactor de acuerdo con cualquiera de los métodos de la presente invención. En este contexto, el término “antes” no necesariamente significa que el biocatalizador se secó y luego se agregó inmediatamente al reactor. Basta con que el biocatalizador se haya sometido a una etapa de secado en cualquier momento antes de agregarlo al reactor, independientemente de que se realicen o no etapas adicionales entre el secado y la

adición. Como ejemplos no limitativos, tales etapas adicionales entre la etapa de secado y la adición al reactor pueden ser almacenamiento o reconstitución. Sin embargo, también es posible agregar el biocatalizador al reactor directamente después del secado. Los inventores descubrieron que, usando un biocatalizador que se sometió a una etapa de secado, la concentración de ácido acrílico en una solución acuosa de acrilamida obtenida mediante cualquiera de los métodos descritos en la presente se reduce aún más en comparación con el caso en que se usa un biocatalizador que no se sometió a secado antes de usarse en la bioconversión.

Con respecto al método de secado, en cualquiera de los métodos para preparar una solución acuosa de acrilamida o para reducir la concentración de ácido acrílico de una solución acuosa de acrilamida, se puede usar un biocatalizador que se secó usando liofilización, secado por pulverización, secado por calor, secado al vacío, secado en lecho fluidizado y/o granulación por pulverización, en donde se prefiere secado por pulverización. Con respecto a esto, se prefiere el secado por pulverización, dado que, usando un biocatalizador que se sometió a secado por pulverización, en general se logra una mayor reducción de la concentración de ácido acrílico en las soluciones acuosas de acrilamida obtenidas en comparación con el uso de un biocatalizador que se secó usando otros métodos.

De acuerdo con cualquiera de los métodos de la presente invención, se puede usar un biocatalizador seco. Esto significa que el biocatalizador se puede agregar al reactor en forma seca. Por ejemplo, el catalizador se puede agregar en forma seca en la etapa (a) de cualquiera de los métodos divulgados en la presente. En particular, el biocatalizador puede tener forma de polvo o gránulo. De manera alternativa, el biocatalizador seco se puede reconstruir antes de agregarlo en la etapa (a) de cualquiera de los métodos descritos en la presente. Por ejemplo, el biocatalizador se puede reconstituir mediante suspensión en una composición acuosa. Con respecto a esto, el biocatalizador se puede suspender en agua o un amortiguador. Como alternativa adicional, un biocatalizador en forma de un microorganismo unido a la matriz se puede agregar en la etapa (a) de cualquiera de los métodos divulgados en la presente. Como se usa en la presente, la expresión “biocatalizador seco” se refiere a un biocatalizador que se sometió a una etapa de secado. En general, un biocatalizador seco tiene un contenido de humedad de menos de alrededor de 20 % p/p, con mayor preferencia, de menos de alrededor de 15 % p/p, aun con mayor preferencia, de menos de alrededor de 14 % p/p, con máxima preferencia, de alrededor de 5 a alrededor de 10 % p/p en función del peso total de la muestra de biocatalizador. Los

métodos para determinar el contenido de humedad son conocidos por las personas del oficio de nivel medio. Por ejemplo, en el contexto de la presente invención, el contenido de humedad de una muestra de biocatalizador seco se puede determinar mediante análisis termogravimétrico. Al comienzo del análisis termogravimétrico, se determina el peso inicial de la muestra. La muestra luego se calienta, y la humedad se evapora. El calentamiento continúa hasta que el peso de la muestra permanece constante. La diferencia entre el peso constante al final del análisis y el peso inicial representa la cantidad de agua evaporada durante el análisis, que permite el cálculo del contenido de humedad de la muestra. Para determinar el contenido de humedad mediante análisis termogravimétrico, la muestra de biocatalizador se puede analizar, por ejemplo, en un analizador halógeno de humedad Mettler Toledo HB43-S, operado a 130 °C hasta que el peso de la muestra permanezca constante durante al menos 30 segundos.

