

SÓLIDOS DE BIOPOLÍMEROS SOLUBLES Y FILTRABLES

CAMPO TÉCNICO

[0001] La presente invención se refiere a la preparación de un material de beta glucano
5 que cuando se solubiliza alcanza una filtrabilidad y una constitución de viscosidad
deseada para aplicaciones de recuperación mejorada de petróleo.

ANTECEDENTES

[0002] Los beta glucanos son ampliamente utilizados como espesantes en aplicaciones
10 de recuperación mejorada de petróleo (EOR, por sus siglas en inglés). Específicamente
en aplicaciones marítimas, se desea utilizar tales beta glucanos, sin embargo, debido a
la cantidad limitada de terreno, es deseable recibir el beta glucano en forma sólida,
solubilizar o resolubilizar rápidamente utilizando el agua al alcance y una cantidad
15 mínima de equipos, en donde el proceso de solubilización/resolubilización proporciona
las propiedades deseables, por ejemplo, filtrabilidad y viscosidad, necesarias para las
operaciones de recuperación mejorada de petróleo. La desventaja principal del
polímero de escleroglucano (un beta glucano) es su poca solubilidad. Se han
investigado y estudiado métodos para esto, sin embargo, cada uno de estos métodos
20 ha presentado limitaciones.

COMPENDIO

[0003] En la presente se describe un material de beta glucano, que comprende 1,3-1,6
beta glucanos, que cuando se solubiliza de acuerdo con un proceso de solubilización
especificado, logra un índice de filtrabilidad inferior a aproximadamente 1.5. En la
25 presente se describe adicionalmente un material de beta glucano donde se puede
recuperar más del 50 % de la viscosidad final después de realizar un procedimiento de
solubilización especificado para una pasada y más del 70 % de la viscosidad final
después de dos pasadas. En la presente también se describe un material de beta
glucano que cuando se solubiliza de acuerdo con un procedimiento de solubilización
30 especificado tiene menos del 10 % de pérdida de viscosidad durante la filtración.

FIGURAS

[0004] La figura 1 ilustra gráficamente las constituciones de viscosidad de los materiales de beta glucano disponibles comercialmente y el material de beta glucano descrito en la presente.

5 [0005] La figura 2 ilustra gráficamente el índice de filtrabilidad para los materiales de beta glucano disponibles comercialmente.

DEFINICIONES

[0006] "Peso molecular" se define como el peso molecular promedio en peso.

10 [0007] "Distribución de tamaño de partícula" se define como el diámetro mediano de masa del polvo de BG.

[0008] "Sólido" se define como un sólido (es decir, no un líquido o un gas) en condiciones atmosféricas estándares. Para evitar las dudas, el término "sólido" incluye polvos, presionados o tortas húmedas y sólidos rodeados por una solución con alcohol o un líquido hidrofóbico.

15 [0009] "Viscosidad final" se define como la viscosidad medida a una tasa de corte después de seis pasadas mediante un procedimiento de solubilización especificado.

[00010] "Pérdida de viscosidad" se define como la medida de viscosidad después del procedimiento de filtración en comparación con la viscosidad antes del procedimiento de filtración.

20 [00011] "Índice de viscosidad" se define como el índice de viscosidad medido en un viscosímetro Brookfield DV2T (husillo 21) a seis revoluciones por minuto (rpm) en comparación con el medido a 60 rpm, donde índice de viscosidad = $cP @ 6rpm / cP @ 60 rpm$ (cP = centipoise).

25 [00012] "Constitución de viscosidad" se define como el índice de viscosidad medido después de una pasada utilizando el procedimiento de solubilización especificado dividido por la viscosidad final, o la viscosidad medida después de 6 pasadas de solubilización.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

30 [00013] En la presente se describe un material de beta glucano, que comprende 1,3-1,6

beta glucanos, que cuando se solubiliza, de acuerdo con un procedimiento de solubilización especificado, crea una viscosidad más rápido que los materiales de beta glucano existentes comercialmente disponibles, proporciona una mayor filtrabilidad con un procesamiento mínimo que los materiales de beta glucano existentes comercialmente disponibles y mantiene la viscosidad a través de las pruebas de filtrabilidad.

Beta glucano

[00014] Los beta glucanos ("BG") descritos en la presente invención incluyen polisacáridos clasificados como 1,3-1,6 beta-D-glucanos y modificaciones de estos. De acuerdo con los aspectos de la presente, los beta glucanos comprenden una cadena principal de unidades de glucosa unidas por enlaces glucosídicos beta-1,3, y grupos laterales que están formados por unidades de glucosa y están unidos por enlaces glucosídicos beta-1,6 a estas.

[00015] Las cepas de hongos que secretan tales glucanos son conocidos para los expertos en la técnica. Los ejemplos comprenden *Schizophyllum commune*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotium glaucum*, *Monilinia fructigena*, *Lentinula edodes* o *Botrytis cinerea*. Las cepas fúngicas utilizadas son preferentemente *Schizophyllum commune* o *Sclerotium rolfsii*.

