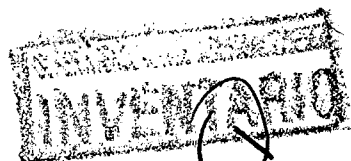


OKD



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

10-161624

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION



21. EXPEDIENTE N°

54. TÍTULO PROCESO MEJORADO DE OBTENCIÓN DE AZUCARES FERMENTABLES A PARTIR DE MICROALGAS Y MACROALGAS.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL C 13 B 10/00

71. SOLICITANTE ECOPETROL S.A. y
UNIVERSIDAD PONTIFICIA BOLIVARIANA

DOMICILIO Bogotá, Colombia. y
Medellín, Colombia

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

22. BOGOTÁ, D.C. _____

PodarCm



No. 10-161624-00000-0000

Fecha: 2010-12-23 15:17:36 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act 411 PRESENTACION Folios: 25

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

SOLICITUD DE:

1



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: **ECOPETROL S.A.**

Dirección: Carrera 13 No. 36-24 Piso 11,
Bogotá, Colombia.

Nacionalidad o Domicilio: Bogotá, Colombia.

Lugar de Constitución: Bogotá, Colombia.

Teléfono :

Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: **DILIA MARÍA RODRÍGUEZ
D'ALEMAN**

Dirección: Cra. 11 No. 86-53 piso 6

Teléfono: 6 162051/61 Fax: 6 161889

E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número 41.654.882 T.P. 20824
CSJ

4

**INVENTORES (ES)
(72)**

Nombre: **VER HOJA ANEXA**

Dirección:

Nacionalidad o Domicilio:

5 Título (54) PROCESO MEJORADO DE OBTENCIÓN DE AZUCARES FERMENTABLES A PARTIR DE MICROALGAS Y MACROALGAS.

6 Clasificación Internacional (51)

C B B¹⁰/00

7 Prioridad

SI



NO



(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

8 Para publicar a partir de la fecha de la presente solicitud a los:

6 meses



12 meses



18 meses



otros



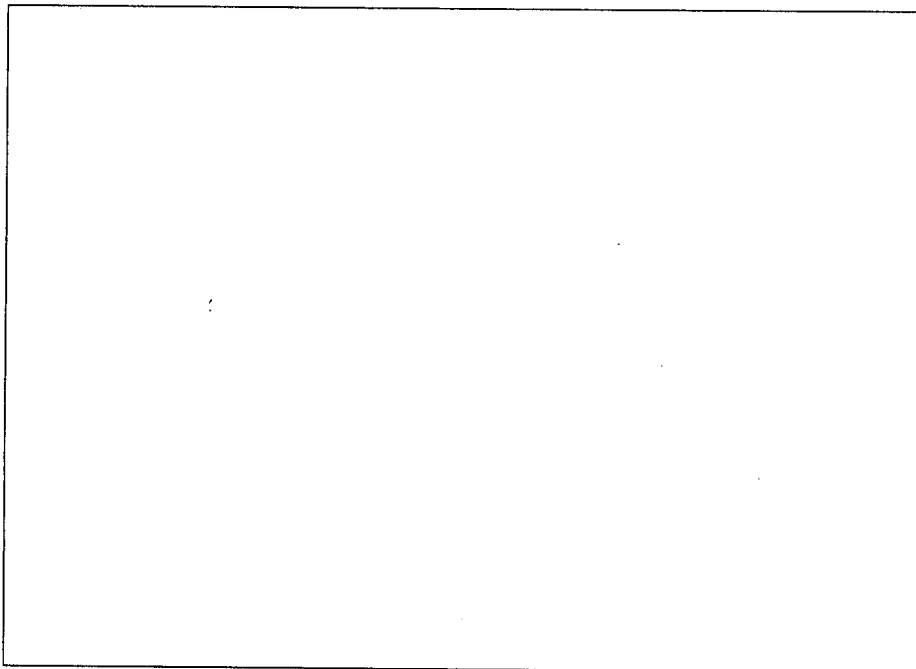
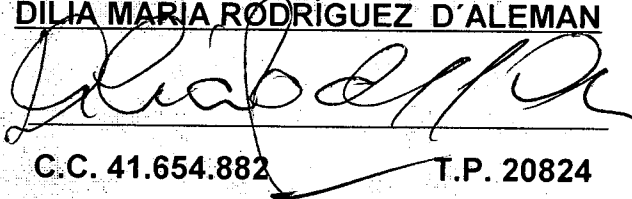
Cual

9 Comprobante de pago No. 10-101.025

Fecha 29 de noviembre de 2010

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación
- ☐ Comprobante de pago por la reivindicación de prioridad
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Certificado de la fecha de presentación de la solicitud prioridad expedida por la autoridad correspondiente y una copia certificada de la primera solicitud, si se reivindica prioridad
- ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☒ Resumen
- ☒ Descripción de la invención.
- ☒ Una o más reivindicaciones
- ☒ Dibujos y/o planos necesarios
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐

11 FIGURA CARACTERÍSTICA

NOMBRE : DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMANFIRMA: 

C.C. 41.654.882

T.P. 20824

ANEXOS

INVENTORES

- 1.) **GARZON FUENTES, Laura, Liliana**
(Km. 7 via piedecuesta-Bucaramanga, Piedecuesta, Santander);
- 2.) **VIATCHESLAV, Kafarov**
(Km. 7 via piedecuesta-Bucaramanga, Piedecuesta, Santander);
- 3.) **BARAJAS SOLANO, Andrés Fernando**
(Km. 7 via piedecuesta-Bucaramanga, Piedecuesta, Santander);
- 4.) **NUÑEZ ISAZA, Manuel Laureano**
(Km. 7 via piedecuesta-Bucaramanga, Piedecuesta, Santander);

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-161624-00000-0000

Fecha: 2010-12-23 15:17:36

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 2 PATENTES

Eve: 1 REGDEPOSITO

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 25

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 900174089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 101,025

FECHA : NOVIEMBRE 29 DE 2010

**** CONSIGNACION ****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Utr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	353180914	26/11/2010	85,235,000.00

**** CONCEPTO ****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
		TOTAL :	\$ 554,000.00

SOM: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

3

P-2584

RESUMEN

La presente invención se encuentra en el campo de la obtención de azúcares fermentables a partir de la biomasa de microalgas y macroalgas cultivadas en medios naturales o artificiales. La obtención de azúcares fermentables se realiza mediante procesos físico-químicos capaces de extraer el contenido total de carbohidratos presentes en la biomasa algal.

