

CAVELIER

ABOGADOS

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTA 8, COLOMBIA

Teléfono: (57-1) 347 3611
Telefax: (57-1) 211 8650
(57-1) 540 0860

Señora Jefe de la
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-123696- -00001-0000

Fecha: 2008-07-29 16:54:26 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 538 PETICION Folios: 2

Trámite : 002
Evento : 001
Actuación : 538

Referencia : Expediente No. 07.123.696
Asunto : Solicitud de Patente para **PROCESO PARA LA PRODUCCION DE ETANOL A PARTIR DE MATERIAS LIGNOCELULOSICAS POR VIA ENZIMATICA**
Solicitante : **PETROLEO BRASILEIRO S.A. PETROBRAS**
Clase : C12P 007/006
Publicada en : La Gaceta No. **588** del 31 de enero de 2008
Fecha de Solicitud : 22 de noviembre de 2007

1. Yo, Emilio FERRERO, identificado como aparece al pie de mi firma, actuando como apoderado en el asunto de la referencia, atentamente, solicito se efectúe el examen de patentabilidad de la solicitud en referencia. Para tal efecto presento junto con este escrito el recibo por valor de \$ 420.000.00, que corresponde a la tasa fijada según lo dispuesto en la resolución No. 44372 de 26 de diciembre de 2007.

2. Ruego atentamente a la Señora Jefe se sirva ordenar que se anexe este recibo para que se efectúe dicho examen y se continúe con el trámite de la solicitud.

Señora Jefe,

EMILIO FERRERO
T.P.A. No. 31.929

COLO-00795-801-034-5
SDC\SCT\ID-131324\WPCL0795
No. M-2008-131324\SDC

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-123696- -00001-0000

Fecha: 2008-07-29 16:54:26 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 2 PATENTES Eve. 1 REGDEPOSITO
Act. 538 PETICION Folios: 2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 58,088
FECHA : JULIO 21 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	664062	21/07/2008	50,380,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		85 EXAMEN DE PATENTABILIDAD DE INVEN	420,000.00
		TOTAL :	\$ 420,000.00

SON: CUATROCIENTOS VEINTE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

0000795-801-034-5

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

RADICACIÓN EXPEDIENTE No. 07-123696

EL EXTRACTO DE LA PRESENTE SOLICITUD DE **PATENTE DE INVENCION**

FUE PUBLICADO EN LA GACETA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL No **588** DE

FECHA **31 DE ENERO DE 2008** EL TÉRMINO HÁBIL SEÑALADO POR LA LEY

EXPIRA EL **29 DE ABRIL DE 2008**

NOTA: Dentro del plazo de los seis (6) meses siguientes a partir de la fecha de publicación en la gaceta de Propiedad Industrial, deberá solicitar y cancelar el examen de patentabilidad so pena de que la solicitud caiga en abandono, de acuerdo con lo establecido en el Artículo 44 de la Decisión 486/2000.

SE PRESENTARON OPOSICIONES POR PARTE DE TERCEROS.

SI _____ NO X

Interciencia

ISSN 0378-1844 *versión impresa*

INCI v.30 n.11 Caracas nov. 2005

 Como citar este artículo

Producción biotecnológica de alcohol carburante I: obtención a partir de diferentes materias primas.

Óscar Julián Sánchez y Carlos Ariel Cardona

Óscar Julián Sánchez. Ingeniero Químico, M.Sc. en Biotecnología, Academia Estatal de Tecnología Química Fina de Moscú, Rusia. Estudiante del Doctorado en Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia, sede Manizales, Colombia. Profesor, Universidad de Caldas, Colombia. e-mail: osanchez@ucaldas.edu.co

Carlos Ariel Cardona. Ingeniero Químico, M.Sc. en Ingeniería Química, Ph.D. en Ingeniería Química, Academia Estatal de Tecnología Química Fina de Moscú, Rusia. Profesor, Universidad Nacional de Colombia sede Manizales, Colombia. Dirección: Carrera 27 No. 64-60, Of. F-505. Manizales, Colombia. e-mail: ccardonaal@unal.edu.co

Resumen

En este trabajo se trata la producción biotecnológica de alcohol carburante incluyendo el análisis de la necesidad de utilizar oxigenantes para la gasolina, el etanol como aditivo oxigenante, los diversos métodos de producción de bioetanol a partir de diferentes materias primas, y las nuevas tendencias para mejorar los procesos de su obtención.

Summary

The present work deals with the biotechnological production of fuel ethanol. It includes the analysis of the need for utilizing oxygenating additives for gasoline, fuel ethanol as oxygenating agent, diverse methods for bioethanol production from different feedstocks, and new trends for improving its production processes.

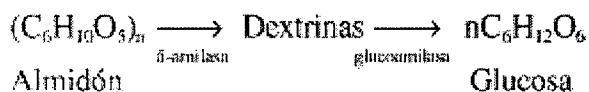
Resumo

Neste trabalho se trata a produção biotecnológica de álcool carburante incluindo a análise da necessidade de utilizar oxigenantes para a gasolina, o etanol como aditivo oxigenante, os diversos métodos de produção de bioetanol a partir de diferentes matérias primas, e as novas tendências para melhorar os processos de sua obtenção.

PALABRAS CLAVE / Aditivos Oxigenantes / Alcohol Carburante / Almidón / Biomasa Lignocelulósica / Caña de Azúcar /

Recibido: 25/07/2005. **Modificado:** 10/10/2005. **Aceptado:** 11/10/2005.

menores temperaturas (60-70°C) con glucoamilasa obtenida de *Aspergillus niger* o de especies de *Rhizopus* (Nigam y Singh, 1995), la cual hidroliza las dextrinas hasta glucosa:



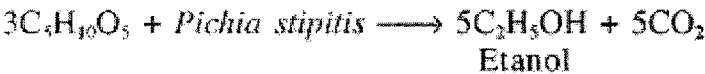
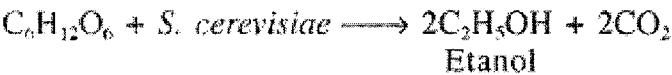
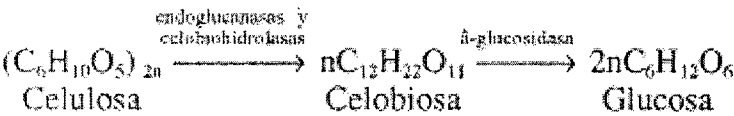
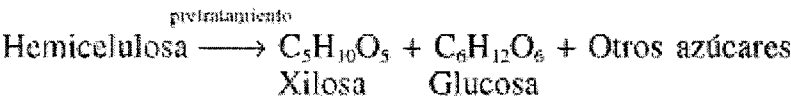
Para extraer el almidón de los granos de maíz, existen dos tipos de molienda en la industria, húmeda y seca. En la molienda húmeda se obtiene del grano, además de almidón, fibra, gluten, germen y aceite, que son subproductos de alto valor. Los rendimientos de EtOH pueden llegar a 403,1L/ton (Gulati et al., 1996). En la molienda en seco no se fracciona el grano en sus componentes por lo que todos sus nutrientes entran al proceso y son concentrados en un subproducto de destilación empleado para alimentación animal llamado granos secos de destilería (DDG, por sus siglas en inglés), lo que compensa en cierta medida los costos del proceso (McAloon et al., 2000). Cuando los DDG se mezclan con solubles concentrados provenientes de la evaporación de las vinazas ligeras se obtienen los granos secos de destilería con solubles (DDGS; Sánchez y Cardona, 2005). Los rendimientos de alcohol para la molienda en seco son de 419,4-460,6 L/ton (Gulati et al., 1996).