[00016] Un beta glucano particularmente preferido para su uso en la presente es el "escleroglucano" (o, un beta-D-glucano ramificado donde una de cada tres moléculas de glucosa de la estructura beta-(1,3) está unida a una unidad de D-glucosa lateral mediante un enlace (1,6)-beta producido a partir de, p. ej., hongos de *Sclerotium*).

[00017] Otro beta glucano particularmente preferido para su uso en la presente es "esquizofilano" (un beta-D-glucano ramificado que tiene una rama de glucosa por cada tercer residuo de glucosa en la estructura beta-(1,3) producida a partir de, p. ej., el hongo *Schizophyllum commune*).

Material de beta glucano

[00018] El material de beta glucano descrito en la presente comprende un 1,3-1,6 beta glucano (los aspectos preferidos de los beta glucanos se describieron anteriormente). El material de beta glucano descrito en la presente comprende al menos el 75 % en peso de beta glucano. En aspectos preferidos, el contenido de beta glucano (en función

de la purificación del caldo que contiene BG sin material añadido) en el material de beta glucano oscila entre el 82 y el 92 % en peso. El material de beta glucano se encuentra en forma sólida.

[00019] En determinados aspectos, el material de beta glucano puede derivar de caldo de fermentación o puede derivar de materiales Actigum ® CS6 o CS11 de Cargill disponibles comercialmente, sin embargo, la derivación del material de beta glucano no se limita a estos.

[00020] El material de beta glucano descrito en la presente tiene un peso molecular que oscila entre 300,000 y 8 millones de daltons. En aspectos preferidos, el peso molecular del material de beta glucano oscila entre 2 y 8 millones de daltons, e incluso más preferentemente entre 4 y 6 millones de daltons.

[00021] El material de beta glucano descrito en la presente tiene un contenido de humedad (es decir, contenido de agua) que oscila entre el 1 y el 20 % en peso, y en algunos aspectos, entre el 2 y el 20 % en peso. En aspectos preferidos, el contenido de humedad del material de beta glucano oscila entre el 7-12 % en peso. Se entenderá que para alcanzar dicho contenido de humedad, el material de beta glucano se puede deshidratar térmica o mecánicamente. Se ha demostrado que el intervalo de humedad descrito en la presente limita la adherencia y el crecimiento microbiano en el material de beta glucano.

[00022] El material de beta glucano descrito en la presente tiene una distribución de tamaño de partícula en polvo que oscila entre 10 y 1000 micrones. En aspectos preferidos, la distribución de tamaño de partícula oscila entre 100 y 500 micrones. Además, al menos el 90 % del material de beta glucano es retenido por una criba de malla 18 y al menos el 90 % del material de beta glucano pasa a través de una criba de malla 400 instalada en un vibrador de tamiz de control AS 200 establecido a una amplitud de entre 180 y 190 durante 3 minutos.

[00023] El material de beta glucano descrito en la presente tiene propiedades únicas sobre los materiales de beta glucano disponibles comercialmente encontrados en la técnica previa debido a que cuando se solubilizan, de acuerdo con el procedimiento de solubilización descrito más adelante, el material de beta glucano descrito en la presente alcanza un índice de filtrabilidad inferior a aproximadamente 1.5, e incluso más

preferentemente inferior a aproximadamente 1.2. El entendido en la técnica apreciará el deseo de tener un índice de filtrabilidad de este valor ya que un polímero debe ser altamente inyectable para evitar la obturación de la roca cerca de un sitio del pozo de inyección. El índice de filtrabilidad es una prueba común para determinar si un polímero tiene una inyectividad elevada deseable.

Solubilización

[00024] El material de beta glucano descrito en la presente tiene propiedades deseables para aplicaciones de EOR, de tal manera que cuando se solubiliza de acuerdo con un procedimiento de solubilización especificado (que se describe adicionalmente más adelante), alcanza un índice de filtrabilidad inferior a aproximadamente 1.5, y más preferentemente un índice de filtrabilidad inferior a aproximadamente 1.2.

[00025] Tal como se entenderá, el procedimiento de solubilización especificado, en general, implica dispersar el material de beta glucano en una solución y someter dicha solución a un corte relativamente alto. Cabe destacar que los equipos y procedimientos utilizados para solubilizar el material de beta glucano son adecuados para aplicaciones de EOR marítimas y se adaptan al terreno limitado típicamente disponible en las aplicaciones de EOR marítimas.

[00026] La solubilización del material de beta glucano se puede llevar a cabo ya sea con agua salada o agua dulce. Además, la solubilización puede ocurrir en condiciones de pH que oscilan entre aproximadamente 6 y aproximadamente 7.5, y en condiciones de temperatura que oscilan entre aproximadamente 10 °C y 120 °C, en aspectos preferidos entre 80 °C y 120 °C, y en otros aspectos preferidos entre 20 °C y aproximadamente 40 °C. La solubilización se logra mediante un dispositivo de corte en línea a una tasa de corte de entre 100,000 s⁻¹ y 300,000 s⁻¹. El corte se puede aplicar mediante varios enfoques conocidos para los expertos en la técnica, inclusive mover partes como un par rotor-estator o una mezcladora coloidal o dispositivos estáticos como una placa de orificios o un tubo estrecho con un flujo de alta velocidad. Para asegurar una mezcla adecuada entre el material de beta glucano y la fuente de agua, la solubilización puede requerir entre 1 y 6 pasadas a través del dispositivo de corte. Es posible que se necesiten múltiples pasadas, p. ej., más de una pasada, si la viscosidad sigue aumentando, y la solubilización final ocurre después de una viscosidad

consistente o ligeramente decreciente en dos pasadas consecutivas.

