



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
OFICINA JURÍDICA NACIONAL

OJN-
Bogotá D.C.

1205

30 MAR 2012

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-055808- -00009-0000

Fecha: 2012-03-30 15:00:26 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 2 PATENTES Eve: 1 REGDEPOSITO
Act. 523 RESPUESTA Folios: 8

Doctor
JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director Nuevas Creaciones
Superintendencia de Industria y Comercio.
Carrera 13 No. 27 – 00 Piso 3
Bogotá

Referencia: Radicación 08-55808
Respuesta a requerimiento del artículo 45 de la Decisión Andina 486 realizado mediante Oficio No 18080 de 2011.

Respetado Doctor Salazar:

En respuesta al oficio de la referencia, a continuación se presentan las correcciones y aclaraciones realizadas para esclarecer las inquietudes formuladas por su despacho a través del Requerimiento del Artículo 45, sobre la solicitud de patente de la invención titulada *"Procedimiento para la Producción de Jarabe Azucarado por Degradación de Materiales Amiláceos Y Lignocelulosicos de la Planta de Banano"*, de la siguiente manera:

1. En relación con las Reivindicaciones de la Solicitud

Con el fin de superar las objeciones presentadas a la claridad y nivel inventivo de la solicitud de patente, se anexa al presente la corrección correspondiente al capítulo reivindicatorio, que consta de las 10 reivindicaciones presentadas inicialmente con sus respectivas modificaciones y reemplaza completamente el capítulo presentado en la solicitud inicial.

2. Frente a la Descripción

Se anexa documento contentivo del capítulo "Descripción" con las modificaciones sugeridas por el evaluador de la SIC, referente a cambios de unidades en el sistema internacional.

3. Sobre el Nivel Inventivo.

El examinador objeta la altura inventiva de la presente solicitud, argumentando que "La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 1 y el procedimiento de D1 es que la hidrólisis del material lignocelulósico en éste último se hace por vía ácida." Así mismo, el examinador establece que "La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y el procedimiento de D2 consiste en que en éste último solo se están utilizando materiales lignocelulósicos para la obtención del jarabe azucarado que posteriormente se convierte en etanol."

A la luz de lo anterior, el examinador concluye que *"... la persona del oficio normalmente versada en la materia, podría realizar la hidrólisis del material lignocelulósico por vía enzimática para llegar así al objeto de la reivindicación 1 de la solicitud. Por lo cual, la reivindicación se considera obvia."*

145 años
Innovando

Carrera 45 No. 26-85, EDIFICIO URIEL GUTIÉRREZ, 5º piso, Oficina 515
Telefax: (57-1) 316 5075 Conmutador: (57-1) 316 5000 Ext. 18167 Fax: 18167
Correo electrónico: ofijn_nal@unal.edu.co
Bogotá, D. C., Colombia, Sur América

Respecto a los argumentos del examinador, el solicitante quisiera hacer las siguientes anotaciones.

En primer lugar, el solicitante quisiera anotar que la presente solicitud se relaciona con el tratamiento tanto de la pulpa como de la cáscara del banano. Como se puede observar, la anterioridad D1 se relaciona exclusivamente con el procesamiento de la cáscara, sin hacer mención alguna a la pulpa de banano. El experto con habilidad ordinaria no podría derivar de la anterioridad D1 el método para procesar la pulpa de banano, o material amiláceo, como se realiza en la presente solicitud.

Por su parte, la anterioridad D2 se relaciona con una descripción genérica de procesos de hidrólisis de lignocelulosa. La anterioridad D2 no enseña ni sugiere un proceso de hidrólisis de lignocelulosas empleando cal viva o Ca(OH)_2 , como se enseña en la presente solicitud. De igual forma no se enseña un proceso para la deslignificación con ácido sulfúrico.

Si bien la anterioridad D2 menciona en la columna 9, líneas 46-52, que se pueden emplear materiales alcalinos líquidos seleccionados del grupo que comprende cinc, óxido de hierro (III) o hidróxidos; la misma anterioridad menciona en la columna 10, líneas 33 – 38, que los agentes químicos empleados dependen de un número de factores entre los que se encuentra, particularmente, la composición del material lignocelulósico. Posteriormente, en la columna 11, líneas 64-65, la anterioridad D2 menciona que un material líquido alcalino representativo es el hidróxido de sodio.

Como se puede observar, el proceso de la presente solicitud, donde el material lignocelulósico es sumergido en un medio alcalino y luego se adiciona cal viva o Ca(OH)_2 , no se enseña ni sugiere en la anterioridad D2. Igual acontece con la deslignificación acida con ácido sulfúrico.

Por lo tanto, la invención como se reclama en el nuevo capítulo reivindicatorio adjunto es inventiva por sobre la combinación de las anterioridades D1 y D2.