En Francia, aunque se obtiene alcohol a partir de melazas de remolacha azucarera, también se produce a partir de trigo alcanzando rendimientos de 0,357L EtOH/kg de trigo mediante el proceso Biostill (Ehnstroem, 1984). Se ha reportado la producción de EtOH a partir de otros vegetales que ofrecen una alta concentración de almidón como sorgo (du Preez et al., 1985), papa, papa dulce, yuca (Nigam y Singh, 1995; Hosein y Mellowes, 1989), harina de yuca y ñame (Hosein y Mellowes, 1989). La yuca representa una importante fuente alternativa de almidón no sólo para la producción de EtOH sino para la obtención de jarabes glucosados, considerando además que es uno de los diez cultivos tropicales más importantes. Se ha propuesto la hidrólisis de la harina de yuca para obtener soluciones de glucosa mediante un reactor enzimático de membrana de fibra hueca con conversiones de 97,3% (López-Ulibarri y Hall, 1997). Uno de los cultivos más perspectivas es el sorgo dulce, el cual produce granos con altos contenidos de almidón, tallos con altos contenidos de sacarosa y hojas y bagazo con alto contenido de lignocelulosa. Esta planta se puede cultivar tanto en países templados como tropicales, requiere 1/3 del agua necesaria para el cultivo de la caña de azúcar y la mitad de la cantidad necesaria para el maíz, y es muy resistente a la sequía, a las inundaciones y a condiciones de salinidad alcalina (Winner Network, 2002; du Preez et al., 1985).

Alcohol a partir de Biomasa Lignocelulósica

En el mundo se llevan a cabo gran cantidad de estudios para desarrollar la producción a gran escala de alcohol a partir de biomasa lignocelulósica. Los materiales que más se han investigado son madera y residuos forestales, papel reciclado y residuos de la industria papelería, bagazo de caña, desechos agrícolas (hojas, ramas, hierba, frutas, paja, etc.) así como residuos sólidos urbanos. Se ha estimado un valor de 6 para la relación salida/entrada de energía en el caso de la producción de EtOH a partir de biomasa (Berg, 2001), es decir, la relación entre la energía liberada durante la combustión de alcohol y la energía necesaria para su producción considerando todo el ciclo de vida del producto desde la extracción de las materias primas y los insumos requeridos, pasando por su transporte, hasta el proceso de transformación hasta bioetanol. Lo anterior hace a esta materia prima muy atractiva, en especial en países que no cuentan con la facilidad de producir grandes cantidades de caña de azúcar. El valor de esta relación para el EtOH producido a partir de almidón de maíz es de 1,1-1,2 (Prakash et al., 1998) y a partir de caña de azúcar es de 8 (Berg, 2001). El principal reto en la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica es el pretratamiento e hidrólisis de la materia prima. El complejo lignocelulósico está compuesto principalmente de una matriz de carbohidratos compuesta de celulosa y lignina enlazada por cadenas de hemicelulosa. El pretratamiento tiene como objetivo desintegrar esta matriz de tal manera que

la celulosa reduzca su grado de cristalinidad y aumente la celulosa amorfa, que es la más adecuada para el posterior ataque enzimático. Adicionalmente, la mayor parte de la hemicelulosa se hidroliza durante el pretratamiento y la lignina se libera o puede incluso descomponerse. En una etapa posterior, la celulosa liberada es sometida a hidrólisis enzimática con celulasas exógenas, lo cual hace que se obtenga una solución de azúcares fermentables que contiene principalmente glucosa, así como pentosas resultantes de la hidrólisis inicial de la hemicelulosa. Estos azúcares son posteriormente convertidos en EtOH mediante microorganismos que pueden utilizar uno o varios de los azúcares presentes en el material lignocelulósico pretratado e hidrolizado. Este complejo proceso puede ser representado por las reacciones



El pretratamiento permite que los rendimientos en la hidrólisis de celulosa aumenten de menos del 20% de los rendimientos teóricos a valores mayores al 90% (Lynd, 1996). Para el pretratamiento se han propuesto y desarrollado diferentes métodos, los cuales se relacionan en la [Tabla III](#) de acuerdo a la clasificación de Sun y Cheng (2002). Sin embargo, ninguno de los métodos de pretratamiento propuestos se puede aplicar en forma genérica a las diferentes materias primas (Claassen et al., 1999). Esto justifica la realización de análisis detallados de estas tecnologías en cada caso en particular. La síntesis de procesos puede aportar las herramientas necesarias para descartar las opciones con menos perspectivas en forma preliminar, teniendo en cuenta nuevos procedimientos, esquemas y alternativas que se planteen en la etapa de diseño.

TABLA III
 MÉTODOS DE PRETRATAMIENTO DE LA BIOMASA
 LIGNOCELULÓSICA PARA LA PRODUCCIÓN
 DE BIOETANOL

Métodos	Procedimiento/ Agentes	Observaciones	Ejemplos de materiales pretratados	Referencia
<u>Pretratamientos físicos</u>				
Pulverizado mecánico	Reducción a astillas, trituration, molienda.	Molinos: vibratorio de bolas (tamaño final: 0.2-2mm), de cuchillas o martillo (tamaño fi- nal: 3-6mm).	Residuos de made- ra y forestales (pa- ja, madera dura), desechos de maíz, bagazo de caña, timothy, alfalfa.	Sun y Cheng, 2002; Rivers y Emert, 1988; Cadoche y López, 1989; Papatheofanous et al., 1998; Alvo y Belkacemi, 1997.

Pirólisis T>300°C Formación de productos Madera, almidón Sun y Chene.

volátiles y carbón. Residuos de la pirólisis pueden someterse a hidrólisis ácida suave (1N H_2SO_4 , $T=97^\circ C$, 2,5h) para producir 80-85% AR (>50% de glucosa). Puede realizarse al vacío: $400^\circ C$, $p=1\text{mm Hg}$, 20min (algodón de desecho).

de desecho. 2002; Yu y Zhang, 2003.

