

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA
Registro de la Propiedad Industrial

ah



ESPAÑA

PATENTE DE INVENCION

Concedido el Registro de esta invención con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

(19) ES	(17) NÚMERO	(10) A1
	(21) 479.413/3	
	(22) FECHA DE PRESENTACIÓN	
	6-4-79	

(30) PRIORIDADES: (31) NÚMERO	(32) FECHA	(33) PAIS
895.907	13-4-78	Estados Unidos
Int. Cl. C12P 19/06 // A23L 1/23 (C12P 19/06, C12R 1:64)		

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(31) CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C 12 D 13/04 // A 23 L 1/26	

(64) TÍTULO DE LA INVENCION
UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UNA GOMA DE XANTANO.

(71) SOLICITANTE (S)
MERCK & CO., INC.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE
126 East Lincoln Avenue, RAHWAY, New Jersey, Estados Unidos

(72) INVENTOR (ES)
JOE B. RICHMON

(73) TITULAR (ES)

(74) REPRESENTANTE
DON BERNARDO UNGRIA GOIBURU

RESUMEN DE LA INVENCION

1
5
10
Se describen dos nuevas formas de goma de xantano que contiene no más de unas 400 ppm de calcio. La goma de xantano con esta baja concentración de calcio se prepara a partir de un medio acuoso de fermentación, esencialmente exento de ion calcio y esencialmente exento de nutrientes de fermentación que contienen calcio. Cuando la fermentación se realiza en condiciones de alto grado de cizallamiento, el producto bajo en calcio se caracteriza porque las emulsiones de aceite/agua de la goma fluyen suavemente.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15
La preparación y aplicaciones de la goma de xantano son muy conocidas por los expertos en el campo de heteropolisacáridos. Aunque las composiciones acuosas de goma de xantano presentan muchas propiedades interesantes, estas composiciones tienen un flujo trabado o no uniforme.

OBJETOS DE LA INVENCION

20
Un objeto de esta invención es proporcionar dos nuevas formas de goma de xantano. Otro objeto es proporcionar un método de preparación de estas nuevas formas de goma de xantano. Otro objeto es proporcionar composiciones acuosas de estas gommas de xantano. Estos y otros objetos de esta invención resultarán evidentes en la siguiente descripción.

COMPENDIO DE LA INVENCION

25
30
Se prepara goma de xantano con no más de unas 400 ppm de calcio a partir de un medio acuoso de fermentación esencialmente exento de ion calcio y esencialmente exento de nutrientes de fermentación que contienen calcio. Cuando se prepara en condiciones de alto grado de cizallamiento, la goma forma composiciones acuosas de aceite/agua con flujo

1 suave o uniforme.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

5 Las composiciones acuosas de goma de xantano tienen
tendencia a presentar un flujo "trabado" o no uniforme ca-
racterístico. El flujo "trabado" es un tipo de flujo irregu-
lar, aterronado, como el que se encuentra en la salsa de to-
mate. El tipo suave o uniforme de flujo es el que está exen-
to de terrones e irregularidades, como el que se encuentra
en el aceite vegetal.

10 Ahora se ha hallado que existe una correlación entre
el contenido en calcio de la goma de xantano y las caracte-
rísticas de flujo de las composiciones acuosas que contienen
goma de xantano. Las composiciones acuosas incluyen solucio-
nes de goma de xantano así como emulsiones de aceite/agua.
15 En general, las composiciones acuosas de goma de xantano que
no contienen más de alrededor de 0,04 % en peso de calcio y
que han sido fermentadas en condiciones de alto grado de ci-
zallamiento presentan propiedades de flujo interesantes y
las composiciones acuosas de goma de xantano que contienen
20 no más de alrededor de 0,02 % en peso de calcio y han sido
fermentadas en condiciones de alto grado de cizallamiento
son las que presentan mejores propiedades de flujo.

25 La goma de xantano baja en calcio de esta invención
puede ser preparada mediante una bacteria productora de he-
teropolisacáridos del género Xanthomonas mediante la fermen-
tación en cultivo completo de un medio que comprende un hi-
drato de carbono fermentable, una fuente de nitrógeno y otros
nutrientes apropiados. La bacteria puede ser cualquier espe-
cie adecuada de Xanthomonas, preferiblemente X. campestris.

30 La bacteria se desarrolla en un medio esencialmente

1 exento de iones calcio. Por esencialmente exento se entiende
hasta alrededor de 4 ppm de ion calcio por cada unidad por-
centual de concentración de goma de xantano en el caldo de
5 fermentación completo y preferiblemente hasta unas 2 ppm
de calcio por cada unidad porcentual de concentración de go-
ma de xantano en el caldo de fermentación completo. Así, si
se ha de producir goma de xantano a una concentración final
del 2,1-2,3 % aproximadamente, el contenido total de ion
10 calcio en el caldo de fermentación completo no debe ser su-
perior a unas 9 ppm y preferiblemente no debe pasar de unas
5 ppm. Para obtener un medio tan bajo en calcio, el conte-
nido de calcio en el agua del medio de fermentación puede
ser reducido al nivel apropiado por medios químicos, por
15 ejemplo por tratamiento con una resina cambiadora de ion,
o por destilación. Como las fuentes comerciales de nitróge-
no orgánico contienen cantidades apreciables de ion calcio,
es importante que la fuente de nitrógeno de esta invención
sea un material esencialmente exento de iones calcio. Un
ejemplo de este tipo de material nutriente es la Promosoy
20 100, un concentrado de proteína de soja (Central Soya). El
uso de este material a 500 ppm proporciona 1-2 ppm de calcio
al medio.

25 La relación entre el contenido total de ion calcio en
el medio de fermentación, la concentración final de goma de
xantano en el caldo y el contenido de ion calcio en la goma
de xantano aislada está expresada en la Tabla I.

30

1

TABLA I

Relaciones del ion calcio

5

<u>Ion calcio total en el medio (ppm)</u>	<u>Concentración final de la goma de xantano (%)</u>	<u>Contenido de calcio en la goma de xantano (ppm)</u>
12	3	400
8	2	400
4	1	400
6	3	200
4	2	200
2	1	200

10

Las fermentaciones de goma de xantano realizadas anteriormente no apreciaron los beneficios obtenidos mediante bajas concentraciones de calcio y, en realidad, se ha aconsejado la adición de calcio a la cerveza de fermentación o a la goma de xantano reconstituida. Son ejemplos de estas enseñanzas de la técnica anterior las patentes estadounidenses 3.000.790, 3.054.689, 3.096.293, 3.232.929 y 4.053.699 y la patente francesa 2.330.697.

15

20

Además, la técnica anterior aconseja el uso de agua corriente en lugar de agua desionizada, no solo debido a consideraciones económicas sino también porque el agua corriente contiene elementos traza requeridos para el crecimiento del organismo productor de la goma. Véase, por ejemplo, "Polysaccharide (Xanthan) of Xanthomonas campestris NRRL B-1459: Procedures for Culture Maintenance and Polysaccharide Production, Purification and Analysis", Servicio de Investigaciones Agrícolas, Departamente de Agricultura de Estados Unidos (ARS-NC-51).

