



CAVELIER

ABOGADOS

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

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

Teléfono: (57-1) 347 3611
Telefax: (57-1) 211 8650
(57-1) 700 4814
Fax in U.S.A.: (1-305) 675 7743

Señor Director

DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-123696- -00003-0000

Fecha: 2011-12-13 17:42:24 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 20

Trámite : 002

Evento : 001

Actuación : 444

Referencia : Expediente No. 07.123.696
Asunto : Solicitud de Patente para
**PROCESO PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE
MATERIAS LIGNOCELULÓSICAS POR VÍA ENZIMÁTICA**
Solicitante : PETROLEO BRASILEIRO S.A. PETROBRAS
Fecha de Solicitud : 22 de Noviembre de 2007

1. Yo, Luz Clemencia de PAEZ, obrando como apoderada del solicitante en el asunto antes identificado, de acuerdo con la sustitución efectuada a mi nombre por el Doctor Emilio Ferrero, me refiero al Oficio No. 14380, notificado por fijación en lista del 16 de Septiembre de 2011.

2. Mediante el Oficio No. 14380 se puso en conocimiento del solicitante el informe del examen de fondo que contiene las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente.

3. De la solicitud de patente

El Examinador afirma que la reivindicación 1 no es clara, por cuanto esta no se especifica el microorganismo empleado en el proceso reclamado.

Así mismo, indica que es necesario especificar si el tiempo máximo indicado corresponde al tiempo empleado en la productividad de todo el proceso, o únicamente corresponde al tiempo empleado durante la etapa de fermentación.

De la misma manera, considera que la reivindicación 4 no es clara, ya que no se especifica si el tiempo mencionado corresponde al proceso completo, o únicamente al tiempo de reacción.

Por otro lado, el Examinador sugiere aclarar las características del producto GENENCOR® GC 220, puesto que al ser una marca registrada, la composición puede variar con el paso del tiempo, manteniendo el mismo nombre.

4. Requisitos de Patentabilidad

El Examinador indica que el pliego reivindicatorio cumple con los requisitos de novedad, nivel inventivo y aplicación industrial, de acuerdo con los artículos 16, 18 y 19 de la Decisión 486.

5. Respuesta a las objeciones

De este modo y con el objeto de atender las objeciones arriba mencionadas, se pone de presente al Despacho las siguientes modificaciones, aclaraciones y argumentos:

5.1. Modificación a una Solicitud en Trámite

De conformidad con lo establecido en el artículo 34 de la Decisión 486, que permite al solicitante en cualquier momento del trámite efectuar modificaciones sin ampliar el objeto de la invención inicialmente solicitada, me permito presentar un nuevo capítulo reivindicatorio que comprende 11 reivindicaciones.

Así, siguiendo las diferentes observaciones realizadas por el Señor Examinador, se han realizado modificaciones sobre el texto de la descripción y de las reivindicaciones para presentar la materia a proteger de la manera más clara, concisa y completa posible.

5.1.1. Descripción

Inicialmente, se desea aclarar a su Despacho que la presente solicitud invoca la prioridad de la solicitud brasileña BR 0605017-4 anexa al expediente inicialmente radicado.

Por otro lado, deseamos manifestar que la memoria descriptiva ha sido modificada para definir las características de la mezcla de enzimas celulósicas GENENCOR® GC 220. Como es ahora mencionado en la descripción, dicha mezcla corresponde a una preparación de celulasa de *Trichoderma reesei*, partiendo de las celobiohidrolasas CBHI y CBHII, las cuales trabajan desde el extremo reductor y no reductor de la cadena de celulosa, respectivamente.

Adicionalmente, y con el fin de revelar de una manera más clara la segunda etapa del proceso reivindicado, se desea aclarar que el ejemplo 2, menciona que el residuo sólido una vez lavado con una solución alcalina de NaOH al 4% p/v, este se sometido a lavados sucesivos con agua hasta

alcanzar un pH entre 6 y 7. De esta manera, resulta necesario poner de presente que no es relevante el uso de agua o agua acidificada en el proceso de lavado del residuo sólido, sino que lo significativo de la etapa corresponde alcanzar un pH entre 6 y 7, lo cual permite el tratamiento posterior del residuo sólido con las enzimas celulósicas.

Por lo tanto, se puede concluir que la materia presentada en la solicitud tiene sustento suficiente en el capítulo descriptivo. De la misma manera, las modificaciones realizadas a la descripción no implican una ampliación sobre el alcance inicialmente divulgado en la solicitud original, por lo que cumplen con las disposiciones de la Decisión 486.