Pretratamientos físico-químicos

Explosión a vapor	Vapor saturado a $160-260^\circ C$, $p=0.69-4.85\text{ MPa}$ por varios segundos o minutos, luego descompresión hasta presión atmosférica.	Altas concentraciones de sólidos. Hidrólisis del 80-100% de la hemicelulosa, destrucción de parte de la xilosa obtenida, formación de inhibidores, se requiere posterior lavado con agua. Al combinarse con H_2SO_4 , SO_2 , o CO_2 mejora la eficiencia de la posterior hidrólisis enzimática, disminuyendo inhibidores. Reducción de tamaño con menor gasto energético comparado con pulverización. Ocurre cierta despolimerización de la celulosa. La lignina no se solubiliza o lo hace muy poco, pero se redistribuye.	Bagazo, madera blanda, paja de arroz, madera de aspen, madera de eucalipto.	Sun y Cheng, 2002; Kaar <i>et al.</i> , 1998; Moniruzzaman, 1996; De Bari <i>et al.</i> , 2002; Heitz <i>et al.</i> , 1987; Söderström <i>et al.</i> , 2003; Lynd <i>et al.</i> , 2002.
Agua líquida caliente (LHW)	Agua caliente presurizada, $T=170-230^\circ C$, 1-46min.	Concentraciones de sólidos <20%. Ocurre cierta despolimerización de la celulosa. Hidrólisis del 80-100% de la hemicelulosa, >50% oligómeros. Solubilización parcial de la lignina (20-50%). Conversión durante la hidrólisis de celulosa >90%. Baja o nula formación de inhibidores.	Bagazo de caña.	Lynd, 1996; Laser <i>et al.</i> , 2002; Lynd <i>et al.</i> , 2002.
Explosión de fibra con amoníaco (AFEX)	Dosis 1-2kg de amoníaco/kg de biomasa seca, $90^\circ C$, 30min.	Se requiere recuperación de amoníaco, no produce inhibidores. Conversión durante la hidrólisis de celulosa >90% (bagazo y hierba de Bermuda). Para biomasa con alto contenido de lignina no es muy eficiente (conversión de celulosa <50%). Ocurre cierta despolimerización de la celulosa. Hidrólisis del 0-60% de la hemicelulosa en dependencia de la humedad, más del 90% oligómeros. Ocurre	Materiales herbáceos (paja de trigo y cebada, cascarilla de arroz, desechos de maíz, switchgrass), residuos sólidos urbanos, papeles periódicos, alfalfa, astillas de aspen y bagazo.	Sun y Cheng, 2002; Dale <i>et al.</i> , 1996; Lynd <i>et al.</i> , 2002.

re cierta solubilización de la lignina (~10-20%).

Explosión con CO ₂	Dosis de 4 kg CO ₂ /kg de fibra, p=5,62 MPa.	Conversión a glucosa durante la hidrólisis de celulosa >75% (alfalfa). No forma compuesto inhibitorios.	Alfalfa, mezcla de papel reciclado, bagazo de caña.	Sun y Cheng, 2002.
-------------------------------	---	---	---	--------------------

Pretratamientos químicos

Ozonólisis	Ozono, reacción a temperatura y presión ambientales.	Degradación principalmente de lignina. Conversión durante la hidrólisis de celulosa: 57% (aserrín). No se forman inhibidores.	Paja de trigo, bagazo, heno verde, cacahuete, pino, paja de algodón y aserrín de álamo.	Sun y Cheng, 2002.
Hidrólisis con ácido diluido	H ₂ SO ₄ , HCl, HNO ₃ al 1-5%. Procesos de flujo continuo para baja carga de sólidos (5-10% peso sustrato/peso mezcla) a T=160-200°C; procesos por lotes a alta carga de sólidos (10-40%) a T=120-160°C. Presiones cercanas a 1 MPa.	Hidrólisis del 80-100% de la hemicelulosa, altas conversiones de xilano a xilosa. La alta temperatura es favorable para la hidrólisis de celulosa. Se requiere neutralizar el pH para la posterior hidrólisis enzimática. Ocurre cierta despolimerización de la celulosa. La lignina no se solubiliza o lo hace muy poco, pero se redistribuye.	Desechos de maíz, bagazo de caña, madera de álamo, switchgrass, paja de trigo, astillas de álamo.	Sun y Cheng, 2002; Schell <i>et al.</i> , 2003; Rodríguez-Chong <i>et al.</i> , 2004; Esteghlalian <i>et al.</i> , 1997; Wooley <i>et al.</i> , 1999; Lynd <i>et al.</i> , 2002.
Hidrólisis con ácido concentrado	H ₂ SO ₄ al 10-30%, 170-190°C, relación 1:1.6 sólido-líquido. Ácido peracético 21-60%, sistema tipo silo.	Se requiere la recuperación del ácido. Tiempos de residencia mayores que en la hidrólisis con ácido diluido.	Bagazo de caña, aserrín de madera dura.	Cuzens y Millar, 1997; Teixeira <i>et al.</i> , 1999.
Hidrólisis alcalina	NaOH diluido, 24 h, 60°C	Remoción de lignina 24-55% para madera dura con contenido inicial de lignina del 20%, difícil remoción para maderas blandas con contenidos de lignina >26%. Hidrólisis de >50% de la hemicelulosa. Sustancial hinchamiento de la celulosa. Conversión durante la hidról. de celulosa: 78,2% (paja de arroz), 67,1% (bagazo). Conversión durante la hidról. de celulosa: proceso convencional, aprox. 54%; NaOH+H ₂ O ₂ , aprox. 65% (hojas de caña de azúcar).	Madera dura, pajas con bajo contenido de lignina (10-18%), desechos de maíz, bagazo de caña, hojas de caña de azúcar.	Sun y Cheng, 2002; Rivers y Emert, 1988; Hari Krishna <i>et al.</i> , 1998; Lynd <i>et al.</i> , 2002.
Deslignificación oxidativa	Peroxidasa y H ₂ O ₂ al 2%, 20°C, 8h.	Solubilización del 50% de la lignina y de casi la totalidad de la hemicelulosa. Conversión durante la hidrólisis de celulosa: 95% (aserrín).	Bagazo de caña.	Sun y Cheng, 2002.
Proceso organosolv	Solventes orgánicos (metanol, etanol, acetona, etilenglicol, tri-	Ruptura de la lignina interior y de las uniones de hemicelulosa.	Madera de álamo.	Sun y Cheng, 2002; Rezzoug y Capart.

tienglicol, entre otros) o su mezcla con 1% de H_2SO_4 o HCl.

Solubilización casi total de la lignina. Hidrólisis casi total de la hemicelulosa. Altos rendimientos de xilosa. Recuperación de solventes y su remoción del sistema para no inhibir los procesos biológicos subsiguientes.

1996; Lynd *et al.*, 2002.

Pretratamiento biológico

Pretratamiento con hongos

Hongos de la pudrición blanca, blanda y parda. Producción de celulosas por fermentación en sustrato sólido.

Los hongos producen celulosas, hemicelulasas y enzimas degradadoras de lignina: ligninasas, ligninperoxidasas, polifenoloxidasas, lacasas y enzimas reductoras de quinonas. Proceso muy lento: *Pleurotus ostreatus* convierte el 35% de la paja de trigo en azúcares reductores en cinco semanas. Hongos de la pudrición parda degradan celulosa. Hongos de la pudrición blanca y blanda degradan celulosa y lignina.

Paja de trigo, desechos de maíz.

Sun y Cheng, 2002; Tengerdy y Szakacs, 2003.

Durante el pretratamiento e hidrólisis de la biomasa lignocelulósica se forman, junto con los azúcares fermentables, gran cantidad de compuestos que pueden inhibir la fermentación subsiguiente. Las sustancias inhibitorias se originan como resultado de la hidrólisis de los diferentes componentes, de los ácidos orgánicos esterificados a la hemicelulosa, y de los derivados fenólicos solubilizados de la lignina. Así mismo, los inhibidores se forman a partir de productos de degradación de los azúcares solubles y de la lignina (Lynd, 1996; Palmqvist y Hahn-Hägerdal, 2000a, b). Por eso, y dependiendo del tipo de pretratamiento e hidrólisis utilizados, es necesario llevar a cabo la destoxificación de las corrientes que van a ser sometidas a fermentación. En la [Tabla IV](#) se condensan las principales características de los métodos de destoxificación más empleados para la obtención de bioetanol con base en la información compilada para hidrolizados de madera.

