

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 596 656**

51 Int. Cl.:

**C12P 19/04** (2006.01)

**C08B 37/00** (2006.01)

**B01D 61/14** (2006.01)

**B01D 63/06** (2006.01)

**B01D 65/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.12.2010 PCT/EP2010/069518**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.07.2011 WO11082973**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.12.2010 E 10790953 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2016 EP 2513324**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de homopolisacáridos**

30 Prioridad:

**17.12.2009 EP 09179716**

**17.12.2009 US 287224 P**

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

**11.01.2017**

73 Titular/es:

**WINTERSHALL HOLDING GMBH (100.0%)**

**Friedrich-Ebert-Strasse 160**

**34119 Kassel, DE**

72 Inventor/es:

**THERRE, JÖRG;**

**VOSS, HARTWIG;**

**SCHMIDT, JULIA KRISTIANE;**

**FAUST, TILLMANN y**

**HOLLMANN, RAJAN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 596 656 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la preparación de homopolisacáridos

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de soluciones acuosas de glucanos con una cadena principal  $\beta$ -1,6-glicosídicamente ligada y grupos laterales  $\beta$ -1,6-glicosídicamente unidos a la misma por fermentación de cepas fúngicas, que secretan los glucanos mencionados en el caldo de fermentación, en un medio nutritivo acuoso, realizándose la separación de glucanos del caldo de fermentación con el uso de membranas de filtro asimétricas.

10 En los yacimientos petrolíferos, el petróleo se encuentra en las cavidades de rocas de almacenamiento porosas que están aisladas de la superficie terrestre por capas de cobertura impermeables. En el caso de las cavidades puede tratarse de cavidades muy finas, capilares, poros o similares. Los cuellos de poro fino pueden tener, por ejemplo, un diámetro de solo aproximadamente 1  $\mu$ m. Además del petróleo, incluyendo fracciones de gas natural, un yacimiento contiene agua que contiene más o menos sal.

En la extracción de petróleo, se hace una distinción entre la extracción primaria, secundaria y terciaria.

15 En la extracción primaria, después de perforar el yacimiento, el petróleo fluye por sí mismo debido a la presión propia del yacimiento por sí mismo a través del pozo de sondeo a la superficie. Sin embargo, en general solo de aproximadamente 5-10 % de la cantidad de petróleo presente en el yacimiento, dependiendo del tipo de yacimiento, puede extraerse por medio de extracción primaria, después de que la presión propia no sea suficiente para la extracción.

20 Por lo tanto la extracción secundaria se usa después de la extracción primaria. En el caso de la extracción secundaria, además, se perforan los pozos de sondeo en la formación que contiene petróleo, además de los pozos que sirven para producción del petróleo, los denominados pozos de producción. El agua y/o vapor son forzados en el yacimiento a través de estos denominados pozos de inyección con el fin de mantener o incrementar de nuevo la presión. Forzando en el agua, el petróleo es forzado lentamente a través de las cavidades en la formación, partiendo del pozo de inyección, en la dirección del pozo de producción. Sin embargo, esto funciona solo mientras que las cavidades están completamente llenas de petróleo y el agua empuja el petróleo más viscoso en la parte frontal del mismo. Tan pronto como el agua de baja viscosidad penetra a través de cavidades, fluye a partir de este instante a lo largo de la trayectoria de menor resistencia, es decir, a través del canal formado entre los pozos de inyección y los pozos de producción y ya no empuja el petróleo en la parte frontal del mismo. Por regla general, solo de aproximadamente el 30 al 35 % de la cantidad de petróleo presente en el yacimiento puede extraerse por medio de extracción primaria y secundaria.

25 Se sabe que el rendimiento de petróleo puede incrementarse además por medidas de extracción de petróleo terciaria. La extracción de petróleo terciaria incluye procedimientos en los que se usan productos químicos adecuados como agentes auxiliares para la extracción de petróleo. Estos incluyen la denominada "inundación polimérica". En la inundación polimérica, una solución acuosa de un polímero que tiene un efecto espesante se fuerza en lugar de agua a través de los pozos de inyección en el yacimiento de petróleo. Forzando en la solución de polímero, el petróleo se fuerza a través de dichas cavidades en la formación, partiendo del pozo de inyección, en la dirección del pozo de producción y el petróleo finalmente se extrae a través del pozo de producción. Debido a la alta viscosidad de la solución polimérica, que se adapta a la viscosidad del petróleo, la solución polimérica ya no puede, o al menos no tan fácilmente, romperse a través de cavidades como es el caso del agua pura.

35 Una multiplicidad de diferentes polímeros solubles en agua se ha propuesto para la inundación polimérica, en concreto tanto polímeros sintéticos, tales como, por ejemplo, poli(acrilamidas o copolímeros que contienen acrilamida y otros momentos y también polímeros solubles en agua de origen natural.

40 Los polímeros espesantes adecuados para la extracción de petróleo terciaria deberán cumplir una serie de requerimientos especiales. Además de una viscosidad suficiente, los polímeros también deberán ser térmicamente muy estables y retener su efecto espesante aún a altas concentraciones de sales.

45 Una clase importante de polímeros de origen natural para inundación polimérica la constituyen los homopolisacáridos ramificados obtenidos de glucosa. Los polisacáridos de unidades de glucosa también se denominan glucanos. Los homopolisacáridos ramificados mencionados tienen una cadena principal de unidades de glucosa  $\beta$ -1,3 ligadas, de las cuales, en términos estadísticos, aproximadamente cada tercera unidad está  $\beta$ -1,6-glicosídicamente ligada con una unidad de glucosa adicional. Las soluciones acuosas de dichos homopolisacáridos ramificados ventajosamente tienen propiedades fisicoquímicas, de manera que son particularmente adecuadas para la inundación polimérica.

50 Los homopolisacáridos de la estructura mencionada se secretan por varias cepas fúngicas, por ejemplo, por Basidiomycet Schizophyllum commune, que exhibe crecimiento filamentoso y, durante el crecimiento, secreta un homopolisacárido de la estructura mencionada con un peso molecular típico  $M_w$  de aproximadamente 5 a aproximadamente  $25 \cdot 10^6$  g/mol (nombre trivial esquizofilano). Los homopolisacáridos de dicha estructura que se secretan por Sclerotium rolfsii además pueden ser mencionados (nombre trivial: escleroglucanos).

Es importante que la inundación polimérica que la solución polimérica acuosa usada para este propósito no comprenda ninguna partícula de gel u otras partículas pequeñas. Ya un pequeño número de partículas con dimensiones en el rango micrométrico pueden bloquearse los poros finos en la formación de petróleo y por lo tanto al menos complicar o incluso detener la extracción de petróleo. Los polímeros para la extracción de petróleo terciaria deberán tener por lo tanto una proporción tan pequeña como sea posible de partículas de gel u otras partículas pequeñas.

Para el uso de la inundación polimérica, por lo tanto es importante que las soluciones de los homopolisacáridos mencionados estén sustancialmente libres de células y fragmentos de células, dado que de lo contrario pueden bloquear la extracción de petróleo, lo que complica la obtención del petróleo o incluso lo hace imposible. La denominada relación de Filtración de Millipore (Millipore filtration ratio; valor de MPFR) se puede usar como una característica para una buena calidad de una solución polimérica. En este sentido se determina la manera en la cual la resistencia al filtro cambia en el curso de tiempo durante el filtrado de una solución.

Se conocen procedimientos para la preparación de homopolisacáridos ramificados de unidades de glucosa  $\beta$ -1,3-ligadas.