5.1.2. Reivindicaciones

Por otro lado, las objeciones formuladas con respecto a la falta de claridad del capítulo reivindicatorio presentado con relación a la presente solicitud queden superadas respectivamente con las modificaciones realizadas en el nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por 11 reivindicaciones, en el cual:

Se presenta una nueva reivindicación 1, en la que se especifica que el microorganismo con actividad preparatoria usado corresponde a una levadura que produce etanol. De la misma manera, dicha reivindicación aclara que el tiempo de 30 a 32 horas usado corresponde específicamente a la etapa de fermentación (etapa c).

De manera similar, nos permitimos aclarar que la productividad alcanzada por el proceso global se encuentra en el rango entre 1,0 y 3,0 g/L·h, como es indicado en la nueva reivindicación 3. Lo anterior, encuentra sustento en los ejemplos 1 y 2 de la memoria descriptiva, así como en los resultados representados en la figura 2.

De esta manera, se considera que el pliego reivindicatorio define de manera clara y concisa la materia reclamada de acuerdo a las disposiciones del artículo 30.

6. Conclusiones

Puesto que se han atendido a cabalidad las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente, respetuosamente solicito se continúe con su tramitación. Sin embargo, en el evento que el Despacho considere que una explicación adicional es necesaria, respetuosamente le solicito hacer uso de la facultad que le otorga el artículo 45 inciso 2 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina a efecto de requerir nuevamente de nuestra parte cualquier complementación o aclaración.

7. **Anexos**

- Copia autenticada de la sustitución del poder otorgado por la Sociedad Solicitante que hizo el Doctor EMILIO FERRERO a mi favor, y para lo cual solicito me sea reconocida personería para continuar con el trámite del asunto de la referencia.
- Nuevo capítulo descriptivo.
- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por once (11) reivindicaciones.
- Comprobante de pago por valor de \$ 27.000 por una (1) reivindicación adicional después de la décima reivindicación.
- Formulario para modificaciones.
- Comprobante de pago por valor de \$ 118.000 por concepto de modificaciones.

Señor Director,


LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ

C.C. No. 35.456.344 de Usaquén

T.P.A. No. 23.555

COLO-00795-801-034-5

LLG\LLG\ID-206432\WPCL0795

No. M-2011-206432\LLG



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

FORMULARIO UNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES

1	SOLICITUD DE: ☐ Corrección de Error Material ☒ Modificación a una solicitud	
2 SOLICITANTE	Nombre: PETRÓLEO BRASILEIRO S.A. - PETROBRAS Sociedad constituida y existente bajo las leyes de Brasil. Dirección: Av. República do Chile n° 65, Rio de Janeiro, Brasil Domicilio: Rio de Janeiro, Brasil Teléfono: 546 09 70 Fax: 249 40 70 E-mail: clientes@cavelier.com	IDENTIFICACION C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Número: _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: Luz Clemencia de PAEZ Dirección: Carrera 4ª No. 72-35 Teléfono: 347 36 11 Fax: 217 92 11 E-mail: cavelier@cavelier.com	IDENTIFICACION C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Número: <u>35.456.344</u> TP <u>23.555</u>
4	Número de expediente: <u>07.123.696</u>	
5	Descripción de la corrección o modificación solicitada: Presento nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por 11 reivindicaciones y pido respetuosamente que el examen de patentabilidad sea realizado sobre estas nuevas reivindicaciones presentadas.	
6	Comprobante de pago No. <u>11-115261</u> Fecha: <u>28 de noviembre de 2011</u> Comprobante de pago No. <u>11-117659</u> Fecha: <u>05 de diciembre de 2011</u>	
7	Anexos ☒ Comprobante de pago de la tasa por \$118.000, por concepto de modificaciones. ☒ Comprobante de pago por 1 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por \$27.000.00 ☐ Poderes, si fuere el caso ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal de las partes, cuando sean personas jurídicas. ☒ Copia auténtica de la sustitución que del poder otorgado por la Sociedad Solicitante hizo el Doctor EMILIO FERRERO a mi favor, y para lo cual solicito me sea reconocida personería para continuar con el trámite del asunto de la referencia.	