TABLA IV
MÉTODOS DE DESTOXIFICACIÓN DE HIDROLIZADOS
DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA
PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL

Método	Procedimiento/ Agentes	Fundamento	Ejemplos
<u>Métodos físicos</u>			
Evaporación	Evaporación, separación de fracciones volátiles y no volátiles y dilución de la fracción no volátil.	Los inhibidores volátiles son removidos del hidrolizado.	Hidroliz. de sauce: se debe reducir el contenido de ácido acético y compuestos fenólicos en la fracción no volátil; roto-evaporación; m.o. <i>S. cerevisiae</i> . Hidroliz. de aspen: aumento del rendimiento de alcohol de 0 a 93% del rendim. de la fermentación de referencia; m.o.: <i>Pichia stipitis</i> ; remoción de: ácido acético 54%, furfural 100%, vanilina 29%; roto-

evaporación.

Extracción	Solventes orgánicos.	Los inhibidores se transfieren a la fase del solvente y son removidos con el extracto.	Hidroliz. de pinabete: dietil éter (solv.); rendimiento comparable con la fermentación de referencia; m.o. <i>S. cerevisiae</i> ; extracto etéreo contiene ácido acético, fórmico y levulínico, furfural, hidroximetil furfural (HMF); segunda extracción del extracto etéreo con solución de NaHCO_3 neutralizó el efecto inhibitorio de las fases resultantes. Hidroliz. de aspen: acetato de etilo (solv.); aumento del rendimiento de alcohol de 0 a 93% del rendim. de la fermentación de referencia; m.o.: <i>Pichia stipitis</i> ; remoción: de ácido acético 56%, furfural 100%, vanillina 100%, ácido hidroxibenzoico 100%. Hidroliz. de pino: acetato de etilo (solv.); principales inhibidores en el extracto - compuestos fenólicos de bajo peso molecular; m.o. <i>S. cerevisiae</i> .
------------	----------------------	--	--

Métodos químicos

Neutralización	Ca(OH)_2 6 CaO , pH=6, luego filtración con membranas o adsorción.	Precipitación o remoción de compuestos tóxicos.	Hidroliz. ácido de algodón de desecho pretratado por pirólisis: rendimiento de etanol: <i>S. cerevisiae</i> 0.44 g/g, <i>Pichia</i> sp. 0.40 g/g; diferentes materiales adsorbentes (Yu y Zhang, 2003).
Destoxificación alcalina (alcalinización)	Ca(OH)_2 , pH=9-10.5, luego reajuste de pH hasta 5.5-6 con H_2SO_4 .	Precipitación de compuestos tóxicos, inestabilidad de algunos inhibidores a pH altos.	Hidroliz. ácido de pinabete: rendimiento comparable con la fermentación de referencia, reducción de furfural y HMF del 20%. Hidroliz. de bagazo de caña pretratado por explosión a vapor: remoción de ácido acético, furfural y parte de compuestos fenólicos (Martín <i>et al.</i> , 2002). Hidroliz. ácido de algodón de desecho pretratado por pirólisis: rendimiento de etanol: <i>S. cerevisiae</i> 0.40 g/g, <i>Pichia</i> sp. 0.37 g/g; diferentes materiales adsorbentes después de alcalinizar (Yu y Zhang, 2003).
Destoxificación alcalina combinada	KOH, pH=10, luego reajuste de pH hasta 6.5 con HCl y adición de 1% de sulfito de sodio.	Disminución de cetonas y aldehídos, remoción de compuestos volátiles cuando se calienta el hidrolizado (90°C).	Hidroliz. de bagazo de caña; m.o.: <i>Pichia stipitis</i> . Hidroliz. ácido de pinabete; m.o.: <i>S. cerevisiae</i> . Hidroliz. de sauce; m.o.: <i>Escherichia coli</i> recombinante.
Intercambio iónico	Resinas de base débil Amberlyst A20, regeneradas con amoníaco (Wooley <i>et al.</i> , 1999).	Remoción de inhibidores al quedar adsorbidos electrostáticamente a una resina de intercambio iónico.	Hidroliz. ácido de pinabete; m.o.: <i>S. cerevisiae</i> ; remoción: de compuestos fenólicos >80%, ácidos levulínico, acético y fórmico casi 100%, furfural y HMF 70%; pérdidas considerables de azúcares fermentables. Hidroliz. ácido de álamo; m.o.: <i>Z. mobilis</i> recombinante; remoción: de

ácido acético 88%, H₂SO₄ 100%; recuperación de azúcares 100% (Wooley *et al.*, 1999).

Métodos biológicos

Destoxificación enzimática	Lacasa y peroxidasa de <i>Trametes versicolor</i> .	Oxidación enzimática: la lacasa remueve selectivamente los compuestos fenólicos de bajo peso molecular y los ácidos fenólicos, posiblemente por polimerización oxidativa.	Hidroliz. de sauce: aumenta la productividad de alcohol de 2 a 3 veces en comparación con hidrolizados no destoxificados; m.o.: <i>S. cerevisiae</i> . Hidroliz. de bagazo de caña pretratado por explosión a vapor: remoción del 80% de los compuestos fenólicos (Martín <i>et al.</i> , 2002).
Destoxificación microbiana	<i>Trichoderma reesei</i> .	Degradación de inhibidores por el hongo; remoción de ác. acético, furfural y deriv. de ácido benzoico.	Hidroliz. de sauce pretratado por explosión a vapor: aumenta la productividad y el rendimiento de alcohol 3 y 4 veces respectivamente en comparación con hidrolizados no destoxificados; m.o.: <i>S. cerevisiae</i> .

Observaciones: Fermentación de referencia se refiere a la realizada en un medio basado en glucosa y sin inhibidores; m.o. - microorganismo utilizado en la fermentación alcohólica. Adaptada de Palmqvist y Hahn-Hägerdal, 2000a.

Luego del pretratamiento, la celulosa liberada es degradada hasta glucosa (sacarificación), lo cual puede hacerse con ácidos o enzimas (celulasas). La mayoría de las celulasas comerciales son producidas a partir de *Trichoderma reesei*, del cual se obtiene básicamente una mezcla de celobiohidrolasas y endoglucanasas (Lynd *et al.*, 2002; Zhang y Lynd, 2004). Las primeras hidrolizan los enlaces $\beta(1,4)$ de la cadena de celulosa a partir de los extremos no reductores o reductores liberando celobiosa o inclusive glucosa, mientras las endoglucanasas rompen estos mismos enlaces en forma aleatoria dentro de la cadena. Desafortunadamente, las celobiohidrolasas son inhibidas por la celobiosa, por lo que se agrega β -glucosidasa de otra fuente para complementar la acción de las celulasas de este hongo. La β -glucosidasa hidroliza la celobiosa obtenida en dos moléculas de glucosa.

Las etapas de hidrólisis y fermentación se pueden realizar en forma secuencial (hidrólisis y fermentación separadas, SHF por sus siglas en inglés) o llevando a cabo en una sola unidad la hidrólisis y la fermentación al mismo tiempo (sacarificación y fermentación simultáneas; SSF). El microorganismo más utilizado para este proceso es *S. cerevisiae* que fermenta las hexosas presentes en el hidrolizado mas no las pentosas. La SSF muestra mayores rendimientos de EtOH y menores consumos energéticos, pero las temperaturas de operación no son óptimas para la hidrólisis y se requiere de mayores dosis de enzimas. Wyman *et al.* (1992) realizaron una evaluación de los rendimientos de alcohol a partir de diferentes materiales lignocelulósicos en procesos de SSF y de SHF por lotes a 37°C con diferentes dosis de enzima y tiempos de proceso de 7-8 días. La tusa de maíz, los tallos y hojas de maíz, la paja de trigo y el pasto llorón, en su orden, alcanzaron altas tasas de hidrólisis y altos rendimientos de EtOH durante la SSF; los diferentes tipos de madera pretratada estudiados mostraron conversiones similares de celulosa a EtOH y rendimientos ligeramente inferiores a los desechos de maíz, los cuales presentaron los mayores valores (92-94%).

