

SÓLIDOS DE BIOPOLÍMEROS SOLUBLES Y FILTRABLES

CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere la preparación de un material de beta glucano que cuando se solubiliza alcanza una filtrabilidad y una constitución de viscosidad deseadas para aplicaciones de recuperación de petróleo mejoradas.

ANTECEDENTES

Los beta glucanos se utilizan ampliamente como espesantes en aplicaciones de recuperación de petróleo (EOR, por sus siglas en inglés) mejoradas. Particularmente en aplicaciones marítimas, existe el deseo de utilizar dichos beta glucanos. No obstante, dada la cantidad limitada de existencias, es deseable recibir el beta glucano en forma sólida, solubilizar o volver a solubilizar rápidamente utilizando el agua disponible y la mínima cantidad de equipos, en donde el procedimiento de solubilización/resolubilización proporciona propiedades deseables, por ejemplo, filtrabilidad y viscosidad, que son necesarias para las operaciones de recuperación mejorada de petróleo. La principal desventaja del polímero de escleroglucano (un beta glucano) es su poca solubilización. Se han investigado y estudiado los métodos relacionados con este aspecto, si bien cada uno de estos métodos ha presentado limitaciones.

BREVE COMPENDIO

Se describe en la presente un material de beta glucano que comprende 1,3-1,6 beta glucano que cuando se solubiliza alcanza una relación de filtrabilidad que varía de 1 a 2, preferentemente, 1 a 1.5 y una relación de viscosidad que varía de 1.5 a 4. Los materiales de beta glucano solubilizados tienen propiedades de constitución de viscosidad y filtrabilidad deseadas para aplicaciones de EOR.

FIGURAS

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.

La figura 2 ilustra gráficamente la relación de filtrabilidad para los materiales de beta glucano disponibles comercialmente.

DEFINICIONES

5 «Tiempo de permanencia promedio» se define como el volumen de retención del elemento de corte dividido entre la velocidad de flujo promedio a través del elemento de corte en segundos.

«Peso molecular» se define como el peso molecular promedio en peso.

«Distribución de tamaño de partícula» se define como el diámetro mediano en masa del polvo de BG.

10 «Duración de corte» se define como el tiempo de permanencia promedio (en segundos) en el elemento de corte, multiplicado por la velocidad de corte (en segundos inversos).

«Sólido» se define como un sólido (es decir, ni un líquido ni un gas) en condiciones atmosféricas estándar. Para evitar dudas, el término «sólido» incluye polvos, tortas húmedas o prensadas y sólidos rodeados por una solución de alcohol o un líquido hidrófobo.

15 «Material de beta glucano solubilizado» se define como el material de beta glucano, en solución, obtenido una vez completado el procedimiento de solubilización.

«Viscosidad final» se define como la viscosidad medida a una velocidad de corte dada después de seis pasadas mediante un procedimiento de solubilización especificado.

20 «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.

25 «Relación de viscosidad» se define como la relación de viscosidad medida en un viscosímetro Brookfield DV2T (husillo 21) a seis revoluciones por minuto (rpm) en comparación con la medida a 60 rpm, donde la relación de viscosidad = $\text{cP @ 6rpm} / \text{cP @ 60 rpm}$ (cP = centipoise).

«Constitución de viscosidad» se define como la relación de viscosidad medida después de una pasada utilizando el procedimiento de solubilización especificado dividido entre la viscosidad final o la viscosidad medida después de 6 pasadas de solubilización.

En la presente se describe un material de beta glucano, que comprende 1,3-1,6 beta glucanos, que cuando se solubilizan, de acuerdo con un procedimiento de solubilización especificado, crea una viscosidad más rápida que los materiales de beta glucano existentes y disponibles en el mercado, proporciona una mayor filtrabilidad con un procesamiento mínimo que los materiales de beta glucano existentes y disponibles en el mercado y mantiene la viscosidad a través de pruebas de filtrabilidad.