Los documentos EP 271 907 A2, EP 504 673 A1 y DE 40 12 238 A1 describen procedimientos para la preparación, en concreto, la preparación se efectúa por fermentación discontinua del hongo *Schizophyllum commune* con agitación y aireación. El medio nutritivo se compone esencialmente de glucosa, extracto de levadura, dihidrogenofosfato de potasio, sulfato de magnesio y agua. El documento EP 271 907 A2 describe un procedimiento para aislar el polisacárido, en el cual la suspensión de cultivo se centrifuga en primer lugar y el polisacárido se precipita del sobrenadante con isopropanol. Un segundo procedimiento comprende una filtración de presión seguido por una ultrafiltración de la solución obtenida, sin que se hayan divulgado detalles del procedimiento.

“Udo Rau, “Biosynthese, Produktion und Eigenschaften von extrazellulären Pilz-Glucanen”, Habilitationsschrift, Technische Universität Braunschweig, 1997, páginas 70 a 95”, describe la preparación de esquizofilanos por fermentación continua o discontinua. Los esquizofilanos pueden ser separados por medio de filtración de flujo transversal (loc. cit., página 75). Para separar la masa celular, se sometieron a prueba distintas membranas de acero fino con anchos de poro de 0,5  $\mu$ m, 2  $\mu$ m, 10  $\mu$ m y 20  $\mu$ m. Con membranas de 2  $\mu$ m, sin embargo, solo se obtuvieron pequeñas tasas de permeación con una solución que contenía 0,5 g/l de glucano y 0,5 g/l de biomasa seca. Además, permanecieron los fragmentos de hifa en una concentración de aproximadamente 0,1 g/ml. Un segundo paso de clarificación ultrafina por lo tanto es propuesto (loc. cit. Página 94). Un procedimiento de este tipo es muy complicado y además son muy costosas las membranas de acero fino.

“Udo Rau, Biopolymers, Editor A. Steinbüchel, Volumen 6, páginas 63 a 79, WILEY-VCH Publishers, New York, 2002”, describe la preparación de esquizofilanos por fermentación continua o discontinua. La centrifugación y microfiltración de flujo se recomiendan para recuperar el esquizofilano con células y libre de fragmentos celulares (loc. cit. Página 78, sección 10.1). Allí se propone para la microfiltración de flujo transversal, el uso de membranas de acero fino sinterizadas con un tamaño de poro de 10  $\mu$ m. Por lo tanto el permeato obtenido, sin embargo, deberá ser purificado de nuevo por medio de diafiltración y, si es necesario, además ser purificado por medio de microfiltración de flujo transversal (loc. cit. Página 78, sección 10.2). Dicho procedimiento es muy complicado y además son muy costosas las membranas de acero fino.

“GIT Frachzeitung Labor 12/92, páginas 1233-1238” describe una preparación continua de  $\beta$ -1,3-glucanos ramificados con reciclado celular. En primer lugar, una filtración de flujo transversal por medio de membranas de acero fino que tienen un tamaño de poro de 200  $\mu$ m se propone para separar los  $\beta$ -1,3-glucanos de la circulación de fermentación. El permeato que contiene polímero obtenido, sin embargo, aún está contaminado con grandes cantidades de fragmentos celulares y deberá purificarse subsiguientemente en un segundo paso. Una filtración de lecho profundo usando un filtro de lecho profundo de fibra de vidrio, una filtración de presión y tres etapas y la centrifugación se proponen para este fin. Como un procedimiento adicional para la segunda etapa de purificación, los autores han investigado sin éxito la filtración de flujo transversal de las membranas de cerámica. Como resultado de sus ensayos, se da la conclusión de que la microfiltración de flujo transversal no es adecuada para la separación celular de suspensiones de cultivo de alta viscosidad que contienen micelio. El permeato obtenido finalmente se purifica subsiguientemente en una tercera etapa de purificación por medio de diafiltración. Sin embargo, dicho procedimiento de tres etapas, sin embargo, es muy complicado y consecuentemente no es adecuado para un procedimiento de producción industrial.

El documento WO 03/016545 A2 divulga un procedimiento continuo para la preparación de escleroglucanos usando *Sclerotium rolfisii*. Para la purificación, una filtración de flujo transversal usando filtros de acero fino con un tamaño de poro de 20  $\mu$ m con una velocidad de flujo de transmembrana de al menos 7 m/s. Sin embargo, un filtro de 20  $\mu$ m no es suficiente para separar partículas muy pequeñas.

Es cierto que en principio la separación de las partículas finas puede mejorarse por el uso de membranas de filtro más finas. Con la disminución de tamaño de poro, sin embargo, las membranas de filtro crecientemente también retienen los glucanos en una forma no deseada, en particular las fracciones que tienen pesos moleculares muy

altos. Además, las membranas más finas requieren presiones de filtro superior y el peligro de que el hongo pueda someterse a un exceso de carga mecánica por lo tanto se incrementa. Se pretende evitar la destrucción y lisis de células, debido a que el polímero que será preparado será contaminado de esta manera.

5 Además, por razones de economía, la concentración de las soluciones de glucano acuosas obtenidas deberán ser tan altas como sea posible, es decir, en primer lugar deberán poder usar tan poca fermentación de plantas como sea posible y en segundo lugar deberán asegurarse a tan poco esfuerzo en el transporte como sea posible para transportar las soluciones de glucano acuosas del sitio de producción al lugar de uso. Por razones económicas, se deberá esforzar para obtener una concentración de al menos 3 g/l de glucano. Las soluciones de glucano con dicha alta concentración tienen viscosidad muy alta y además tienen una viscosidad estructural alta. Dichas soluciones son difíciles de filtrar. Cuanto mayor es la concentración, más difícil es el paso de filtración.

10 Era objetivo de la presente invención proporcionar un procedimiento económico para la preparación de soluciones de  $\beta$ -1,3-glucanos ramificados, debiendo tener las soluciones una calidad suficiente para usarse en la extracción de petróleo terciaria. Además de una alta viscosidad específica, las soluciones deberán tener en particular un contenido de células y fragmentos de células tan bajos como sea posible. Con los filtrados, se deberán lograr valores de especificación de capacidad de filtrado de MPFR < 2,5 con filtros de Isopore de 1,2  $\mu$ m. Consecuentemente, se descubrió un procedimiento para la preparación de soluciones acuosas de glucanos con una cadena principal  $\beta$ -1,3-glicosídicamente ligada y grupos laterales  $\beta$ -1,6-glicosídicamente unidos a la misma, el procedimiento comprendiendo la fermentación de cepas fúngicas, que secretan glucanos de dicha estructura, en un medio nutritivo acuoso y posterior separación de una solución acuosa del glucano formado del caldo de fermentación acuosa que contiene glucanos y biomasa por microfiltración de flujo transversal, el que la concentración de los glucanos en el caldo de fermentación que va a filtrarse asciende a al menos 3 g/l, y en el que para la microfiltración de flujo transversal se emplean membranas de filtro asimétricas que comprenden al menos una capa de un material de soporte y al menos una capa de separación, ascendiendo el tamaño de poro de la capa de separación a de 1  $\mu$ m a 10  $\mu$ m y el tamaño de poro del material de soporte a de 5  $\mu$ m a 100  $\mu$ m, con la condición de que el tamaño de poro del material de soporte sea al menos 1  $\mu$ m mayor que el tamaño de poro de la capa de separación, y ascendiendo la velocidad de flujo del flujo transversal a de 0,2 m/s a 20 m/s y la presión transmembrana a de 0,1 a 10 bar.

#### Lista de Figuras

Figura 1: representación esquemática de un aparato de filtración preferido.

Figura 2: representación esquemática del aparato usado para los ensayos y ensayos comparativos.