25

30

Además, la técnica anterior aconseja el uso de solubles

1
5
10
15
20
25
30

de destilería o torta de semilla de soja como fuente de nitrógeno orgánico para la fermentación de la goma de xantano. Véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses 3.020.206, 3.281.329 y 3.594.280 y "Materials and Methods in Fermentation", págs. 126-127 por G.L. Solomons, Academic Press, New York (1969). A una concentración en el caldo de fermentación de 0,4 % en peso, los solubles secos de destilería proporcionan un contenido en calcio de 150,8 ppm al caldo de fermentación, mientras que a una concentración del 0,45 % en peso en el caldo de fermentación, la harina de semilla de soja proporciona un contenido en calcio de 16,7 ppm en el caldo de fermentación. La goma producida a una concentración de aproximadamente 2,1-2,3 % utilizando estas fuentes de nitrógeno orgánico tendrá un contenido en calcio de 0,66-0,72 % aproximadamente en el caso de los solubles secos de destilería y del 0,07-0,08 % aproximadamente en el caso de la harina de semilla de soja, debido a que la goma de xantano se combina con todo el ion calcio disponible hasta un nivel máximo de aproximadamente el 2,6 %, suponiendo que no hay ningún otro calcio presente en el agua ni en otro componente del medio.

La goma de xantano es un polisacárido aniónico debido a la presencia de alrededor del 20 % de ácido glucurónico y 4 % de piruvato en la molécula. Se ha determinado experimentalmente que en 1 g de goma de xantano reaccionan con la totalidad de los grupos carboxilo alrededor de 0,026 g de calcio. En otras palabras, esta cantidad de calcio es la cantidad estequiométrica calculada sobre los grupos carboxilo de la molécula de goma de xantano. A partir de esta relación puede calcularse que por cada 1 % de goma de xantano en el cal-

1 do de fermentación final, una concentración de calcio en el
 5 caldo de 260 ppm es la cantidad estequiométrica suficiente
 para reaccionar con la totalidad de los grupos carboxilo de
 la molécula de goma de xantano. La goma recuperada de este
 10 caldo tendrá un contenido en calcio de 26.000 ppm aproxima-
 damente. Análogamente, puede calcularse el porcentaje de
 grupos carboxilo que reacciona con cantidades decrecientes
 de calcio. La relación entre el contenido en calcio y el por-
 centaje de grupos carboxilo combinados se encuentra en la
 Tabla II.

TABLA II

Concentración de Ca⁺⁺ en función del porcentaje de carboxilo

combinado

15	Contenido total de Ca en el medio (ppm)	Concentración de la goma de xanta no (%)	Contenido de Ca en la goma de xantano (ppm)	Porcentaje de grupos carboxi lo combinados
	260	1	26.000	100
	22	1	2.200	8,5
	7	1	700	2,7
	4	1	400	1,6
20	2	1	200	0,8
	520	2	26.000	100
	44	2	2.200	8,5
	14	2	700	2,7
	8	2	400	1,6
25	4	2	200	0,8
	650	2,5	26.000	100
	55	2,5	2.200	8,5
	17,5	2,5	700	2,7
	10	2,5	400	1,6
30	5	2,5	200	0,8

1 Por lo tanto, la goma de xantano de esta invención puede
ser descrita químicamente como una goma de xantano en la
que hasta alrededor del 1,6 % de los grupos carboxilo está
5 combinado con calcio y los restantes grupos carboxilo están
combinados con sodio, potasio, una mezcla de sodio y pota-
sio u otros cationes distintos del calcio.

El flujo suave que se obtiene en la goma de xantano baja
en calcio de esta invención, en algunos casos, es suscepti-
ble de ser degradado por las condiciones de pasteurización
10 a alta temperatura. Por esta razón, es preferible pasteurizar
a temperaturas no superiores a unos 80°C.

Durante la fermentación de la goma de xantano, el caldo
de fermentación es continuamente examinado para garantizar
una buena mezcla. A medida que aumenta la viscosidad del
15 caldo con la cantidad de goma producida, una comprobación
frecuente y el correspondiente aumento de la velocidad de
agitación garantiza que todas las partes del caldo son ade-
cuadamente aireadas. El criterio de buena mezcla, muy cono-
cido por los expertos en el campo de la fermentación de po-
20 lisacáridos, es suficiente para producir la goma de xantano
baja en calcio de esta invención.

Cuando se desea producir la goma de xantano baja en cal-
cio con propiedades de flujo suave, se requiere un alto gra-
do de cizallamiento durante el proceso de fermentación. Se
25 ha hallado que las siguientes condiciones de agitación son
adecuadas para producir la goma de xantano baja en calcio,
de flujo suave, de esta invención. Una agitación comparable
a estas condiciones de agitación se define aquí como "alto
30 grado de cizallamiento".

1	Tamaño del fermentador	Condiciones de agitación
5	1 galón(3,78 litros)	Tres rotores de turbina planos de 3-1/8" (79,3 mm). La agitación inicial se coloca a 400 rpm (105 pies (32 m)/minuto) y se aumenta típicamente hasta 800-1000 rpm (211-263 pies (64,3-80,2 m)/minuto) durante 16-24 horas.
10	14 litros	Tres rotores de hoja plana de 2-15/16" (74,6 mm). La fermentación de inicia con una velocidad de agitación de 400 rpm (98 pies (29,9 m)/minuto) y se aumenta típicamente hasta 1000 rpm (245 pies (74,7 m)/minuto) en 16-24 horas. La agitación puede ser aumentada en la medida necesaria para conseguir un alto grado de cizallamiento hasta 1500 rpm (368 pies (122,2 m)/minuto).
10	30 litros	Dos rotores de turbina en forma de V de 5-1/16" (128,6 mm). La agitación inicial es a 300 rpm (127 pies (38,7 m)/minuto) que se aumenta hasta 700 rpm (295 pies (90,0 m)/minuto) en 16-24 horas.
15	70 litros	Dos rotores de turbina de álabe plano de 5-15/16" (150,8 mm) y una hélice de 6" (152,4 mm). Este fermentador se pone en marcha con una velocidad de agitación de 300 rpm (149 pies (45,4 m)/minuto) y se aumenta a 600 rpm (297 pies (90,6 m)/minuto) en 16-24 horas. Puede ser aumentada de nuevo según sea necesario para obtener un alto cizallamiento hasta un máximo de 750 rpm (371 pies (113,2 mm)/minuto).
20	<p>Durante el proceso de fermentación debe comunicarse a la cerveza un alto grado de cizallamiento. Si la cerveza se somete a un alto grado de cizallamiento después de completada la fermentación, la goma resultante no presenta un flujo suave. Análogamente, es preferible continuar las condiciones de alto grado de cizallamiento durante todo el proceso de fermentación.</p>	
25	<p>Se ha hallado una correlación entre la propiedad de flujo suave de la goma de xantano de esta invención y la viscosidad de una emulsión de aceite/agua preparada a partir de la goma. Por lo tanto, puede seguirse el siguiente protocolo de ensayo para determinar si una goma de xantano baja en calcio también puede ser caracterizada como de flujo suave.</p>	
30		

METODO DE ENSAYO 1

1 En 20 g de aceite vegetal se suspenden 3,5 g de goma de
xantano baja en calcio. La suspensión se agrega a 300 ml de
5 agua corriente en una mezcladora Waring Sunbeam de estado
sólido y se mezcla durante 20 segundos a la velocidad más
baja (botón de agitación). Se interrumpe la acción de mezcla-
do, se agregan 13 g de NaCl y la mezcla se agita a la veloci-
dad máxima (botón de licuefacción) durante 10 segundos. La
10 totalidad de la emulsión se vierte en un vaso de precipitados
de 400 ml y se obtienen las lecturas de viscosidad a la tem-
peratura ambiente en un viscosímetro Brookfield LVF, vástago
3 a 60 rpm. La goma de xantano utilizada debe contener entre
86 y 92 % de sólidos y debe molerse de manera que por lo me-
15 nos el 98 % atraviese un tamiz de 80 mallas y menos del 40 %
atraviese un tamiz de 325 mallas. Una goma de xantano baja
en calcio fluye suavemente si, bajo estas condiciones, se
obtienen unas lecturas de la viscosidad inferiores a 1650 cP.
Es preferible que la viscosidad sea inferior a 1600 cP.