[00027] El material de beta glucano tiene una pureza suficiente para que se pueda recuperar más del 42 %, y en la mayoría de los aspectos más del 50 %, de la viscosidad final después de realizar el procedimiento de solubilización especificado para una pasada, y más del 70 % después de dos pasadas. En aspectos preferidos, se logra más del 60 %, más del 70 % e incluso más del 80 % de viscosidad final después de realizar el procedimiento de solubilización especificado para una pasada. En aspectos preferidos adicionales, se logra más del 80 % e incluso más del 90 % de viscosidad final después de realizar el procedimiento de solubilización especificado para dos pasadas.

[00028] Adicionalmente, el material de beta glucano descrito en la presente tiene un índice de viscosidad que oscila entre 1.5 y 4. En aspectos preferidos, el índice de viscosidad oscila entre 3 y 4.

[00029] Además, el material de beta glucano solubilizado logra menos del 15 % de pérdida de viscosidad durante la etapa de filtración posterior (descrita más adelante), en aspectos preferidos menos del 10 % de pérdida de viscosidad y en aspectos más preferidos menos del 5 % de pérdida de viscosidad.

Sistemas de tensioactivos

[00030] Los tensioactivos se han usado previamente para las aplicaciones de EOR para mejorar la recuperación de petróleo mejorada general. Por consiguiente, se puede agregar un tensioactivo al material de beta glucano solubilizado. En aspectos preferidos, el tensioactivo es un tensioactivo aniónico. Los tensioactivos aniónicos son deseables debido a sus propiedades tensioactivas fuertes, son relativamente estables, presentan una adsorción relativamente baja en la roca de yacimiento y se pueden fabricar de manera económica. Los tensioactivos aniónicos típicos son sulfatos para aplicaciones de EOR de baja temperatura y sulfonatos y más específicamente hidrocarburos sulfonados para aplicaciones de EOR de alta temperatura. Los sulfonatos de petróleo crudo son un producto cuando el petróleo crudo se sulfona después de cubrirlo, los sulfonatos de petróleo son un producto cuando se sulfona una corriente de refinería con peso molecular intermedio y los sulfonatos sintéticos son un producto cuando se sulfona un compuesto orgánico relativamente puro. Estos son

todos ejemplos de tensioactivos que se pueden usar en la presente. Los tensioactivos catiónicos y no iónicos, si bien no son deseables como los tensioactivos aniónicos, también se pueden usar principalmente como cotensioactivos para mejorar el comportamiento de los sistemas de tensioactivos. El tensioactivo en el material de beta glucano solubilizado puede generarse antes de su adición al material de beta glucano solubilizado o, alternativamente, se puede generar in situ. También se entenderá que las inundaciones de tensioactivo que tienen un pH en el intervalo de 9-10 probablemente sean más compatibles con el material de beta glucano solubilizado descrito en la presente.

MATERIALES Y PROCEDIMIENTOS

[00031] Se entenderá que los procedimientos descritos en la presente se deben llevar a cabo a temperaturas en el intervalo de 20-30 °C (excepto que se indique lo contrario).

Procedimiento de solubilización especificado

1. Preparar 30 g/l de solución de agua salada, utilizando agua desionizada y sales marinas S9883 Sigma-Aldrich.
2. Utilizar el embudo de filtración de acero inoxidable de Pall (4280) para filtrar el agua salada a través de un filtro de 0.8 μ m EMD Millipore (AAWP04700) a 100-300 mL/min.
3. Después de la filtración, controlar el pH del agua salada. Ajustar a 6.3 usando HCl o NaOH si está fuera del intervalo de pH de 6.2 a 6.4.
4. En una placa de mezclado Isotemp de Fisher Scientific (S88857290) a 800 rpm, espolvorear el material de beta glucano a una concentración diana, específicamente 1 g/L, en la pared del vórtice y dejar agitar durante 5 minutos. (Tener en cuenta que si la concentración a 1 g/L alcanza menos de 10 cP a 30 rpm y 6 pasadas, se debe repetir la solubilización para lograr 10-100 cP después de 6 pasadas).
5. A 26,000 rpm, agregar la solución a través de un módulo en línea (UTL) Ultra-Turrax® de Magic Lab® de IKA® equipado con un generador de 4M.
6. Medir la viscosidad después de retirar las burbujas de aire de la solución, por ejemplo, permitiendo que la muestra se asiente o acelerando la separación con una centrífuga o un dispositivo similar.
7. Seguir el proceso hasta 6 pasadas o hasta que las pasadas posteriores demuestren

una viscosidad estable o una viscosidad un poco menor.