South *et al.* (1993) llevaron a cabo ensayos de SSF en reactores por lotes adicionando celulasas a mezclas de madera dura y de álamo pretratadas con ácido diluido utilizando *S. cerevisiae*. La conversión de celulosa alcanzó a los 3 días valores de 91% y 96% para la mezcla de madera dura y de álamo, respectivamente. Se estudió también el comportamiento de un reactor CSTR para la SSF continua de la mezcla de madera dura alcanzando conversiones del 83% y concentraciones de EtOH de 20.6 g L⁻¹ para tiempos de residencia de

conversiones del 65% y concentraciones de EtOH de 20,09 g/L para tiempos de residencia de 2-3 días. Se ensayó además la conversión microbiana directa (DMC, por sus siglas en inglés) de celulosa utilizando *C. thermocellum* que produce celulasas y a la vez fermenta la glucosa hasta EtOH obteniendo mayores conversiones para tiempos de residencia de 0,5 días en comparación con la SSF continua.

Se ha explorado la producción de EtOH a partir de residuos sólidos urbanos (RSU). Se estima que más del 70% de los materiales enterrados en los rellenos sanitarios de EEUU son lignocelulósicos (papel, cartón, desechos de jardín, entre otros). El proceso de obtención de bioetanol a partir de estos residuos por hidrólisis ácida ya se ha patentado (Titmas, 1999) y se ha reportado que la compañía Masada Resource Group planea iniciar antes de 2006 la operación de la primera planta productora de EtOH en EEUU a partir de RSU (Ames y Werner, 2003). Otro enfoque comprende la hidrólisis enzimática del almidón y la celulosa presentes en forma mayoritaria en los RSU de origen vegetal procedentes de plazas de mercado para su conversión posterior a EtOH (Cardona et al., 2004), resultando difícil la conversión de la celulosa mas no la del almidón y verificándose la posibilidad de obtener alcohol a partir de estos residuos vegetales.

Conclusiones

La posibilidad de obtener una fuente renovable de energía de fácil acceso, segura y efectiva es una de las metas que la humanidad debe alcanzar. El alcohol etílico obtenido por métodos biotecnológicos se constituye en una importante alternativa frente a los combustibles fósiles. La producción de EtOH a partir de caña de azúcar muestra los menores costos de producción, seguida por el proceso a partir de almidón de maíz. Finalmente, los costos del EtOH a partir de biomasa lignocelulósica siguen siendo elevados, razón por la cual no se ha puesto en funcionamiento hasta el momento una planta comercial que transforme esta materia prima. Sin embargo, muchos centros de investigación de diferentes países están adelantando estudios con miras a disminuir estos costos y llevarlos a niveles rentables para una operación industrial. La globalización del empleo del bioetanol requiere que la tecnología de su obtención a partir de biomasa sea desarrollada completamente. Esta necesidad de desarrollo es mucho más perentoria para aquellos países que, como los de Europa o Norte América, no poseen las condiciones agroecológicas requeridas para el cultivo de especies ricas en azúcares como la caña.

Colombia y otros países latinoamericanos presentan una situación privilegiada en este campo, al exhibir una gran disponibilidad de los tres tipos de materia prima analizados. Aunque la opción más lógica es la caña, se deben considerar los beneficios sociales que pueda tener el empleo de otros cultivos alternativos como la yuca o el maíz, o inclusive el aprovechamiento de una gran diversidad de residuos y desechos agrícolas típicos del trópico y de las actividades agroindustriales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología (Colciencias), a la Universidad Nacional de Colombia sede Manizales y a la Universidad de Caldas, por su apoyo durante la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

1. Alvo P, Belkacemi K (1997) Enzymatic saccharification of milled timothy (*Phleum pratense* L.) and alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Bioresource Technol.* 61: 185-198.
2. Ames J, Werner C (2003) Reaching the environmental community: Designing an information program for the NREL biofuels program. National Renewable Energy Laboratory. Golden, CO, EEUU. 93 pp.

3. Ancillotti E, Fattore V (1998) Oxygenate fuels: Market expansion and catalytic aspect of

LA LEVADURA Y LA PRODUCCION DE CO₂

LA LEVADURA:

Recurriendo nuevamente a la etimología de las palabras, nuestro agente fermentativo es un microorganismo denominado Saccharomyces, que significa "hongo del azúcar". Dichos microorganismos son seres unicelulares, pero con una evolución apreciable, de manera que les hace estar mas cerca de la escala evolutiva de los vertebrados que de las bacterias, por lo que tendrán un metabolismo complejo, capaz de generar toda una serie de productos.

Dentro del genero Saccharomyces (que engloba mas de 20 especies), solo la S. Cerevisiae y la S. Bayanus, son importantes en la fermentación.

El crecimiento y desarrollo de la levadura, como cualquier microorganismo, esta condicionado por un nº de factores (sustancias nutritivas, factores de crecimiento) y condicionantes físico-químicos (temperatura, pH, aireación). Así llamamos "factor limitativo" a aquel cuya ausencia o modificación acarrea la detención del crecimiento, evitando la ausencia de estos factores conseguiremos que todo se desarrolle según nuestro intereses.

Otra cosa que hay que tener claro que si colocamos algunas levaduras en un medio de cultivo (en nuestro caso la solución de agua y azúcar), estas se multiplicaran hasta el agotamiento del factor limitante (por ejemplo hasta que se acabe el azúcar) o hasta el momento en que un factor limitativo alcanza un valor critico (por ejemplo demasiado alcohol).

NECESIDADES DE LA LEVADURA:

- TEMPERATURA:

Las levaduras tienen su óptimo de intensidad fermentativa, aproximadamente a los 35°C, paralizando cualquier actividad a los 45°C.

Temperatura de fermentación	Genero Saccharomyces (gramos de CO ₂ desprendido en 24 horas)
15°C	4-5,3
20°C	4.3-7,5
25°C	8,7-11,3
30°C	8,8-16,0
35°C	10,8-13,1
39°C	3,3-15,2

La fermentación es el doble de rápida a 30°C, que a 20°C, o lo que es lo mismo, por cada grado que se eleva la temperatura las levaduras transforman el 10% mas de azucares en el mismo tiempo.

Un mosto de 200 gr./l de azúcar, fermentaría en 3 o 4 días a 30°C, tardaría 15 días a 20°C, pero semanas a 10°C.

Experiencia en mosto de uva		
Temperatura	Tiempo de fermentación	Grado alcohólico
10°C	8 días	16,2
15°C	6 días	15.8
20°C	4 días	15.2
25°C	3 días	14.5

30°C	36 horas	10.2
35°C	24 horas	6.0

La mayoría de las *Saccharomyces* tiene su máximo de desprendimiento de CO_2 a 20°C.

La sensibilidad al alcohol por parte de la levadura aumenta con la temperatura.

ACIDEZ:

Se fermentan mas azucres en un medio neutro que en uno ácido.