Beta glucano

Los beta glucanos («BG») descritos en la en la presente incluyen polisacáridos clasificados como 1,3-1,6 beta-D-glucanos y modificaciones de estos. De acuerdo con aspectos de la presente, los beta glucanos comprenden una cadena principal a partir de unidades de glucosa enlazadas de forma glicosídica a beta-1,3, y grupos laterales que se forman a partir de unidades de glucosa y se enlazan a estas de forma glicosídica a beta-1,6.

De forma específica, el beta glucano descrito en la presente comprende una unidad de repetición definida como 3 unidades de glucosa enlazadas de forma glicosídica a beta-1,3 y una unidad lateral de glucosa de forma glicosídica a beta-1,6, generalmente conectadas a la glucosa beta-1,3 media. El beta glucano descrito en la presente comprende al menos 90 % de esta unidad de repetición en su cadena polimérica.

Los expertos en la técnica conocen las cepas de hongos que secretan estos glucanos. Los ejemplos comprenden *Schizophyllum commune*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotium glucanicum*, *Monilinla fructigena*, *Lentinula edodes* o *Botrygs cinera*. Las cepas fúngicas que se utilizan son preferentemente *Schizophyllum commune* o *Sclerotium rolfsii*.

Un beta glucano particularmente preferido para usar en la presente es el «escleroglucano» (o, un beta-D-glucano ramificado en el que 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, por ejemplo, hongos de *Sclerotium*).

Otro beta glucano particularmente preferido para usar en la presente es «esquizofilano» (un beta-D-glucano ramificado que tiene una ramificación de glucosa por cada tercer residuo de glucosa en la estructura beta-(1,3) producida a partir de, por ejemplo, el hongo *Schizophyllum commune*).

Material de beta glucano

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.

- 5 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 varía entre el 82 y el 92 % en peso. El material de beta glucano se encuentra en forma sólida.

- 10 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 en el mercado, sin embargo, la derivación del material de beta glucano no se limita a estos.

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

- 15 El material de beta glucano descrito en la presente tiene un contenido de humedad (es decir, contenido de agua) que varía 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 varía 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
20 demostrado que el intervalo de humedad descrito en la presente limita la adherencia y el crecimiento microbiano en el material de beta glucano.

- El material de beta glucano descrito en la presente tiene una distribución de tamaño de partícula en polvo que varía entre 10 y 1000 micrones. En aspectos preferidos, la distribución de tamaño de partícula varía entre 100 y 500 micrones. Además, al menos el 90 % del
25 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.

- El material de beta glucano descrito en la presente tiene propiedades únicas con respecto a los materiales de beta glucano disponibles en el mercado que se encuentran en la
30 técnica previa debido a que cuando se solubilizan, de acuerdo con el procedimiento de solubilización que se describe más adelante, el material de beta glucano descrito en la

presente alcanza una relación de filtrabilidad que varía de aproximadamente 1 a 2, preferentemente de aproximadamente 1 a 1.5 e incluso más preferentemente de aproximadamente 1 a 1.2. El experto en la técnica apreciará el deseo de tener una relación 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. La relación de filtrabilidad es una prueba común para determinar si un polímero tiene una inyectabilidad elevada deseable.

Solubilización

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, alcanza una relación de filtrabilidad inferior a aproximadamente 1.5, y más preferentemente una relación de filtrabilidad inferior a aproximadamente 1.2.

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 a las existencias limitadas típicamente disponibles en las aplicaciones de EOR marítimas.

Para comenzar la solubilización del material de beta glucano, este se coloca primero en solución a una concentración que varía entre aproximadamente 0.1 g/L y aproximadamente 10 g/L. 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 varían entre aproximadamente 6 y aproximadamente 7.5, y en condiciones de temperatura que varían entre aproximadamente 10°C y aproximadamente 120 °C, en aspectos preferidos entre 80 °C y 120 °C y en otros aspectos preferidos entre 20 °C y aproximadamente 40 °C. El material de beta glucano se puede dispersar inicialmente (incorporando el material de beta glucano en un líquido a granel) en agua salada o dulce y sometida a un mezclado suave (velocidad de corte inferior a 40,000/s) durante un período de tiempo inferior a cinco minutos.