8. El tiempo transcurrido entre el inicio de la etapa 4 y el final de la etapa 7 del procedimiento de solubilización especificado debe tomar entre 30 minutos y 2 horas.

Procedimiento de filtración

- 5 1. Comenzar con un material de beta glucano solubilizado realizado de acuerdo con el procedimiento de solubilización especificado anterior.
2. Armar el alojamiento de filtro de acero inoxidable de Pall (4280) con un filtro AP25 de Millipore de 47 mm (AP2504700). Cerrar la salida del alojamiento de filtro hasta que esté listo para empezar el flujo.
- 10 3. Pasar la solución a través del filtro a 100-300 ml/min de flujo.
4. Armar el alojamiento de filtro de acero inoxidable de Pall (4280) con un filtro de 47 mm, 1.2 µm, filtro de éster celulósico de EMD Millipore (parte # RAWP04700), con >200 mL de solución. Cerrar la salida del alojamiento de filtro hasta que esté listo para empezar el flujo.
5. Colocar un recipiente en un equilibrio de masa para registrar la masa del material que
- 15 pasa a través del filtro.
6. Aplicar presión al filtro.
7. Abrir la salida del alojamiento de filtro y ajustar el flujo a 1-3 g/s; ajustar la presión según sea necesario.
8. Cuando el flujo esté establecido, mantener una presión constante durante la prueba de
- 20 filtración.
9. Registrar el tiempo de flujo de 60 g, 80 g, 160 g y 180 g de solución a través del filtro utilizando el equilibrio.
10. Calcular el índice de filtrabilidad utilizando la ecuación
$$\frac{\text{Tiempo (180 g)} - \text{Tiempo (160 g)}}{\text{Tiempo (80 g)} - \text{Tiempo (60 g)}}$$
 de índice de filtrabilidad:
- 25 11. El tiempo transcurrido entre el inicio de la etapa 4 del procedimiento de solubilización estándar y el final de la etapa 9 del procedimiento de filtración debe tomar entre 30 minutos y 4 horas.

Medición de viscosidad

En el experimento para evaluar la viscosidad se utilizaron dos viscosímetros.

- 30 1. Las mediciones de viscosidad se llevan a cabo en muestras desgasificadas utilizando un viscosímetro DV2T (husillo 21, 6-60 rpm) Brookfield, denominado asDV2T.

2. Las mediciones de viscosidad se llevaron a cabo en muestras desgasificadas utilizando un viscosímetro LVT (husillo 1, 12, 30, y 60 rpm) Brookfield Ametek®, denominado LVT.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: constitución de viscosidad con escleroglucano disponible comercialmente

[00032] Siguiendo el procedimiento de solubilización especificado, colocar 2 gramos por litro (g/L) de Actigum® CS6 de Cargill, una mezcla de polvo crudo de escleroglucano y polvo del organismo *Sclerotium rolfsii*, en solución. Después de mezclar, agregar la solución a Magic Lab® de IKA® en configuración UTL con una unidad de par rotor estator de 4M a 26,000 rpm. Apartar 50 mL de solución para medir la viscosidad con DV2T. Pasar por segunda vez el resto de la solución a través del Magic Lab de IKA utilizando las mismas configuraciones y equipos. Apartar 50 mL de solución para medir la viscosidad con DV2T. Repetir el procesamiento a través de Magic Lab y realizar un muestreo para medir la viscosidad con DV2T un total de 6 veces, o 6 pasadas. La tabla 1 proporciona los resultados de la constitución de viscosidad.

[00033] La figura 1 ilustra las viscosidades resultantes de este ejemplo. Tal como se muestra en la figura 1, Actigum® CS6 no crea viscosidad tan rápido como el material de beta glucano solubilizado descrito en la presente.

Tabla 1

Pasada	Constitución de viscosidad promedio	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 12 rpm	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 30 rpm	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 60 rpm
1	25%	20%	24%	31%
2	57%	53%	57%	62%
3	75%	73%	76%	77%
6	100%	100%	100%	100%

Ejemplo 2: constitución de viscosidad con escleroglucano disponible comercialmente

[00034] Siguiendo el procedimiento de solubilización especificado, colocar 1 g/L de Actigum® CS11 de Cargill, un polvo de escleroglucano clarificado, en solución.

Después de mezclar, agregar la solución a Magic Lab® de IKA® en configuración UTL con una unidad de par rotor estator de 4M a 26,000 rpm. Apartar 50 mL de solución para medir la viscosidad con DV2T. Pasar por segunda vez el resto de la solución a través del Magic Lab de IKA utilizando las mismas configuraciones y equipos. Apartar 50 mL de solución para medir la viscosidad con DV2T. Repetir el procesamiento a través de Magic Lab y realizar un muestreo para medir la viscosidad con DV2T un total de 6 veces, o 6 pasadas. La tabla 2 proporciona los resultados de la constitución de viscosidad.