Debido a que la presente invención permite la preparación de una solución de poliacrilamida que tiene viscosidad aumentada y, por ende, exhibe propiedades físicas mejoradas, la presente invención también comprende un método para aumentar la viscosidad de una solución de poliacrilamida en comparación con una solución de referencia, en donde el método comprende usar una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD_{600} igual o inferior a 0,6, preferentemente, igual o inferior a 0,5, con mayor preferencia, igual o inferior a 0,4, aun con mayor preferencia, igual o inferior a 0,3, aún con mayor preferencia, igual o inferior a 0,2, aún con mayor preferencia, igual o inferior a 0,1, con máxima preferencia, igual o inferior a 0,05. La solución acuosa de acrilamida usada en el método descrito se produce esencialmente mediante la conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador, y separando dicho biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida luego de completar la conversión de acrilonitrilo en acrilamida como se describe en la presente.

En general, la presente invención se refiere a todas las formas de realización descritas en la presente, así como a todas las modificaciones y combinaciones de estas. Cualquier aspecto o forma de realización particular descrito en la presente no se debe interpretar como limitativo del alcance de la presente invención en tales aspectos o formas de realización.

Además, la invención se refiere a un método para producir una solución de acrilamida que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,

- (b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida de la etapa (a) de modo tal que la OD_{600} de la solución acuosa de acrilamida sea igual o inferior a 0,6.

Además, la invención se refiere a un método para producir una solución de acrilamida que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,
- (b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida de la etapa (a) mediante separación con discos apilados, que se lleva a cabo con una velocidad de flujo de alimentación menor de 600 l/h, preferentemente, menor de 500 l/h, con mayor preferencia, menor de 400 l/h, aun con mayor preferencia, menor de 300 l/h, aun con mayor preferencia, menor de 200 l/h o 100 l/h.

En particular, la invención se refiere a un método para producir una solución de acrilamida que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,
- (b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida de la etapa (a) mediante separación con discos apilados que se realiza con un área de asentamiento específica mayor de 19,67 m²h/l, preferentemente, un área de asentamiento específica mayor de 23,6 m²h/l, con mayor preferencia, con un área de asentamiento específica mayor de 29,5 m²h/l, aun con mayor preferencia, con un área de asentamiento específica mayor de 39,3 m²h/l, aun con mayor preferencia, con un área de asentamiento específica mayor de 59,0 m²h/l, con máxima preferencia, con un área de asentamiento específica mayor de 118,0 m²h/l.

Otros aspectos se refieren a un método para preparar una solución de poliacrilamida preparada mediante la conversión biocatalizada de acrilonitrilo en acrilamida que comprende las siguientes etapas:

- (a) preparar una solución acuosa de acrilamida mediante conversión de acrilonitrilo en acrilamida usando un biocatalizador,
- (b) separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida de la etapa (a) mediante separación con discos apilados que se realiza con un área de asentamiento específica mayor de 19,67 m²h/l,

preferentemente, un área de asentamiento específica mayor de 23,6 m²h/l, con mayor preferencia, con un área de asentamiento específica mayor de 29,5 m²h/l, aun con mayor preferencia, con un área de asentamiento específica mayor de 39,3 m²h/l, aun con mayor preferencia, con un área de asentamiento específica mayor de 59,0 m²h/l, con máxima preferencia, con un área de asentamiento específica mayor de 118,0 m²h/l.

- (c) polimerizar la solución acuosa de acrilamida obtenida en la etapa (b) para obtener poliacrilamida.

Además, la invención se refiere al uso de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD₆₀₀ igual o inferior a 0,6, para aumentar la viscosidad de una solución de poliacrilamida preparada a partir de dicha solución de acrilamida.

Además, la invención se refiere al uso de una solución acuosa de acrilamida que tiene una OD₆₀₀ igual o inferior a 0,6, para aumentar la viscosidad de una solución de poliacrilamida preparada a partir de dicha solución de acrilamida, en donde la OD₆₀₀ se mide directamente luego de separar un biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida.

El hecho de que la OD₆₀₀ se mida directamente luego de separar dicho biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida significa que el valor de OD₆₀₀ se obtiene mediante la separación del biocatalizador y no mediante otras mediciones, tales como dilución de la solución acuosa de acrilamida.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos ilustran la invención. Estos ejemplos no se deben entender como limitativos del alcance de esta invención. Los ejemplos se incluyen con fines ilustrativos, y la presente invención solo está limitada por las reivindicaciones. Será evidente para la persona del oficio de nivel medio que la invención se puede practicar de otras maneras distintas a las descritas particularmente en la presente descripción y ejemplos. Muchas modificaciones y variaciones de la presente invención son posibles en vista de las enseñanzas anteriores y, por lo tanto, están dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Hidratación

El biocatalizador *Rhodococcus rhodochrous* (cepa NCIMB 41164) se ha utilizado para la hidratación de acrilonitrilo en acrilamida. La reacción exotérmica se llevó a cabo en un reactor de tanque agitado con entrada de acrilonitrilo y circuito de refrigeración. La reacción se inició mediante adición del biocatalizador y acrilonitrilo. La

adición de acrilonitrilo se puede monitorear adecuadamente mediante análisis FTIR. El material de inicio se agregó hasta que se obtuvo la concentración de acrilamida deseada.