De forma posterior al mezclado del material de beta glucano para dispersarlo en solución, el material de beta glucano puede someterse a un sistema de alto corte en línea. En

algunos aspectos, el sistema de alto corte comprende al menos un elemento de alto corte. En otros aspectos, el sistema de alto corte comprende al menos dos o al menos tres elementos de alto corte. En los aspectos en los que existen múltiples elementos de alto corte, los elementos de alto corte se encuentran en serie. El corte se puede aplicar mediante diversos enfoques que los expertos en la técnica conocen, incluido el movimiento de 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 velocidad elevada. El corte también se puede impartir por medio de un dispositivo que tiene partes móviles ajustables.

La velocidad de corte en la cual operan estos elementos de corte varía entre aproximadamente 40,000/s y 300,000/s, más preferentemente entre aproximadamente 100,000/s y 250,000/s, e incluso más preferentemente entre aproximadamente 170,000/s y 225,000/s. En los aspectos en los que existen múltiples elementos de alto corte dentro del sistema de alto corte en línea, la velocidad de corte se puede aumentar al menos un 25 % entre los elementos de corte. El tiempo de permanencia promedio en el cual el material de beta glucano se somete al corte es inferior a diez segundos, en algunos aspectos inferior a 5 segundos, y en otros aspectos inferior a 1 segundo. Asimismo, la duración del corte es inferior a 250,000. En algunos aspectos, el tiempo total desde el corte inicial hasta terminar el corte final es inferior a 5 minutos y, más preferentemente, inferior a 1 minuto. Este tiempo total incluye el tiempo transcurrido entre los elementos de corte.

Para disminuir el desperdicio del material de beta glucano luego de pasar una vez a través del sistema de alto corte, se puede reciclar menos que el 90 % en peso del material de beta glucano nuevamente a través del sistema de alto corte, y en aspectos preferidos, se puede reciclar menos que el 10 % en peso del material de BG nuevamente a través del sistema de alto corte.

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 sistema de corte. Es posible que se necesiten múltiples pasadas, por ejemplo, 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.

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. La viscosidad final según se describe en la presente oscila generalmente entre alrededor de 2 cP y alrededor de 1000 cP y, en aspectos preferidos, oscila entre alrededor de 50 cP y alrededor de 200 cP.

El procedimiento de disolución indicado no solo permite la constitución de viscosidad deseada, sino que también proporciona una mayor filtrabilidad con mínimo procesamiento, en comparación con los materiales de beta glucano existentes y disponibles en el mercado y mantiene la viscosidad durante todas las pruebas de filtrabilidad.

Adicionalmente, el material de beta glucano descrito en la presente tiene una relación de viscosidad que varía entre 1.5 y 4. En aspectos preferidos, la relación de viscosidad varía entre 3 y 4.

Además, el material de beta glucano solubilizado logra menos de 15 % de pérdida de viscosidad, en aspectos preferidos menos de 10 % de pérdida de viscosidad y en aspectos más preferidos menos de 5 % de pérdida de viscosidad.

Sistemas de tensioactivos

Los tensioactivos ya se han utilizado anteriormente en aplicaciones de EOR para potenciar la recuperación general de petróleo. 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 fuertes propiedades como tensioactivos, a que son relativamente estables, presentan una absorción relativamente baja en la roca del yacimiento y pueden elaborarse de manera económica. Los tensioactivos aniónicos típicos son sulfatos para aplicaciones de EOR a baja temperatura y sulfonatos, e incluso más específicamente hidrocarburos sulfonados, para aplicaciones de EOR a temperatura elevada. Los sulfonatos de petróleo crudo son productos de la sulfonación del petróleo crudo después de su reducción, los sulfonatos de petróleo son productos de la sulfonación de una corriente de refinería de peso molecular intermedio y los sulfonatos

sintéticos son productos de la sulfonación de un compuesto orgánico relativamente puro. Estos son todos ejemplos de tensioactivos que pueden utilizarse en la presente. Si bien no son tan deseables como los tensioactivos aniónicos, los tensioactivos catiónicos y no iónicos también pueden utilizarse principalmente como tensioactivos conjuntos 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

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 um 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 objetivo, 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. Continuar el proceso hasta 6 pasadas o hasta que las pasadas posteriores demuestren una viscosidad estable o una viscosidad levemente 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.