El proceso mejorado de esta invención debilita la pared celular, facilitando así la extracción de los carbohidratos y aumentando el rendimiento en la hidrólisis de los azúcares fermentables.

PROCESO MEJORADO DE OBTENCION DE AZUCARES FERMENTABLES A PARTIR DE MICROALGAS Y MACROALGAS

SECTOR TECNOLOGICO

La presente invención se encuentra en el campo de la obtención de azúcares fermentables a partir de la biomasa de microalgas y macroalgas cultivadas en medios naturales o artificiales. La obtención de azúcares fermentables se realiza mediante procesos físico-químicos capaces de extraer el contenido total de carbohidratos presentes en la biomasa algal.

El proceso mejorado de esta invención debilita la pared celular, facilitando así la extracción de los carbohidratos y aumentando el rendimiento en la hidrólisis de los azúcares fermentables.

ESTADO DEL ARTE

El constante cambio en los precios de los combustibles fósiles, la incertidumbre del agotamiento de las reservas de crudo en los pozos petroleros y la liberación de grandes cantidades de gases contaminantes que estos combustibles emiten a la atmósfera, han llevado al desarrollo de nuevas tecnologías que promuevan la degradación y aprovechamiento de biomasa vegetal, sin comprometer la producción alimentaria para la producción de biocombustibles.

En esta búsqueda se ha iniciado el estudio de las microalgas como materia prima potencial para desarrollar nuevas fuentes de energía, lo cual resulta ventajoso ya que estos microorganismos no requieren de grandes extensiones para su cultivo, y reducen las concentraciones de gases de efecto invernadero, pues captan el dióxido de carbono como nutriente para su crecimiento.

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos, no vasculares que contienen clorofila, poseen estructuras reproductoras simples y flotan libremente, pero con movilidad limitada. Según la forma de obtención de sus nutrientes las algas pueden ser autótrofas, auxótrofas y heterótrofas.

Las microalgas son ricas en carbohidratos, los cuales se encuentran principalmente en la pared celular, no contienen lignina, lo que facilita la extracción de los azúcares reductores, evitando etapas posteriores de hidrólisis, requiriendo solo una etapa para liberar los carbohidratos utilizados en la etapa de fermentación.

La composición química de las microalgas varía dependiendo de la especie, nutrientes, temperatura, fuente de carbono, intensidad y color de la luz, entre otros. Se ha encontrado que en una composición química promedio ellas contienen 30% proteína, 25% carbohidratos, 21% lípidos y lo demás de compuestos no clasificados.

La extracción de almidones contenidos en las algas se realiza mediante la sacarificación o hidrólisis con ácido sulfúrico en una concentración de del 5% a 25% respecto al almidón a ser tratado.

Existen diferentes reportes de procesos cuya materia prima son algas. Entre ellos esta la solicitud de patente GB1493480A, describe un proceso para producir etanol a partir almidón obtenido por el cultivo de un alga unicelular con un medio de cultivo que contiene una fuente de carbono y nitrógeno asimilable y sales inorgánicas. Después del cultivo se realiza la ruptura de las células y posteriormente se extrae el almidón que es sacarificado. El almidón sacarificado es luego fermentado con un microorganismo productor de etanol. Las especies de algas preferidas son *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas* sp., y *Scenedesmus basillensis* cultivadas entre 25 y 42 °C entre un pH 5 a 9. El medio de cultivo contiene glucosa, maltosa ó ácido acético proveniente de un residuo industrial. El almidón puede ser sacarificado con ácido sulfúrico ó a través de un proceso enzimático. El proceso de sacarificación del almidón se realiza con temperatura y ácido sulfúrico diluido. Específicamente en el pretratamiento con ácido sulfúrico acuoso (con una relación en peso agua: ácido sulfúrico 2:1 a 5:1) se adiciona en una cantidad de 5 – 25% de ácido sulfúrico respecto a la cantidad de almidón a ser tratado. El medio acidificado es calentado en un baño de agua a 100 °C por 30 minutos. La solución ácida es luego diluida de 2 a 5 veces y la operación de sacarificación es completada por calentamiento a 120 °C bajo presión de 2 kg/cm² por 30 minutos. El licor obtenido es luego neutralizado a un pH de 5 con una suspensión de partículas finas de hidróxido de calcio en agua.

6

A pesar de este proceso de emplear tratamientos físico-químicos capaz de hidrolizar carbohidratos no se utiliza en el proceso de hidrólisis una cantidad de un solvente orgánico como metanol ó etanol para fomentar la separación de los carbohidratos hidrolizados en una fase sólida en un paso posterior al proceso de hidrólisis, no se tiene una proceso de separación de sólidos y el proceso no incluye la posibilidad de mezclar la corriente tratada de oligosacáridos provenientes de las algas con una corriente de melaza de caña de azúcar.

Otra solicitud de patente relacionada con algas es WO 2009/067771 que está dirigida a un proceso para obtener alcohol a partir de la fermentación de azúcares hidrolizados de gelificantes y/o polisacáridos de algas cultivadas en ambientes acuáticos naturales o artificiales, eutrofizados o no. Los principales pasos del proceso allí divulgado son: recolección, limpieza y tratamiento del alga para la remoción de elementos tóxicos y/o microorganismos inhibidores, fragmentación, secado, hidrólisis de los azúcares totales producidos por el alga, fermentación de los azúcares resultantes de la hidrólisis de los polisacáridos del alga utilizando una levadura capaz de promover la fermentación de galactósidos y por último, la destilación del alcohol.

La hidrólisis fisicoquímica o tratamiento utilizado en este proceso es hidrólisis ácida a una temperatura entre 60 y 120 °C y presión entre 1 y 3 atm. Preferiblemente la hidrólisis ocurre a una presión entre 1 y 2 atm.