20 Otro ensayos de distinto tipo, aunque menos fiables, re-
quieren la observación visual. Por ejemplo, la emulsión antes
preparada se observa mientras está siendo vertida y se anotan
sus características de flujo. Un vaso de precipitados que con-
tiene esta emulsión se hace girar de manera que sus paredes
25 quedan recubiertas y después se observan estas paredes. Si el
recubrimiento de emulsión sobre las paredes es generalmente
homogéneo en lugar de listado e irregular, puede considerarse
que la goma es de flujo suave.

30 La goma de xantano baja en calcio de esta invención pue-
de utilizarse en cualquiera de las aplicaciones de la goma
de xantano. Además, cuando todavía se encuentra en el caldo

1 de fermentación, es el producto intermedio para producir la goma de xantano baja en calcio de flujo suave de esta invención.

5 La goma de xantano de flujo suave encuentra aplicación en diversos campos. En primer lugar, hasta el punto en que sus propiedades son similares a las de la goma de xantano, puede ser utilizada como sustituto en las formulaciones que requieren goma de xantano. Sin embargo, la goma de xantano de flujo suave de esta invención es especialmente útil en 10 los aderezos para ensalada aplicables por vertido y a cuchara. La solubilidad aumenta marcadamente en las mezclas secas reconstituídas tales como bebidas con aromas frutales, bebidas de cacao, salsas y sopas. Las propiedades de textura y flujo son marcadamente mejoradas en los sistemas con 15 alto contenido de azúcar/sólidos tales como jarabes azucarados, pasta de dientes, champú, cremas para las manos y conservas de frutas. Las proporciones de uso representativas son:

	<u>% en peso</u>
20 Aderezo para ensaladas con poco o ningún aceite	0,5-1,5
Aderezo para ensaladas con mucho aceite	0,2-0,8
Pasta de dientes	0,7-2,0
preferiblemente	1,0-1,2
Alimentos secos (dispersables)	0,2-1,5

25 A continuación incluimos algunas formulaciones representativas que utilizan la goma de xantano de flujo suave de esta invención:

Aderezo para ensalada

30 A 40 partes de azúcar se agregan 20 partes de almidón instantáneo y 5 partes de goma de xantano de flujo suave. Se

1 mezclan en seco y después se dispersa en 410 partes de agua.
Se mezcla hasta que se disuelve y se agregan 60 partes de
azúcar. Se mezclan con 20 partes de sal, 5 partes de mosta-
za y 40 partes de yemas de huevos frescos. Utilizando una
5 batidora rápida, se mezclan 300 partes de aceite de maíz y
100 partes de vinagre de 100 granos.

Mezcla para bebida con sabor a naranja

Se prepara una bebida agregando los siguientes ingredien-
tes mezclados a 1 cuartillo (944 ml) de agua fría y agitan-
do durante 30 segundos.

	<u>Gramos</u>
Azúcar especial de pastelero	125,713
Acido cítrico granulado anhidro	4,55
Citrato sódico hidratado granulado fino	1,05
15 Aroma de jugo de naranja artificial 24825 (American Flavor and Fragrance Corp.)	0,504
Acido ascórbico	0,49
Aceite esencial de naranja 1939 (Borden)	0,336
Goma de xantano de flujo suave	0,28
20 Dióxido de titanio Kowet (Kohnstamm)	0,042
Amarillo FD&C n° 5	0,021
Amarillo FD&C n° 6	0,014
	<u>133,0</u>

Pasta de dientes

25 Utilizando procedimientos conocidos, se prepara una
pasta de dientes a partir de los siguientes ingredientes:

	<u>% en peso</u>
Dihidrato de fosfato dicálcico	45,0
Glicerina	12,5
30 Sorbitol	12,5

	<u>% en peso</u>
1	Laurilsulfato sódico 1,5
	Sacarina 0,2
	Agente saborizante 1,0
5	Agua 26,3
	Goma de xantano de flujo suave 1,0

La pasta resultante tiene un flujo corto, no viscoso, mientras que una pasta preparada con goma de xantano corriente presenta una viscosidad notable.

10 Mezcla para sopa cremosa caliente instantánea

Se prepara una sopa instantánea agregando los siguientes ingredientes mezclados a 3/4 de taza (180 ml) de agua hirviendo y agitando durante 2 minutos.

	<u>Gramos</u>
15	Sólidos de jarabe de maíz Star Dri 24F (Staley) 6,56
	Crema Veg (tipos) (Nestle) 3,75
	Dura Jel gelatinizado (Staley) 3,00
	Sólidos de la leche no grasos (instantizados) 2,50
20	Sal 1,50
	Azúcar 1,00
	MSG 0,90
	Cebolla en polvo 0,20
	Proteína vegetal hidrolizada Maggi (Nestlé) 0,10
25	Goma de xantano de flujo suave 0,25

Los siguientes ejemplos ilustran también esta invención pero sin limitarla a los mismos.

EJEMPLO 1

30 Todos los medios y los ingredientes de los medios se preparan utilizando el siguiente procedimiento en agua des-

1 ionizada para reducir al mínimo la presencia de calcio.

5 El medio de siembra en matraces es caldo YM (Difco). Estos matraces se inoculan con una cucharadita de una cepa de Xanthomonas campestris NRRL B-1459, cultivada en agar nutriente (Difco) o placas de agar YM. Los matraces inoculados se introducen en un sacudidor giratorio (New Brunswick Scientific, Inc.) a una velocidad de sacudida de 200-300 rpm. La temperatura se controla a 28-33°C.

10 Al cabo de 18-40 horas, estos matraces de siembra se utilizan para inocular un fermentador de 5 litros que contiene 3 litros de un medio constituido por los siguientes ingredientes:

- 15
- 3,0 % de dextrosa
 - 0,05 % de Promosoy 100 (Central Soya)
 - 0,09 % de NH_4NO_3
 - 0,5 % de Na_2HPO_4
 - 0,01 % de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

20 El medio también contiene elementos traza tales como BO_3^{3-} , Mn^{++} , Fe^{++} , Cu^{++} , Zn^{++} , Co^{++} , MoO_4^{2-} y un agente antiespumante (Sag 471).