8

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ FIRMA: Luz Clemencia De Paez

C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P.A. 23.555

LLG

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 11 - 117659
		Bogotá D.C., Diciembre 05 de 2011 - 07:29:31

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS	NI 860.041.367
---------------------------------	----------------

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	411754512	02/12/2011	57.421.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO Vr. CONCEPTO
1	50005-01-03 CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICACIONES	DE MARCAS Y LEMAS COMERCIALES	118.000.00 118.000.00
			\$118.000.00

SON: **CIENTO DIECIOCHO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

Cdo 00795-801-034-5

CAVELIER

ABOGADOS

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

WEB SITE: www.cavelier.com
E-MAIL: cavelier@cavelier.com

TELEFONO: (57) (1) 347-3611
TELEFAX: (57) (1) 217-9211 (57) (1) 310-4995

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

E. S. D.

Poderdante : **PETROLEO BRASILEIRO S.A. PETROBRAS**

Poder conferido el : 06/09/2000

Yo, EMILIO FERRERO, obrando como apoderado principal del poderdante arriba mencionado, mediante el presente escrito sustituyo el poder a mi otorgado a la doctora LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, identificada con cédula de ciudadanía No. 35.456.344 y Tarjeta Profesional N°23.555, con todas las facultades que me fueron conferidas.

Hago la anterior sustitución conforme al artículo 66 del Código de Procedimiento Civil.

Señora Jefe,

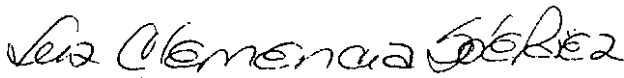


EMILIO FERRERO

T.P.A. N° 31.929

C.C. N° 438.019 de Usaquén

Acepto:



LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

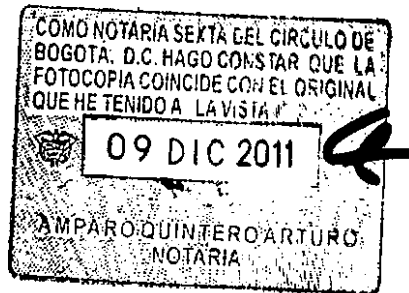
T.P.A. N° 23.555

C.C. No. 35.456.344 de Usaquén



NOTARIA SEXTA DE BOGOTA
 RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL
 Bogotá, D.C. **22 OCT 2009**
 Ante mí AMPARO QUINTERO ARTURO,
 NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE
 BOGOTÁ, D.C.
 Comparecieron:
Emilio Ferrero
Williamson
Felix Clemenencia Suarez
de paez
 Quien(da) exhibió(eron) la(s) C.C.
CC# 438.019 + PT# 31.929
CC# 35.456344 + PT# 23.555
 (declaro(aron) que la(s) firma(s) que aparece(n)
 en el presente documento es(son) la(s) suya(s) y
 que el contenido del mismo es cierto.
 En constancia se firma esta diligencia.

Emilio Ferrero
Felix Clemenencia Suarez



34

PROCESO PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE MATERIAS LIGNOCELULÓSICAS POR VÍA ENZIMÁTICA

La presente 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 la caña de azúcar. Estos residuos tienen un significativo contenido de carbohidratos (hidratos de carbono), en forma de polisacáridos (celulosa y hemicelulosa), capaces de ser sometidos a procesos de hidrólisis química y enzimática. La fracción hemicelulósica es sometida a una hidrólisis blanda con ácido sulfúrico y el material sólido resultante de esta hidrólisis, es sometido al proceso de sacarificación (hidrólisis enzimática) simultáneamente con la fermentación alcohólica rápida, en condiciones tales que permiten aumentar significativamente la conversión en etanol en mucho menor tiempo.

Fundamentos de la Invención

Los residuos de composición lignocelulósica, procedentes de las actividades agrícolas y agro-industriales, representan un grave problema ambiental, aunque los mismos pueden ser fuentes valiosas de materias primas renovables de bajo costo para la producción de una variedad de sustancias químicas y combustibles, como el etanol.

Para que pueda llevarse a cabo el aprovechamiento de las fracciones de polisacáridos para la producción de etanol es necesario hidrolizar eficientemente estas fracciones.

El fraccionamiento de estos polisacáridos se realiza mediante un tratamiento previo, el cual consiste en una reacción conocida como hidrólisis ácida dirigida a la hidrólisis de la fracción hemicelulósica. El sólido resultante de esta etapa, rico en fracción celulósica, necesita aun ser tratado con el fin de remover la lignina soluble en condiciones alcalinas para asegurar la accesibilidad de las enzimas a la fibra celulósica.

La conversión de celulosa en etanol involucra dos etapas fundamentales: hidrólisis de las cadenas largas de las moléculas de celulosa en azúcares (hexosis) y fermentación de estos azúcares en etanol. En la naturaleza, estos procesos son iniciados por hongos y bacterias, que secretan las enzimas capaces de hidrolizar la celulosa (llamadas celulasas), y principalmente por levaduras, cuando se trata de la fermentación de los azúcares en alcohol. El concepto de la presente solicitud tiene consonancia con lo realizado en la naturaleza.