Tabla 2

Pasada	Constitución de viscosidad promedio	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 12 rpm	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 30 rpm	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 60 rpm
1	40%	33%	40%	46%
2	60%	50%	60%	69%
3	92%	100%	90%	85%
6	100%	100%	100%	100%

[00035] La figura 1 ilustra las viscosidades resultantes de este ejemplo. Tal como se muestra en la figura 1, Actigum® CS11 no crea viscosidad tan rápido como el beta glucano solubilizado descrito en la presente.

Ejemplo 3: producción del material de beta glucano (escleroglucano) descrito en la presente

[00036] Utilizando un recipiente con manga de 5000 litros con agitación moderada, agregar 7 g/L de Actigum CS6 comercial de Cargill a 2400 litros de agua a 11.8 °C y se mezcla por 1 hora. Después de mezclar una hora, el recipiente se calienta a 85 °C y se deja en agitación por 12 horas sin control de temperatura. Después de 12 horas, la temperatura es 41.3 °C y el recipiente se vuelve a calentar a 80 °C y se pasa por un homogeneizador Guerin (ALM6; Series B 8250 30 000; año 1998) a 200 bar de presión y 300 l/h.

[00037] La mezcla homogenizada se enfría a 50 °C. Se agrega 4 g/L de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. El pH se reduce a 1.81 usando HCl al 20 %. La mezcla se agita durante 30 minutos para permitir la precipitación del ácido oxálico.

5 [00038] Después de la maduración, la solución se vuelve a ajustar a un pH de 5.62 usando Na_2CO_3 al 10 %, se calienta a 85 °C y se deja con agitación sin control de temperatura por 14 horas, luego se recalienta a 80 °C.

[00039] Después de alcanzar los 80 °C, se agregan 20 g/L del facilitador de filtrado Dicalite 4158 al recipiente y se mezcla durante 10 minutos.

10 [00040] Después de mezclar, la solución se agrega a un filtro de presión de 12 m² Choquet con tela de filtro Sefar Fyltris 25080 AM a 1400 L/h reciclando el producto nuevamente al tanque de alimentación durante 10 minutos. Al final del reciclo, el flujo se ajusta a 1300 L/h y se pasa por el filtro. Cuando el tanque esté vacío, se colocan en el filtro 50 litros de agua adicionales. El fluido de este enjuague de agua y una compresión de 12 bar de la torta se agregan al permeado recolectado. El filtro se limpia
15 después de su uso.

[00041] El permeado filtrado, el enjuague de agua y el fluido de compresión se agitan y se vuelve a calentar a 80 °C.

[00042] La mezcla calentada tiene 6 kg de Dicalite 4158 agregado y se mezcla por 10 minutos. A 1400 L/h, esta solución se recicla a través de un filtro de presión de 12 m²
20 Choquet con tela de filtro Sefar Fyltris 25080 AM a 1400 L/h durante 15 minutos. Después del reciclo, el tanque se pasa por el filtro a 1400 L/h.

[00043] Sin limpiar el filtro, se agrega 5.33 g/L de DICS Clarcel ® y 6.667 g/L de CBL Clarcel ® a la mezcla y se agita durante una hora mientras la temperatura se mantiene a 80 °C. Esta mezcla luego se recicla a través de un filtro de presión de 12 m²
25 Choquet recubierto con Dicalite con tela de filtro Sefar Fyltris 25080 AM a 1400 L/h durante 15 minutos. Después del reciclo, el tanque se pasa por el filtro a 1350 L/h. Se colocan 50 litros adicionales de agua de enjuague a través del filtro y se recoge como permeado también. No se captura el fluido de compresión del filtro.

30 [00044] Este material filtrado dos veces se calienta a 85 °C y se agita sin control de temperatura por 14 horas. En este momento, el material se recalienta a 80 °C para realizar una tercera etapa de filtración.

La mezcla calentada tiene 6 kg de Dicalite 4158 agregado y se mezcla por 10 minutos. A 1400 L/h, esta solución se recicla a través de un filtro de presión de 12 m² Choquenet con tela de filtro Sefar Fyltris 25080 AM a 1400 L/h durante 15 minutos. Después del reciclo, el tanque se pasa por el filtro a 1450 L/h.

5 [00045] Sin limpiar el filtro, se agrega 5.33 g/L de DICS Clarcel ® y 6.667 g/L de CBL Clarcel ® a la mezcla y se agita durante una hora mientras la temperatura se mantiene a 80 °C. Esta mezcla luego se recicla a través de un filtro de presión de 12 m² Choquenet recubierto con Dicalite con tela de filtro Sefar Fyltris 25080 AM a 1600 L/h durante 15 minutos. Después del reciclo, el tanque se pasa por el filtro a 1700 L/h. Se
10 colocan 50 litros adicionales de agua de enjuague a través del filtro y se recoge como permeado también. No se captura el fluido de compresión del filtro.