30 Con respecto a la invención, se expone en detalle lo siguiente;

Por "glucanos" entiende el experto homopolisacáridos que están compuestos exclusivamente de unidades de glucosa. Por medio del procedimiento de acuerdo con la invención, se prepara una clase específica de glucanos, en concreto aquellos que comprenden una cadena principal de unidades de glucosa  $\beta$ -1,3-glicosídicamente ligadas y grupos laterales unidos  $\beta$ -1,6-glicosídicamente a la misma de unidades de glucosa. Preferentemente, los grupos laterales consisten en una única unidad de glucosa unida  $\beta$ -1,6-glicosídicamente, en donde, en términos estadísticos, cada tercera unidad de la cadena principal está ligada  $\beta$ -1,6-glicosídicamente con una unidad de glucosa adicional.

Las cepas fúngicas que secretan glucanos de este tipo son conocidas por el experto. Los ejemplos comprenden Schizophyllum commune, Sclerotium rolfsii, Sclerotium glaucanicum, Monilinia fructigena, Lentinula edodes o Botrytis cinera. Las cepas fúngicas adecuadas además se mencionan, por ejemplo, en los documentos EP 271 907 A2 y EP 504 673 A1, en cada caso en la reivindicación 1. Preferentemente, las cepas fúngicas usadas son Schizophyllum commune o Sclerotium rolfsii y de manera particularmente preferente Schizophyllum commune, que secreta un glucano en el cual, en una cadena principal de unidades de glucosa ligadas  $\beta$ -1,3-glicosídicamente, en términos estadísticos, cada tercera unidad de la cadena principal está ligada  $\beta$ -1,6-glicosídicamente con una unidad de glucosa adicional; es decir, el glucano preferentemente es el denominado esquizofilano. Los esquizofilanos típicos tienen un peso molecular promedio en peso  $M_w$  de aproximadamente 5 a aproximadamente  $25 \cdot 10^6$  g/mol.

En un primer paso del procedimiento, los hongos se fermentan en un medio nutritivo acuoso adecuado. En el curso de la fermentación, los hongos secretan la clase mencionada anteriormente de glucanos en el caldo de fermentación acuoso.

50 Los procedimientos para la fermentación de dichas cepas fúngicas se conocen en principio por el experto, por ejemplo, por los documentos EP 271 907 A2, EP 504 673 A1, DE 40 12 238 A1, WO 03/016545 A2 y "Udo Rau, "Biosynthese, Produktion und Eigenschaften von extrzellulären Pliz-Glucanen", Habilitationsschrift, Technische Universität Braunschweig, 1997", que en cada caso menciona también medios nutritivos adecuados.

55 De acuerdo con la invención, los hongos pueden cultivarse, por ejemplo, en un medio nutritivo acuoso a una temperatura de 15 °C a 40 °C, preferentemente de 25 a 30 °C y, por ejemplo, a aproximadamente 27 °C, preferentemente con aireación y movimiento, por ejemplo, usando un agitador.

En el procedimiento de acuerdo con la invención, la fermentación preferentemente deberá operarse en tal forma que la concentración de los glucanos que van a prepararse sea de al menos 3 g/l en el caldo de fermentación que será filtrado. El límite superior en principio no está limitado. Depende de la viscosidad que aún puede manejarse por el aparato de fermentación usado en cada caso.

5 Finalmente, una solución acuosa que contiene glucanos se separa por microfiltración de flujo transversal del caldo de fermentación que contiene glucanos disueltos y biomasa (células fúngicas con o sin constituyentes celulares) , un caldo de fermentación acuoso en el cual la biomasa tiene una concentración superior que permanecieron de antemano.

10 En una forma de realización del procedimiento, la fermentación se lleva a cabo en un recipiente de fermentación y el contenido del tanque de fermentación después de la fermentación se filtra de acuerdo con la invención con el uso de membranas de filtro asimétricas. En una forma de realización adicional de la invención, la fermentación se lleva a cabo en una planta adecuada que comprende al menos un recipiente de fermentación. El caldo de fermentación se remueve continuamente o de vez en cuando de la planta a través de una corriente lateral y una solución acuosa que contiene glucanos se separa de la misma por microfiltración de flujo transversal. El caldo de fermentación acuoso  
15 restante en el cual la biomasa tiene una concentración superior que de antemano puede ser reciclado parcialmente al recipiente de fermentación.

El procedimiento de microfiltración de flujo transversal se conoce en principio por el experto y se describe, por ejemplo, en "Melin, Rautenbach, Membranverfahren, Springer-Verlag, 3ª edición, 2007, página 309 a página 366". En este sentido, una persona experta en la materia entiende por "microfiltración" la separación de partículas que  
20 tienen un tamaño entre aproximadamente 0,1 µm a aproximadamente 10 µm.

En la filtración de flujo transversal, se aplica una corriente del líquido que será filtrado, por ejemplo, por una bomba de circulación adecuada, paralela a la superficie de membrana usada como material de filtración. Por lo tanto una corriente líquida fluye continuamente sobre la membrana de filtro y la formación de depósitos en la superficie de la membrana se previene o al menos se reduce. En principio, todos los tipos de bomba son adecuados como la  
25 bomba. Debido a la alta viscosidad del medio que será transportado, sin embargo, en particular las bombas de desplazamiento positivo particular y muy particularmente bombas de tornillo excéntricos y bombas de pistón giratorio han probado ser útiles.

De acuerdo con la invención, se usan membranas de filtro asimétricas para la microfiltración de flujo transversal. Las membranas de filtro asimétricas consisten en al menos dos capas diferentes que tienen diferente tamaño de poro, es decir, al menos una capa de soporte y una capa separada. La capa de soporte es relativamente gruesa y tiene poros relativamente grandes. Imparte la resistencia mecánica a la membrana de filtro. Al menos una capa de separación que tiene poros más finos de manera que los poros de la capa de soporte se aplican a la capa de soporte. Por ejemplo, la porosimetría de mercurio puede usarse en una forma conocida en principio para medir los tamaños de poro. Opcionalmente, una o más capas intermedias también pueden disponerse entre la capa de separación y la  
30 capa de soporte.

Las membranas asimétricas, por ejemplo, pueden ser membranas metálicas o membranas de cerámica. Las membranas asimétricas usadas preferentemente son membranas de cerámica asimétricas. Los detalles en membranas de cerámica asimétricas se describen, por ejemplo, en "Melin, Rautenbach, Membranverfahren, Springer-Verlag, 3ª edición, 2007, página 51 a la página 52".

40 El cuerpo de la membrana de cerámica o metálica se produce del material de soporte. Las formas adecuadas de estos cuerpos de membrana se conocen por el experto y se eligen por la persona experta en la materia de acuerdo con el diseño del aparato de filtro. Pueden formarse, por ejemplo, como una membrana plana o membrana tubular. Las membranas planas son estructuras similares a discos. Las membranas tubulares son estructuras tubulares que tienen un canal (membrana de un solo canal) o una pluralidad de canales (membrana de múltiples canales). El diámetro interno de los canales de membranas tubulares es por regla general de 1 mm a 25 mm, en particular de 2  
45 mm a 12,5 mm. Los canales no necesariamente son de forma redondea, sino irregulares, tales como, por ejemplo, polígonos que tienen vértices redondeados, también son posibles. Las membranas tubulares son por regla general de entre 0,1 y 5 m de largo, preferentemente de 0,5 a 2 m. Las membranas tubulares de 1 m a 1,2 m de longitud son comercialmente disponibles. También es posible que una pluralidad de membranas tubulares sean dispuestas una  
50 detrás de la otra o en paralelo una de la otra, opcionalmente también en alojamientos diferentes, los denominados módulos de membrana.