Esta estrategia elimina la presencia de sustancias tóxicas que serían generadas por el proceso de hidrólisis química de la celulosa y minimiza la inhibición de las enzimas del complejo celulósico por sus propios productos de hidrólisis (glicosa y celobiosa). Esta técnica es denominada como SSF, del inglés *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (Sacarificación y Fermentación Simultánea), que involucra la hidrólisis enzimática simultánea a la fermentación alcohólica.

Técnica relacionada

Hay cada día mayor preocupación con respecto a la preservación del medio ambiente. En este contexto, el aprovechamiento de residuos agrícolas y agro-industriales y la obtención de productos sustitutos y/o alternativos que sean menos agresivos para la naturaleza se ha constituido en un tema relevante en el escenario mundial. En esta misma línea de pensamiento, se trata de obtener fuentes alternativas de energía y el aprovechamiento de residuos agrícolas y agro-industriales que puedan generar productos económicamente viables y/o que resulten en productos menos contaminantes. En el campo de las fuentes alternativas de energía, se han realizado muchas tentativas buscando la obtención de combustibles más limpios, como por ejemplo el etanol.

En el Brasil, con el crecimiento de la industria de alcohol de azúcar y, en consecuencia, de la producción de grandes excedentes de bagazo de caña de azúcar, surge un escenario bastante promisorio, frente a la necesidad del aprovechamiento racional de esta materia de composición lignocelulósica. Debido a los intereses ambientales y económicos, la utilización de etanol como combustible, aditivo de gasolina o insumo en la fabricación de biodiesel está aumentando vertiginosamente, destacándose Brasil como uno de los mayores productos del mundo. De esta forma, el Brasil produce enormes cantidades de bagazo, y también de paja de caña de azúcar, representando ambos un gran potencial a ser utilizado para la producción de etanol por vía biotecnológica.

La producción de etanol a partir del bagazo de caña, por vía enzimática o fermentativa, permitirá el aprovechamiento de un material poco utilizado para la generación de un producto de enorme interés industrial, con beneficios económicos y ambientales.

La técnica de sacarificación y fermentación simultáneas (proceso SSF) utilizada para el aprovechamiento de la fracción celulósica está descrita en la bibliografía especializada, siendo aplicada con diversos fines para la producción de sustancias químicas y combustibles. Pero su aplicación a escala comercial no fue aun implementada.

La mayor dificultad a ser superada se refiere al propio microorganismo, el cual necesita ser resistente a las condiciones operativas, especialmente en lo que atañe a las concentraciones de inhibidores generados en el medio de reacción, como, por ejemplo, furfural, hidroxi-metilfurfural, metales pesados, terpenos, taninos, compuestos fenólicos, etc., resultantes del tratamiento previo del material lignocelulósico, que inhiben el crecimiento de la levadura.

Otra dificultad inherente al agente biológico reside en la limitación de la utilización de los glúcidos resultantes de los procesos hidrolíticos (pentosas y hexosas). Estos dos factores asociados ocasionan procesos fermentativos de larga duración, que resultan en valores bajos de productividad volumétrica, parámetro de importancia fundamental para la transposición a la escala industrial.

La gran mayoría de la bibliografía más reciente describe el uso de microorganismos genéticamente modificados, desarrollados para una aplicación específica, buscando evitar estos problemas.

La producción de etanol por tecnología biológica ha sido estudiada desde hace tiempo, y ha tenido un gran impulso en los últimos años. Como mencionado anteriormente, el gran obstáculo a ser superado se refiere a la productividad, o sea, conseguir un proceso económicamente viable y con buenos rendimientos, utilizando materia prima fácilmente accesible.

Grohmann y colaboradores (US 5 125 977) describen un proceso en el cual la biomasa (residuos de agricultura, bosques, vegetales y de procesamiento de alimentos) es sometida a un tratamiento previo realizado en dos etapas, buscando la recuperación de xilosa. En la primera etapa, la carga de hemicelulosa que contiene, fundamentalmente, xilanos, es sometida a una hidrólisis previa con ácido diluido (ácido sulfúrico al 9% v/v), y el residuo es sometido a una segunda etapa de hidrólisis enzimática, dejando reaccionar la biomasa durante el tiempo suficiente para que la celulosa sea hidrolizada lentamente. El objeto del proceso es recuperar el xilano, de manera que aproximadamente 90% pueda ser hidrolizado, evitando las limitaciones de los procesos convencionales para la producción de xilosa. El inconveniente de este método es que al utilizar condiciones severas de temperatura (160°C - 220°C) se forman muchas sustancias inhibidoras del metabolismo de la mayoría de los microorganismos utilizados en procesos fermentativos.