Para su crecimiento, la levadura tiene un óptimo de pH entre 4 y 6. Un pH alcalino ralentiza el crecimiento de las levaduras.

DOSIFICACIÓN:

En las industrias las dosis de levaduras varían de 150 a 300 gr. de levadura seca por hectolitro o de 0,3 a 0,5 litros de levadura líquida por hectolitro.

La dosis esta en función de la temperatura, duración de la fermentación y densidad del mosto. Es inversamente proporcional a las dos primeras y directamente proporcional a la última.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado
EMILIO FERRERO

ASUNTO	Radicación	07 123696
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	416
	Oficio	
	Folios	21 14380

Patente de Invención	☒	Patente de Modelo de Utilidad	☐
Via Nacional	☒		
Via PCT (Fase Nacional)	☐	Capítulo I	☐ Capítulo II
Fecha de Presentación Internacional	22/Junio/2001		

Como resultado del Examen de Fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

1. Documentos estudiados

Descripción:	Folios 40 a 57	22/Noviembre/2007
Reivindicaciones:	Folios 58 a 60	22/Noviembre/2007
Dibujos:	Folios 241 a 247	22/Noviembre/2007

2. Análisis de la Prioridad

Se sugiere al solicitante, aclarar si se invoca prioridad de la solicitud BR 0605017-4 anexa al expediente, dado que en el petitorio dice no estar invocando.

3. Objeto de la invención

Título de la solicitud: "Proceso para la producción de Etanol a partir de materias lignocelulósicas por vía enzimática"

El problema planteado en esta solicitud es la necesidad de tratar los residuos de composición lignocelulósica, procedentes de las actividades agrícolas y agro-industriales, las cuales representan un grave problema ambiental.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona un aprovechamiento de las fracciones de polisacáridos, del bagazo de caña, las cuales podrán ser utilizadas para la obtención de Etanol, como combustible o como aditivo de la gasolina o insumo químico, sin utilización de altas concentraciones enzimáticas y operando en un cuarto periodo de sacarificación y fermentación alcohólica.

El objeto de la presente Solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Expediente 07 123696 1er Art 45

Patentes (CIP): C12P 007/006

1. De la Solicitud de Patente

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

La Reivindicación 1 no es clara porque

- 1- La expresión "microorganismo con actividad preparatoria" no especifica el microorganismo que se está empleando, se sugiere sustituir la expresión por sus nombres específicos o por el microorganismo empleado en los ejemplos, ya que las condiciones del proceso pueden cambiar al emplear cualquier microorganismo
- 2- La expresión "durante un tiempo máximo de 30 a 32 h" no es específica, ya que no se distingue si se refiere al tiempo empleado en la productividad de todo el proceso o solo del proceso de fermentación y además no es coherente con lo establecido en la descripción.

La Reivindicación 3 no es clara porque

- 3- No se especifica si la productividad es de todo el proceso o solo del proceso de fermentación y además no es coherente con lo establecido en la descripción

La Reivindicación 4 no es clara porque

- 4- No es claro a que reacción se refieren, si se refiere al tiempo que se emplea en todo el proceso y se debe tener en cuenta que es máximo de 44 horas, según lo descrito.

Descripción (Art 28 D 486)

- 1- Hacen referencia a enzimas celulósicas comerciales (GENECOR® GC 220), que es una Marca Registrada y por tanto no definen al producto porque su composición puede cambiar con el paso del tiempo aunque conserve el mismo nombre. Se sugiere aclarar cuáles son las características del producto en cuestión.
- 2- No se especifica cual es la concentración del agua levemente ácida (HCl) (folio 55, segundo párrafo), además la expresión "levemente" es relativo por lo cual no permite distinguir la invención del estado de la técnica. Se sugiere sustituirlo rango concreto. Por lo tanto la Descripción no divulga la invención de manera completa para que el experto en la materia pueda ejecutarla (ó reproducirla) ya que sería necesario hacer una serie de experimentos para lograr la proceso como se describe.

Se requiere al Solicitante hacer las aclaraciones necesarias.

2. Determinación del Estado de la Técnica

El Estado de la Técnica se determinó con base en la Fecha de Presentación de la Solicitud de Prioridad: Noviembre 30 de 2006 y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Item	Documento	Título	Fecha de Publicación*
D1	Articulo	Producción biotecnológica de alcohol carburante I: obtención a partir de diferentes materias primas.	Noviembre/2005
D2	WO 0132715	Process for the production of organic products from lignocellulose containing biomass sources	10/Mayo/2001
D3	Articulo	La levadura y la producción de CO ₂	Diciembre/2000
D4	US 5231017	Two-stage dilute acid prehydrolysis of biomass	30/Junio/1992

D1http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-18442005001100005&script=sci_arttext
divulga (resumen) La producción biotecnológica de alcohol carburante, incluyendo el análisis de la necesidad de utilizar oxigenantes para la gasolina, el etanol como aditivo oxigenante, los diversos métodos de producción de bioetanol a partir de diferentes materias primas, y las nuevas tendencias para mejorar los procesos de su obtención.

D2http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?CC=WO&NR=0132715A1&KC=A1&FT=D&date=20010510&DB=EPODOC&locale=en_EP
divulga (página 6, renglones 1 – 8) nuevos avances en el procesamiento de biomasa, proporcionando los procesos y sistemas para el aumento de la producción de diversos productos orgánicos que contienen biomasa de lignocelulosa. En particular, la presente invención se integra técnicas de hidrólisis ácida y alcalina, deslignificación en los procesos que aumentan la cantidad de productos, es decir, eficiencia de los materiales de utilización y el rendimiento de procesamiento de la biomasa lignocelulosa y permitir el desarrollo económico de producción de plásticos biodegradables a base de lignina y otros productos orgánicos útiles.

D3 <http://usuarios.multimania.es/nachodiscosweb/articulo/levadura.htm>
Divulga algunas condiciones necesarias que influyen de manera clara en la producción de CO₂

D4http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?CC=US&NR=5125977A&KC=A&FT=D&date=19920630&DB=EPODOC&locale=en_EP
Divulga (abstract) un proceso en dos etapas de prehidrólisis diluyendo el ácido en la hemicelulosa de la biomasa que contiene xilano: el tratamiento de materia prima de material que comprende hemicelulosa xilano que es lento hidrolizable y xilano que es rápido hidrolizable bajo condiciones predeterminadas de baja temperatura con un ácido diluido para un tiempo de residencia suficiente para hidrolizar el xilano rápidamente hidrolizables a xílosa, la eliminación de dicho xílosa de xilano rápidamente hidrolizable y dejando un residuo y el tratamiento de dicho residuo que tiene un xilano hidrolizable lento con un ácido diluido bajo condiciones predeterminadas a alta temperatura durante un tiempo de residencia requerido para hidrolizar dicho xilano hidrolizable lento de xílosa.

6 Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Novedad (Art 16 D486)

La reivindicación 1 consiste en un proceso para la producción de Etanol a partir de materias lignocelulósicas por vía enzimática, como por ejemplo bagazo de caña, caracterizado porque comprende las etapas de:
Expediente 07 123696 1er Art 45

- a) Tratamiento previo de un residuo sólido, denominado de celulignina, que contiene celulosa y lignina
- b) Pre-hidrólisis enzimática del residuo sólido.
- c) Fermentación simultánea del medio resultante de la hidrólisis enzimática, adicionando un microorganismo con actividad preparatoria para la producción de Etanol.
- d) Separación y destilación del Etanol obtenido.