En el caso de membranas de filtro de cerámica, el material de soporte consiste en un material inorgánico poroso, tal como, por ejemplo, óxido de aluminio, óxido de silicio, carburo de silicio, óxido de zirconio, óxido de titanio o mezclas de estas sustancias. En el caso de membranas metálicas, el metal concrecionado, tal como, por ejemplo, acero fino, Hastelloy, Inconel o titanio, se usan como material de soporte. Las combinaciones de materiales, por ejemplo, de soportes de metales concrecionados y capas de separación de cerámica, también son posibles. En el caso de membranas de un solo canal o membranas planas, el material de soporte es por regla general de 0,05 a 10 mm de grosor, preferentemente entre 1 mm y 5 mm.

El uso de membranas de múltiples canales se prefiere particularmente, en el caso de membranas de múltiples canales, el material de soporte forma un cuerpo de moldeo, por ejemplo, un cuerpo de moldeo redondo o hexagonal, en el cual se conducen los canales mencionados antes, el diámetro externo de dicho cuerpo de moldeo para membranas de múltiples canales es por regla general de 5 mm a 100 mm, preferentemente de 10 mm a 50 mm.

- 5 En el procedimiento de acuerdo con la invención para la preparación de glucanos con una cadena principal ligada  $\beta$ -1,3-glicosídicamente y los grupos laterales que tienen un enlace  $\beta$ -1,6-glicosídico en la solución, el tamaño de poro del material de soporte es de 5  $\mu\text{m}$  a 100  $\mu\text{m}$ , preferentemente de 7  $\mu\text{m}$  a 100  $\mu\text{m}$  y particularmente de preferencia de 10  $\mu\text{m}$  a 60  $\mu\text{m}$ .

- 10 Dichos valores en cada caso son de tamaño de poro D90. El término "D90 de tamaño de poro" se conoce para el experto. Se determina desde una curva de distribución de tamaño de poro del material de soporte, el "tamaño de poro D90" siendo el tamaño de poro en el cual el 90 % del volumen de poro del material tiene un tamaño de poro  $\leq$  D90. La distribución de tamaño de poro de un material puede determinarse, por ejemplo, por medio de porosimetría de mercurio y/o procedimientos de adsorción de gases. Estos procedimientos son conocidos en principio para el experto y se describen, por ejemplo, en las normas relevantes ISO 15901-1 EN, ISO 15901-2 EN e ISO 15901-3 EN.

- 15 Opcionalmente, una o más capas intermedias pueden aplicarse al material de soporte. La capa de soporte u opcionalmente las capas intermedias presentes o siguen por una capa de separación. El tamaño de poro promedio de la capa de separación es de 1 a 10  $\mu\text{m}$ , preferentemente de 1  $\mu\text{m}$  a 6  $\mu\text{m}$  y particularmente de preferencia de 2  $\mu\text{m}$  a 6  $\mu\text{m}$ . Los valores, como se describió antes, son tamaños de poro D90.

- 20 Los tamaños de poro de la capa de soporte y de la capa de separación se eligen en cada caso por la persona experta en la materia y de manera que el tamaño de poro de la capa de soporte es al menos 1  $\mu\text{m}$  mayor que la capa de separación. Preferentemente, el tamaño de poro de la capa de soporte al menos es 5  $\mu\text{m}$  mayor que el de la capa de separación, particularmente de preferencia al menos 10  $\mu\text{m}$  y, por ejemplo, al menos 20  $\mu\text{m}$ .

- 25 La capa de separación y las capas intermedias pueden consistir, por ejemplo, de óxido de aluminio, óxido de silicio, carburo de silicio, óxido de zirconio, óxido de titanio, mezclas de estas sustancias o aleaciones de metales. No es necesario para la capa de separación, las capas intermedias y el material de soportes sean producidos de las mismas sustancias; con frecuencia, precisamente la combinación de diferentes sustancias es ventajosa.

- 30 El grosor de las capas intermedias opcionalmente presentes es de 1  $\mu\text{m}$  a 500  $\mu\text{m}$ . El grosor promedio de la capa de separación es por regla general de 1  $\mu\text{m}$  a 50  $\mu\text{m}$ , preferentemente de 5  $\mu\text{m}$  a 200  $\mu\text{m}$ . Las capas intermedias tienen tamaños de poros que están entre el tamaño de poro respectivamente elegido del material de soporte y el tamaño de oro de la capa de separación.

Para llevar a cabo el procedimiento de acuerdo con la invención, las membranas de filtro asimétricas se instalan en aparatos de filtro adecuado. Los diseños de aparatos de filtro adecuado se conocen en principio por el experto. Es ventajoso si la capa de separación está presente entre el material de soporte y espacio de concentrados, sin que la invención sea limitada al mismo.

- 35 De preferencia, las membranas tubulares pueden usarse para llevar a cabo el procedimiento de acuerdo con la invención. En el caso de membranas tubulares, el concentrado se pasa preferentemente a través del interior del canal o de los canales y el permeato consecuentemente emerge hacia afuera a través de las paredes del material de soporte en el espacio permeado. Es menos preferible si el concentrado está presente fuera del canal o los canales y el permeado se recoge en el interior del canal o los canales.

- 40 Las membranas tubulares se pueden usar como denominados elementos de un solo canal. Sin embargo, se prefiere el uso de elementos de múltiples canales. Estos elementos tienen la ventaja del área de membrana mayor en combinación con el requerimiento del mismo espacio, la instalación más simple y por lo tanto sustancialmente costos de capitales inferiores, -en el caso de estos elementos de membranas, sin embargo, el permeado deberá penetrar el cuerpo de soporte total con el fin de emerger del elemento de la membrana. En el caso de sustancias que tienen viscosidad estructural, la viscosidad es particularmente alta a bajas velocidades de flujo, que hace el paso de una solución de glucano a través del cuerpo de soporte más difícil. Por lo tanto se presumirá que, debido a la trayectoria larga y el flujo más complicado del permeado a través del cuerpo de soporte, los elementos de múltiples canales no pueden ser adecuados para la filtración de soluciones esquizofílicas.

- 50 Sin embargo, se ha encontrado que, a pesar de la alta viscosidad y propiedad de viscosidad estructural del permeato, el uso de elementos de múltiples canales es posible y los flujos de alta permeabilidad pueden lograrse aún a presiones transmembrana bajas.

- 55 De acuerdo con la invención, la velocidad de flujo del flujo transversal deberá ser de 0,2 m/s a 20 m/s, preferentemente de 0,5 m/s a 7 m/s y particularmente de preferencia de 1 m/s a 6 m/s. Una velocidad de flujo que es muy baja es desventajosa dado que la membrana rápidamente se bloquea; debido a la cantidad larga de concentrado que será circulado, una velocidad de flujo que es muy alta da origen a costos altos innecesariamente.

La presión transmembrana es por regla general de 0,1 bar a 10 bar, preferentemente de 0,5 bar a 6 bar y muy particularmente de 1 bar a 4 bar.

5 La temperatura a la cual la microfiltración de flujo transversal se lleva a cabo no es crítica y es por regla general de 5 °C a 150 °C, preferentemente de 10 a 80 °C y particularmente de preferencia de 15 a 40 °C. Si las células serán separadas no serán muertas, por ejemplo, en procedimientos con reciclado de la biomasa, la temperatura deberá ser de 15 °C a 40 °C.

10 Una forma de realización preferida de una unidad de filtro será usada de acuerdo con la invención como se muestra en la Figura 1. El aparato preferido comprende una bomba de circulación P, un módulo de filtro F y un intercambiador de calor W. Por medio de la bomba P, el flujo transversal mencionado antes del líquido sobre la superficie de la membrana dispuesta en el aparato de filtro F se produce. El contenido de planta puede ser termooestable por medio de un intercambiador de calor W.