El documento de patente GB 2 253 633, que corresponde al documento de patente brasileña PI 9200100 del 15.01.1992, describe un proceso para producir etanol a partir de biomasa, en que el sustrato incluye un hidrolizado de celulosa, hemicelulosa y almidón, buscando producir azúcares fermentables de seis átomos de carbono. Para la fermentación se utiliza una cepa de levadura genéticamente modificada (*Brettanomyces*

custersii CBS 5512) que produce la enzima β -glucosidasa, lo que hace que esta levadura tenga capacidad de fermentar tanto glicosa como celobiosa. Mientras, todavía permanece sin solución la fermentación de pentosas.

5 El documento de patente estadounidense US 5 231 017 describe un proceso para producir etanol usando como materia prima material con alto contenido de sólidos secos, como mazorca de maíz, granos, cereales y sus mezclas. El almidón presente en estas materias primas es puesto en contacto con la enzima α -amilasa comercial derivada de *Bacillus lichenformis* (TAKA-THERM II®), para obtener un medio licuado fermentable, el
10 cual es sacarificado en presencia de glucoamilasa comercial derivada de *Aspergillus Níger* (DISTILLASE®) para obtener almidón hidrolizado y azúcares, que son fermentados por la levadura *Saccharomyces cerevisae* para obtener etanol. Sin embargo, aunque utiliza la técnica de sacarificación y fermentación simultánea, este método no puede ser aplicado al bagazo de caña.

15 Torget y colaboradores (US 5 705 369) describen un proceso genérico de pre-hidrólisis de materias lignocelulósicas, en el cual se investigan diferentes combinaciones de franjas de temperatura y de tiempo de reacción, buscando obtener un mejor porcentaje de separación de hemicelulosa y lignina de celulosa. Se ensayaron diferentes
20 temperaturas (entre 120°C - 240°C) y pH (entre 1 y 7), en un sistema en el cual el fluido (productos solubles resultantes de la pre-hidrólisis) se desplaza a través de la fase sólida (sistema "flow-through",) determinándose las cantidades de xilano y lignina que fueron extraídas del material. La combinación de condiciones menos severas permitió un aumento de 5% en la remoción de lignina.

25 La solicitud brasileña PI 0600409-1 del 8 de febrero de 2006 describe un proceso de producción de enzimas celulolíticas y hemicelulolíticas a partir de residuos (maderas de especies frondosas y paja de cereales). Dichos residuos son utilizados como fuente de carbono, inductor para la obtención de esas enzimas, con cepas de *Trichoderma reesei*
30 mejoradas genéticamente y recombinadas notablemente. Las cepas salvajes de este microorganismo tienen la capacidad de secretar, en presencia de un sustrato inductor (por ejemplo, la celulosa), el complejo enzimático considerado el más adaptado para la hidrólisis de la celulosa. En consecuencia, se trata de un proceso para la producción de enzimas celulolíticas y hemicelulolíticas producidas por una cepa especializada. La
35 primera etapa del tratamiento previo de la biomasa comprende la explosión al vapor (150°C - 250°C) en condición ácida durante algunos minutos, buscando transformar la hemicelulosa en monómeros, siendo la xilosa el azúcar prioritario. Los azúcares son extraídos por lavado en fase acuosa y utilizados como fuente de carbono para la producción de enzimas; el residuo sólido de la extracción, que contiene celulosa y lignina,
40 puede ser hidrolizado por las enzimas de celulosa producidas.

La invención objeto de la presente solicitud, la cual será descrita en detalle más adelante, busca igualmente el aprovechamiento de residuos lignocelulósicos, particularmente el residuo sólido del bagazo de caña de azúcar, resultante del tratamiento previo por proceso de hidrólisis ácida de hemicelulosa, objeto de la solicitud de patente
5 brasileña PI0505299-8 del 11/11/2005 de la misma solicitante.

Resumen de la Invención

La presente invención se refiere a un proceso para la producción de etanol a partir
10 de materias lignocelulósicas por vía enzimática, utilizando la técnica de sacarificación y fermentación simultánea rápida, en condiciones específicas para el mejor aprovechamiento de la fracción celulósica y una eficiente producción de etanol.