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del Estado de la Técnica:

Características esenciales	D1	D2	D3	D4
Proceso que consiste en a) un tratamiento de un residuo sólido denominado de celulignina sometido a lavados con soluciones alcalinas (NaOH al 4% p/v)	Método de producción en donde se han investigado materiales como madera y residuos forestales, papel reciclado y residuos de la industria papelera, bagazo de caña, desechos agrícolas (hojas, ramas, hierba, frutas, paja, etc.) así como	El material de alimentación a partir de la biomasa puede ser de cualquier materia orgánica, y se compone generalmente de material vegetal, la vegetación, agricultura, industria o residuos domésticos. Puede incluir, caña de azúcar. (pagina 10, líneas 19 a la 23).	No se menciona	Proceso que consiste en que la biomasa (residuos de agricultura, bosques, vegetales y de procedimiento de alimentos)
La celulignina es sometida a lavados con soluciones alcalinas (NaOH al 4% p/v)	Los residuos sólidos urbanos, los cuales son sometidos a una hidrólisis alcalina con NaOH a 60°C	Deslignificación química de los sólidos lignocelulósicos. Se puede combinar con un 4% base fuerte (como alcalinos o disolución de la lignina-base) a unos 210 °C durante unos 4 minutos. (pagina 14, líneas 6 a la 15)	No se menciona	No se menciona
Seguido de lavados con agua acidificada hasta llegar a un Ph 6-7	No se menciona	No se menciona	No se menciona	la biomasa es sometida a una hidrólisis previa con ácido diluido (H ₂ SO ₄)
Luego el residuo sólido se separa de la fase acuosa por filtración en un reactor tipo prensa	No se menciona	El producto de esta etapa se lava y se presiona para separar la lignina soluble de la lignina restante de los sólidos de la celulosa (pagina 15, líneas 8 a la	No se menciona	se separa el sólido del líquido mediante filtración

		10)		
b) Pre-hidrólisis enzimática del residuo sólido en el reactor tipo prensa	Luego del pretratamiento, la celulosa liberada es degradada hasta glucosa (sacarificación)	Los sólidos, agua y productos químicos fabricación de pasta se pasan a la hidrólisis enzimática. (pagina 21, líneas 10 a la 14)	No se menciona	Hidrólisis enzimática en un reactor Parr
Adicionando a dicho residuo una carga de enzimas, en concentración de 20 a 30 FPU/g	Se adiciona ácidos o enzimas (celulasas)	El biocatalizador enzima empleado en el reactor de la hidrólisis se compone de una combinación de celulasas, hemicelulasas, amilasas y ligninasas, la carga moderada de enzimas se encuentra en el intervalo de 1 a 35 FPU/g (pagina 24, líneas 7 a la 15)	No se menciona	Adicionando hemicelulosa
Dejando reaccionar por un periodo de 8 a 12 h	No se menciona	No se menciona	No se menciona	El xilano es hidrolizable de 7 a 9 minutos
c) Fermentación simultanea del medio resultante de la hidrólisis enzimática.	Las etapas de hidrólisis y fermentación se pueden realizar llevando a cabo en una sola unidad la hidrólisis y la fermentación al mismo tiempo (sacarificación y fermentación simultáneas; SSF)	El reactor de la levadura puede ser operado SSF (pagina 25, líneas 2 a la 3)	No se menciona	Fermentación simultanea
Adicionando un microorganismo con actividad preparatoria	El microorganismo más utilizado para este proceso es <i>S. cerevisiae</i>	La fermentación de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (pagina 25, líneas 5 a la 7)	La fermentación proceso donde la glucosa es transformada por un microorganismo en etanol, la <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> y la <i>S. Bayanus</i> , son importantes en la fermentación.	Empleando una variedad de levaduras
La temperatura del biorreactor en la franja de 30 a 39°C	Procesos de SSF por lotes es a 37°C	No se menciona	Las levaduras tienen su óptimo de intensidad fermentativa, aproximadamente	No se menciona

			a los 35°C, paralizando cualquier actividad a los 45°C.	
Concentración celular en la franja de 2 a 6 g/L.	No se menciona	No se menciona	En las industrias las dosis de levaduras varían de 150 a 300 gr. de levadura seca por hectolitro (1,5 a 3 gr/L)	No se menciona
Durante un tiempo máximo de 30 a 32 h.	Los tiempos del proceso son de 7 – 8 días	No se menciona	No se menciona	No se menciona
d) Separación y destilación del Etanol obtenido	No se menciona	Separación y destilación del Etanol obtenido (pagina 25, líneas 25 a la 31)	No se menciona	No se menciona

Las características **esenciales** del proceso de la reivindicación 1 no han sido divulgadas previamente

D1 enseña como se obtiene el alcohol a partir de biomasa Lignocelulósica (pagina 7. Alcohola a partir de Biomasa Lignocelulósica), D2 los procesos y sistemas para el aumento de la producción de diversos productos orgánicos que contienen biomasa de lignocelulosa. En particular, la presente invención se integra técnicas de hidrólisis ácida y alcalina, deslignificación en los procesos que aumentan la cantidad de productos, es decir, eficiencia de los materiales de utilización y el rendimiento de procesamiento de la biomasa lignocelulosa (página 6, renglones 1 – 8) D3 menciona las condiciones físico-químicas que necesita la levadura (pagina 4 Necesidades de la Levadura), aunque los procesos de los documentos citados son similares, estos no son específicamente iguales, y D4 menciona un proceso que consiste en que la biomasa (residuos de agricultura, bosques, vegetales y de procedimiento de alimentos) (columna 3, líneas 12 a 18) es sometida a una hidrólisis previa con ácido sulfúrico y el residuo es sometido a una segunda etapa de hidrólisis enzimática (columna 3, línea 10 a columna 6. línea 21)

En consecuencia, la reivindicación 1 es nueva, según lo divulgado en el documento D1, D2, D3 y D4.

Las reivindicaciones dependientes 2 – 9 se considera que son nuevas.

Nivel Inventivo (Art18 D486)

La reivindicación 1 consiste en un proceso para la producción de Etanol a partir de materias lignocelulósicas por vía enzimática, como por ejemplo bagazo de caña, caracterizado porque comprende las etapas de:

- a) Tratamiento previo de un residuo sólido, denominado de celulignina, que contiene celulosa y lignina
- b) Pre-hidrólisis enzimática del residuo sólido.
- c) Fermentación simultánea del medio resultante de la hidrólisis enzimática, adicionando un microorganismo con actividad preparatoria para la producción de Etanol.
- d) Separación y destilación del Etanol obtenido.