El proceso fisicoquímico de la hidrólisis ácida emplea una solución con un contenido promedio de 20 % de sustrato fermentable, 5 % de ácido en una concentración ajustada de acuerdo al tipo de polímero y 75 % agua. El ácido puede ser ácido clorhídrico u otros ácidos que no alteren la estructura química de los monómeros resultantes.

En este caso, las macroalgas utilizadas son de las especies *Gelidium*, *Gigardina*, *Gracilaria*, *Encheuma* y *Pterocladia*.

Dentro de éste contexto también se encontró la solicitud de patente WO/2009/058471, la cual describe un proceso para obtener etanol y biodiesel a partir de celulosa que comprende; a. Enviar una corriente de celulosa a uno o más

2

contenedores y a un tanque de mezcla de residuos de celulosa y celulosa de algas; b. hidrolizar la celulosa para formar celulosa hidrolizada por acción de uno o más hongos de la familia Neocallimastigomycota; c. llevar a cabo una licuefacción de la celulosa hidrolizada para lograr separar las hexosas y pentosas hidrolizadas; d. separar los azúcares para formar xilitol y azúcares reducidos; e. fermentar los azúcares reducidos para obtener etanol combustible; f. Alimentar el cultivo de algas con la corriente de xilitol y con dióxido de carbono generado durante la hidrólisis del material celulósico ; g. Enviar el cultivo algal regenerado a un reactor de biodiesel para producir biodiesel y obtener biomasa residual rica en carbohidratos para la producción etanol.

Sumado a los documentos antes mencionados, la solicitud de patente WO/2007/101172 divulga un proceso para la producción de etanol a partir del almidón de la biomasa de algas, proceso que inicia con la ruptura de la biomasa, posteriormente la fermentación en presencia de levadura y la separación del etanol producido. La invención se refiere además al procesamiento de la biomasa residual de la producción de etanol para la recuperación de biodiesel y/o generación de calor y dióxido de carbono por combustión.

Las algas seleccionadas pertenecen a la familia Zygnemataceae, Cladophoraceae, Oedogoniales, Ulvophyceae, Charophyceae, o combinaciones de las mismas o algas seleccionadas de *Spirogyra*, *Cladophora*, *Oedogonium*, o combinaciones de las mismas.

Finalmente, la patente WO2010046619A1 presenta un proceso para la producción de etanol a partir de material celulósico. Dicho proceso comprende los siguientes pasos (i) hidrólisis del material celulósico con una solución acuosa de un ácido para producir un hidrolizado, (ii) extracción del ácido y el agua del hidrolizado con un solvente orgánico de extracción miscible con agua para producir (a) una solución ácida acuosa conteniendo el solvente de extracción y (b) un residuo que contiene los azúcares, (iii) un proceso de clivaje del residuo que contiene los azúcares para producir una solución acuosa de azúcares fermentables, (iv) un paso de fermentación de los azúcares y destilación del alcohol producido de la mezcla fermentada, (v) una etapa de evaporación del solvente de extracción de la solución (a) y de la solución resultante del proceso de fermentación que no posee más del 10% en peso del solvente de extracción, y finalmente (vi) una etapa de

condensación del solvente de extracción para reciclaje. El solvente de extracción preferido es dimetileter ó etanol. El proceso de hidrólisis, remoción del ácido y remoción del solvente ocurre en una sola etapa. El solvente de extracción del ácido y agua hace que los oligosacáridos precipiten. El ácido usado para hidrólisis en esta invención es preferiblemente ácido sulfúrico. El ácido y el agua pueden ser adicionados por separado iniciando con el ácido y posteriormente diluyendo el ácido a la concentración deseada. El proceso de hidrólisis se hace a una temperatura entre 50 – 55 °C. La relación solución de ácido: material celulósico está entre 2:1 a 4:1 por peso y la duración preferida es de 120 minutos. Así los oligosacáridos producidos por la hidrólisis de la celulosa pueden ser precipitados por el solvente de extracción para producir lodos de azúcar / lignina. El lodo precipitado después de la extracción y eliminación del solvente se hace pasar por una segunda etapa de hidrólisis de los oligosacáridos a una temperatura de 140 C y una presión entre 5 – 6 bar por aproximadamente 120 minutos, para finalmente pasar a la etapa de fermentación. La patente mencionada emplea solo materiales lignocelulósicos

Como se puede observar, los procesos anteriormente descritos de pretratamiento e hidrólisis aplicado a macroalgas y microalgas, no evidencian resultados tangibles de eficiencias de extracción de azúcares fermentables, ni tampoco el uso de mezclas de metanol-acido en biomasa algal. Por lo tanto, existe la necesidad en el estado de la técnica de contar con nuevos procesos que además de reducir etapas como la hidrólisis (requeridos en biomasas lignocelulósicas), a su vez aumenten la producción de alcohol carburante sin la degradación de los carbohidratos con un eficiente pretratamiento. El solicitante ha logrado aumentar la obtención total de los carbohidratos presentes en las micro y macroalgas con utilizando mezclas de solventes orgánicos e inorgánicos, lo cual es la esencia de la presente invención.

DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

Figura 1. Presenta el diagrama de flujo de las etapas que permiten la obtención de etanol a partir de la biomasa de algas mediante el proceso mejorado de la presente invención, el proceso contempla etapas de reacción, circulación, recuperación de solvente, separación de biomasa residual y fermentación del licor rico en carbohidratos.

Figura 2. Muestra el contorno de nivel obtenido de resultados de diseños experimentales, tomando como variable de respuesta la concentración de azúcares reductores en función de variables como (a) ácido vs metanol, (b) tiempo vs metanol, (c) Tiempo vs Ácido; manteniendo el tiempo, la concentración de ácido, concentración de metanol en el punto central, respectivamente.

Figura 3. Presenta el contorno de nivel del segundo diseño de experimentos tomando como variable de respuesta la concentración de azúcares reductores en función de variables como (a) ácido vs metanol, (b) tiempo vs metanol, (c) tiempo vs Ácido; manteniendo el tiempo, la concentración de ácido, concentración de metanol en el punto central, respectivamente.

Figura 4. Ilustra el recuento de células realizado a biomasa algal tratada a diferentes concentraciones de metanol, conservando las variables de concentración de ácido y tiempo fijos.