5

1. **Procedimiento de filtración** (usado para determinar la relación de filtrabilidad del beta glucano solubilizado). Comenzar con un material de beta glucano solubilizado realizado de acuerdo con el procedimiento de solubilización especificado anterior.

10

2. Ensamblar la cubierta del filtro de acero inoxidable Pall (4280) con un filtro AP25 de Millipore de 47 mm (AP2504700). Cerrar la salida de la cubierta del filtro hasta que esté listo para comenzar el flujo.

15

3. Pasar la solución a través del filtro a 100-300 ml/min de flujo.
4. Ensamblar la cubierta del filtro de acero inoxidable Pall (4280) con un filtro de éster celulósico EMD Millipore (pieza n.º RAWP04700) de 47 mm, 1.2 µm, con >200 mL de solución. Cerrar la salida de la cubierta del filtro hasta que esté listo para comenzar el flujo.

20

5. Colocar un recipiente en un equilibrio de masa para registrar la masa del material que pasa a través del filtro.
6. Aplicar presión al filtro.
7. Abrir la salida de la cubierta del filtro y ajustar el flujo a 1-3 g/s; ajustar la presión según sea necesario.
8. Luego de establecer el flujo, mantener una presión constante durante las pruebas de filtración.

25

9. Registrar el tiempo de flujo de 60 g, 80 g, 160 g y 180 g de solución a través del filtro utilizando la balanza.

10. Calcular la relación de filtrabilidad utilizando la ecuación de relación de filtrabilidad:

$$\frac{\text{Tiempo}(180g) - \text{Tiempo}(160g)}{\text{Tiempo}(80g) - \text{Tiempo}(60g)}$$

30

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.

1. Las mediciones de viscosidad se llevan a cabo en muestras desgasificadas utilizando un viscosímetro DV2T (husillo 21, 6-60 rpm) Brookfield, denominado asDV2T.
- 5 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

10 Ejemplo 1: Constitución de viscosidad con escleroglucano disponible en el mercado

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.

- 15 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.

- 20 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

25

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 %

5 **Ejemplo 2: Constitución de viscosidad con escleroglucano disponible en el mercado**

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.

10 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.

15

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 %

20

25

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.

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

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 durante una hora, calentar el recipiente hasta 85 °C y dejar en
10 agitación durante 12 horas sin control de temperatura. Después de 12 horas y con la temperatura en 41.3 °C, volver a calentar recipiente hasta 80 °C y pasarlo por un homogeneizador Guerin (ALM6; serie B 8250 30 000; año 1998) a 200 bar de presión y 300 l/h.

La mezcla homogeneizada se enfría hasta 50 °C. Se agregaron 4 g/L de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.
15 El pH se reduce a 1.81 con HCl al 20 %. Agitar la mezcla durante 30 minutos para permitir la precipitación del ácido oxálico.

Tras la maduración, volver a ajustar la solución hasta un pH de 5.62 con Na_2CO_3 al 10 %, calentar hasta 85 °C y dejar con agitación sin control de temperatura durante 14 horas, para luego volver a calentarla hasta 80 °C.

20 Después de alcanzar los 80 °C, agregar al recipiente 20 g/L del auxiliar de filtración Dicalite 4158 y mezclar durante 10 minutos.