25 La temperatura de fermentación se controla a 28-33°C, con una velocidad de agitación adecuada para que se produzca un mezclado apropiado del contenido del fermentador. Se suministra aire estéril a un caudal de 0,2-1,0 volúmenes/volumen. Al cabo de 18-40 horas, este caldo de siembra se utiliza para inocular 50 litros de un medio similar en un fermentador de 70 litros o 20 litros de dicho medio en un fermentador de 30 litros. Este medio está constituido por los siguientes ingredientes:

- 30
- 3,0 % Dextrosa

- 1 0,5 % Na_2HPO_4
- 0,09 % NH_4NO_3
- 0,01 % $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 0,05 % Promosoy 100

5 En estos fermentadores, el pH se controla entre 6,0 y 7,5 mediante la adición de KOH. La aireación es similar a la del fermentador más pequeño. La agitación se aumenta en la medida necesaria para mantener un alto grado de cizallamiento. La agitación en los fermentadores de 30 litros es realizada

10 por dos rotores de turbina en forma de V de 5-1/16" (128,6 mm). La agitación inicial se realiza a 300 rpm (127 pies (38,7 m)/minuto) que se aumenta a 700 rpm (295 pies (90,0 m)/minuto) en 16-24 horas. La agitación en el fermentador de 70 litros se realiza mediante dos rotores de turbina de álabe plano

15 de 5-15/16" (150,8 mm) y una hélice de 6" (152,4 mm). Este fermentador se pone en marcha con una velocidad de agitación de 300 rpm (149 pies (45,4 m)/minuto) y se aumenta a 600 rpm (297 pies (90,6 m)/minuto) en 16-24 horas. Después puede aumentarse si es necesario hasta un máximo de 750 rpm (371 pies

20 (113,2 m)/minuto). La fermentación se termina cuando la fuente de carbono ha sido totalmente utilizada.

 El caldo de fermentación se pasteuriza en la vasija de fermentación a 75°C durante 15 minutos. El producto se recupera por precipitación con alcohol. La fibras recuperadas se secan durante 2 horas en una estufa de vapor de agua a 55°C, seguido de molienda a través de un tamiz de 20 mallas. Este

25 producto, denominado muestra 1, es una goma de xantano de flujo suave, baja en calcio.

 Se prepara un segundo lote siguiendo el procedimiento de

30 la muestra 1 pero utilizando solubles de destilería como fuen

1 te de nitrógeno orgánico y agua corriente en lugar de agua desionizada. Este producto, muestra 2, es representativo de la goma de xantano comercial.

5 Se prepara un tercer lote utilizando unas condiciones iguales a las empleadas para preparar la muestra 1, a excepción de que el agua desionizada utilizada en el medio contiene 40 ppm de calcio adicional. Este producto, denominado muestra 3, también es comparable a una goma de xantano comercial.

10

EJEMPLO 2

Preparación de la siembra

15

Para inocular matraces de caldo YM se utilizan cultivos frescos en placa de agar YM de X. campestris B-1459. Los matraces inoculados se introducen en un sacudidor giratorio a una velocidad de 200-300 rpm. Al cabo de 24-30 horas, se utilizan estos matraces para inocular otros matraces que contienen los siguientes componentes:

20

Almidón	2,67 %
Na ₂ HPO ₄	0,50 %
Promosoy 100	0,19 %
NH ₄ NO ₃	0,09 %
NZ Amine A	0,03 %
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,02 %
FeSO ₄ ·7H ₂ O	5 ppm
25 Sales HoLe	1 ml/litro
Balab	0,26 %
Despumante (Sag)	0,02 %
Agua corriente*	~96,22 %

25

30

* La suspensión de almidón se prepara en agua corriente para su hidrólisis y representa el 10 % del volumen final del fermentador.

1 La temperatura de fermentación se controla a 28-33°C, con
una velocidad de agitación suficiente para que el contenido
del fermentador sea mezclado adecuadamente. Se suministra
aire estéril a un caudal de 0,2-1,0 volúmenes. Los matraces
5 se utilizan al cabo de 24-35 horas para inocular fermentado-
res de 14 litros con una proporción de inóculo del 6-7 %.

2. Fermentador final

Se utilizan fermentadores de 14 litros de capacidad para
la fermentación final, que contienen alrededor de 10 litros
10 del siguiente medio:

Jarabe de maíz	4,2 %
Na ₂ HPO ₄	0,053 %
Promosoy 100	0,0336%
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,02 %
15 NH ₄ NO ₃	0,106 %
FeSO ₄ .7H ₂ O	5 ppm
Sales. HoLe	1 ml/litro
Despumante (Sag)	0,01 %
20 Agua desionizada	~95,58 %

El FeSO₄.7H₂O y las sales HoLe se tratan en autoclave
independientemente. También pueden filtrarse en lugar de
agregarse directamente al medio que ha de ser tratado en
autoclave.

25 El pH se controla con NaOH o KOH al 25 % en un valor
comprendido entre 6,0 y 7,5. La aireación es similar a la
del fermentador más pequeño.

La agitación es proporcionada por tres rotores de álabe
plano de 2-15/16" (74,6 mm). La fermentación se inicia a una
velocidad de agitación de 400 rpm (98 pies (29,9 m)/minuto)
30 y se aumenta hasta 1000 rpm (245 pies (74,7 m)/minuto) en

1 16-24 horas. La agitación puede ser aumentada si es necesario para conseguir un alto grado de cizallamiento hasta 1500 rpm (368 pies (122,2 m)/minuto).

5 La fermentación se termina cuando la proporción de fuente de carbono es inferior al 0,1 %.

10 El caldo de fermentación se pasteuriza en la vasija de fermentación a 75°C durante 15 minutos. El producto se recupera por precipitación con alcohol. Las fibras recuperadas se secan durante 2 horas en una estufa de vapor de agua a 55°C, seguido de molienda a través de un tamiz de 20 mallas. El producto es una goma de xantano de flujo suave, baja en calcio.

EJEMPLO 3

15 Se preparan unas muestras de goma de xantano con proporciones variables de calcio.

20 Las viscosidades de las muestras de goma (1 % y 2 % en peso/peso en agua desionizada (D.I.) y solución al 1 % en peso/peso de KCl) y emulsiones bajas en aceite se determinan utilizando un viscosímetro Brookfield LVF, a 60 rpm y con el vástago apropiado.

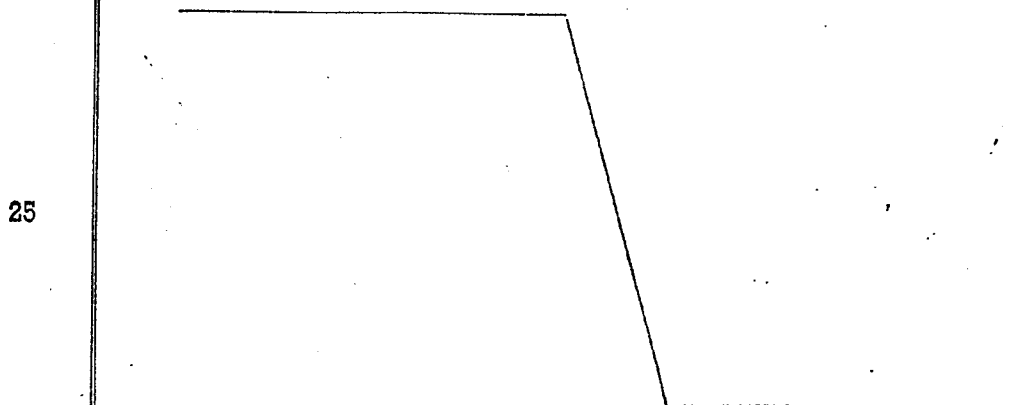
25 A 500 ml de agua se agrega con agitación una suspensión de cada una de las gomas (6,4 g) en aceite vegetal Kraft (aceite de soja especialmente procesado) (40 g). Después de la hidratación, se añaden 26 g de cloruro sódico y 75 ml de ácido acético al 10 %. Las emulsiones se muelen en un molino coloidal Sterling en una posición de 0,015" (0,381 mm).