Más específicamente, el proceso de la invención comprende el tratamiento del
15 residuo sólido resultante de la hidrólisis ácida de bagazo de caña. Según este proceso, un hidrolizado de la fracción hemicelulósica del bagazo de caña, rico en xilosa, fue obtenido mediante la hidrólisis blanda con ácido sulfúrico diluido, y fermentando utilizando una cepa de la levadura *Pichia stipitis* adecuadamente aclimatada al sustrato principal del hidrolizado (xilosa). El residuo sólido resultante de la hidrólisis ácida (celulignina) fue
20 tratado en el mismo reactor para la remoción de lignina, mediante una serie de lavados alcalinos para obtener fibras celulósicas aptas para recibir una carga enzimática comercial adecuada. El material parcialmente deslignificado fue sometido a sacarificación y fermentación simultánea rápida, para la obtención de etanol en presencia de una cepa de levadura producida naturalmente, de la especie *Saccharomyces cerevisiae*.

La mayor ventaja de este proceso es la obtención de etanol a partir de bagazo de
25 caña de azúcar, alcanzándose altas productividades volumétricas, que varían de 1 a 3 9/L·h, aprovechando todo el potencial metabólico de una levadura que se produce naturalmente, sin necesidad de modificaciones genéticas.

Descripción resumida de los dibujos

La figura 1 presenta un diagrama de flujo simplificado de las etapas principales del
30 proceso de la invención.

La figura 2 presenta un gráfico que ilustra los resultados obtenidos con el proceso
35 de la invención.

Descripción detallada de la invención

La presente invención tiene por objeto el 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 corto periodo de sacarificación y fermentación alcohólica.

Para mejor entendimiento de la invención, su descripción será referida al diagrama de flujo de la figura 1, que corresponde a la realización preferida de la invención.

Como se muestra en la figura 1, la biomasa 1 que contiene material lignocelulósico es sometida inicialmente a un proceso de hidrólisis ácida diluida 2, donde se obtiene un hidrolizado hemicelulósico 3, rico en pentosa, que será sometido a fermentación 4 para la producción de etanol, el cual será posteriormente destilado 5, y un residuo sólido 6, rico en celulosa y lignina, la celulignina. Este material residual 6 es sometido a un tratamiento previo de lavado 7 con solución alcalina, y posteriormente a un proceso de hidrólisis enzimática (sacarificación) 8 para liberar la glicosa y, simultáneamente, a un proceso de fermentación 9 con levadura, para la fermentación de glicosa a etanol, el que será separado del medio fermentado y destilado 5.

La primera etapa del proceso comprende la hidrólisis blanda del bagazo de caña con ácido sulfúrico al 1%, buscando la obtención preferencial de pentosas, especialmente xilosa, que es el principal componente de la fracción hemicelulósica del bagazo de caña.

Esta primera etapa está descrita en detalle en la solicitud de patente brasileña PI 0505299-8 de la misma solicitante. El material celulósico es homogeneizado y sometido a hidrólisis blanda en un reactor especial tipo prensa, en el cual el recipiente principal está sometido a una presión de 1 atm (correspondiente a una temperatura de 121°C) durante un tiempo determinado en función de la relación sólido:líquido, normalmente en la franja de 30 a 50 minutos. La fase líquida (hidrolizado) es separada del residuo sólido por prensado en el mismo reactor, y sometida a un proceso de fermentación en presencia de la levadura *Pichia stipitis* ya aclimatada y adaptada al medio fermentativo, para la obtención de etanol.

Sin embargo, el residuo sólido tiene todavía un alto contenido de celulosa, la cual necesita ser hidrolizada a azúcares que son fermentados por una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* para la producción de etanol. El proceso objeto de la presente invención, que corresponde a la segunda etapa del proceso global, será descrito a partir de este punto.

La segunda etapa del proceso comprende básicamente el tratamiento a que es sometido el residuo sólido, a saber:

a) promover el tratamiento previo de la celulignina en medio alcalino, seguido de lavado con agua;

b) conducir el residuo al biorreactor y promover la hidrólisis enzimática (sacarificación) del mismo, a temperatura moderada, en presencia de una carga enzimática comercial por un periodo no superior a 8 horas;

c) promover la fermentación simultánea de la fracción celulósica del material hidrolizado en la etapa anterior, por adición de una levadura adecuada para la producción de etanol, manteniendo la carga enzimática por un periodo no mayor de 32 horas;

d) separar y destilar el etanol producido.

El proceso de la presente invención tiene como ventaja principal el hecho de conseguir en muy corto tiempo, debido a las condiciones estudiadas y optimizadas, la producción de etanol con productividad volumétrica significativa, obteniendo beneficios económicos que posibilitan su implementación comercial.

Los procesos conocidos de la técnica anterior, aun utilizando microorganismos modificados genéticamente, no logran conversiones a etanol en tiempos tan reducidos, siendo necesarios aproximadamente 3 a 5 días. De acuerdo con el proceso de la invención, a partir de solamente 8 horas de sacarificación más 32 horas de fermentación, ya se puede verificar la producción máxima de etanol.