DESCRIPCIÓN GENERAL DE LA INVENCION

La presente solicitud de patente hace referencia a un nuevo proceso mejorado que permite maximizar la extracción de azúcares fermentables presente en biomasa proveniente de microorganismos unicelulares como son las microalgas y macroalgas. El producto obtenido del proceso mejorado es posteriormente fermentado para la producción de alcoholes. En general el proceso reivindicado comprende las etapas de:

- a. Cosecha o filtración de biomasa algal
- b. Tratamiento de la biomasa algal con mezclas de solventes orgánicos e inorgánicos como ácidos y alcoholes.
- c. Separación del licor o insumo de la biomasa residual
- d. Recuperación y recirculación del solvente utilizado.

El producto obtenido por el presente proceso es el principal insumo para las industrias productoras de etanol y/o otros alcoholes.

Es un objeto de la presente invención proporcionar un proceso mejorado donde se maximiza la obtención de azúcares reductores provenientes de microalgas y macroalgas para la industria alcoholera

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Las algas que pueden ser empleadas en el proceso de producción de alcohol son microalgas y macroalgas, las cuales son cultivadas en un medio artificial o natural, preferiblemente en medio natural, diluidas en medios líquidos en recipientes que mantienen medios de cultivos reducidos (Guillard F/2) y un espacio de 1/3 libre con aire para permitir el intercambio de oxígeno.

Las cepas ya establecidas en tubos de ensayo y en placas de agar son replicadas a medios de cultivo líquidos con Guillard F/2 para condiciones interiores y con medio Guillard modificado con reactivos grado industrial para tanques exteriores.

La composición de las macroalgas y microalgas utilizadas en este proceso puede alterarse con las condiciones ambientales, tales como: concentración de nutrientes, temperatura, intensidad lumínica y estado fisiológico. La composición de carbohidratos puede variar considerablemente entre los diferentes tipos de algas, las cuales generalmente están compuestas en mayor proporción de galactosa seguida por glucosa, manosa y ribosa. Las algas que pueden ser utilizadas en este proceso son microscópicas y macroscópicas, entre ellas preferiblemente están: *Botryococcus braunii*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp, *Chaetoceros gracillis*, *Chaetoceros calcitrans*.

El primer paso de este proceso mejorado de procesamiento de biomasa algal consiste en la adición de mezclas de solventes orgánicos y soluciones inorgánicas, tales como ácidos, metanol, etanol, acetona, glicol, etileno. Se utilizan ácidos débiles y/o fuertes tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico. El ácido sulfúrico se emplea en concentraciones de 0.05 a 3 M, preferiblemente de 0.05 a 1 M. Las concentraciones de los solventes orgánicos oscila entre: 1 a 30 %(v/v), preferiblemente entre 1 a 20 %. El tiempo de procesamiento se lleva a cabo en rangos de 10 a 300 min, preferiblemente entre 150 y 270 min.

En la figura 1 se observa el diagrama de flujo de las etapas que permiten la obtención de Etanol a partir de la biomasa de algas mediante el proceso mejorado de la presente invención que contempla mezclas de metanol con ácido y agua que permiten maximizar la extracción de carbohidratos de las microalgas y macroalgas. La biomasa algal (1) producto de la filtración es sometida a un tratamiento mejorado de la presente invención (2), el líquido obtenido de este tratamiento es separado del sólido por métodos convencionales de separación (3), parte de la biomasa residual proveniente de la etapa de separación con cierto contenido de carbohidratos es recirculada por medio de la corriente 101 al reactor de tratamiento (2), y el solvente es recuperado por métodos convencionales de recuperación de solventes y es recirculado por la corriente 102 al reactor de tratamiento (2), el líquido de la etapa de separación puede ser empleado puro o puede mezclarse mezclado con corrientes ricas en carbohidratos tales como: jugo de caña , jarabe de maíz, jugos de remolacha, entre otros y mezclas de los mismos (6) y llevado a un proceso de fermentación (4) donde se adiciona microorganismos como: hongos, bacterias, entre otros (5), posteriormente se realiza la separación del licor fermentado de los microorganismos por medios de separación convencionales (7), eliminando por medio de la corriente 103 los residuos de los microorganismos (A), por último se realiza la destilación del licor fermentado (8) para la obtención de etanol, ácido ascórbico u otros (B).

Ejemplo 1. Tratamiento mejorado con mezclas de solventes inorgánicos y orgánicos de la biomasa algal utilizando mezclas metanol-ácido sulfúrico.

La siguiente descripción es un típico ejemplo de la presente invención:

Las biomasa utilizada en este ejemplo es la especie de microalga *Chaetoceros gracillis*, la cual fue caracterizada en los componentes principales, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Características de la microalga *Chaetoceros gracillis*.

Análisis	Resultado
%Humedad	11.53
%Cenizas	61.74
%Bulk, Roca total	NaCl,CaCl ₂

%Proteína	9.19
%Nitrógeno	1.502
%Grasa	0.061
%Calorías	107.2
%Fibra Bruta	0.18
%Carbohidratos	17.47

Se realizó el estudio de liberación de azúcares en algas empleando un diseño factorial 2^3 central compuesto. Este diseño plantea barrer una mayor área de respuesta con el uso de puntos axiales que permiten abarcar mayor rango de estudio de las variables del proceso como: concentración de metanol en el licor (% v/v), concentración H_2SO_4 (M) y tiempo de reacción (min). Los rangos inicialmente explorados son: tiempo: 60-180 min; Concentración metanol: 30-70% v/v; Concentración de ácido: 0.05-0.1 M. Los puntos axiales de las variables fueron: 19 y 221min; 16 y 84% v de metanol; 0.03 y 0.12 M de H_2SO_4 .

Muestras de 20 g de microalga seca caracterizada previamente (Tabla 1) fueron tratadas con 200 mL de una mezcla de metanol-ácido sulfúrico y agua a condiciones proporcionadas para cada experimento (según tabla 2). Esta mezcla fue llevada a un autoclave a 103,4 kPa y 121 °C, durante el tiempo de reacción especificado para cada corrida. Luego de la cocción en autoclave, se separaron por filtración al vacío el licor rico en carbohidratos y la biomasa residual.