15 El aparato de filtro F consiste en un alojamiento en el cual una membrana se introduce como una división. El alojamiento se divide por la membrana en un denominado espacio concentrado y un espacio de permeado. El líquido que llega de la bomba P, denominado como alimentación, si la solución de glucano, que está contaminado con la biomasa. La alimentación entra al espacio de concentrado vía al menos una alimentación. Una corriente de líquidos, denominada como un concentrado, emerge de nuevo desde el espacio de concentrado a través de al menos una descarga. La presión en el espacio de concentrado es superior que la presión en el espacio de permeado. La diferencia de presión se denomina como presión transmembrana. Una parte de la corriente de alimentación pasa a través de la membrana y recoge el espacio permeado. Esta parte del líquido que pasa a través, 20 denominado como un permeado, es la solución de glucano separada de la biomasa.

25 En una forma de realización adicional de la invención, se pueden obtener fuerzas de alto esfuerzo cortante sobre la superficie de la membrana usando partes internas de rotación o hacen girar la propia membrana. En este caso, el término filtración de flujo transversal dinámico también se usa. Los aparatos para llevar a cabo una microfiltración de flujo transversal son conocidos para el experto y pueden adquirirse, por ejemplo, bajo el nombre de módulo DynaMem de Buss-SMS-Cancler GmbH, Düren. Con el uso de dicho aparato de microfiltración de flujo transversal dinámico, las membranas de cerámica asimétricas descritas se usan en forma de disco.

30 El tiempo de operación de la planta de filtración de membrana opcionalmente puede prolongarse por lavado posterior regular con permeado. Para este fin, una presión que es superior que la presión en el espacio de retentato se aplica a intervalos regulares en el espacio de permeado y cierta cantidad de permeado se fuerza hacia atrás a través de la membrana en el espacio del concentrado durante un tiempo definido. Este lavado posterior puede efectuarse, por ejemplo, forzando el nitrógeno en el espacio de permeado, por una bomba de lavado posterior o por el uso de un sistema de pistón, como se vende, por ejemplo, bajo el nombre "BACKPULSE DECOLMATERUR BF 100" por Pall, Bad Kreuznach. El lavado posterior deberá efectuarse a intervalos de 1 minuto a 5 horas, preferentemente a un intervalo de 2 minutos a 60 minutos, sin que se pretenda limitar la invención a este ciclo de tiempo. La cantidad de permeado de lavado posterior preferentemente está en el rango de 0,05 a 5 litros por m<sup>2</sup> de área de membrana, pero preferentemente en la escala de 0,1 a 2 litros por m<sup>2</sup> de área de membrana. 35

40 Dependiendo de la calidad de la descarga de fermentación usada, puede ser necesario limpiar las membranas de filtro usadas en un tiempo apropiado. La limpieza de las membranas de filtro puede efectuarse tratando las membranas con una solución de limpieza adecuada a una temperatura de 20 °C a 100 °C, en particular de 40 °C a 80 °C. Los ácidos (ácidos minerales, tales como, por ejemplo, ácido fosfórico, ácido nítrico, o ácidos orgánicos, tales como, por ejemplo, ácido fórmico) pueden usarse como solución de limpieza. La concentración de ácido, por regla general, está a una concentración del 1 % en peso al 10 % en peso. Se logran mejores efectos de limpieza por regla general por el uso de álcalis (por ejemplo solución de hidróxido de sodio, solución de hidróxido de potasio). La concentración de álcalis usados es del 0,1 % en peso al 20 % en peso. Por la adición de sustancias de oxidación, 45 tales como, por ejemplo, peróxido de hidrógeno, hipoclorito, en particular hipoclorito de sodio, o ácido peracético, el efecto de limpieza puede ser sustancialmente mejorado. La concentración de las sustancias oxidantes deberá ser del 0,5 % en peso al 10 % en peso, en particular del 1 % en peso al 5 % en peso. La limpieza particularmente puede llevarse a cabo preferentemente con una mezcla de peróxido de hidrógeno y lejía o peróxido de hidrógeno e hipoclorito. La limpieza de las membranas se efectúa durante el corte de planta, preferentemente en el estado 50 instalado en la planta de filtración de membrana, con la ayuda de un sistema de limpieza en el lugar (sistema de CIP). Se ha probado que es útil llevar a cabo la limpieza de membranas de filtro tan pronto como una cantidad de permeado de 50 kg por m<sup>2</sup> de área de membrana a 5000 kg de permeado por m<sup>2</sup> de área de membrana se ha obtenido, de preferencia de 50 kg de permeado por m<sup>2</sup> de área de membrana a 1000 kg de permeado por m<sup>2</sup>.

55 Por medio del procedimiento de acuerdo con la invención, una solución de glucanos teniendo una cadena principal ligada β-1,3-glicosídicamente y grupos laterales que tienen un enlace β-1,6-glicosídico al mismo que es adecuado para producción de petróleo terciario puede prepararse de una manera sencilla.

Las membranas asimétricas usadas de acuerdo con la invención son económicas. Debido a los flujos de alto permeado, la planta de membrana requiere bajos costos de capital y tiene un bajo consumo de energía. Las membranas asimétricas tienen largas vidas de servicio.

La buena calidad del producto es evidente de las propiedades de buena filtración, que se expresan por la relación de baja filtración (valor de MPFR). El valor de MPFR del producto es de entre 1,001 y 2,5, pero en particular entre 1,01 y 2,0.

5 El rendimiento de esquizofilano, es decir, la cantidad de esquizofilano, es decir que puede recuperarse de la descarga de fermentación, con base en la cantidad de esquizofilano presente en la descarga de fermentación, es del 25 % al 97 %, en particular del 30 % al 95 % y muy particularmente de preferencia del 50 % al 93 %.

El rendimiento de glucano opcionalmente se puede incrementar por el procedimiento de diafiltración usando agua, que se conoce por el experto.

Los siguientes ejemplos ilustrarán en detalle la invención:

10 Determinación de la relación de filtración (valor de MPFR)

Principio de medición:

En la determinación de la relación de filtración de Millipore (valor de MPFR), la cantidad de filtrado que opera a través de un filtro definido se determina como una función de tiempo. El valor de MPFR se determina de acuerdo con la siguiente fórmula (I)

15 
$$MPFR = (t_{190g} - t_{170g}) / (t_{70g} - t_{50g}) \quad (I),$$

en donde las variables en la ecuación tienen el siguiente significado:

20  $t_{190g}$  = tiempo en el que se obtienen 190 g de filtrado,  
 $t_{170g}$  = tiempo en el que se obtienen 170 g de filtrado,  
 $t_{70g}$  = tiempo en el que se obtienen 70 g de filtrado,  
 $t_{50g}$  = tiempo en el que se obtienen 50 g de filtrado.

25 Por lo tanto, en cada caso se determina el tiempo que se requiere para que en cada caso fluyan 20 g de filtrado, es decir, en un tiempo temprano y en un tiempo tardío en el procedimiento de filtración y se calcula el cociente de los dos tiempos. Mientras mayor sea el valor de MPFR, mayor será la velocidad de filtración desacelerada con duración creciente del procedimiento de filtración. Esto indica bloqueo creciente del filtro, por ejemplo, por geles o partículas.

El valor de MPFR se determina por el siguiente procedimiento:

1. Equipo

- 30 a) Aparato de filtración por presión Sartorius 16249; diámetro de filtro 47 mm; con cilindro de digestión de 200 ml ( $\varnothing_i = 41$  mm)  
 b) Membrana de Isopore 1,2  $\mu$ m;  $\varnothing$  47 mm; n.º RTTP04700  
 c) balanza

2. Preparación de solución de glucano

35 En primer lugar, 50 g de una mezcla de la solución de glucano obtenida de los ensayos y agua ultrapura se preparan, es decir, en una relación de manera que la concentración del glucano sea de 1,75 g/l. La mezcla se agita durante 10 minutos y se examina visualmente para determinar su homogeneidad. Si la mezcla aún no es homogénea, se efectúa agitación adicional hasta que la mezcla sea homogénea. La mezcla se realiza a una cantidad total de 250 g con 200 g de agua ultrapura. Por lo tanto, la agitación se efectúa durante al menos 1 h para homogenización, después de lo cual el pH se ajusta a 6,0 con NaOH 0,1 M y la agitación se efectúa de nuevo durante 15 minutos. El pH de 6,0 se examina de nuevo. La concentración final del glucano en la mezcla es de 0,35 g/l.