4. Frente a la Escala de colores.

La descripción de la solicitud de patente 08 55808 no incluye la Escala de Color de la Industria Bananera para indicar la madurez de la fruta, debido a que es conocida por cualquier persona medianamente versada en la materia y relacionado con el área tecnológica a la que hace referencia la invención. Sin embargo, con el fin de dar claridad y demostrar que el grado de madurez basado en su color es un método estándar dentro de la industria bananera, se incluye la Tabla 1. Esta tabla presenta la mejor manera conocida por el solicitante para llevar a cabo la invención de manera reproducible, partiendo de una materia prima en condiciones similares con base en su estado de maduración (el anexo de esta tabla solo se busca dar claridad sobre la escala utilizada).

Estado de maduración	Color	Descripción
1		Verde oscuro, cuando es empacado.
2		Verde claro, cuando comienza la maduración.
3		Más verde que amarillo, cuando el almidón comienza a convertirse en azúcar.

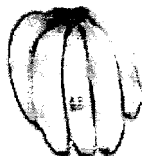
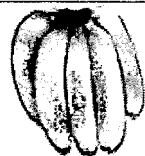
4		Más amarillo que verde, ideal para el vendedor al detal.
5		Amarillo con puntas verdes, ideal para que los consumidores terminen de madurarlo en casa.
6		Fruta firme toda amarilla, con buen sabor.
7		Amarillo con lunares, sabor perfecto para comer.

TABLA No. 1.

Fuente: Global Fruit Company Ltd – Disponible en línea:
http://www.globalfruit.ie/index.php?option=com_content&task=view&id=14&Itemid=21&PHPSESSID=9af24bb0ca27b5358e5d88382d30a8b5

Además de los estados de maduración del proceso de comercialización del banano (estados 1-7, Tabla 1), se debe incluir el estado 0, que es cuando el banano es cortado de la planta; y el estado 8, que es cuando el banano entra en proceso de descomposición.

Esta información, además de ser ampliamente conocida por el sector bananero, está publicada en la literatura relacionada:

- DOMÍNGUEZ, M. Y otros. Biosíntesis de etileno durante la maduración del plátano. En: Memorias del simposio de maduración de fruto y hortalizas. Barcelona F. Riquelme, M. Parra y M. Vendrell. 1988. 47—53 p.
- SOTO BALLESTEROS, Moisés. Bananos cultivo y comercialización. San José, Costa Rica: litografía e imprenta LIL, S.A 1985. 550 p.
- HOYOS, L., PÉREZ, Y. Pretratamiento de banano de rechazo de la zona de Urabá para la obtención de un jarabe azucarado. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín, Facultad de Minas. 2005.

De esta manera, se da respuesta a las observaciones planteadas en el Requerimiento del Artículo 45, efectuado mediante Oficio No 18080 de 2011.

Cordialmente,



Yina Lorena Toro Figueredo
Abogada

Anexos: 1. Corrección al “Capítulo Reivindicatorio” en 2 folios.
2. Corrección al “Capítulo Descripción” en 10 folios.

Fecha de impresión: 30-03-2012
Preparó: Yina Toro – Abogada.
Revisó: Dra. María Mercedes Medina Orozco, Jefe Oficina Jurídica Nacional
Archivo: Repartos 3609 de 2007



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

OFICINA JURÍDICA NACIONAL

Anexo 1.

Corrección Capítulo Reivindicatorio

PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCIÓN DE JARABE AZUCARADO POR DEGRADACIÓN DE MATERIALES AMILÁCEOS Y LIGNOCELULÓSICOS DE LA PLANTA DE BANANO.

Se reclama

1. Un procedimiento para la producción de jarabe azucarado por degradación de materiales amiláceos y lignocelulósicos de la planta de banano caracterizado por el tratamiento por hidrólisis ácida del material amiláceo y por hidrólisis enzimática de la corriente lignocelulósica. La corriente amilácea es almacenada hasta alcanzar un grado de madurez entre 3 y 5, para luego ser lavada y separada, por pelado, de la fracción celulósica que le acompaña, antes de entrar en el proceso de hidrólisis específico. La corriente lignocelulósica acopiada es inicialmente lavada y picada, etapa en la que es adicionada la fracción separada de la corriente amilácea, para luego aplicarse deslignificación ácida o alcalina, la deslignificación ácida es realizada con concentración de ácido entre 1 y 3% (v/v) y deslignificación básica que se lleva a cabo en un medio alcalino a un pH entre 11 y 13, al que se le agregan iones de calcio en forma de cal viva o Ca(OH)_2 , para finalmente ser sometida al proceso de hidrólisis enzimática.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, caracterizado porque el material amiláceo, previamente separado, es molido en un molino de cizalla y luego es tratado con ácido H_2SO_4 a una concentración entre 19 y 22 % (v/v) a temperaturas entre 367.15 y 373.15 K, y en agitación constante a una velocidad entre 250 y 350 rpm durante 4 a 9 horas.
3. El procedimiento de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque el estado de maduración del material amiláceo es llevado a un grado entre 3 y 5, y permite una mayor disponibilidad de azúcares reductores, una mayor disponibilidad de polisacáridos para convertirse a azúcares reductores y niveles bajos de lignina en relación con un grado mayor de madurez.
4. El procedimiento de la reivindicación 1, caracterizado por que el material lignocelulósico, previamente molido en molino de cuchillas es deslignificado y posteriormente ajustado a unas condiciones de pH entre 4.0 y 6.0 y temperatura entre