[00046] El permeado filtrado tres veces se enfría a 60 °C y se mezcla con IPA al 83 % a una relación 1:2, 2 g de solución de IPA para cada g de solución de escleroglucano. Esto precipita las fibras de escleroglucano que se puede separar mecánicamente de la
15 solución total. En este ejemplo, se usa un separador clasificador para partir las fibras precipitadas de la solución líquida total.

[00047] Después de la recuperación de las fibras, se lavan con 0.5 g de otra solución de IPA al 83 % para cada 1 g de solución de escleroglucano inicial permeado filtrado tres veces.

20 [00048] Las fibras de lavado se secan con un secador ECI (volumen 100 litros; Tipo 911-10; año 1987) con agua caliente a 95 °C por 1 hora y 13 minutos para producir un producto con 89.3 % de materia seca. Este material se muele y se tamiza para proporcionar un polvo con un tamaño menor a 250 micrones. Este material de escleroglucano molido final es el material de beta glucano descrito en la presente y se
25 usa en el ejemplo 4.

Ejemplo 4: constitución de viscosidad y filtrabilidad con el material de beta glucano solubilizado (escleroglucano) descrito en la presente

[00049] Siguiendo el procedimiento de solubilización especificado, colocar 1 g/L del material de beta glucano del ejemplo 3 en solución (también conocido como material de
30 beta glucano solubilizado). Después de mezclar, agregar la solución a Magic Lab® de IKA® en configuración UTL con una unidad de par rotor estator de 4M a 26,000 rpm.

Apartar 50 mL de solución para medir la viscosidad con DV2T. Pasar por segunda vez el resto de la solución a través del Magic Lab de IKA utilizando las mismas configuraciones y equipos. Apartar 50 mL de solución para medir la viscosidad con DV2T. Repetir el procesamiento a través de Magic Lab y realizar un muestreo para medir la viscosidad con DV2T un total de 6 veces, o 6 pasadas. La tabla 3 proporciona los resultados de la constitución de viscosidad.

Tabla 3

Pasada	Constitución de viscosidad promedio	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 12 rpm	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 30 rpm	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 60 rpm
1	73%	70%	73%	75%
2	100%	100%	100%	100%
3	98%	100%	100%	95%
6	100%	100%	100%	100%

[00050] La figura 1 ilustra las viscosidades resultantes de este ejemplo. La figura 1 muestra con claridad la característica de constitución de viscosidad rápida del sólido de BG novedoso descrito en la presente. Más específicamente, la figura 1 muestra la constitución rápida del sólido de BG novedoso descrito en la presente de al menos el 90 % de viscosidad final en solo dos pasadas, mientras que los otros materiales de BG requieren más pasadas para alcanzar la viscosidad final. Además, la tabla 4 proporciona el índice de filtrabilidad del sólido de BG descrito en la presente después de la cantidad de pasadas y, como se muestra, el índice de filtrabilidad siempre es inferior a 1.5.

[00051] La figura 2 muestra los datos de filtrabilidad para los materiales disponibles comercialmente (en los ejemplos 1 y 2) y los betaglucanos novedosos. El material disponible comercialmente descrito en el ejemplo 1 obstruyó el prefiltro antes de pasar 200 g para la prueba de filtrabilidad. El ejemplo 2 obstruyó el filtro de 1.2 micrones antes de pasar 180 g. Debido a que los materiales en los ejemplos 1 y 2 obstruyeron el

prefiltro y el filtro, el índice de filtrabilidad no se pudo cuantificar, sin embargo, se entenderá que si se hubiera cuantificado un índice de filtrabilidad, hubiera superado 1.5.

Tabla 4

	Tiempo (s)				
Pasada	60 g	80 g	160 g	180 g	FR
1	69	97	225	260	1.25
2	58	78	164	187	1.15
3	61	81	170	194	1.2
4	46	61	128	146	1.2
5	56	77	167	191	1.14
6	55	75	158	181	1.15

5

Ejemplo 5: producción de esquizofilano crudo

[00052] El esquizofilano crudo se produce mediante fermentación utilizando la colección de cultivos de IAM 9006: C-180. Tal como conoce el experto en la técnica, se cultivan algunos gramos de material en múltiples etapas para generar inóculo para la realización de fermentación de producción. Al dosificar nutrientes y azúcar similares como el fermentador principal, cada etapa inicial se realiza con transferencia activa de oxígeno hasta que se consume aproximadamente la mitad de la dextrosa. En estas escalas pequeñas, la fermentación es más difícil de diseñar y ejecutar según especificaciones precisas. El experto en la técnica controla el crecimiento y la contaminación para generar material suficiente para el 10 % del inóculo en el fermentador de producción.

10

15

[00053] El fermentador de producción es inoculado con agua, nutrientes y sustrato como se detalla en la tabla 5 a continuación. El fermentador es un recipiente de 15 litros que tiene 462 mm de altura, 202 mm de diámetro y cabezales elipsoidales. Para proporcionar un mezclado, el recipiente tiene un agitador con un elemento de mezcla Rushton cerca del fondo de 128 mm de diámetro y dos agitadores marinos más arriba que juntos miden 145 mm de diámetro. El agitador comienza a 200 rpm y asciende a 255 rpm en el transcurso de la fermentación que se muestra en la tabla 6 más abajo.