Después de la mezcla, agregar la solución a un filtro de prensado limpio Choquenot de 12 m² con tela de filtro Sefar Fyltris 25080 AM a 1400 L/h y reciclar el producto en el tanque de suministro durante 10 minutos. Al final del reciclaje, ajustar el flujo en 1300 L/h y pasarlo
25 por el filtro. Una vez que el tanque se encuentra vacío, pasar otros 50 litros de agua al interior del filtro. Agregar el fluido de este enjuague con agua y una compresión de 12 bar de la torta al impregnante recogido. Limpiar el filtro después del uso.

Agitar el impregnante filtrado, el enjuague con agua y el fluido de compresión y volver a calentarlos hasta 80 °C.

30 Agregar 6 kg de Dicalite 4158 a la mezcla calentada y mezclar durante 10 minutos. Reciclar esta solución a 1400 L/h a través de un filtro de prensado Choquenot de 12 m² limpio

con telas de filtro Sefar Fyltris 25080 AM a 1400 L/h durante 15 minutos. Después del reciclaje, pasar el tanque por el filtro a 1400 L/h.

5 Sin limpiar el filtro, agregar 5.33 g/L de DICS Clarcel ® y 6.667 g/L de CBL Clarcel ® a la mezcla y agitar durante una hora manteniendo la temperatura en 80 °C. Luego reciclar la mezcla a través de un filtro de prensado Choquet de 12 m² recubierto de Dicalite con tela de filtro Sefar Fyltris 25080 AM a 1400 L/h durante 15 minutos. Después del reciclaje, pasar el tanque por el filtro a 1350 L/h. Pasar 50 litros de agua adicionales a través del filtro y recogerlos también como impregnante. No se debe capturar el fluido de compresión del filtro.

10 Calentar este material filtrado dos veces hasta 85 °C y dejarlo en agitación sin control de temperatura durante 14 horas. En este momento, volver a calentar el material hasta 80 °C para una tercera etapa de filtración.

15 Agregar 6 kg de Dicalite 4158 a la mezcla calentada y mezclar durante 10 minutos. Reciclar esta solución a 1400 L/h a través de un filtro de prensado Choquet de 12 m² limpio con telas de filtro Sefar Fyltris 25080 AM a 1400 L/h durante 15 minutos. Después del reciclaje, pasar el tanque por el filtro a 1450 L/h.

20 Sin limpiar el filtro, agregar 5.33 g/L de DICS Clarcel ® y 6.667 g/L de CBL Clarcel ® a la mezcla y agitar durante una hora manteniendo la temperatura en 80 °C. Luego reciclar la mezcla a través de un filtro de prensado Choquet de 12 m² recubierto de Dicalite con tela de filtro Sefar Fyltris 25080 AM a 1600 L/h durante 15 minutos. Después del reciclaje, pasar el tanque por el filtro a 1700 L/h. Pasar 50 litros de agua adicionales a través del filtro y recogerlos también como impregnante. No se debe capturar el fluido de compresión del filtro.

25 Enfriar el impregnante filtrado tres veces hasta 60 °C y mezclar con IPA al 83 % en una relación de 1:2, 2 g de solución de IPA por cada g de solución de escleroglucano. Esto precipita las fibras de escleroglucano, las cuales se pueden separar de forma mecánica de la solución en volumen. En este ejemplo, se utiliza un separador giratorio para separar las fibras precipitadas de la solución de líquido en volumen.

Luego de la recuperación de las fibras, lavarlas con otros 0.5 g de solución de IPA al 83 % por cada 1 g de la solución de escleroglucano impregnante de triple filtrado inicial.

30 Secar las fibras lavadas en un secador ECI (volumen de 100 litros; tipo 911-10; año 1987) con agua caliente a 95 °C durante 1 hora y 13 minutos para generar un producto con 89.3 % de materia seca. Moler este material y tamizarlo para proporcionar un polvo de tamaño

inferior a 250 micrones. Este material de escleroglucano molido final es el material de beta glucano que se describe en la presente y se usa en el Ejemplo 4.