145 años
Innovando

Carrera 45 No. 26-85, EDIFICIO URIEL GUTIÉRREZ, 5º piso, Oficina 515
Telefax: (57-1) 316 5075 Conmutador: (57-1) 316 5000 Ext. 18167 Fax: 18167
Correo electrónico: ofijn_nal@unal.edu.co
Bogotá, D. C., Colombia, Sur América

313.15 y 333.15 K, las cuales permiten el empleo de celulasas en relación enzima/sustrato entre 0.35 y 1.5 % por un tiempo de hidrólisis entre 6 y 11 horas con agitación opcional entre 100 y 150 rpm.

5. El procedimiento de la reivindicación 1 o la reivindicación 4, caracterizado porque el material lignocelulósico es llevado a un tamaño de partícula cercano a 0.3 mm, para incrementar la remoción de lignina en el proceso siguiente de deslignificación.
6. El procedimiento de la reivindicación 1, caracterizado porque la deslignificación puede opcionalmente emplear un método ácido para la remoción de lignina del material lignocelulósico, en el cual la materia prima es llevada a temperaturas de al menos 393.15 K, y luego lavada con ácido sulfúrico (H_2SO_4) en concentraciones entre 1 y 3% (v/v), a una temperatura entre 298.15 y 348.15 K.
7. El procedimiento de la reivindicación 1, caracterizado porque la deslignificación puede opcionalmente emplear un método alcalino para la remoción de lignina, en el cual la materia prima se sumerge en un medio con pH básico; entre 11 y 13, a una temperatura entre 298.15 y 348.15 K, y los iones calcio se adicionan en una proporción de 3 a 5 mmol/L de solución.
8. El procedimiento de la reivindicación 6, caracterizado por que el material lignocelulósico, deslignificado por vía ácida, es opcionalmente lavado y posteriormente llevado a un pH entre 4.0 y 6.0 y una temperatura entre 313.15 y 333.15 K, tras lo cual se agregan celulasas en una relación enzima/sustrato entre 0.35 y 1.5 % por un tiempo de hidrólisis entre 6 y 11 horas con agitación opcional entre 100 y 150 rpm.
9. El procedimiento de la reivindicación 7, caracterizado por que el material lignocelulósico, deslignificado por vía alcalina, es opcionalmente lavado y posteriormente llevado a un pH entre 4.0 y 6.0 y una temperatura entre 313.15 y 333.15 K, tras lo cual se agregan celulasas en relación enzima/sustrato entre 0.35 y 1.5 % por un tiempo de hidrólisis entre 6 y 11 horas con agitación opcional entre 100 y 150 rpm.
10. El procedimiento de la reivindicación 1, caracterizado por generar dos corrientes de jarabe rico en glucosa, una proveniente del tratamiento por hidrólisis ácida del material amiláceo y la otra resultante de la hidrólisis enzimática del material lignocelulósico, como una corriente independiente cada una o conformando una mezcla por la adición de las dos para ajustar el pH entre 3 y 8.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

OFICINA JURÍDICA NACIONAL

Anexo 2.
Corrección
Capítulo Descripción

**CORRECCIÓN DE UNIDADES A SISTEMA INTERNACIONAL
PROCEDIMIENTO PARA LA PRODUCCIÓN DE JARABE AZUCARADO POR DEGRADACIÓN DE
MATERIALES AMILÁCEOS Y LIGNOCELULÓSICOS DE LA PLANTA DE BANANO.**

DESCRIPCIÓN

CAMPO DE APLICACIÓN DE LA INVENCION

Se presenta un procedimiento para la producción de un jarabe azucarado a partir de residuos de la industria del banano por la degradación mediante hidrólisis ácida del material amiláceo y mediante hidrólisis enzimática del material lignocelulósico previa deslignificación del último. Los jarabes obtenidos por las dos vías son centrifugados y mezclados, obteniéndose un jarabe azucarado rico en glucosa. El jarabe puede utilizarse como materia prima en la producción de etanol carburante o en la producción de edulcorantes usados en diversas industrias como la alimenticia o la farmacéutica.

DESCRIPCIÓN DEL ESTADO DEL ARTE

La industria bananera en Colombia ha constituido un renglón de exportación por más de 50 años generando un importante conjunto de divisas para la balanza de pagos del país. No obstante, desde su origen los excedentes industriales conformados por fruta de rechazo y la planta misma de banano después de la cosecha, han sido un problema ambiental y de sanidad vegetal para el mismo cultivo, el cual se ha intentado solucionar con tecnologías poco rentables, aunque fuesen ambientalmente viables, tal como el compostaje de los desechos.