20

Durante la fermentación, se suministra aire a 0.8 VVM (volúmenes estándar de aire por volumen de líquido por minuto) y se controla la temperatura a 28 °C. La fermentación se detiene después de 95 horas con dextrosa residual entre 1 y 3 g/L. Los tiempos reales y la viscosidad y concentración finales dependen de la calidad del inóculo y los equipos específicos, pero la fermentación debe terminar con un poco de dextrosa para evitar una producción no deseada de enzimas que puedan consumir el sustrato de beta-glucanos.

Tabla 5

Ingrediente	Nombre del producto comercial	Masa (g)
Sustrato (azúcar)	Cargill C*Sweet D 02767	470
KH ₂ PO ₄	KH ₂ PO ₄	7
MgSO ₄	MgSO ₄	10.5
Harina de frijol Fava	CPX55	10
Mezcla de nutrientes	Rochette Solulys 048E (agua de maíz fermentado)	45
Aceite	Aceite de girasol	2.7
Antiespumante	Breviol D102K	4
Nitrógeno inorgánico	NaNO ₃	45
Agua	Agua	9000
Inóculo	Salida de cultivo en serie	1000

Tabla 6

Horas	Glucosa (g/l)	PH	Viscosidad (cP a 7.3 s ⁻¹)	BG + biomasa (g/L)	Agitador RPM
0	26.3	4.5			200
23	21.4	4.39			215
47	13	5.33	350	4.93	255
55	11	5.45	425	8.77	255
71	5.5	5.54	1260	16.96	255
78.5	4.2	5.56	1320	20.16	255
94.5	1.6	5.66	1880	27.51	255

[00054] Después de completar la fermentación, el caldo se inactiva por calor a 95 °C

durante 5 minutos. La solución se combina mientras se agita a 1:1 con el 90 % de IPA (alcohol isopropílico) para precipitar biomasa. Utilizando estameña para retener las fibras, el exceso de líquido se drena de las fibras. Las fibras luego se mezclan con un 90 % de IPA que es el 50 % del volumen de la solución de fermentación inicial. Utilizando estameña y 10 bar de presión, las fibras se drenan lo más posible de líquido. Después, se secan a 60°C en materia seca al 90 % (10 % de agua residual/IPA). Las fibras secas se molieron y se clasificaron con < 500 micrones para realizar el polvo de esquizofilano crudo mencionado en el ejemplo 6.

Ejemplo 6: constitución de viscosidad con esquizofilano crudo

[00055] Siguiendo el procedimiento de solubilización especificado, colocar 6 gramos por litro de polvo de esquizofilano crudo como se describe en el ejemplo 5 en solución. Después de mezclar, agregar la solución a Magic Lab® de IKA® en configuración UTL con una unidad de par rotor estator de 4M a 26,000 rpm. Medir la viscosidad usando un viscosímetro de LVT. Repetir el procesamiento a través de Magic Lab, midiendo la viscosidad con un viscosímetro de LVT cada pasada por un total de 6 pasadas. Este material tenía niveles muy elevados de biomasa y baja viscosidad, lo que dificultaba la solubilización. Se requería la limpieza de la unidad después de cada pasada. Los sólidos adheridos se rasparon y se volvieron a colocar en la solución líquida antes de alimentar la siguiente pasada a través de la unidad. La tabla 7 proporciona los resultados de la constitución de viscosidad, donde la constitución de viscosidad es el promedio de la viscosidad medida dividido por la viscosidad después de 6 pasadas por la unidad.

[00056] La figura 1 ilustra las viscosidades resultantes de este ejemplo. Tal como se muestra en la figura 1, el esquizofilano crudo no crea viscosidad tan rápido como el material de beta glucano solubilizado descrito en la presente.

Tabla 7

	Constitución de viscosidad promedio	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 12 rpm	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 30 rpm	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 60 rpm
Pasada				

1	17%	11%	15%	24%
2	18%	10%	16%	27%
3	25%	19%	21%	34%
6	100%	100%	100%	100%

Ejemplo 7: producción del material de beta glucano (esquizofilano) descrito en la presente

[00057] Utilizando un fermentador con manga de 15 litros, se calienta 15 g/L de esquizofilano crudo del ejemplo 5 a 80 °C durante una hora. Después de calentar, el material se alimenta a 70 °C a través de un homogeneizador de laboratorio (APV, modelo Lab 2000) en 200-250 bar, bajando a 50 °C durante el procesamiento. Después de la homogeneización, el material se diluye a 8 g/L con respecto a la dosificación original.