Para cuantificar los azúcares reductores totales (ART) en el licor rico de carbohidratos, se mezclaron 0,5 mL de las diferentes muestras de licor con 0,5 mL de reactivo ácido 3,5 Dinitrosalicílico (DNS) en tubos de ensayo. Esta mezcla se mantuvo durante 5 minutos en un baño a 95°C. Posteriormente se sumergió en un baño con hielo para detener la reacción y se adicionó 5 mL de agua destilada. Seguidamente, se realizó las lecturas de absorbancia en espectrofotómetro a 540 nm.

Seguido de la cuantificación de ART, se elaboró una superficie de respuesta de los resultados obtenidos del tratamiento mejorado utilizando los datos del diseño central compuesto (Tabla 2) donde el porcentaje de ART fue analizado en función de las variables operacionales por medio del programa computacional STATISTIC 9.0

Tabla 2. Primer Diseño de experimentos 2³ compuesto central

# de Experimento	Metanol [%v/v]	H2SO4 [M]	Tiempo (min)	ART Licor de Pretratamiento [gART/gBS*]*100	Rendimiento Extracción (%)
1	30	0.050	60	0.54	3.13
2	30	0.050	180	1.55	8.98
3	30	0.10	60	1.84	10.65
4	30	0.10	180	1.30	7.53
5	70	0.050	60	0.58	3.36
6	70	0.050	180	1.25	7.24
7	70	0.10	60	0.95	5.50
8	70	0.10	180	0.77	4.46
9	16	0.075	120	2.60	15.06
10	84	0.075	120	0.39	2.26
11	50	0.03	120	0.62	3.59
12	50	0.12	120	1.46	8.45
13	50	0.075	19	1.04	6.02
14	50	0.075	221	3.41	19.75
15C	50	0.075	120	1.08	6.25
16C	50	0.075	120	1.01	5.85
17C	50	0.075	120	1.04	6.02

De acuerdo a los resultados obtenidos en la matriz experimental (Tabla 2) se graficó las superficies de contorno (Figura 2), donde la variable de respuesta fue ART en función de las variables tiempo, concentración metanol y ácido.

De acuerdo con la Figura 2, la tendencia de la superficie evidencia mayores rendimientos en zonas rojas y bajos rendimientos en las zonas verdes. Los rendimientos máximos de ART obtenidos (2% ART) para este diseño se logran con mayor concentración de ácido y menor concentración de metanol y sugiere además que para mejorar los rendimientos, un aumento de ácido y una disminución de concentraciones de los rangos de trabajo de las variables respectivamente mencionadas. Este comportamiento es igual cuando se grafican las superficies de respuesta en el punto mínimo y máximo de tiempo de reacción.

De acuerdo con los resultados obtenidos en el primer diseño experimental, se realiza un segundo diseño aumentando el rango de estudio, donde: el tiempo empleado para el tratamiento se encuentra en el rango de 15-247min y la concentración de ácido sulfúrico es de 0.1-0.6 M, y el rango empleado de metanol disminuyó de 0 - 16.36%(v/v) como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Segundo Diseño de experimentos 2³ compuesto central

# de Experimento	Metanol [%v/v]	H2SO4 [M]	Tiempo (min)	ART Licor de Pretratamiento [gART/gBS*]*100	Rendimiento de extracción
1	3.32	0.202	62	4.92	28.49
2	3.32	0.202	200	9.11	52.75
3	3.32	0.50	62	9.30	53.85
4	3.32	0.50	200	15.79	91.43
5	13.04	0.202	62	4.32	25.01
6	13.04	0.202	200	8.48	49.10
7	13.04	0.50	62	6.90	39.95
8	13.04	0.50	200	14.85	85.99
9	0	0.35	131	9.74	56.40
10	16.36	0.35	131	10.45	60.51
11	8.18	0.1	131	3.41	19.75
12	8.18	0.6	131	10.39	60.16
13	8.18	0.35	15	2.62	15.17
14	8.18	0.35	247	14.03	81.24
15C	8.18	0.35	131	7.74	44.82
16C	8.18	0.35	131	7.13	41.29
17C	8.18	0.35	131	7.00	40.53

Con los resultados presentados en la tabla 3, se puede inferir que el mayor porcentaje de ART obtenido en el tratamiento mejorado se registra el ensayo 4, siendo este valor de 15.79% ART.

Comparando los resultados del ensayo 2 con el 4, donde se fija la variable tiempo y metanol y variada la concentración de ácido, se observó la alta influencia del

ácido, donde se favoreció el rendimiento de extracción pasando de 52% de extracción a 91%.

Al comparar los resultados obtenidos de los ensayos 9 y 10 se puede observar que al disminuir la concentración de metanol y manteniendo constante la concentración de ácido y el tiempo, se obtienen menores porcentajes de ART (de 10.45 a 9.74%). Este efecto tiene menor predominio comparado con la variable tiempo y concentración de ácido.

De acuerdo a la Figura 3, la tendencia que presenta los resultados en los gráficos de contorno, corroboran los resultados obtenidos en el diseño experimental anterior, además de mostrar la necesidad de trabajar los tratamientos en una concentración de ácido hasta 0.6 M, tiempos mayores de 260 min y poder emplearse concentraciones de metanol de 0 a 16%(v/v) ya que no presenta influencia en el rango estudiado, y para lograr rendimientos de extracción mayor al 90%

Ejemplo 2. Efecto de la concentración de metanol en el pretratamiento en microalgas para la extracción de azúcar.

De acuerdo con los resultados de los ensayos realizados en el ejemplo 1 (diseño de experimentos 2) y con las gráficas de contorno obtenidas, se realizó el estudio del efecto del metanol en el pretratamiento de las microalgas, se establecieron valores fijos de tiempo y concentración de ácido para este estudio, donde los valores tomados fueron aquellos en los que la tendencia evidenció mayor extracción de azúcares (247 min y 0.6 M). Las concentraciones de metanol fueron variadas de 0 a 100%.

Los resultados se presentan en la tabla 4, para la mezcla metanol-ácido se obtiene un mayor porcentaje de azúcares reductores comparado con el ensayo 1 donde se adicionó solamente ácido sulfúrico. Sin embargo, altas concentraciones de metanol disminuye la producción de ART. En condiciones de pretratamiento de 3 (%v/v) de metanol, 0.6 M H_2SO_4 , durante tiempos de 247 min, son logrados rendimientos de pretratamiento hasta el 100%.