Los residuos vegetales están constituidos principalmente por compuestos lignocelulósicos, los cuales en su estructura presentan cadenas entrelazadas de hemicelulosa, celulosa y lignina. La hemicelulosa y celulosa son de gran importancia por las moléculas de carbono que tienen en su estructura, los cuales pueden ser degradados hasta sus azúcares constituyentes como: glucosa, manosa, xilosa, arabinosa, así este tipo de residuos se constituyen en materias primas para la producción de diversos productos de interés industrial, entre ellos los jarabes azucarados. Este jarabe azucarado es materia prima en la industria puesto que tiene aplicaciones en procesos alimenticios y producción de etanol.

145 años
Innovando

Carrera 45 No. 26-85, EDIFICIO URIEL GUTIÉRREZ, 5º piso, Oficina 515
Telefax: (57-1) 316 5075 Conmutador: (57-1) 316 5000 Ext. 18167 Fax: 18167
Correo electrónico: ofijn_nal@unal.edu.co
Bogotá, D. C., Colombia, Sur América

Colombia produce cerca de un millón y medio de toneladas año de banano, con remanentes de 920.000 t/año constituido por banano excedente y material lignocelulósico (vástago, pseudotallo), parte de los cuales generan un problema ambiental después de la cosecha, en cuanto demora la degradación natural de esos residuos y su asimilación por el ambiente. Una alternativa a ese problema es aprovechar los desechos mediante procesos biotecnológicos como materia prima disponible para la elaboración del alcohol y los demás productos mencionados.

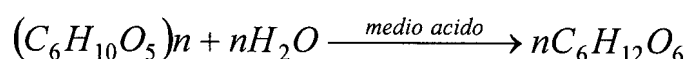
En Urabá, se produce el 87% de la producción nacional de banano, el 23% de la producción total es banano excedente, que no cumple con las características requeridas para la exportación. Un 50% del banano excedente se distribuye a nivel nacional, el otro 50% se reparte de la siguiente forma: 10% abono y consumo animal; 40% se desecha y se pierde totalmente. Por cada hectárea de cultivo se genera aproximadamente 1.700 plantas de banano, generando así 59.500 kilos por hectárea de material lignocelulósico (vástago, pseudotallo). Así por cada planta de banano se producen 5.0 kg de banano (fruta), 5.0 kg de vástago y 25.0 kg de pseudotallo, para un total de materia prima potencial para bioprocesos por planta cultivada de 35 kg

El banano es una excelente opción como punto de partida para la obtención de diversos tipos de productos calóricos y energéticos, no solo por el alto contenido de almidones que tiene sino también por el material lignocelulósico presente en la planta.

Las primeras opciones tecnológicas para la producción de azúcares a partir de polisacáridos recurrieron a la hidrólisis ácida, tal como el procedimiento desarrollado por Scholler en 1935, a quien se reconoce la primera aplicación sobre materiales maderables. El principio aplicado por Scholler está basado en la química orgánica del fraccionamiento de polisacáridos, como celulosa y almidón, a sus azúcares constituyentes por procedimientos como la hidrólisis en medio ácido.

La hidrólisis ácida hace referencia a la hidrólisis realizada con un ácido diluido o concentrado. El ácido mas utilizado es el sulfúrico gracias a su disponibilidad, bajo costo, y su alto punto de ebullición que permite disminuir sus pérdidas por evaporación en procesos a altas temperaturas. Normalmente la hidrólisis ácida se lleva a cabo a presión atmosférica, una temperatura entre 363.15K y 513.15K y un tiempo de hidrólisis que varía entre 15 y 600 minutos, obteniendo un rendimiento en la conversión de almidón y celulosa en el intervalo de 60 al 90%. La utilización de ácido clorhídrico o nítrico, los cuales poseen un mayor poder hidrolizante, también es posible, sin embargo son más difíciles de recuperar y sus bajos puntos de ebullición aumentan las pérdidas del reactivo considerando las altas temperaturas del proceso.

El proceso de hidrólisis se representa mediante la siguiente reacción:



Entre los primeros trabajos de aplicación y mejoramiento del proceso de obtención de jarabes azucarados mediante hidrólisis ácida se encuentra la patente americana US 4'029.515, la cual propone llevar a cabo de manera continua la hidrólisis en medio ácido de materiales celulósicos, tipo madera, por medio de un procedimiento en dos etapas. En la primera de ellas el material, impregnado con ácido, es sometido a la presencia de vapor de agua y genera productos como furfural, ácido acético, metanol y acetona provenientes de

los polisacáridos constituidos por pentosas además de disacáridos y trisacáridos como fragmentación parcial de los polisacáridos conformados por hexosas, en el material. La otra etapa se realiza en la presencia de agua y/o ácido diluido y en ella los disacáridos y trisacáridos, resultantes de la primera fase, se convierten en monosacáridos y ácidos grasos. Todas las reacciones de una y otra fase tienen lugar en un mismo reactor, sucediendo la fase con vapor en la parte superior del equipo y la fase líquida en la parte inferior del mismo reactor.