Se atribuye la eficacia del proceso al control riguroso de las variables determinantes involucradas en el mismo y a la determinación de condiciones operativas optimizadas.

Con el fin de evaluar mejor el proceso de la invención, el mismo será descrito a continuación con referencia a una realización preferida, siendo los ejemplos presentados solamente a título ilustrativo.

Descripción de la realización preferida

Como mencionado anteriormente, en la primera etapa del proceso se promueve la hidrólisis ácida del material lignocelulósico, buscando la obtención de un hidrolizado hemicelulósico y una fracción de sólidos. La metodología adoptada se encuentra descrita en forma resumida en el Ejemplo 1 siguiente:

Ejemplo 1

La primera etapa del proceso consiste en promover la hidrólisis con ácido sulfúrico (al 1% v/v) para obtener un hidrolizado hemicelulósico y una fracción de sólidos, y promover la hidrólisis ácida de la fracción hemicelulósica, durante aproximadamente 40 minutos, utilizando una relación sólido/líquido optimizada. El material sólido es removido por prensado en reactor tipo prensa, especialmente desarrollado para el proceso objeto de la solicitud PI 0502599-8. El hidrolizado es neutralizado con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y filtrado, conduciendo luego el hidrolizado líquido para ser sometido a fermentación de las pentosas mediante biomasa aclimatada, la cual es utilizada en una concentración de 10 g/L, en biorreactor, durante 20-30 horas, a una temperatura de aproximadamente 30°C. La aclimatación de la biomasa fue obtenida mediante propagación celular secuencial, en la cual el contenido de hidrolizado fue aumentado gradualmente. Al final de la fermentación se promueve la separación y la destilación del etanol.

La productividad volumétrica obtenida con el proceso fue del orden de 1,0 g/L·h.

Ejemplo 2

20

El sólido separado en el reactor, según lo descrito en el Ejemplo anterior, es tratado de acuerdo con el proceso de la invención. El sólido resultante de esta etapa, rico en fracción celulósica, es sometido a una serie de lavados alcalinos en el mismo reactor prensa con el objeto de remover parcialmente la lignina soluble, cuyos componentes aromáticos son inhibitorios para el proceso fermentativo. Esta etapa es de fundamental importancia en la medida en que propicia un aumento de la accesibilidad de las enzimas a la fibra celulósica.

El residuo sólido separado por prensado en el reactor es lavado con solución alcalina (NaOH a 4% p/v) y a continuación sometido a lavados sucesivos hasta alcanzar un pH 6 - 7, siendo reenviado al biorreactor, donde será promovido un tratamiento enzimático previo. En el biorreactor se mezcla el residuo sólido con agua que contiene micronutrientes en una relación 1 para 10 a 20, manteniendo una temperatura en la franja de 30°C a 50°C, preferiblemente 47°C, adicionando a esta mezcla enzimas celulósicas comerciales (GENENCOR® GC 220) en concentraciones de 20 a 30 FPU/g, dejando actuar la reacción durante 8 a 12 horas.

GENENCOR® GC 220 es una preparación de celulasa comercial de *Trichoderma reesei*. Por lo general, los cultivos de *Trichoderma*, que a menudo se utilizan para la hidrólisis de la celulosa, producen dos tipos diferentes de celobiohidrolasas (seguro CBHI y CBHII). La CBHI trabaja desde el extremo reductor de la cadena de celulosa, mientras

que el otro tipo (CBHII) funcionada desde el extremo no reductor de la cadena de celulosa.

Después de este periodo se procede a la fermentación simultánea del medio de fermentación, adicionando el microorganismo con actividad preparatoria a la producción de etanol, *Saccharomyces cerevisiae*, sin ninguna modificación genética. La temperatura del reactor es mantenida en la franja de 30°C a 39°C, preferiblemente cercana a 37°C, manteniendo la concentración de células de levadura en la franja de 2 a 6 g/L, durante un tiempo máximo de 30 a 32 horas.

La conversión de celulosa en etanol involucra dos pasos fundamentales: la hidrólisis de las cadenas largas de las moléculas de celulosa en azúcares (hexosas) y la fermentación de estos azúcares en etanol.

La eliminación de sustancias tóxicas que serían generadas por el proceso de hidrólisis química de la celulosa minimiza la inhibición de las enzimas del complejo de celulosas por sus propios productos de hidrólisis (glicosa y celobiosa). El proceso de la presente invención también utiliza la técnica de la sacarificación y fermentación simultánea, conocida entre los especialistas como proceso.