30 Los valores del límite elástico de trabajo se determinan a partir de los perfiles de la viscosidad a velocidades de cizallamiento bajas, obtenidas utilizando el método de relajación de un muelle sobre el viscosímetro de placa y como

1 Wells-Brookfield RVT (véase Jeanes y colaboradores, (1973),
J.Appl. Polymer Sci. 17, págs. 1621-1624). El valor del lími-
te elástico de trabajo se define como la tensión de cizalla-
5 miento (dinas/cm²) requerida para producir una velocidad de
cizallamiento de 0,01 segundos⁻¹.

Las propiedades de flujo por observación visual se deter-
minan vertiendo emulsiones bajas en aceite desde un envase
a otro. Las propiedades de flujo se clasifican como "suave"
a "trabado ligero", "trabado medio" y "trabado intenc".

10 La determinación cuantitativa de las propiedades de flu-
jo se realiza midiendo el caudal de las soluciones de goma
(al 1 % en peso/peso en KCl al 1 %) y de las emulsiones en
un consistómetro Bostwick. Este instrumento, que puede adqui-
15 rirse a la Central Scientific Co., Inc., 26005 Kostner Avenue,
Chicago, Illinois 60623, determina la consistencia midiendo
la distancia que recorre el flujo de un material bajo su pro-
pio peso durante un intervalo de tiempo dado. La distancia
recorrida por el frente móvil al cabo de 5 minutos constituye
20 una medida reproducible de las propiedades de flujo (grado
de suavidad) de las soluciones.



30

	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6
1			
5			
10			
15			
20			
25			
30			

Contenido en calcio (ppm) 130 2322 43572

Contenido en magnesio (ppm) 391 914 1019

Viscosidad al 1 %, H₂O D.I. (cP, 60 rpm, vástago 3) 410 810 815

Viscosidad al 1 %, KCl al 1 % (cP, 60 rpm, vástago 3) 1075 1250-1550 1175

Valor del límite elástico de trabajo, goma al 1 %, H₂O D.I. (dinas/cm²) (1) 15,5 26

Valor del límite elástico de trabajo, goma al 1 %, KCl al 1 % (dinas/cm²) 22 52 42

Viscosidad al 2 %, H₂O D.I. (cP, 60 rpm) 1040 N.D. 1710

Viscosidad al 2 %, KCl al 1% (cP, 60 rpm, vástago 4) 4070 N.D. 4080

Solución D.I. al 2 %, características visuales de flujo liso trabado trabado

Valor del límite elástico de trabajo, goma al 2 %, H₂O D.I. (dinas/cm²) 16 N.D. 52

Características visuales de flujo de la emulsión baja en aceite liso trabado medio a intenso trabado ligero a medio

Viscosidad de la emulsión baja en aceite (60 rpm) 1390 1410 1490

Valor del límite elástico de trabajo de la emulsión baja en aceite (dinas/cm²) 45 N.D. 82

Ensayo Bostwick, distancia cubierta al cabo de 5 min. (cm)

goma al 1 % y KCl al 1 % 17,2 10,9 12,7

emulsión baja en aceite 13,2 N.D. 9,7

(1) Valor demasiado bajo para determinarlo, debido a la pequeña viscosidad (<800 cP) en agua D.I.

N.D. No determinado.

1

EJEMPLO 4

5

Se realiza una serie de siete fermentaciones utilizando agua desionizada para la Operación 1 y agua desionizada junto con crecientes proporciones de agua corriente para las Operaciones 2-9. El nutriente proteínico es Promosoy 100. Una vez terminada la fermentación, se recupera la goma de cada muestra, se analiza su contenido en calcio y se determinan visualmente sus propiedades de flujo utilizando el procedimiento del Ejemplo 1. Como el Promosoy 100 está esencialmente exento de calcio, prácticamente todo el calcio encontrado en el análisis procede del agua corriente. Se obtuvieron los siguientes resultados:

10

15

20

<u>Operación</u>	<u>Ca (ppm)</u>	<u>Propiedades de flujo (emulsión acuosa baja en aceite)</u>
1	37	Suave
2	123	Ligeramente trabado
3	126	Suave
4	193	Ligeramente trabado
5	207	Suave
6	315	Ligeramente trabado
7	315	Ligeramente trabado
8	478	Trabado
9	536	Trabado

EJEMPLO 5

25

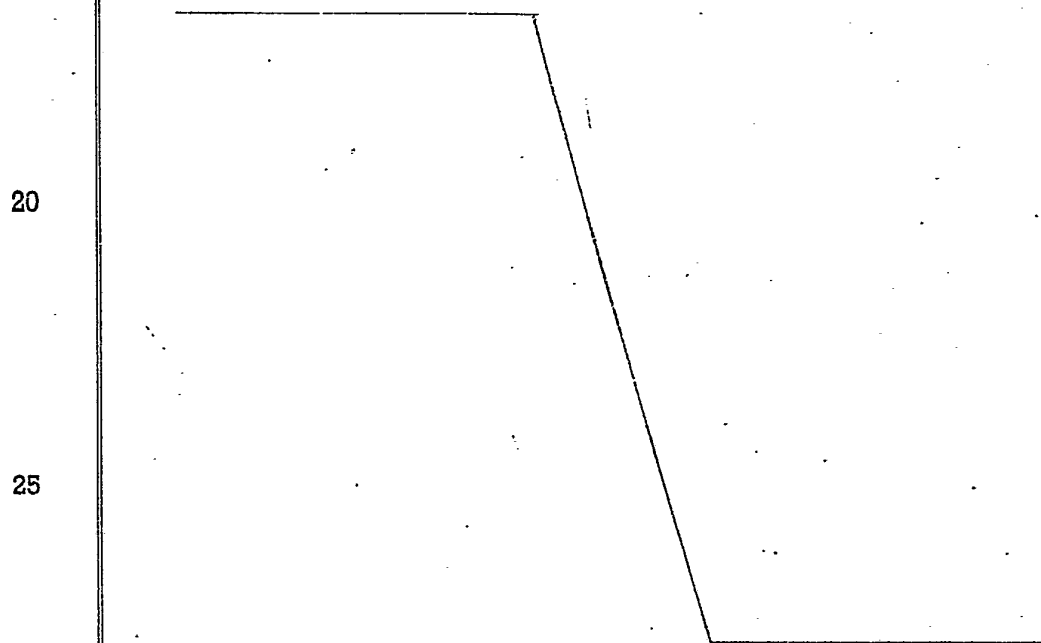
Se fermenta X. campestris en las condiciones de alto cizallamiento y baja proporción de calcio de esta invención. Después de la fermentación, se toman muestras del caldo de fermentación del fermentador y pasteurizan a diversas temperaturas y tiempos, utilizando el serpentín de cobre sumergido en un baño de aceite caliente. El caldo de fermentación

30

1 que queda en el fermentador se pasteuriza in situ a 75°C varias veces. Utilizando estos procedimientos, se preparan las muestras siguientes:

- BD-118 Sin pasteurización (control)
- 5 BD-122 75°C durante 2-3 minutos en el serpentín
- BD-123 75°C durante 10 minutos en el serpentín
- BD-124 79°C durante 2-3 minutos en el serpentín
- BD-125 99°C durante 2-3 minutos en el serpentín
- BD-119 75°C durante 2-3 minutos en el fermentador
- 10 BD-120 75°C durante 5 minutos en el fermentador
- BD-121 75°C durante 15 minutos en el fermentador

15 La goma de xantano de estas muestras se precipita con alcohol. El producto fibroso se seca durante la noche en una estufa a 45°C, seguida de molienda a través de un tamiz de 20 mallas.