El método en que se basa la patente resulta costoso debido al alto consumo energético para producir vapor de agua a altas temperaturas y presiones, además el empleo de ácido diluido incrementa el uso de agua, siendo esos los principales inconvenientes para la obtención de jarabes azucarados a partir de biomasa. Cuando la hidrólisis se realiza con ácido concentrado el deterioro a mayor velocidad de los equipos de proceso es un costo adicional a considerar. Para la producción específica de etanol resulta inconveniente la producción de furfural pues, aunque puede representar un valor agregado importante, es un reconocido inhibidor de los procesos de fermentación.

Aunque algunos componentes del material lignocelulósico, como la hemicelulosa, son fácilmente degradables por agentes químicos, como los ácidos diluidos, la celulosa es un compuesto muy refractario al ataque hidrolítico. Esta característica es debida no sólo a la gran estabilidad química de su estructura en su forma cristalina, sino, al papel protector que juega la lignina, íntimamente asociada a la celulosa en las paredes de las células vegetales. Por tanto la lignina resulta ser un interferente para la producción del jarabe, pues no esta constituida por azúcares y ejerce un efecto protector sobre la celulosa de interés.

Una vía más recientemente considerada para la hidrólisis de polímeros, por sus características bioquímicas y su potencialidad económica, es la que recurre a medios biológicos o enzimáticos para lograr la conversión a azúcares de esas macromoléculas. La hidrólisis enzimática de almidones y celulosas es un procedimiento científica y tecnológicamente conocido desde la década 1950 a 1960, no obstante la baja eficiencia y las interferencias cruzadas para hacer rentables esos procesos permitió relegar la investigación sobre esas áreas ante la disponibilidad de fuentes químicas y energéticas alternas para la provisión de materias primas y combustibles.

Para la degradación enzimática de la celulosa se conoce que las celulasas son enzimas que hidrolizan los enlaces β -(1,4) en la celulosa. Son producidas como un sistema multicomponente de enzimas, compuesto usualmente por tres enzimas que actúan simultáneamente en la hidrólisis de la celulosa: endoglucanasa, celobiohidrolasa y celobiasa (β -glucosidasa). Las primeras dos enzimas actúan directamente en la celulosa. Los principales productos de reacción son la celobiosa y la glucosa; la celobiosa es entonces hidrolizada a glucosa por la celobiasa. Las endoglucanasas y las celobiohidrolasas degradan a las celodextrinas solubles y a la celulosa amorfa; sin embargo la celobiohidrolasa degrada a la celulosa cristalina de una manera más eficiente. La fase líquida luego de la hidrólisis de los materiales lignocelulósicos a azúcares, presenta como productos de reacción xilosa, glucosa y arabinosa a diferentes concentraciones que dependen de las condiciones operacionales seleccionadas. La celulosa y la lignina en los residuos sólidos posteriores a la hidrólisis de las fracciones de hemicelulosa pueden ser procesadas biotecnológicamente para producir etanol o para la producción de pulpas para papel.

Para el mejoramiento de la biodegradabilidad de los materiales lignocelulósicos, son usados comúnmente pretratamientos que permiten incrementar la accesibilidad de la enzima al sustrato, y obtener mayores eficiencias en la hidrólisis. Algunos de estos tratamientos son empleados en la patente US 5'916.780.

Los pretratamientos pueden clasificarse como físicos, químicos y biológicos, aunque también pueden ser utilizadas varias combinaciones de ellos. Numerosos reportes acerca de pretratamientos para materiales lignocelulósicos han sido descritos, en los cuales se pone de manifiesto la importancia de la granulometría de los materiales lignocelulósicos en relación con los posteriores rendimientos hidrolíticos. Dentro de estos tipos de tratamientos se encuentra la molienda mecánica, con la cual se disminuye el índice de cristalinidad y el grado de polimerización de la celulosa, y permite aumentar la superficie de contacto del material con reactivos y enzimas. Otro procedimiento físico es el de extrusión, que se basa en someter el material a hidrolizar a la acción de presión mecánica; este tratamiento combinado con la acción del ácido sulfúrico concentrado, produce una gran despolimerización de la celulosa. La solicitud de patente más reciente, radicada bajo el número WO 2006056838 por la vía del Tratado de Cooperación en materia de Patentes, PCT, presenta un sistema de agitación por gravedad que aprovecha las fuerzas de corte y cizalla para aumentar el rompimiento de las moléculas sometidas al proceso enzimático. Estos procedimientos requieren un alto suministro de energía por lo que es importante definir el tamaño final de la partícula y/o optimizar el tiempo del proceso.

Para los tratamientos químicos se utilizan combinaciones de solventes que, remueven la estructura cristalina y la lignina, permiten obtener la celulosa más desprotegida y susceptible al ataque hidrolítico, mejorando la producción de glucosa. Entre los métodos químicos, muchos de los cuales están descritos en las patentes US 5'916.780, US 4'461.648 y en la solicitud de patente radicada bajo el número US 20050136520, se encuentran: tratamientos con amoníaco, álcalis con cal y tratamientos con ácidos tanto minerales como orgánicos, los cuales son combinados con procesos con vapor a altas presiones y temperaturas, y/o con metodologías como irradiación ultrasónica, tal como se describe en la solicitud de patente antes mencionada. Estos procesos de pretratamiento demandan altos costos energéticos, equipos complejos o unidades adicionales de operación.