3. Realización del ensayo de filtración

La prueba de filtración se efectúa a temperatura ambiente ( $T = 25$  °C) a una presión de 1,0 bar (aire comprimido o  $N_2$ ).

- 45 - colocar una rejilla de soporte gruesa en la base de tamiz  
 - colocar rejilla de soporte fino en la base de tamiz  
 - colocar filtro de membrana en la parte superior  
 - insertar sello (anillo en O)  
 - atornillar la base de tamiz al cilindro  
 - cerrar la tapa externa  
 50 - introducir 220 g (aproximadamente 220 ml) de solución



- atornillar cubierta superior al cilindro
  - sujetar tubo de entrada de aire
  - revisar presión y ajustar a 1,0 bar
  - colocar vaso de precipitados en la balanza bajo el aparato de filtración. Presionar la tara.
- 5
- abrir tapa externa
  - el ensayo se detiene cuando no sale más filtrado.

Por medio de la balanza se determina la cantidad de filtrado como una función de tiempo. La masa indicó en cada caso que puede leerse visualmente pero dese luego también automáticamente y fue evaluada.

#### Retención.

- 10 La retención R se usa para caracterizar el comportamiento de separación de la membrana (véase Melin, Rautenbach, loc. cit., página 6).

$R=1$  - (concentración de glucano en el permeato) en un tiempo dividido por la concentración de glucano en la concentración en este tiempo.

- 15 Dado que el glucano se obtiene como permeato, la retención deberá ser tan baja como sea posible. En el caso de microfiltración, la retención es por regla general mayor que el 0 %. Dado que la retención puede cambiar en el transcurso del tiempo, se establece una retención promedio con el tiempo como la característica.

Con las membranas de filtro usadas de acuerdo con la invención, se obtuvieron retenciones menores al 60 %, en casos ventajosos aún menores al 30 %. Esto significa que el glucano puede recuperarse sustancialmente del caldo de fermentación.

- 20 Factor de concentración:

En la concentración del caldo de fermentación, el factor de concentración MK es una cantidad importante. Se define como la relación de la masa del caldo de fermentación usado en el tiempo cero dividido por la masa del caldo de fermentación al final del aislamiento de glucano. El factor de concentración deberá ser tan grande como sea posible.

- 25 Con el procedimiento de acuerdo con la invención, los factores de concentración hasta 15, en casos ventajosos se puede lograr incluso hasta 30.

#### **Ejemplo Comparativo**

Filtración con una membrana de filtro simétrica.

- 30 El aparato de filtración de flujo transversal usado se muestra en la Figura 2. Consistía en un receptor de doble camisa agitado B1 que tiene un volumen de 120 litros, la bomba de tornillo excéntrica P1, el intercambiador de calor de haces de tubos W1, la válvula de alivio de presión V1 y los dos módulos de filtro F1 y F2. Los módulos de filtro F1 y F2 se lavaron de nuevo con permeato por medio de las válvulas de tres vías V3 y V4 en intervalos de 300 s en cada caso y con 200 ml en cada caso de permeato y la presión de nitrógeno fue de 7 bar. El contenido de la planta de filtración de flujo transversal se enfrió a 24 °C mediante la camisa doble del recipiente B1 y el intercambiador de calor W1.

- 35 En los módulos F1 y F2 de filtro, se usó una membrana tubular simétrica, es decir, un elemento de 5 canales de TAMI de ATZ cerámica (alúmina/titania/zirconia).

- 40 El tamaño de poro D90 de la membrana fue 3,5 µm. La membrana tuvo una estructura simétrica y no tiene la capa de separación o capas intermedias. La longitud del tubo de membrana fue de 1 m y el diámetro externo fue de 200 mm. El área de membranas de un elemento de módulo fue de 0,11 m<sup>2</sup>. El diámetro hidráulico de un canal fue de 6 mm.

- 45 Se usó *Schizophyllum commune* para los ensayos, es decir, esquizofilano como se describió en "Udo Rau, Biopolymers, editor A. Steinbüchel, WILEY-VCH Publishers, Volumen 6, páginas 63 a 79" se preparó en una fermentación discontinua. El tiempo de fermentación fue de 96 horas. Se introdujeron 99,6 kg de este caldo de fermentación (= alimentación) en el recipiente B1 (fig. 2) y circuló durante 45 minutos a presión de 4 bar a un régimen de circulación de 7 m<sup>3</sup>/h por medio de la bomba P1. El contenido del recipiente se analizó y se determinó un contenido de 9,8 gramos de esquizofilano por litro.

- 50 El régimen de circulación se estableció a 5,1 m<sup>3</sup>/h y una presión transmembrana de 1,1 bar aplicada. La velocidad de flujo de transmembrana fue de 5 m/s. El permeato que emerge del módulo del filtro se recogió y pesó. Durante los primeros 10 minutos del ensayo, se obtuvieron 0,75 kg de permeato. Esto corresponde a un flujo de permeato de 20,4 kg/h/m<sup>2</sup>. La presión transmembrana fue de 2,9 bar. La filtración se operó durante 16 horas y se obtuvieron 6,18 kg de permeato en este tiempo. Dentro de la última hora, fue posible obtener solo 5,4 g de permeato dado que las membranas se bloquearon virtualmente por completo.

El permeato recogido se analizó y se encontró un contenido de glucano de 6,7 gramos por litro. El rendimiento por lo tanto fue de 4 %. El valor de MPFR del permeato fue de 2,8 y la retención promedio de glucano durante el ensayo fue de 32 %. El factor de concentración solo fue de 1,07.

**Ejemplo de acuerdo con la invención 1**

5 Filtración con una membrana de filtro asimétrica.

De nuevo, se usó el aparato de filtración de flujo transversal descrito en el Ejemplo 1. Los módulos de filtro F1 y F2 se lavaron de nuevo con permeato por medio de válvulas de tres vías V3 y V4 a intervalos de 120 s en cada caso con cada caso de 200 ml de permeato y la presión del nitrógeno fue de 4 bar. El contenido de la planta de filtración de flujo transversal se enfrió a 22 °C por la doble camisa del recipiente B1 y el intercambiador de calor W1.

10 Una membrana tubular asimétrica que comprende SIC se usó en los módulos de filtro F1 y F2, es decir, un elemento de 37 canales (moldeo "CRYSTAR, Tipo FT 3000" de St Gobain). El tamaño de poro D90 de las membranas fue de 3,0 µm. La longitud del tubo de membrana fue de 1 m y el diámetro externo fue de 32 mm. El área de membrana de un elemento de módulo fue de 0,42 m<sup>2</sup>. El diámetro hidráulico de un canal fue de 3,4 mm.

15 La descarga de fermentación descrita en el Ejemplo 1 se usó para los ensayos. 115 kg de este caldo de fermentación (= alimentación) se introdujeron en el recipiente B1 y circuló durante 50 minutos a una presión de 4 bar y un régimen de circulación de 7 m<sup>3</sup>/h por medio de la bomba P1. El contenido del recipiente se analizó y se determinó un contenido de 8,7 gramos de esquizofilano por litro.