[00058] Luego, el material se pasa a través de una filtración gruesa en un filtro Gautier (modelo ALM 2) cubierto con membranas 25302 AN y con recubierto con agua a 85 °C para apuntar a una temperatura de solución de 80 °C dentro del filtro. Para ajustar el filtro, se mezcla 1.5 litros de caldo diluido con 72 g del filtro Dicalite 4158 y se calienta a 80 °C. La mezcla se coloca en el filtro Gautier y se aplica entre 0.1 y 1 barg de presión, aumentando a través de la filtración para mantener el flujo a 20-150 mL/min. Después del pasaje del 20 % del caldo diluido original, el filtro se abre nuevamente y este material se coloca otra vez en el Gautier. En este momento, todo el volumen se pasa a través del filtro. Este filtrado pasa a la 2° etapa de filtración.

[00059] La segunda etapa de filtración usa la misma configuración de los equipos de filtración pero con diferentes facilitadores de filtrado. Una mezcla de agua de 0.5 litros con 10 gramos de Dicalite se pasa dos veces para aplicar un recubrimiento previo al filtro. Una dosis de 5.33 g/L de DICS Clarcel ® y 6.667 g/L de CBL Clarcel ® se agrega al filtrado grueso y se agita durante una hora manteniendo la temperatura a 80 °C. Esta mezcla luego se agrega al Gautier y se pasa el 20 % del volumen. Este material se coloca nuevamente en el alojamiento de filtro. En este momento, se pasa todo el volumen a través del filtro y se aplica entre 0.1 y 1 barg de presión, aumentando a través de la filtración para mantener el flujo a 20-150 mL/min. Este filtrado pasa a la 3°

etapa de filtración.

[00060] La tercera filtración es una duplicación de la segunda filtración que utiliza el segundo filtrado en lugar del filtrado grueso para alimentar el material. El filtrado de esta etapa pasa a la precipitación de alcohol. Cuando se trabaja con grandes volúmenes de caldo, las tres etapas de filtración se realizan múltiples veces, mezclando todo el tercer material de filtrado antes de la precipitación.

[00061] Para precipitar y secar el material, la solución del tercer filtrado se combina mientras se agita a 1:1 con el 90 % de IPA (alcohol isopropílico) para precipitar biomasa. Utilizando estameña para retener las fibras, el exceso de líquido se drena de las fibras. Las fibras luego se mezclan con un 90 % de IPA que es el 50 % del volumen de la solución de fermentación inicial. Utilizando estameña y 10 bar de presión, las fibras se drenan lo más posible de líquido. Después, se secan a 60°C en materia seca al 90 % (10 % de agua residual/IPA) en un horno (modelo ULM 700 de Memmert). Las fibras secas se molieron y se clasificaron con < 500 micrones para realizar el material de beta glucano utilizado en el ejemplo 8.

Ejemplo 8: constitución de viscosidad con material de beta glucano solubilizado (esquizofilano) descrito en la presente

[00062] Utilizando el procedimiento de solubilización especificado, colocar 1 gramo por litro de material de beta glucano como se describe en el ejemplo 7 en solución. Después de mezclar, agregar la solución a Magic Lab® de IKA® en configuración UTL con una unidad de par rotor estator de 4M a 26,000 rpm. Medir la viscosidad usando un viscosímetro de LVT. Repetir el procesamiento a través de Magic Lab, midiendo la viscosidad con un viscosímetro de LVT cada pasada por un total de 6 pasadas. La tabla 8 proporciona los resultados de la constitución de viscosidad, donde la constitución de viscosidad es el promedio de la viscosidad medida dividido por la viscosidad después de 6 pasadas por la unidad.

[00063] La figura 1 ilustra las viscosidades resultantes de este ejemplo. Tal como se muestra en la figura 1, se muestra con claridad la característica de constitución de viscosidad rápida del material de beta glucano solubilizado (esquizofilano).

Pasada	Constitución de viscosidad promedio	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 12 rpm	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 30 rpm	Constitución de viscosidad medida en Brookfield a 60 rpm
1	44%	33%	43%	54%
2	122%	142%	113%	110%
3	110%	117%	107%	108%
6	100%	100%	100%	100%

[00064] El material de betaglucano esquizofilano descrito en la presente demostró una buena filtrabilidad después de 6 pasadas. El índice de filtrabilidad cuantificado es de 1.2, en función de 25 segundos para pasar entre 160 g y 180 g y 21 segundos para pasar entre 60 g y 80 g de material.

Ejemplo 9: pérdida de viscosidad después de la filtrabilidad

[00065] La tabla 9 proporciona una pérdida de viscosidad durante el procedimiento de filtración, es decir, la medida de viscosidad después del procedimiento de filtración en comparación con la viscosidad antes del procedimiento de filtración, de diversos materiales sometidos a seis pasadas como se describe en el procedimiento de solubilización especificado. Tal como puede observarse en la tabla 9, el escleroglucano (Actigum® CS6 y CS11) y el esquizofilano crudo disponibles comercialmente sufrieron una mayor pérdida de viscosidad que los materiales de beta glucano solubilizados (tanto escleroglucano como esquizofilano) descritos en la presente.

Tabla 6

Material	Pérdida de viscosidad
Actigum® CS6	26%
Actigum® CS11	14%
Material de escleroglucano (como se describe en la presente)	0%
Esquizofilano crudo	AP25 obstruido
Material de esquizofilano (como se describe en la presente)	3%