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

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 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 %

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 la relación de filtrabilidad del sólido de BG descrito en la presente después de la cantidad de pasadas y, como se muestra, la relación de filtrabilidad siempre es inferior a 1.5.

La Figura 2 muestra los datos de filtrabilidad para los materiales disponibles comercialmente (en los ejemplos 1 y 2) y los beta glucanos 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, la relación de filtrabilidad no se pudo cuantificar, sin embargo, se entenderá que, si se hubiera cuantificado una relación 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

Ejemplo 5: Producción de esquizofilano crudo

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.

El fermentador de producción es inoculado con agua, nutrientes y sustrato como se detalla en la Tabla 5 que sigue 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. Durante la fermentación, se suministra aire a 0.8 VVM (volúmenes estándar de aire por volumen de líquido por minuto) y la temperatura se controla 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 comercial del producto	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 habas	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

17
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

5

10

15

20

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

25

30

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. Se mide la viscosidad usando un viscosímetro LVT. Se repite el procesamiento con Magic Lab, midiendo la viscosidad con un viscosímetro LVT para cada pasada en 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.

- 5 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

10

15

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	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

20 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.

25 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 mezclaron 1.5 litros de caldo diluido con 72 g de filtro Dicalite 4158 y se calentó hasta 80 °C. La mezcla se colocó en un filtro Gautier y se aplicó una presión de 0.1 a 1 barg, aumentando durante la

filtración para mantener el flujo a 20-150 mL/min. Después de la pasada 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.^a etapa de filtración.

5 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 agregó al filtrado grueso y se agitó durante una hora mientras se mantiene a una temperatura de 80 °C. Luego esta mezcla se
10 agrega al Gautier y se transfiere 20 % del volumen. Este material se coloca nuevamente en la cubierta del 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.^a etapa de filtración.

La tercera filtración es una duplicación de la segunda filtración que utiliza el segundo
15 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.

Para precipitar y secar el material, la solución del tercer filtrado se combina mientras se
20 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
25 (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

Utilizando el procedimiento de solubilización especificado, colocar 1 gramo por litro de
30 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. Se mide la viscosidad usando un viscosímetro LVT. Se repite el procesamiento con Magic Lab, midiendo la viscosidad con un viscosímetro LVT para cada pasada en 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.

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).

Tabla 5

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 %

El material de betaglucano esquizofilano descrito en la presente demostró una buena filtrabilidad después de 6 pasadas. La relación 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

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 (Tal como se describe en la presente)	0 %
Esquizofilano crudo	AP25 obstruido
Material de esquizofilano (Tal como se describe en la presente)	3 %

Ejemplo 10: Concentración de viscosidad y filtrabilidad con equipos de corte dinámico

Mediante el procedimiento de solubilización, colocar 1 g/L del material de BG que se describe en la presente (véase el Ejemplo 3 para la descripción del proceso) en 3 L de 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. Luego de cada pasada centrifugar la solución y medir la viscosidad en el Brookfield LVT. Reservar 220 mL para realizar pruebas de filtrabilidad. Repetir el procesamiento a través de Magic Lab y realizar muestras para determinar viscosidad un total de 6 pasadas. La Tabla 7 proporciona los resultados de la concentración de viscosidad y la Tabla 8 muestra la relación de filtrabilidad para la solución.

En función de la geometría de rotor y 26,000 rpm, el corte del sistema es de alrededor de $270,000 \text{ s}^{-1}$.