Los tratamientos biológicos se basan en la acción hemicelulolítica y lignolítica que determinados microorganismos ejercen sobre la biomasa lignocelulósica con la intermediación de las enzimas que naturalmente producen. Los hongos y bacterias son los microorganismos comúnmente asociados con este proceso, tal y como se describe en la patente US 7'022,511 que reivindica microorganismos degradadores de lignina y en la patente US 5'686,593 que demanda celulasas y hemicelulasas derivadas de hongos, principalmente de *Trichoderma reesei*. Estos procedimientos, en relación con los procesos químicos y físicos, presentan desventajas derivadas de la aplicación directa del microorganismo, debida a la baja velocidad de las reacciones bioquímicas metabólicas que presenta el microorganismo al aplicarse directamente en el proceso. Aunque la velocidad se incrementa al aplicar directamente las enzimas aisladas, el costo de este proceso es demasiado alto aun.

Lo expuesto hasta el momento permite argumentar que es necesario combinar procedimientos físicos, químicos y enzimáticos o biológicos para alcanzar soluciones óptimas para la degradación de polímeros celulósicos hasta azúcares y otros productos de interés. Así puede confrontarse en las patentes US 5'916.780, US 4'378.432, cuyos

pretratamientos incluyen hidrólisis ácida y otros tratamientos con posterior hidrólisis enzimática. Como sustratos o materia prima para el proceso se consideran cascarilla de avena y tusas de maíz en la inicialmente citada, y paja de cereales, residuos de madera y de la cosecha de maíz y otros cultivos en la segunda. Igualmente en la solicitud US 20050136520 se emplean varios métodos de pretratamiento además de energía ultrasónica como parte de los pretratamientos con posterior hidrólisis enzimática, utilizando materiales lignocelulósicos de diverso origen como residuos de cosechas, plantas herbáceas y leñosas, residuos de agricultura o silvicultura, y los componentes orgánicos de los residuos sólidos municipales e industriales, siendo el fin principal de los procedimientos la producción de alcohol combustible.

Desde los años sesenta se dispone comercialmente de enzimas capaces de convertir el almidón y otros polisacáridos, en jarabe. Los métodos de degradación de polímeros basados en esos productos comerciales requieren la acción de enzimas o el empleo de microorganismos para llevar a cabo la hidrólisis de los hidratos de carbono presentes en los materiales.

Los antecedentes tecnológicos referidos sumados a la disponibilidad comercial de enzimas para la conversión de almidones y polisacáridos en azúcares y el interés en dar una solución productiva a los residuos de la industria bananera, motivaron el desarrollo del procedimiento específico aquí reivindicado y descrito, el que una vez implantado permitirá a la industria bananera optimizar los rendimientos económicos convirtiendo un problema ambiental en una nueva fuente de ingresos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En el proceso de obtención de jarabes azucarados a partir de banano y material lignocelulósico, esquemáticamente presentado en la Figura 1, se somete una corriente de excedentes de la industria del banano, constituida por fruta de rechazo y material vegetal (vástago, pseudotallo y cáscara) proveniente del mismo cultivo, a tratamientos mecánicos, químicos y enzimáticos para obtener, luego de los procesos hidrolíticos, un jarabe rico en azúcares reductores, principalmente glucosa, a partir de los materiales iniciales que tienen altos contenidos de celulosa, hemicelulosa (vástago, pseudotallo y cáscara) y almidón (pulpa de banano).

En el procedimiento pueden diferenciarse dos líneas paralelas para la hidrólisis de los materiales procesados. Una de ellas es la hidrólisis ácida por la cual se transforman los almidones contenidos en la pulpa de la fruta de banano y la otra es la hidrólisis enzimática donde se transforma el material lignocelulósico previamente tratado en condiciones alcalinas. De las dos líneas se obtiene jarabe rico en glucosa.

La línea para el procesamiento de la pulpa de banano contempla etapas de almacenamiento, pelado y lavado, molienda, hidrólisis ácida, centrifugación, recirculación de material no hidrolizado, ajuste de las condiciones del jarabe y almacenamiento o empaque del jarabe obtenido. Por su parte el procesamiento del material lignocelulósico implica los pasos de almacenamiento, picado y lavado del material, molienda, deslignificación, lavado, hidrólisis enzimática, centrifugación, recirculación de material no hidrolizado y por último un almacenamiento del producto obtenido luego de un ajuste de sus condiciones.

Las corrientes de jarabe generadas tanto en la hidrólisis ácida como en la hidrólisis enzimática continúan en procesos paralelos para lograr azúcares de diverso uso o para la generación de alcohol carburante. Es posible también que las corrientes generadas, según disponibilidad en el proceso, se mezclen en una sola corriente rica en glucosa, con igual propósito que las corrientes individuales.