Separación

Para la etapa de separación, se utilizó un separador centrífugo de discos apilados (BTPX 205, Alfa Laval). La superficie de clarificación equivalente era de 11800 m². El separador se usó con una velocidad de rotación de alrededor de 9650 UPM y la velocidad de flujo de alimentación volumétrico de entrada de la suspensión estaba en el rango de alrededor de 100 – 1000 l/h. En el rango de 100 l/h - 500 l/h, se pueden obtener los valores de MPFR de acuerdo con API RP 63 o menos de 1,3 a un diámetro de poro de filtro de 1,2 µm, 2 µm, 3 µm y 5 µm (ver Tablas 1 y 2).

Mediciones de OD₆₀₀

La densidad óptica de la solución acuosa de acrilamida a 600 nm (OD₆₀₀) se midió luego de la separación del biocatalizador a partir de la mezcla de reacción con el fin de determinar la cantidad remanente de biomasa. Las Tablas 1 y 2 muestran la dependencia de los valores de OD₆₀₀ de la solución acuosa de acrilamida en la velocidad de flujo de alimentación cuando se usa un separador centrífugo de discos apilados y se aplican velocidades de flujo de alimentación de 100-600 l/h, que corresponden a áreas de asentamiento específicas de 118,0-19,67 m² h/l. Se usó agua desmineralizada como muestra de referencia en estas mediciones. Las mediciones de OD₆₀₀ se realizaron con un espectrofotómetro de doble haz Shimadzu Europe UV-1650PC, en donde la cubeta portaobjetos estándar se intercambió por una cubeta portaobjetos hexagonal (CPS-Controller CPS-240A). Las muestras se midieron en cubetas semimicro de poliestireno con paso de luz de 1 cm.

Determinación de la filtrabilidad – MPFR (relación de filtración Millipore)

La filtrabilidad de los copolímeros de acrilamida se investigó mediante el uso de valores de MPFR. Los valores de MPFR (relación de filtración Millipore) indican la desviación de una solución de polímero de un comportamiento de filtrado ideal, en donde el comportamiento de filtrado ideal no disminuye la velocidad de filtración cuando se agrega el filtro. Para determinar los valores de MPFR, alrededor de 200 ml de solución polimérica con una concentración de 1.000 ppm a una presión de 1,38*10⁵ Pa se filtraron a través de un filtro de policarbonato con un tamaño de poro de 5 micrómetros. La cantidad del filtrado se registró según el tiempo. El valor de MPFR se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$MPFR = (t_{180g} - t_{160g}) / (t_{80g} - t_{60g}),$$

en donde $t_{\text{índice}}$ es el tiempo en donde se midió la cantidad específica de filtrado, es decir, t_{180g} es el tiempo en el que se midieron 180 g de filtrado. De acuerdo con API RP 63 (“prácticas recomendadas para la evaluación de polímeros usados en operaciones de recuperación mejorada de petróleo”, American Petroleum Institute), se aceptan los valores menores de 1,3. En el caso de la filtrabilidad ideal, el valor de MPFR es 1.