30

Muestra n°	Contenido en calcio (ppm)	Condiciones de pasteurización	Viscosidad de la emulsión (CP)	Propiedades de flujo de la emulsión	
				Visual	Bostwick
BD-118	145	Sin pasteurización	1155	Suave	14,0
BD-122	145	75°C, 2-3 minutos, serpentín	1215	Suave	13,8
BD-123	140	75°C, 10 minutos, serpentín	1340	Suave	12,1
BD-124	140	79°C, 2-3 minutos, serpentín	1240	Suave	12,5
BD-125	N.D.	99°C, 2-3 minutos, serpentín	1215	Suave	12,8
BD-119	135	75°C, 2-3 minutos, vapor de agua	1310	Suave	12,7
BD-120	N.D.	75°C, 5 minutos, vapor de agua	1180	Suave	13,3
BD-121	140	75°C, 15 minutos, vapor de agua	1270	Suave	13,6

N.D. = No determinado.

Nota: Estas muestras se prepararon a partir del mismo lote de caldo y, por lo tanto, su contenido de Ca es idéntico. Esto se confirma por análisis del calcio, cuyos resultados están indicados anteriormente, donde las diferencias se encuentran dentro del error experimental.

1
5
10
15
20
25
30

<u>Muestra n°</u>	<u>Contenido en calcio (ppm)</u>	<u>Condiciones de pasteurización</u>	<u>Viscosidad de la emulsión (cP)</u>
BD-118	145	Sin pasteurización	1165
BD-122	145	75°C, 2-3 minutos, serpentín	1215
BD-123	140	75°C, 10 minutos, serpentín	1340
BD-124	140	79°C, 2-3 minutos, serpentín	1240
BD-125	N.D.	99°C, 2-3 minutos, serpentín	1215
BD-119	135	75°C, 2-3 minutos, vapor de agua	1310
BD-120	N.D.	75°C, 5 minutos, vapor de agua	1180
BD-121	140	75°C, 15 minutos, vapor de agua	1270

N.D. = No determinado.

Nota: Estas muestras se prepararon a partir del mismo lote de caldo y, por idéntico. Esto se confirma por análisis del calcio, cuyos resultados las diferencias se encuentran dentro del error experimental.

<u>Condiciones de pasteurización</u>	<u>Viscosidad de la emulsión (cP)</u>	<u>Propiedades de flujo de la emulsión</u>	
		<u>Visual</u>	<u>Bostwick</u>
Sin pasteurización	1155	Suave	14,0
75°C, 2-3 minutos, serpentín	1215	Suave	13,8
75°C, 10 minutos, serpentín	1340	Suave	12,1
79°C, 2-3 minutos, serpentín	1240	Suave	12,5
79°C, 2-3 minutos, serpentín	1215	Suave	12,8
75°C, 2-3 minutos, vapor de agua	1310	Suave	12,7
75°C, 5 minutos, vapor de agua	1180	Suave	13,3
75°C, 15 minutos, vapor de agua	1270	Suave	13,6

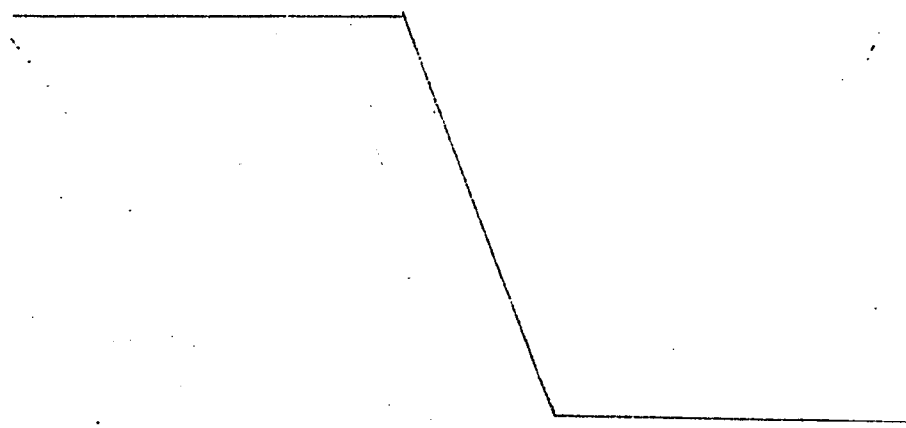
prepararon a partir del mismo lote de caldo y, por lo tanto, su contenido de Ca es confirma por análisis del calcio, cuyos resultados están indicados anteriormente, donde encuentran dentro del error experimental.

EJEMPLO 6

Se fermenta X. campestris en las condiciones de alto cizallamiento y baja proporción de calcio de esta invención. Después de la fermentación, se toman muestras del caldo de fermentación del fermentador y se pausterizan a diversos tiempos y temperaturas haciendo pasar el caldo a través de un serpentín de cobre sumergido en un baño de aceite caliente, seguido de rápido enfriamiento empleando un baño de hielo. Se preparan las siguientes muestras:

10	BD-107	79°C durante 2-3 minutos
	BD-108	85°C durante 2-3 minutos
	BD-109	91°C durante 2-3 minutos
	BD-110	99°C durante 2-3 minutos
	BD-111	79°C durante 10 minutos
15	BD-112	116°C durante 2-3 minutos
	BD-113	99°C durante 4-5 minutos
	BD-115	sin pasteurización (control).

La goma de xantano de estas muestras se precipita con alcohol, se seca durante 2 horas en una estufa de vapor a 55°C y se muele a través de un tamiz de 20 mallas.



1

Muestra n°	Viscosidad de la emulsión (cP)	Propiedades de flujo de la emulsión	
		Visual	Bostwick
BD-107	1610	Ligero-medio	10,5
BD-108	1615	Ligero-medio	10,8
5 BD-109	1535	Ligero-medio	10,5
BD-110	1735	Ligero-medio	9,85
BD-111	1540	Ligero	10,75
BD-112	1635	Ligero-medio	10,3
BD-113	1600	Medio	10,6
10 BD-115	1360	Suave	13,6

Estas muestras se prepararon a partir del mismo caldo y, por lo tanto, su contenido en Ca es idéntico.

EJEMPLO 7

15

Para demostrar que la propiedad de flujo suave depende del contenido de ion calcio en el caldo de fermentación en el que se produce la goma de xantano y es independiente del contenido de ion magnesio, se realizaron las siguientes comparaciones con emulsiones preparadas empleando goma de xantano obtenida de un caldo con el nivel indicado de Ca y Mg.

20

Muestra	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Relación Ca/Mg	Propiedades de flujo de la emulsión baja en aceite
7	4347	1019	4,28	Trabado medio-intenso
8	2322	914	2,54	Trabado medio-intenso
9	1866	917	2,03	Trabado medio-intenso
25 10	772	388	1,99	Trabado ligero
11	567	546	1,04	Trabado medio
12	261	594	0,44	Suave
13	153	546	0,28	Suave
14	130	391	0,33	Suave

30

Las muestras con propiedades de flujo suave se caracterizan por unos niveles de Ca⁺⁺ de 261 ppm o menos.