El proceso de conversión a un jarabe glucosado, de los materiales amiláceos y lignocelulósicos, mediante una corriente ácida y enzimática respectivamente, descrito para los residuos de la cosecha de la planta de banano puede ser aplicado sobre materiales amiláceos y lignocelulósicos de plantas con composiciones similares de celulosa, hemicelulosa, lignina y humedad, diferentes al de mayor reconocimiento en Colombia, Cavendish, como es el caso del plátano o plátano de guisar y guineo, también de amplio cultivo en el país. Debido a la similitud en la composición de celulosa, hemicelulosa, lignina y humedad de las diferentes especies dentro de la familia Musaceae, a la cual pertenecen el plátano, el banano y el guineo antes mencionados, la invención es extensible a las demás especies comprendidas dentro de esta familia.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La figura 1 muestra el diagrama de bloques general que presenta las dos principales corrientes de hidrólisis del procedimiento mediante el cual es posible obtener jarabes ricos en glucosa a partir de materiales lignocelulósicos y amiláceos de la planta de banano.

La figura 2 expone el diagrama de bloques para el procedimiento aplicado al material amiláceo proveniente de la pulpa de la fruta de banano con el fin de obtener el jarabe glucosado, mediante hidrólisis ácida.

La figura 3 presenta el diagrama de bloques para el procedimiento aplicado sobre el material lignocelulósico proveniente del vástago, el pseudotallo, cáscara y otros residuos del banano para producir, mediante hidrólisis enzimática, el jarabe glucosado.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Como se ha mencionado sucintamente, los residuos de la industria bananera están constituidos por fruta de rechazo o excedente del proceso de selección y exportación de banano y por material lignocelulósico proveniente del vástago, el pseudotallo, las hojas, cáscara y otros excedentes de la planta una vez realizada la cosecha.

La fruta de banano en su conformación consta de una parte pulpa comestible y una cáscara de consistencia celulósica que recubre el fruto. La pulpa está conformada por almidones que son fácil y económicamente hidrolizables a azúcares por procedimientos químicos en medio ácido, por ello debe ser separada de la cáscara y esta última debe derivarse a la corriente de tratamiento de material lignocelulósico. También es posible hidrolizar enzimáticamente los almidones de la pulpa y en ello se trabaja actualmente.

Considerando lo planteado en el párrafo anterior es posible señalar que el procedimiento de producción de jarabe aquí reivindicado comprende en su esencia dos corrientes de tratamiento de las materias primas. Una de ellas, esquemáticamente presentada en la Figura 2, se ocupa del material amiláceo constituido por la pulpa de banano y convertido a

jarabe glucosado mediante hidrólisis ácida. La otra compuesta por todos los materiales vegetales excedentes de la producción de banano con algún contenido de material celulósico y lignocelulósico (cáscara, pseudotallo, vástago, hojas, etc.) que son convertidos a jarabe glucosado mediante hidrólisis enzimática, siguiendo el procedimiento desplegado en la Figura 3. Los detalles del procedimiento para cada una de las corrientes señaladas se describen a continuación.

Hidrólisis ácida

El banano o el plátano que se exporta es cosechado en una etapa temprana de su proceso de maduración y se somete a clasificación en la finca donde se produce. Allí se genera la mayor parte de la fruta de rechazo, pero también es posible que por problemas de transporte o de cualquiera otra índole sea necesario procesar fruta que fue clasificada como exportable. Cualquiera sea el origen de la fruta a ser procesada para la obtención de jarabe glucosado a partir del material amiláceo de la pulpa, como se muestra en el diagrama de la Figura 2 el proceso comienza con la recepción y posterior almacenamiento de la fruta que tiene como fin lograr un grado de madurez de 3 a 5 según la escala de color de maduración definida entre 0 y 8. El material que alcanza el grado de maduración deseado presenta: la mayor cantidad de azúcares reductores; la mayor disponibilidad de polisacáridos para convertirse a azúcares reductores; y niveles de lignina aún bajos.

La fruta en el grado de maduración deseado es transportada a la etapa de lavado y pelado. La cáscara separada de la fruta es divergida hacia el proceso de hidrólisis enzimática donde se adiciona en la etapa de picado (ver Figura 3) del material lignocelulósico. El material amiláceo remanente pasa hacia un molino de cizalla que reduce el tamaño de la pulpa hasta generarse una pasta homogénea. La pasta de pulpa de fruta pasa al reactor donde se lleva a cabo la hidrólisis ácida. En ese reactor el pH de la pulpa se ajusta a un valor entre 0.7 y 0.9 mediante la adición de H_2SO_4 a una concentración entre 19 y 22 % (v/v). El tiempo de reacción puede variar entre 4 y 9 horas estando la temperatura controlada entre 367.15K y 373.15K y siendo el reactor continuamente agitado a velocidades entre 250 y 350 rpm.