Se obtuvieron concentraciones de etanol entre 50 y 55 g/L, y la productividad alcanzada estaba en la franja de 1,5 a 2,0 g/L·h.

Los resultados se presentan en el gráfico de concentración versus tiempo mostrado en la figura 2.

Con la aplicación de ambas etapas del proceso la conversión en etanol alcanzó 182 L/tonelada de bagazo de caña, lo que hace que el proceso resulte bastante viable económicamente, ya que se consigue reducir el tiempo de conversión en la segunda etapa de 4-5 días a 32 horas.

Se debe resaltar, además, que los ejemplos aquí presentados tienen carácter meramente ilustrativo, no siendo, en consecuencia, limitativos para la invención, resultando evidente para los especialistas en la materia que otras cargas enzimáticas, comerciales o no, y diferentes levaduras pueden ser empleadas, sin salir del alcance de la invención.

Descrita que ha sido la naturaleza de la presente invención y la manera de llevarla a la práctica, se declara que lo que se reivindica como de invención y propiedad exclusiva es:

JFR\JFR\ID-206614\WPCL0795

REIVINDICACIONES

1. Proceso para la producción de etanol a partir de materias lignocelulósicas por vía enzimática, como por ejemplo bagazo de caña de azúcar, en donde el proceso comprende las etapas de:
 - a) Someter el residuo sólido que comprende celulosa y lignina a uno o mas lavados con una solución alcalina para remover al menos parcialmente la lignina de dicho residuo sólido, lavar con agua, preferiblemente con agua acidificada, y preferiblemente hasta alcanzar un pH de 6 a 7; y separar el residuo sólido remanente de la fase acuosa, preferiblemente por medio de filtración, y preferiblemente en un reactor especial tipo prensa;
 - b) Hidrolizar el residuo sólido, preferiblemente en el mismo reactor, lo cual comprende la reacción del residuo sólido con una solución de micronutrientes y enzimas celulolíticas, preferiblemente una preparación de enzimas celulolíticas comercial, en donde la relación sólido:líquido es de 1:10 a 1:20, la temperatura es de 30°C a 50°C, la concentración enzimática es de 20 a 30 FPU/g, y la reacción se deja transcurrir entre 8 a 32 horas, preferiblemente entre 8 a 30 horas, y más preferiblemente entre 8 a 12 horas;
 - c) Fermentar, preferiblemente por medio de una fermentación simultánea, el medio resultante de la hidrólisis enzimática, lo cual comprende la adición de una levadura que produce etanol, en donde la levadura presenta una concentración celular entre 2 a 6 g/L, y se mantiene la temperatura del biorreactor entre 30°C a 39°C, por un periodo de 30 a 32 horas; y
 - d) separación del etanol obtenido por destilación.
2. Proceso según la reivindicación 1, en donde la levadura es una levadura *Saccharomyces cerevisiae* sin modificación genética.
3. Proceso según las reivindicaciones 1 ó 2, en donde la productividad del etanol alcanzada por el proceso global se encuentra en el rango entre 1,0 y 3,0 g/L·h.
4. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el tiempo total de la etapa c) no lleva más de 32 horas.
5. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la hidrólisis se lleva a cabo a una temperatura entre 45°C y 49°C.

6. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la hidrólisis se lleva a cabo a una temperatura entre 35°C y 39°C.

7. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la concentración de biomasa de la levadura en la etapa c) se mantiene dentro del rango entre 2 a 6 g/L.

8. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la enzima mencionada en la etapa b) es administrada al proporcionar una preparación enzimática de celulosa comercial.

9. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el material de lignocelulosa comprende bagazo de la caña de azúcar.

10. Proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde se lleva a cabo la sacarificación y fermentación simultánea (SSF).

11. Proceso para la producción de etanol a partir de materias lignocelulósicas por vía enzimática, en donde el proceso comprende las etapas de:

i) hidrolizar y fermentar el material de lignocelulosa, preferiblemente bagazo de caña de azúcar, y retener el residuo sólido; y

ii) realizar el proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes en dicho residuo sólido.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 11 - 115261
		Bogotá D.C., Noviembre 28 de 2011 - 08:25:49

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS					NI 860.041.367	
*** Soporte del Pago ***						
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO	
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	411754490	25/11/2011	44.882.000.00	

*** Conceptos Pagados ***				
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vt. UNIDITARIO	Vt. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICIALES	27.000.00	27.000.00
				\$27.000.00

SON: **VEINTISIETE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 07-123696-00003-0000
Fecha: 2011-12-13 17:42:24 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 20

0610 00795.801-0345