1

EJEMPLO 8

Se prepara un fluido para la perforación de pozos de petróleo de la forma convencional, a partir de los siguientes constituyentes: goma de xantano de flujo suave baja en calcio, 0,34 kg; agua, 189,27 litros; bentonita, 3,63 kg; carboximetilcelulosa, 0,23 kg y KCl, 4,76 kg. Este lodo presenta las siguientes propiedades:

5

10

<u>Lecturas de la esfera del viscosímetro Fann</u>	<u>Inicial</u>	<u>Tratado a rodillo 16 horas a 150°F (65°C)</u>
600 rpm	31,3	27,7
300 rpm	22,7	20,7
200 rpm	19,3	17,4
100 rpm	14,5	12,2
6 rpm	6,1	5,3
3 rpm	5,2	4,7
Viscosidad plástica, cP	8,6	7,0
Límite elástico, libras/100 pies ² (kg/100 m ²)	14,1 (68,8)	13,7 (66,9)
Filtrado API, ml	11,4	12,0

15

20

Estos resultados ponen de manifiesto las excelentes características de un fluido para perforación de pozos de petróleo de esta invención. En especial, la elevada viscosidad a bajas velocidades de cizallamiento proporciona una buena limpieza del pozo y la baja viscosidad a altas velocidades de cizallamiento aumenta la velocidad de penetración del trépano.

25

EJEMPLO 9

Se prepara un aderezo francés utilizando la siguiente formulación:

30

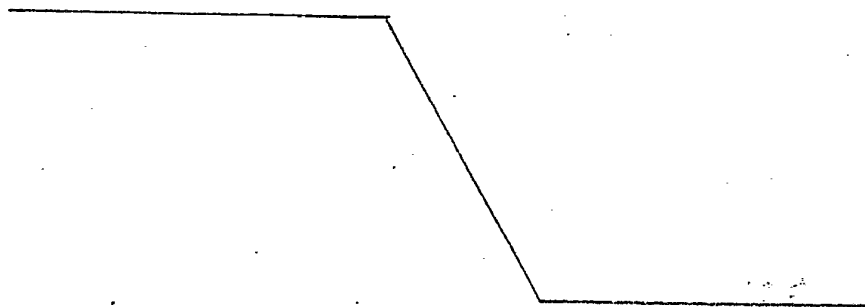
	<u>Ingredientes</u>	<u>%</u>	
1	Aceite vegetal	38,00	38,00
	Agua	34,65	34,65
	Azúcar	11,50	11,50
5	Vinagre (100 granos)	9,00	9,00
	Sal	4,00	4,00
	Pimentón molido	1,35	1,35
	Mostaza molida	1,25	1,25
	Goma de xantano de flujo suave y baja en calcio	0,25	
10	Goma de xantano (control)		0,25
		<hr/>	<hr/>
		100,00 %	100,00 %

Procedimiento:

1. Mezclar en seco la goma de xantano con la mitad del azúcar e hidratar con agua y vinagre agitando fuertemente durante 15 minutos.
 2. Agregar la mezcla de los restantes sólidos
 3. Agregar el aceite, al principio lentamente y después a velocidad normal.
 4. Emulsionar con un molino coloidal a 0,02" (0,508 mm).
- Las propiedades de flujo de estos aderezos se midieron en el consistómetro Bostwick, utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 3, con los siguientes resultados.

25

30



RESULTADOS BOSTWICK

Examen visual de las propiedades de flujo

Distancia en cm en el momento indicado						
5	10	20	30	60	120	180

Segundos

Goma de xantano

Baja en calcio

10,0	10,8	11,7	12,5	13,6	14,7	15,3
------	------	------	------	------	------	------

Suave

Control

5,0	5,8	6,6	7,2	8,1	9,0	9,5
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Trabado

10

15

20

25

30

RESULTADOS BOSTWICK

Distancia en cm en el momento indicado

5	10	20	30	60	120	180
---	----	----	----	----	-----	-----

Examen visual de las propiedades de flujo

10,0 10,8 11,7 12,5 13,6 14,7 15,3

Suave

5,0 5,8 6,6 7,2 8,1 9,0 9,5

Trabado

1

EJEMPLO 10

Se prepara un aderezo francés de pocas calorías, que contiene aproximadamente 19 calorías por onza fluída (1 onza fluída = 29,6 cm³) o 3 calorías por cucharadita empleando la siguiente formulación:

5

<u>Ingredientes:</u>	<u>%</u>	
Agua .	55,95	55,95
Vinagre (50 granos)	18,00	18,00
Pasta de tomate (26 %)	7,50	7,50
10 Aceite vegetal	6,00	6,00
Jugo de limón	5,00	5,00
Sal	3,50	3,50
Yema de huevo (fresca)	2,00	2,00
Pimentón	0,60	0,60
15 Mostaza	0,50	0,50
Goma de xantano de flujo suave y baja en calcio	0,75	
Goma de xantano (control)		0,75
Cebolla en polvo	0,10	0,10
20 Ajo en polvo	0,05	0,05
Edulcorante no nutritivo	0,05	0,05
	100,00 %	100,00 %

Procedimiento:

25

1. Dispersar la goma de xantano en el agua y agregar con buena agitación sobre la totalidad del aceite, el vinagre y el jugo de limón en el que está dispersada la mostaza. Completar la hidratación agitando durante 10-15 minutos.

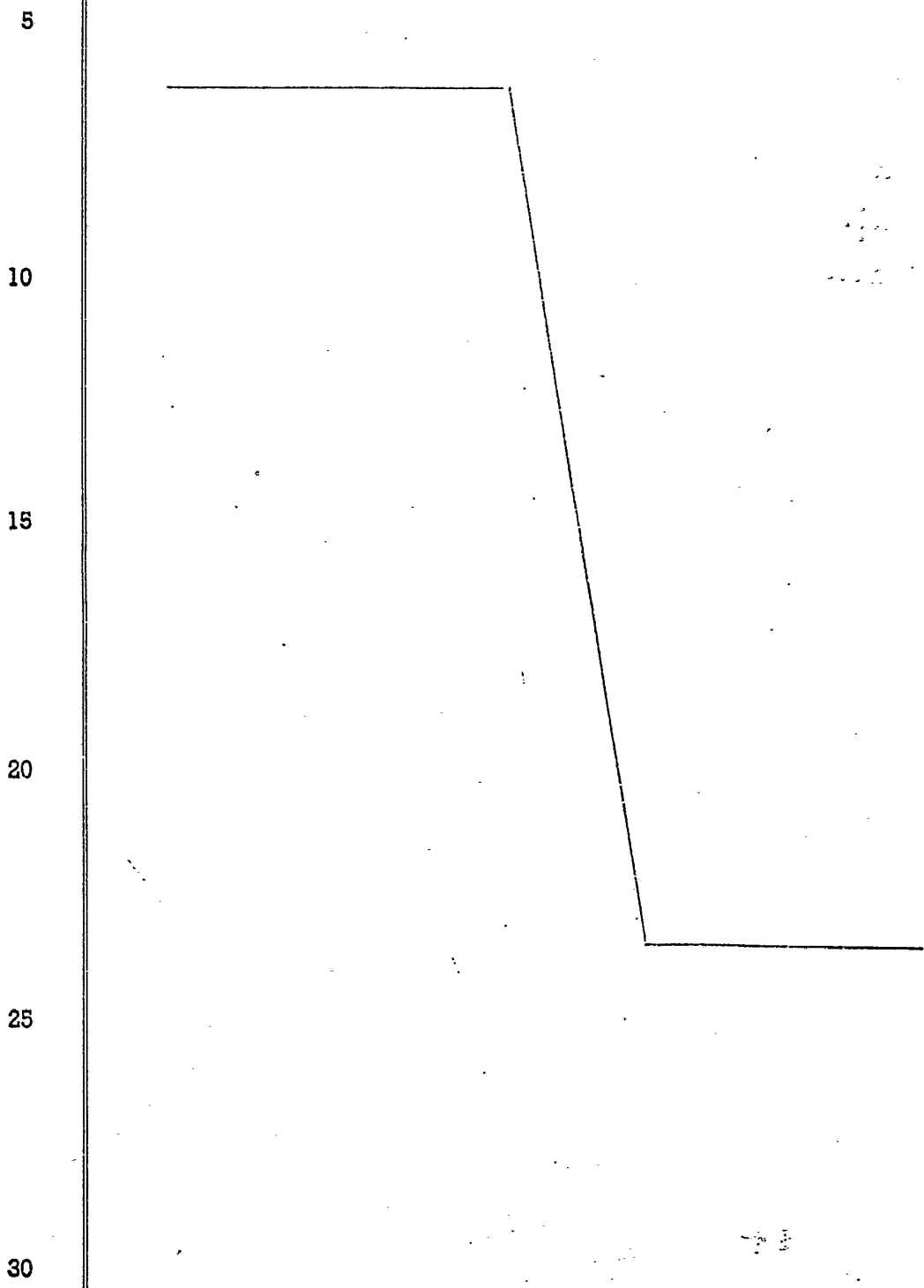
2. Después de la hidratación, agregar la pasta de tomate y la yema de huevo.