5

Tabla 7 - Concentración de viscosidad

10

Solución	Constitución de viscosidad		Constitución de viscosidad		Constitución de viscosidad	
	de	de	de	de	de	de
	Constitución de viscosidad promedio	viscosidad medida en Brookfield a 12 rpm	viscosidad medida en Brookfield a 30 rpm	viscosidad medida en Brookfield a 60 rpm		
Alimentación	9 %	3 %	9 %	14 %		
Pasada 1	58 %	49 %	58 %	66 %		
Pasada 2	85 %	77 %	87 %	92 %		
Pasada 3	98 %	93 %	98 %	102 %		
Pasada 4	94 %	87 %	95 %	100 %		
Pasada 5	91 %	84 %	93 %	98 %		
Pasada 6	88 %	77 %	89 %	97 %		

15

20

Tabla 8 - Relación de filtrabilidad

25

Salida de pasadas	Relación de filtrabilidad
Pasada 1	2.52
Pasada 2	1.91
Pasada 3	1.23
Pasada 4	1.19
Pasada 5	1.15
Pasada 6	1.31

30

Ejemplo 11: Viscosidad y filtrabilidad utilizando baja velocidad de corte

Preparar solución de agua de mar sintética utilizando agua desionizada y sales marinas de Sigma Aldrich (S9883) a 30 g/l de sal. Agitar el agua en una placa de agitación, agregar sales marinas, permitir que se agite hasta que no haya sólidos visibles. Filtrar el agua salada a través de un filtro EMD Millipore mezclado con éster de celulosa de 0.8 μm .

- 5 Ensamblar el aparato de acuerdo con la Prueba de Corte Capilar 6.6.2 de la Práctica Recomendada (RP, por sus siglas en inglés) 63 del Instituto Americano del Petróleo (API, por sus siglas en inglés). Utilizar un tubo capilar de 0.05" de diámetro y 20 cm de largo.

- 10 Preparar 3.5 kg de solución. Pesar el agua de mar sintética y el polímero adecuados para producir una concentración de material de beta glucano final de 1 g/L (utilizando material de beta glucano del Ejemplo 3). Agitar el agua marina sintética en una placa de agitación para formar un vórtice. Espolvorear lentamente el material de beta glucano en el hombro del vórtice durante 2 a 3 minutos, con cuidado de no crear grumos. Dejar que se agite en la placa de agitación durante 5 minutos.

- 15 Agregar el material de beta glucano, en solución, al tanque McMaster-Carr 41705K39. Sellar el tanque y presurizar hasta alcanzar la presión deseada (de acuerdo con la Tabla 8). Abrir la válvula en la descarga del tanque y medir la velocidad de flujo de la solución de beta glucano a medida que fluye hacia afuera del tanque. Utilizar la ecuación de API RP 63, 6.6.2.3 para calcular la velocidad de corte a medida que la solución pasa a través del capilar. «Pasada» que se enumera en la Tabla 9 se refiere a la cantidad de veces que este proceso se repite en la presión dada. Por ejemplo, la muestra 10 psi/30,000 s⁻¹ se agregó al tanque, se presurizó y se hizo pasar a través del capilar 6 veces. La «muestra» que se lista en la Tabla 8 describe el orden del proceso. Es decir, la muestra se procesó por 6 pasadas a 30,000 s⁻¹ de corte, la viscosidad y filtrabilidad se midieron. Luego se procesó por 2 pasadas a 65,000 s⁻¹ de corte, la viscosidad y filtrabilidad se midieron nuevamente, y así sucesivamente. La viscosidad y filtrabilidad también se presentan en la Tabla 9. La viscosidad se midió utilizando un viscosímetro Brookfield LVT a 30 rpm y 21-23°C.
- 25

- 30 La relación de filtrabilidad a diferentes velocidades de corte confirma la necesidad de > 40,000 s⁻¹ para lograr un beta glucano solubilizado inyectable deseable. En particular, a la menor velocidad de corte de 30,000 s⁻¹ la solución se hizo pasar por el equipo 6 veces y aún tenía una relación de filtrabilidad deficiente y menor viscosidad que a velocidades de corte mayores.

Tabla 9

Muestra n.º	Presión (psi)	Corte (s-1)	Pasada	Viscosidad (cP)	Relación de filtrabilidad
1	10	30,000	6	28	2.74
2	30	65,000	2	36	1.56
3	50	90,000	2	34	1.48
4	80	114,000	2	34	1.27
5	120	140,000	2	32	1.32
6	180	168,000	2	30	1.29