Tabla 4. Porcentaje de ART en el pretratamiento con una concentración constante de ácido sulfúrico y variación en la concentración de metanol durante 247 minutos.

Ensayo	Metanol (%V/V)	H ₂ SO ₄ (M)	Tiempo (min)	ART (%)	Rendimiento
1	0	0.6	247	9.54±0.04	54.99
2	3	0.6	247	17.21±0.02	99.19
3	10	0.6	247	17.20±0.00	99.14
4	16	0.6	247	16.02±0.00	92.33
5	20	0.6	247	16.03±0.08	92.39
6	40	0.6	247	15.73±0.03	90.66
7	60	0.6	247	12.03±0.09	69.34
8	80	0.6	247	11.17±0.08	64.38
9	100	0.6	247	10.80±0.02	62.25

Se realizó una etapa de hidrólisis acida severa a la biomasa residual del tratamiento mejorado, con el fin de cuantificar los azúcares residuales en la biomasa. La hidrólisis se llevo a condiciones estándares. Adición de ácido sulfúrico al 72%, durante 1 h a 30 °C en un baño termostatado, posteriormente se diluye el ácido al 4% y se lleva al autoclave durante 1 h a 121°C. Se obtiene un licor rico en carbohidratos residuales, el cual se lleva a análisis de ART. En la Tabla 5 se presentan los resultados obtenidos en la hidrólisis con acido concentrado.

Tabla 5. Carbohidratos presentes en las microalgas después del tratamiento mejorado.

Ensayo	Carbohidrato Residual (%)	Perdida de carbohidratos
1	7.2±0.01	4.83
2	0.38±0.05	0
3	0.27±0.02	0.68
4	0.43±0.06	6.48
5	0.53±0.07	5.86
6	0.39±0.05	8.36

7	0.12±0.03	30.93
8	4.03±0.02	13.59
9	4.50±0.07	13.02

En los ensayos 1, 8 y 9 aun se evidencia contenido de carbohidratos en la biomasa residual de la etapa de tratamiento con valores de 7.2, 4.03 y 3.50% de ART, respectivamente. El menor rendimiento obtenido en la etapa de pretratamiento es para el ensayo 1, seguido de los ensayos 8 y 9 con valores del 55, 64 y 62% de rendimiento. Sin querer ceñirnos a una teoría en particular creemos que: estos bajos rendimientos se deben a: (1) en el ensayo 1 no se adicionó metanol durante la etapa de pretratamiento, esto ocasionó una disminución en la eficiencia del proceso, dando como resultado una menor liberación de carbohidratos y (2) en los ensayos 6 y 7 se adicionó mayor concentración de metanol causando mayor degradación de carbohidratos en posibles compuestos tales como: furfural, hidroximetilfurfural y ácido acético. Sin embargo, cuando se emplean concentraciones superiores al 80% de metanol, se observa menor degradación de carbohidratos y menor extracción, una explicación a esto, es la necesidad de tener contenidos de agua suficiente en la mezcla para que los alcoholes como el metanol sean eficientes en el rompimiento de la pared celular.

Para comprobar la mayor degradación de la pared celular con incrementos de metanol fue realizado el método de recuento de células de microalgas en cámara de Neubauer, como se puede observar en la Figura 4, este experimento permite evidenciar la mayor degradación de la pared celular con mayores concentraciones de metanol, y consecuentemente se podría afirmar que mayores contenidos de carbohidratos quedarían expuestos a mayores concentraciones de acido(por no consumir acido en la ruptura de la pared celular) logrando así la degradación de los mismos.

Con este ejemplo es posible evidenciar la necesidad de adicionar pequeñas concentraciones de metanol al proceso de obtención de azúcares fermentables a partir de biomasa de micro y macroalgas para obtener rendimientos próximos al 100% de ART. A su vez se puede observar que excesos de metanol pueden

REIVINDICACIONES

1. Un proceso mejorado de tratamiento aplicado a biomasa proveniente de microalgas y macroalgas, que comprende un tratamiento físico-químico de la biomasa algal mediante mezclas de solventes orgánicos con ácidos inorgánicos, a una temperatura entre 100°C y 200°C, presión entre 101,14 kPa y 303,42 kPa durante un tiempo entre 10 y 300 minutos, caracterizado porque el solvente orgánico es metanol y el ácido inorgánico es ácido sulfúrico.
2. El proceso de la reivindicación 1 caracterizado por que la concentración de metanol está entre 1% y 30% v/v y la concentración de ácido sulfúrico se encuentra entre 0.05. M y 3 M.
3. El proceso de acuerdo con la reivindicación 2 caracterizado porque la concentración de ácido sulfúrico se encuentra preferiblemente entre 0,075 y 1 M.
4. El proceso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la concentración de metanol se encuentra preferiblemente entre 1 y 20 % v/v.
5. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el tiempo de tratamiento se lleva a cabo preferiblemente en intervalos de 150 y 270 min.
6. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque la temperatura utilizada está en rango de 100°C a 150°C.
7. El proceso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque la biomasa algal preferiblemente empleada son *Botryococcus braunii*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp, *Chaetoceros gracillis*, *Chaetoceros calcitrans*.

20

8. Un proceso de fermentación que comprende el producto del proceso de las reivindicaciones 1 al 7 y bacterias, levaduras y hongos o mezclas de los mismos.