20 Por lo tanto, el régimen de circulación se ajustó a 4,1 m<sup>3</sup>/h y se aplicó una presión transmembrana de 1,1 bar. La velocidad de flujo de transmembrana fue de 1,7 m/s. El permeato que emerge del módulo de filtro se recogió y pesó. 50 minutos después de iniciar el desprendimiento de permeato, se añadieron 25 kg de caldo de fermentación al recipiente B1. 16 horas y 20 minutos después de iniciar al desprendimiento de permeato, se añadieron 40 kg de lado de fermentación al recipiente B1 y el régimen de circulación se ajustó a 6,5 m<sup>3</sup>/h. Hasta este momento, se han obtenido 77 kg de permeato. Esto corresponde a un flujo de permeato promedio de 5,6 kg/m<sup>2</sup>/h. Después de 20 horas debido al inicio del ensayo, se añadieron 55 kg adicionales de caldo de fermentación al recipiente B1. 25 Después de 22,5 horas después del inicio del ensayo, se recogieron 109 kg de permeato en el recipiente del permeato. El permeato fue analizado.

El valor de MPFR del permeato en este primer paso de filtración fue de 1,3. El contenido de esquizofilano fue de 6,9 gramos por litro (retención promedio hasta este tiempo del 26 %) y la viscosidad a 7/s fue de 1380 mPa.s.

30 El recipiente de recogida para el permeato ahora fue cambiado, se añadieron 20 kg adicionales de caldo de fermentación al recipiente B1 y la filtración se operó durante 19,5 h adicionales. En este tiempo, se obtuvieron 85 kg adicionales de permeato. Esto corresponde a un flujo de permeato promedio de 5,1 kg/h/m<sup>2</sup>.

Se analizó el permeato recogido durante el segundo paso de filtración. El valor de MPFR fue 1,2 y el contenido de esquizofilano fue de 7,8 gramos por litro (retención promedio sobre el ensayo total del 29 %) y la viscosidad a 7/s fue de 1560 mPa.s.

35 El rendimiento sobre los pasos de filtración por lo tanto fue del 64 %. El factor de concentración fue de 4,2.

Discusión

En la siguiente Tabla 1 se recogen de nuevo los valores del ejemplo comparativo y del ejemplo.

Tabla 1

	Ejemplo Comparativo	Ejemplo 1	
		1ª etapa	2ª etapa
Valor de MPFR	2,8	1,3	1,2
Retención	32 %	26 %	29 %
Factor de concentración	1,07	4,2	
Rendimiento	4 %	64 %	

40 Los ensayos muestran que el producto filtrado de acuerdo con la invención contiene sustancialmente menos constituyentes que pueden bloquear el filtro de 1,2 µm durante la determinación del valor de MPFR. Con el procedimiento de acuerdo con la invención, en caldo de fermentación puede concentrarse a un grado mayor. El rendimiento del procedimiento de acuerdo con la invención sustancialmente es superior y además la retención en el ejemplo de acuerdo con la invención usando membranas de filtro asimétricas es sustancialmente inferior en la comparación con las membranas de filtro simétricas.

45

**Ejemplo de acuerdo con la invención 2**

Filtración con una membrana de filtro asimétrica

De nuevo, se usó el aparato de filtración de flujo transversal descrito en el Ejemplo 1. Sin embargo, el aparato se equipó para permear el lavado posterior, con dos sistema de pistones "BACKPULSE DECOLMATEUR BF 100" (véase la Figura 3, posiciones B3 y B4). Los módulos de filtro F1 y F2 se lavaron de nuevo con permeato por medio de las válvulas de bola V3 y V4 a intervalos de 900 s en cada caso con 100 ml de permeato y la presión del nitrógeno fue de 10 bar.

La doble camisa que rodea el recipiente B1 y el intercambiador de calor W1 se usaron para controlar la temperatura del contenido de la unidad de filtración de flujo transversal de 29 °C a 30 °C.

Una membrana tubular asimétrica que comprende alúmina se usó en los módulos de filtro F1 y F2, es decir, elemento de 19 canales (modelo "MEMBRALOX, Tipo EP 1940" de la empresa Pall). El tamaño de poro D90 de las membranas fue de 5,0 µm. El tamaño de poro D90 del material de soporte fue de 12 µm. La longitud del tubo de membrana fue de 1020 mm. El tubo de membrana tiene la forma de un hexano con esquinas redondeadas, la distancia entre dos esquinas opuestas siendo de 31 mm y la distancia entre dos bordes opuestos siendo de 28 mm. El área de membrana de un elemento de módulo fue de 0,24 m<sup>2</sup>. El diámetro de un canal fue de 4 mm.

Para los ensayos se usó una descarga de fermentación preparada como se describió en el ejemplo comparativo con un contenido de 8,3 gramos de esquizofilano por litro. Al inicio de los ensayos, se introdujeron 100 kg de este caldo de fermentación (= alimentación) en el recipiente B1, el régimen de circulación de la bomba P1 se fijó en 2,8 m<sup>3</sup>/h y se aplicó una presión transmembrana de 0,9 bar. La velocidad de flujo de transmembrana fue de 1,6 m/s. El permeato que salía de los módulos de filtro se recogió y pesó. 20 minutos después del inicio del desprendimiento del permeato, se añadieron 41 kg de caldo de fermentación al recipiente B1. 10 horas y 35 minutos después del inicio del desprendimiento del permeato, la presión transmembrana se elevó a 1,8 bar. El desprendimiento del permeato se interrumpió. Hasta este momento, se habían obtenido 100,6 kg de permeato. Esto corresponde a un flujo de permeato medio de 19,8 kg/m<sup>2</sup>/h. El permeato fue analizado. El valor de MPFR del permeato en este primer paso de filtración fue de 1,7. El contenido de esquizofilano fue de 6,3 gramos por litro.

El recipiente de recogida para el permeato se cambió, se añadieron 107 kg adicionales de caldo de fermentación recipiente B1 y se ajustó la presión transmembrana a 1,2 bar. Después de 7 horas y 55 minutos desde el inicio de este segundo paso de filtración se habían obtenido 24,3 kg de permeato. Esto corresponde a un flujo de permeato promedio de 6,4 kg/m<sup>2</sup>/h. El análisis del permeato en este paso de filtración dio un valor de MPFR de 1,6 y un contenido de esquizofilano de 7,4 gramos por litro.

El recipiente de recogido para el permeato ahora fue cambiado y la filtración operada durante 15 horas adicionales. En este tiempo, se obtuvieron 47,2 kg adicionales de permeato, la presión transmembrana se elevó a 1,5 bar. El flujo de permeato promedio fue de 6,6 kg/m<sup>2</sup>. Se analizó el permeato recogido durante el tercer paso de filtración. El valor de MPFR fue de 2,2, el contenido de esquizofilano fue de 7,7 gramos por litro.

El rendimiento de glucano en los tres pasos de filtración fue del 57 %, el factor de concentración fue de 3,3 y la retención fue del 28 %.