30

3. Agregar la mezcla de todos los sólidos con agitación

4. Emulsionar con un molino coloidal a 0,015" (0,381 mm).

1 Las propiedades de flujo de los aderezos se midieron en el consistómetro Bostwick, utilizando el procedimiento descrito en el Ejemplo 3, con los siguientes resultados:



1

Segundos

Distancia en cm en el momento
5 10 20 30 60

5

Goma de xantano

Baja en calcio

7,5 8,0 8,5 8,7 9,3

Control

4,0 4,7 5,4 5,7 6,2

10

15

20

25

30

<u>ndos</u>	<u>Distancia en cm en el momento indicado</u>						<u>Examen visual de las propiedades de flujo</u>	
	<u>5</u>	<u>10</u>	<u>20</u>	<u>30</u>	<u>60</u>	<u>120</u>		<u>180</u>
	7,5	8,0	8,5	8,7	9,3	9,8	10,2	Suave
	4,0	4,7	5,4	5,7	6,2	6,6	6,8	Trabado

1

EJEMPLO 11

Se producen varias gomas de xantano bajas en calcio, de acuerdo con las enseñanzas de esta invención y se ensayan por el método de ensayo 1 y por observación visual, obteniéndose los siguientes resultados:

5

<u>Muestra</u>	<u>Viscosidad (cP)</u>	<u>Flujo (determinación visual)</u>
15	2350	Muy trabado
16a ⁽¹⁾	1670	Trabado
10 b	1830	Trabado
c	1800	Trabado
17a	1800	Trabado
b	1730	Trabado
c	1800	Trabado
15 18a	1510	Ligeramente trabado
b	1510	Suave
19a	1580	Ligeramente trabado
b	1520	Suave
20a	1710	Ligeramente trabado
20 b	1730	Ligeramente trabado
21a	1510	Suave
b	1500	Suave
c	1540	Suave
22a	1360	Suave
25 b	1350	Suave

(1) Las letras indican duplicados de la misma muestra, de manera que las diferencias de viscosidad están dentro de los errores experimentales.

30

1

EJEMPLO 12

Fermentación en planta piloto

5

Se prepara una goma de xantano de flujo suave, baja en calcio, en un fermentador de 1100 galones (4164 litros), utilizando agua blanda.

Inóculo: Edad - 54,5 horas
(100 galones, 378 litros) pH - 6,82
Viscosidad - 2550 cP

10

Medio: Jarabe de maíz (D.S.) 3,96 %
(1100 galones, 4164 litros) NH_4NO_3 0,106 %
 K_2HPO_4 0,053 %
Promosoy 100 0,033 %
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01 %
Despumante Balab 0,25 %
(en volumen)
Despumante K-60 0,022 %
(en volumen)
KOH para controlar el pH a 6,0-7,5

15

Fermentación:

pH de la cerveza 7,06
Temperatura 30-31°C

20

Aireación 0,2-1,0 (volúmenes)

Agitación:

Rotores de disco y turbina
Número de juegos: 3
Número de álabes/juego: 5
Diámetro del disco: 20" (50,8 cm)
Dimensiones del álabes: 2,5" x 4" (63,5 x 102 mm)
Diámetro del rotor: 28" (711 mm)
Velocidad - 150 rpm

25

Recuperación:

Ajustar el pH de la cerveza a 6,0 con H_2SO_4
Velocidad de la cerveza - 5 g/m

30

1 Recuperación: Pasteurización - 74°C/6 minutos
Precipitar con 3 volúmenes de isopropanol

5 Siguiendo el procedimiento del Ejemplo 12 pero sustituyendo el K_2HPO_4 por Na_2HPO_4 , también se produce la goma de xantano baja en calcio de flujo suave de esta invención.

En resumen, la Patente de Invención que se solicita deberá recaer sobre las siguientes:

REIVINDICACIONES

10 1.- Un procedimiento para la preparación de un goma de xantano donde hasta alrededor del 1,6% de los grupos carboxilo de la goma están combinados con iones calcio, que comprende fermentar por medio de una bacteria productora de heteropolisacáridos del género Xanthomonas un medio de cultivo acuoso esencialmente exento de iones calcio y esencialmente exento de nutrientes de fermentación que contienen -
15 calcio.

20 2.- Un procedimiento según la reivindicación 1, donde la goma de xantano obtenida contiene hasta 0,04 % en peso de calcio aproximadamente.

3.- Un procedimiento según la reivindicación 1, donde la goma de xantano obtenida contiene hasta 0,02 % en peso de calcio aproximadamente.

25 4.- Un procedimiento según la reivindicación 1, donde la goma de xantano obtenida tiene flujo suave y donde - hasta alrededor de 1,6 % de los grupos carboxilo de la goma están combinados con iones calcio.

30 5.- Un procedimiento según la reivindicación 4, donde la goma de xantano obtenida tiene flujo suave y contiene hasta 0,02 % en peso de calcio aproximadamente.

1

6.- Un procedimiento según la reivindicación 1, donde la fermentación se produce en condiciones de alto grado de cizallamiento.

5

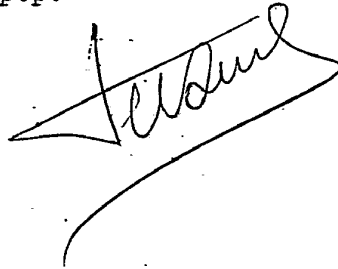
7.- Se reivindica por último como objeto sobre el que ha de recaer la Patente de Invención que se solicita por:
UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE UN GOMA DE XANTANO.

10

Todo conforme queda descrito y reivindicado en la presente memoria descriptiva que consta de treinta y cinco páginas mecanografiadas.

Madrid, 6 de Abril 1.979

BERNARDO UNGRIA
P.P.



15

20

25

30