Polimerización

En un balde plástico con un agitador magnético, un pH-metro y un termómetro, estaban presentes 112,8 g de solución al 35 % de acrilato de sodio, y, posteriormente, se agregaron 108,33 g de manera consecutiva de agua destilada, 154,84 g de la solución de acrilamida (al 52 %) obtenida luego de la separación, 1,2 g de solución de Trilon C (5 %) y 4 ml de una solución de ACVA (4,4'-azobis(ácido 4-cianovalérico)) (4 %). Luego de ajustar el pH de la solución a 6,75, mediante el uso de 20 % o 2 % de una solución de ácido sulfúrico y la adición de la cantidad residual de agua (cantidad total de 131,6 g menos la cantidad de agua ya agregada, menos la cantidad de ácido necesaria), la solución de monómeros se ajustó a una temperatura de 4 °C. La solución se transfirió a un matraz Thermo, se montó el sensor de temperatura, y se enjuagó con nitrógeno durante 30 min. Con 1 ml de una solución de AIBN (azobisisobutironitrilo) en metanol (4 %), 0,1 ml de una solución de t-BHP (hidroperóxido de ter-butilo) (1 %) y 0,2 ml de una solución de sulfito de sodio (1 %), comenzó la polimerización. Posteriormente, el bloque de gel se trituró usando una picadora de carne, y los gránulos de gel obtenidos se secaron durante 2 horas a 55 °C con un secador de lecho fluidizado. Se obtuvo un material granulado blanco y duro, que se transfirió en estado de polvo usando un molino centrífugo.

La filtrabilidad de una solución de polímero de 2000 ppm preparada con el ejemplo de preparación descrito en la presente se midió en agua de mar artificial. Los valores de MPFR se determinaron como se describió anteriormente en la presente. La medición de la viscosidad de una solución de polímeros de 4000 ppm se llevó a cabo de igual manera en agua de mar artificial. Los valores ppm se refieren a las partes en peso en función del peso total de la solución de polímeros. La viscosidad se mide a una velocidad de cizallamiento de 7 1/s a 25 °C $\pm$ 1 °C en un reómetro (Anton Paar MCR 301/2) con geometría de doble espacio según DIN. Los valores de filtrabilidad y viscosidad se ilustran en las Tablas 1 y 2. Los valores ppm son en función del peso total de la solución de polímeros.

Tabla 1

Velocidad de flujo de alimentación al separador [l/h]	Área de asentamiento específica* [m ² / (l/h)]	Lote #P3					
		OD ₆₀₀	MPFR 5 µm	MPFR 3 µm	MPFR 2µm	MPFR 1,2 µm	Viscosidad [mPas]
100	118	0,042	1,0	1,0	1,0	1,0	69
200	59	0,052	1,0	1,0	1,0	1,0	68
300	39,3	0,057	1,0	1,0	1,0	1,0	63
400	29,5	0,071	1,03	1,1	1,27	1,38	62
500	23,6	0,108	1,13	1,21	1,38	1,56	60
600	19,67	0,26	Sin medir				
800	14,75	0,45	Sin medir				
1000	11,8	0,64	1,26	1,38	1,59	2,03	51

Tabla 2

Velocidad de flujo de alimentación al separador [l/h]	Área de asentamiento específica* [m ² / (l/h)]	Lote #P4					
		OD ₆₀₀	MPFR 5 µm	MPFR 3 µm	MPFR 2µm	MPFR 1,2 µm	Viscosidad [mPas]
100	118	0,032	1,0	1,0	1,0	1,0	69
200	59	0,032	1,0	1,0	1,0	1,0	68
300	39,3	0,035	1,0	1,0	1,0	1,0	66
400	29,5	0,038	1,0	1,0	1,05	1,1	65
500	23,6	0,047	1,0	1,0	1,06	1,13	62
600	19,67	0,09	1,1	1,15	1,35	1,53	60
800	14,75	0,33	1,21	1,32	1,51	1,89	56
1000	11,8	-	-	-	-	-	-

* El "área de asentamiento específica" se define como el área de asentamiento equivalente de la centrífuga de discos apilados dividida por la velocidad de flujo de alimentación.

Las Tablas 1 y 2 muestran valores de OD₆₀₀, MPFR MPFR de acuerdo con API 63 (filtrabilidad) de una solución de poliacrilamida de 2000 ppm y valores de viscosidad de una solución de poliacrilamida de 4000 ppm de soluciones acuosas de acrilamida dependientes de la velocidad de flujo de alimentación y el área de asentamiento específica cuando se usa un separador centrífugo de discos apilados para separar el biocatalizador de la solución acuosa de acrilamida para diferentes lotes. La solución acuosa de acrilamida se preparó biocatalíticamente mediante hidratación de acrilonitrilo en acrilamida, y el biocatalizador utilizado se separó antes de la polimerización usando velocidades de flujo de alimentación diferentes. El lote #3 y lote #4 representan descargas de reacción diferentes en puntos temporales diferentes de la separación. La poliacrilamida se disolvió en agua de mar artificial, respectivamente, y los datos mostrados son valores medios de 3 a 4 mediciones individuales.