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de soluciones acuosas de glucanos con una cadena principal  $\beta$ -1,3-glicosídicamente ligada y grupos laterales unidos  $\beta$ -1,6-glicosídicamente a la misma, que comprende la fermentación de cepas fúngicas que secretan glucanos de la estructura mencionada, en un medio de cultivo acuoso, y posterior separación de una solución acuosa del glucano formado del caldo de fermentación acuoso que contiene glucanos y biomasa por microfiltración de flujo transversal, en donde la concentración de los glucanos en el caldo de fermentación que va a filtrarse asciende a al menos 3 g/l, **caracterizado porque** para la microfiltración de flujo transversal se emplean membranas de filtro asimétricas que comprenden al menos una capa de un material de soporte y al menos una capa de separación, ascendiendo el tamaño de poro de la capa de separación a de 1  $\mu$ m a 10  $\mu$ m y el tamaño de poro del material de soporte a de 5  $\mu$ m a 100  $\mu$ m, con la condición de que el tamaño de poro del material de soporte sea al menos 1  $\mu$ m mayor que el tamaño de poro de la capa de separación, y ascendiendo la velocidad de flujo del flujo transversal a de 0,2 m/s a 20 m/s y la presión transmembrana a de 0,1 a 10 bares.
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** el tamaño de poro del material de soporte es al menos 5  $\mu$ m mayor que el tamaño de poro de la capa de separación.
3. Procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizado porque** la fermentación se efectúa a una temperatura de 15 a 40 °C con aireación y movimiento.
4. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado porque** en el caso de las cepas fúngicas se trata de *Schizophyllum commune* o *Sclerotium rolfsii*.
5. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** se emplean membranas de filtro asimétricas cerámicas.
6. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** se emplean membranas de filtro metálicas asimétricas.
7. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado porque** como membranas de filtro asimétricas se emplean elementos de múltiples canales.
8. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado porque** las membranas de filtro asimétricas se someten a retrolavado de manera regular.
9. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado porque** la fermentación se lleva a cabo en una instalación que comprende al menos un recipiente de fermentación, extrayendo la instalación a través de una corriente lateral caldo de fermentación que comprende biomasa y glucano, a partir de ahí se separa una solución acuosa de glucanos por medio de microfiltración de flujo transversal y recirculándose al menos una parte del caldo de fermentación restante, que contiene biomasa, de nuevo al recipiente de fermentación.
10. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 9, **caracterizado porque** las membranas se limpian a intervalos regulares con una mezcla de peróxido de hidrógeno y lejía, con la condición de que se realice la limpieza en cada caso tan pronto como se haya alcanzado una cantidad de permeato de 50 kg por m<sup>2</sup> de área de membrana hasta 5000 kg por m<sup>2</sup> de área de membrana desde la anterior limpieza respectiva.
11. Procedimiento de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 10, **caracterizado porque** las membranas se limpian a intervalos regulares con una mezcla de hipoclorito y lejía, con la condición de que limpieza se realice en cada caso tan pronto como se haya alcanzado una cantidad de permeato de 50 kg por m<sup>2</sup> de área de membrana hasta 5000 kg por m<sup>2</sup> de área de membrana desde la anterior limpieza respectiva.

Figura 1

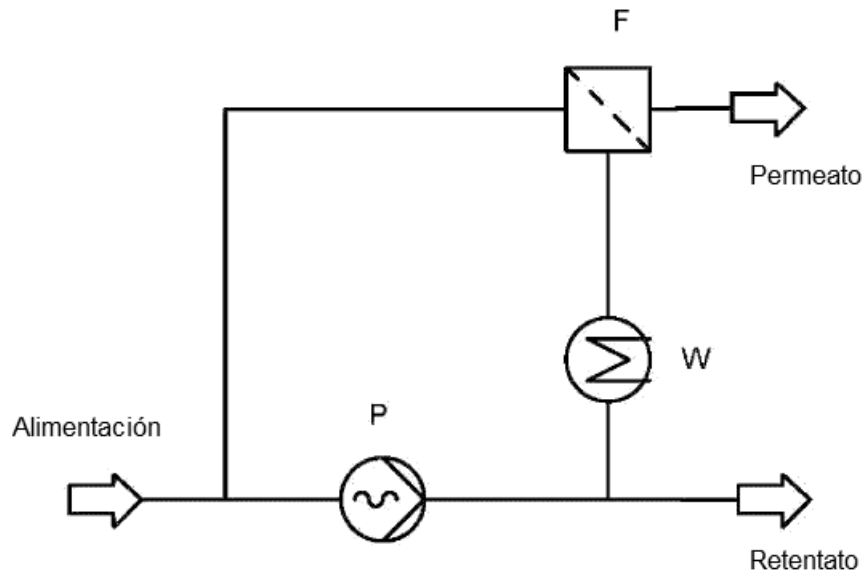


Figura 2

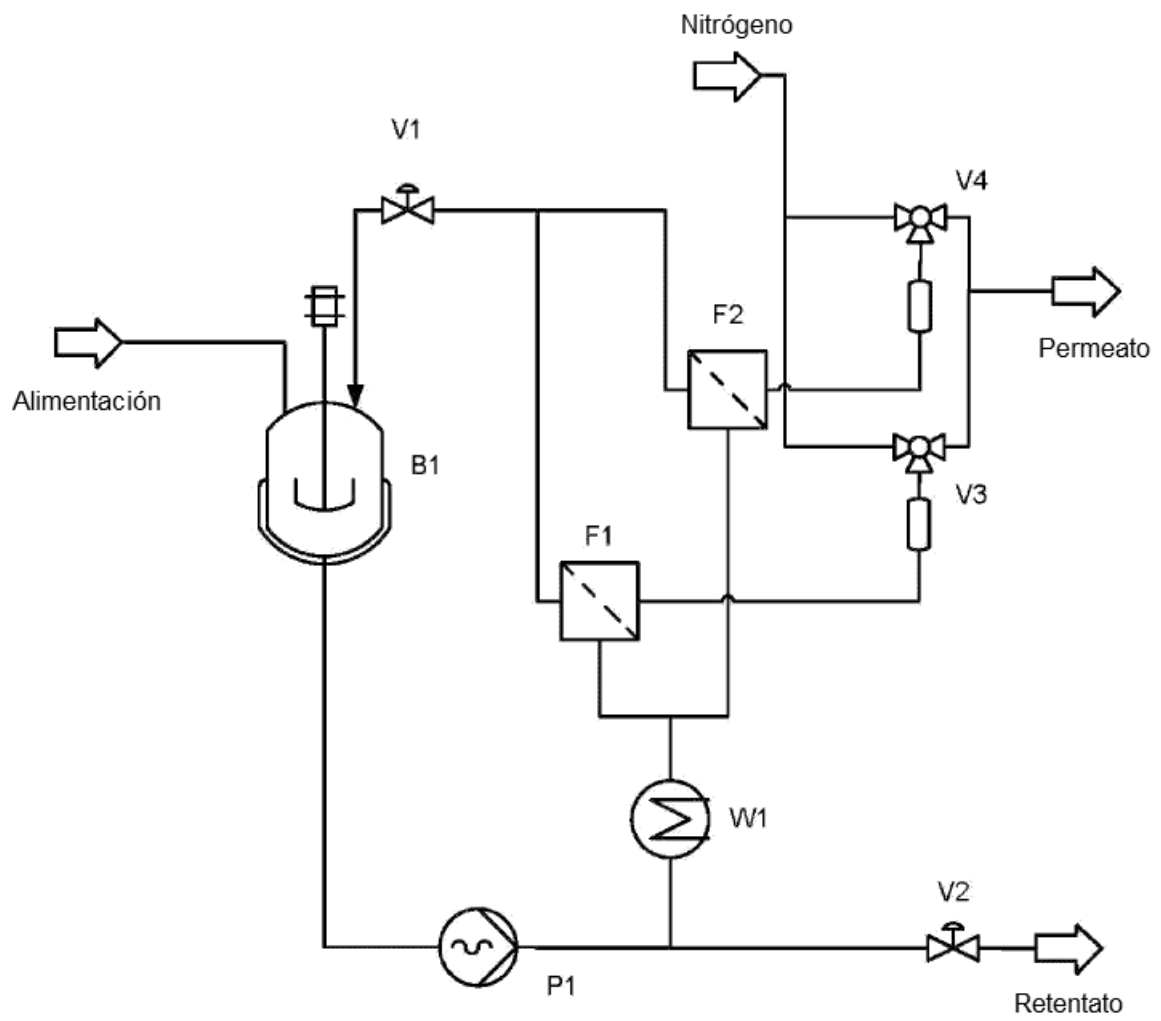


Figura 3