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del Estado de la Técnica:

Características esenciales	D1	D2	D3	D4
Proceso que consiste en: a) un tratamiento de un residuo sólido denominado de celulignina sometido a lavados con soluciones alcalinas (NaOH al 4% p/v)	Método de producción en donde se han investigado materiales como madera y residuos forestales, papel reciclado y residuos de la industria papelera, bagazo de caña, desechos agrícolas (hojas, ramas, hierba, frutas, paja, etc.) así como	El material de alimentación a partir de la biomasa puede ser de cualquier materia orgánica, y se compone generalmente de material vegetal, la vegetación, agricultura, industria o residuos domésticos. Puede incluir, caña de azúcar, (pagina 10, líneas 19 a la 23).	No se menciona	Proceso que consiste en que la biomasa (residuos de agricultura, bosques, vegetales y de procedimiento de alimentos)
La celulignina es sometida a lavados con soluciones alcalinas (NaOH al 4% p/v)	Los residuos sólidos urbanos, los cuales son sometidos a una hidrólisis alcalina con NaOH a 60°C	Deslignificación química de los sólidos lignocelulósicos. Se puede combinar con un 4% base fuerte (como alcalinos o disolución de la lignina-base) a unos 210 °C durante unos 4 minutos. (pagina 14 líneas 6 a la 15)	No se menciona	No se menciona
Seguido de lavados con agua acidificada hasta llegar a un Ph 6-7	No se menciona	No se menciona	No se menciona	la biomasa es sometida a una hidrólisis previa con ácido diluido (H ₂ SO ₄)
Luego el residuo sólido se separa de la fase acuosa por filtración en un reactor tipo prensa	No se menciona	El producto de esta etapa se lava y se presiona para separar la lignina soluble de la lignina restante de los sólidos de la celulosa (pagina 15, líneas 8 a la 10)	No se menciona	se separa el sólido del líquido mediante filtración
b) Pre-hidrólisis enzimática del residuo sólido en el reactor tipo prensa	Luego del pretratamiento, la celulosa liberada es degradada hasta glucosa (sacarificación)	Los sólidos, agua y productos químicos fabricación de pasta se pasan a la hidrólisis enzimática.	No se menciona	Hidrólisis enzimática en un reactor Parr

		(pagina 21, líneas 10 a la 14)		
Adicionando a dicho residuo una carga de enzimas, en concentración de 20 a 30 FPU/g	Se adiciona ácidos o enzimas (celulasas)	El biocatalizador enzima empleado en el reactor de la hidrólisis se compone de una combinación de celulasas, hemicelulasas, amilasas y ligninases, la carga moderada de enzimas se encuentra en el intervalo de 1 a 35 FPU/g (pagina 24, líneas 7 a la 15)	No se menciona	Adicionando hemicelulosa
Dejando reaccionar por un periodo de 8 a 12 h	No se menciona	No se menciona	No se menciona	El xilano es hidrolizable de 7 a 9 minutos
c) Fermentación simultanea del medio resultante de la hidrólisis enzimática.	Las etapas de hidrólisis y fermentación se pueden realizar llevando a cabo en una sola unidad la hidrólisis y la fermentación al mismo tiempo (sacarificación y fermentación simultáneas; SSF)	El reactor de la levadura puede ser operado SSF (pagina 25, líneas 2 a la 3)	No se menciona	Fermentación simultanea
Adicionando un microorganismo con actividad preparatoria	El microorganismo más utilizado para este proceso es <i>S. cerevisiae</i>	La fermentación de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (pagina 25, líneas 5 a la 7)	La fermentación proceso donde la glucosa es transformada por un microorganismo en etanol, la <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> y la <i>S. Bayanus</i> , son importantes en la fermentación.	Empleando una variedad de levaduras
La temperatura del biorreactor en la franja de 30 a 39°C	Procesos de SSF por lotes es a 37°C	No se menciona	Las levaduras tienen su óptimo de intensidad fermentativa, aproximadamente a los 35°C, paralizando cualquier actividad a los 45°C.	No se menciona
Concentración celular en la franja de 2 a 6 g/l	No se menciona	No se menciona	En las industrias las dosis de levaduras varían de 150 a 300 gr.	No se menciona

			de levadura seca por hectolitro (1,5 a 3 gr/L)	
Durante un tiempo máximo de 30 a 32 h.	Los tiempos del proceso son de 7 - 8 días	No se menciona	No se menciona	No se menciona
d) Separación y destilación del Etanol obtenido	No se menciona	Separación y destilación del Etanol obtenido (pagina 25. líneas 25 a la 31)	No se menciona	No se menciona

El documento D2, considerado el estad de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 1, divulga un procesamiento de biomasa, proporcionando los procesos y sistemas para el aumento de la producción de diversos productos orgánicos que contienen biomasa de lignocelulosa. En particular, la presente invención se integra técnicas de hidrólisis ácida y alcalina, deslignificación en los procesos que aumentan la cantidad de productos, es decir, eficiencia de los materiales de utilización y el rendimiento de procesamiento de la biomasa lignocelulosa y permitir el desarrollo económico de producción de plásticos biodegradables a base de lignina y otros productos orgánicos útiles (pagina 6, renglones 1 – 8).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1, y el procedimiento de D2 consiste en que el residuo sólido de celulignina es lavado con agua acidificada hasta llegar a un pH de 6 – 7, la pre-hidrólisis enzimática se realiza durante un periodo de 8 a 12 h, la temperatura del biorreactor se encuentran a una temperatura en la franja de 30 a 39°C, la concentración celular en la franja de 2 a 6 g/L durante un tiempo máximo de 30 a 32 h.

El efecto que logra el incluir que el residuo sólido de celulignina es lavado con agua acidificada hasta llegar a un pH de 6 – 7, la pre-hidrólisis enzimática se realiza durante un periodo de 8 a 12 h, la temperatura del biorreactor se encuentran a una temperatura en la franja de 30 a 39°C y la concentración celular en la franja de 2 a 6 g/L durante un tiempo máximo de 30 a 32 h, es que el proceso de obtención de etanol a partir de bagazo de caña, resulta viable económicamente ya que reduce el tiempo del proceso de fermentación a 32 horas

Por lo tanto, el Problema Técnico Objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: "cómo hacer que se obtenga Etanol a partir del proceso de biomasa de lignocelulosa operando a un corto periodo de sacarificación y fermentación alcohólica".

Sin embargo los lavados con agua acidificada se mencionan en D4 (la biomasa es sometida a una hidrólisis previa con acido diluido (H₂SO₄)); en cuanto al tiempo de reacción en la pre-hidrólisis se considera una característica de estandarización ya que este tiempo es necesario para dejar reaccionar las enzimas; la temperatura del biorreactor que se emplea esta establecida en D3 (las levaduras tienen su óptimo de intensidad fermentativa, aproximadamente a los 35°C) y en D1 (el procesos de SSF por lotes es a 37°C); la concentración celular en la franja de 2 a 6 g/L esta divulgada en D3 (en las industrias las dosis de levaduras varían de 150 a 300 gr. de levadura seca por hectolitro (1,5 a 3 gr/L)) y el tiempo empleado en la fermentación de 30 a 32 horas si pertenece a todo el proceso ya esta divulgado en D1 (los tiempos del proceso son de 7 – 8 días).

De manera que el Estado de la Técnica no sugiere a la persona del oficio normalmente versada en la materia la forma en que se resuelve el problema en esta reivindicación. Por lo cual no se considera obvia.

Las reivindicaciones dependientes 2 – 9 se consideran inventivas.

Conclusión:

La reivindicación 1 cumple el requisito de novedad (Art. 16), y con el requisito de nivel inventivo (Art. 18).

Aplicación industrial (Art 19 D 486)

Debido a que la invención se refiere a un proceso para la obtención de etanol combustible, utilizando residuos agrícolas y agro-industriales de composición lignocelulósica, en particular el bagazo de caña de azúcar, por lo tanto tiene aplicación industrial.

7. Conclusión

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

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



JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ

Director de Nuevas Creaciones (C)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha

16 SET. 2011

EXAMINADOR TÉCNICO

Código No. 2020 107