FIGURA 1

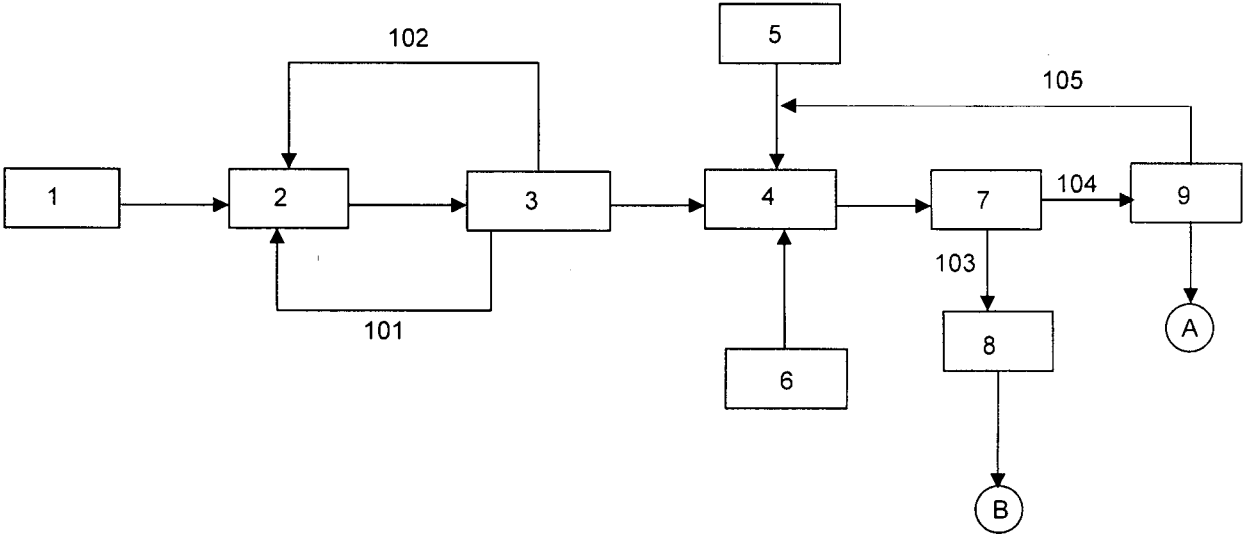


FIGURA 2

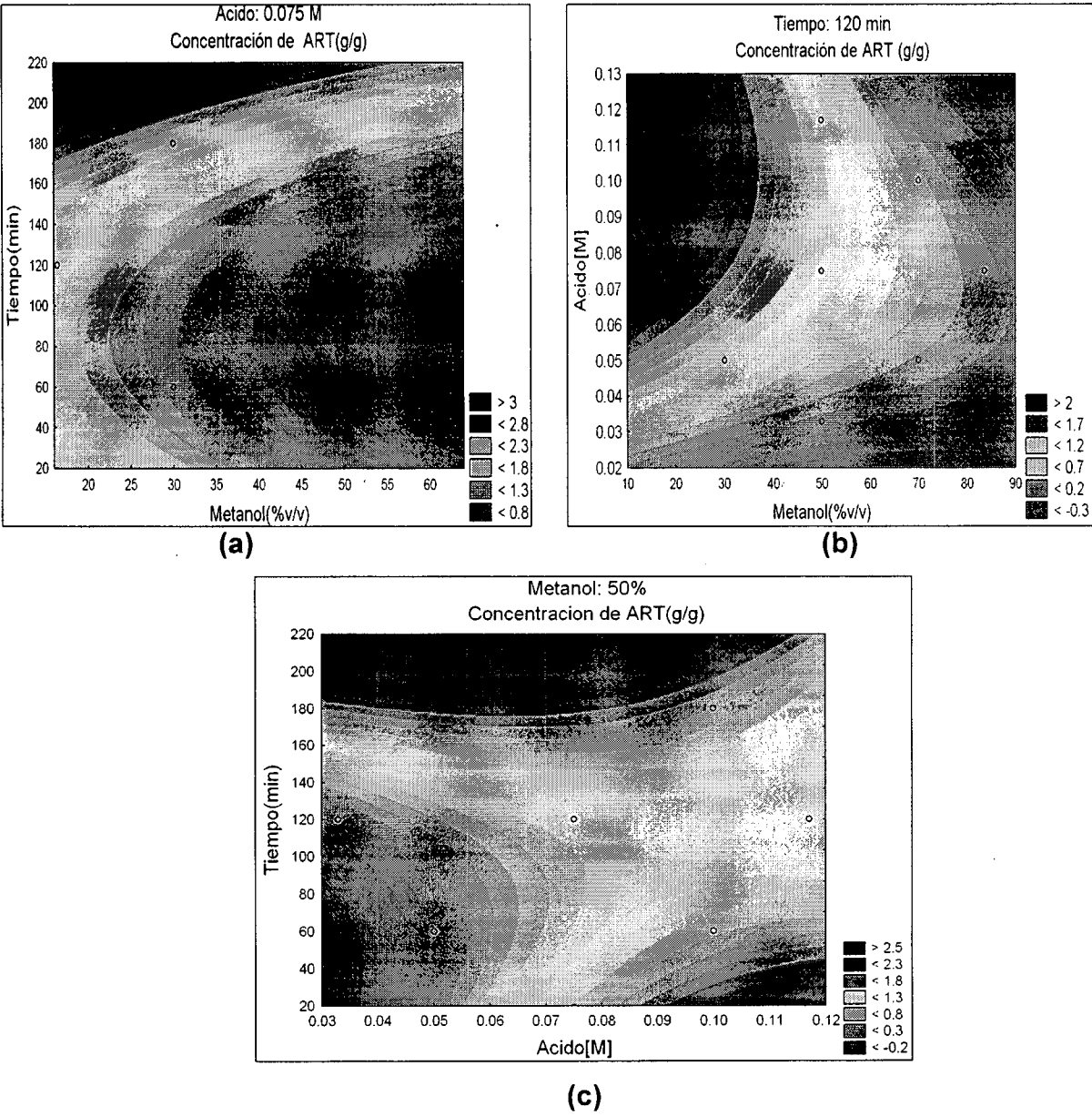
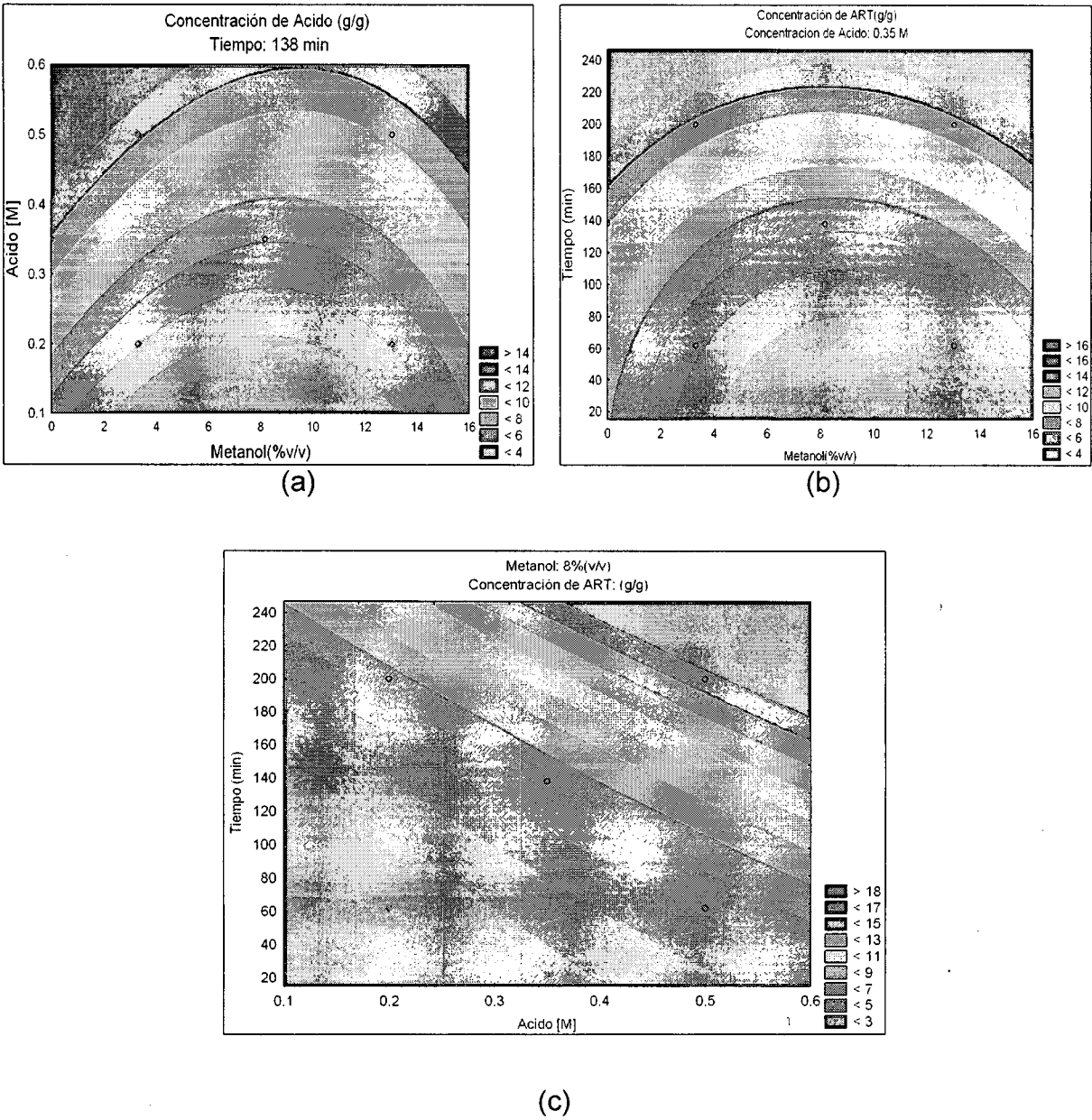
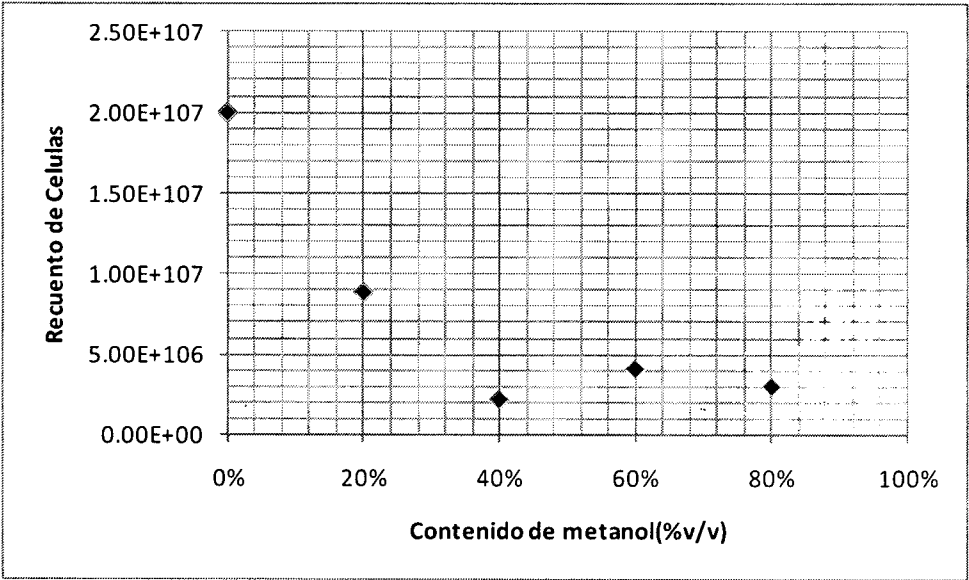


FIGURA 3



24

FIGURA 4



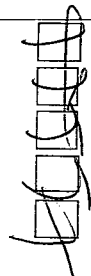
25



28

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD



Indicación que se solicita una patente.

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

Descripción de la invención

Dibujos de ser estos pertinentes

Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☒

Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única



Indicación que se solicita una PCT



Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)



Dibujos de ser estos pertinentes



Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☐

Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)



Indicación que se solicita Diseño industrial



Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud



Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño



Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)



Indicación que se solicita un esquema de trazado



Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud



Representación gráfica de un esquema de trazado



Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
RODRIGUEZ D' ALEMAN DILIA MARIA
Apoderado(a) y/o Representante de
ECOPETROL S.A.

REFERENCIA	Radicación No.	10 161624
	Trámite	2
	Evento	1
	Actuación	430
	Oficio No.	

02116

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica que:

1. Debe allegar el poder otorgado al abogado que aparece en la solicitud como apoderado, con el lleno de los requisitos exigidos en el Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante.
2. Debe allegar copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente otorgado por el(los) inventor(s) al(los) solicitante(s) o a su(s) causante(s) (art. 26-k, Dec 486/2000).

En cumplimiento del artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (E)

10 FEB. 2011

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____.
adpa11