Una vez transcurrida la etapa de hidrólisis, el jarabe obtenido es llevado a centrifugación donde es separado del material no hidrolizado y de otros componentes del banano no transformables en jarabe por hidrólisis ácida, parte de este material no hidrolizado puede retornarse al reactor. El jarabe obtenido puede ser utilizado como jarabe rico en glucosa proveniente de material amiláceo y almacenarlo o empacarlo con destino a la industria alimenticia; o puede someterse a fermentación para producir alcohol. Considerando el uso posterior del jarabe, sus condiciones como pH y nutrientes son ajustados, para el caso del pH, este es llevado a un valor cercano a 7 si el fin es la industria de alimentos, o entre 4 y 6 si busca la producción de etanol vía fermentación. También es posible aprovecharlo en mezcla con la corriente de jarabe obtenido de la hidrólisis enzimática de material lignocelulósico (Figura 3) con la intención de someter a fermentación alcohólica la mezcla conjunta.

Hidrólisis enzimática

El material lignocelulósico que conforma la materia prima para el procedimiento de hidrólisis enzimática debe ser colectado y transportado hasta el lugar de aplicación del procedimiento,

por ello el diagrama presentado en la Figura 3 comienza con esa etapa. Esa recolección incluye el corte y transporte del pseudotallo y las hojas en el lugar de la plantación objeto de cosecha y la recolección del vástago y otros residuos sólidos en el punto de selección y clasificación de la fruta. Esa materia prima es almacenada con la intención de asegurar su disponibilidad para el procedimiento.

La siguiente etapa de proceso para el material lignocelulósico comprende el picado y lavado. En este momento se adicionan las cáscaras separadas de la pulpa de la fruta en la etapa de lavado y pelado del procedimiento de hidrólisis ácida. Se adicionan, pican y lavan pseudotallo, vástago y cáscaras en una relación en peso de $1:\frac{1}{2}:\frac{1}{3}$ respectivamente, conformándose así la mezcla de material lignocelulósico a ser sometido a tratamiento enzimático. La mezcla de proceso es entonces llevada a un molino de cuchillas que permite obtener una corriente de sólidos vegetales en un tamaño de partícula cercano a los 0.3 mm, considerado adecuado para lograr los mejores resultados en las posteriores etapas del procedimiento.

Los sólidos triturados a tamaño submilimétrico son sometidos a deslignificación en un reactor donde se puede realizar este procedimiento con ácido sulfúrico o con cal viva. El primero se realiza llevando la materia prima a temperaturas elevadas, no inferiores a 120°C, lavando luego con ácido sulfúrico (H_2SO_4) en concentraciones entre 1 y 3% (v/v). En el proceso alcalino la materia prima se sumerge en un medio con pH básico; entre 11 y 13, y luego se adicionan iones calcio, como $Ca(OH)_2$, en una proporción de 3 a 5 mmol/l de solución. Tanto el lavado con ácido sulfúrico como la solución alcalina se aplican a temperaturas entre 298.15K y 348.15K. La decisión respecto al uso de uno u otro método se basa en la disponibilidad de reactivos o la facilidad en el momento de emplear uno u otro, ya que la remoción de lignina entre un 80 y 90 % permite recomendar el uso de ambos procedimientos. El material deslignificado es llevado posteriormente al reactor donde se efectúa la hidrólisis enzimática.

La hidrólisis enzimática se realiza en un reactor cuyas condiciones de operación son: pH entre 4.0 y 6.0; Temperatura entre 313.15 y 333.15 K; relación enzima/sustrato entre 0.35 y 1.5 %; tiempo de hidrólisis de entre 6 y 11 horas con agitación opcional a una velocidad entre 100 y 150 rpm. El rompimiento de enlaces se logra con una celulasa comercial, por ejemplo CELULASA TL 300 MC. Los productos logrados en el reactor donde sucede el proceso hidrolítico son llevados a centrifugación, operación por la cual se separa el jarabe generado del material sólido no hidrolizado. Los sólidos no hidrolizados son reprocesados retornándolos al reactor de hidrólisis. La corriente de jarabe puede ser utilizada como un sirope rico en glucosa proveniente de material lignocelulósico y ser llevado a fermentación o puede almacenarse o empacarse para ser usado en la industria de alimentos. Al igual que en el procedimiento de hidrólisis ácida, el pH del jarabe debe ser ajustado según su uso posterior. También puede ser mezclado con la corriente de jarabe producido por hidrólisis ácida para generar productos de la misma índole.

Conformación del jarabe

La utilización de un jarabe compuesto de una mezcla de los hidrolizados obtenidos por vía ácida sobre el material amiláceo (figura 2) y por vía enzimática sobre el material lignocelulósico (figura 3) se presenta como una opción que permita diluir o aumentar la concentración de azúcares reductores en uno u otro jarabe, teniendo en cuenta los requerimientos del microorganismo cuando se destina a la fermentación alcohólica o la

8

concentración deseada por la industria alimenticia para sus procesos. Además, la mezcla de ambos jarabes permite la dilución de los compuestos inhibitorios que se puedan presentar por la hidrólisis ácida, a la vez que permite ajustes en el pH sin la adición de otros reactivos. Este procedimiento presentado como una alternativa está regido principalmente por la disponibilidad de uno u otro hidrolizado y por las características en cuanto a concentración y pH que se deseen obtener, por lo tanto la mezcla es una opción antes que un resultado del proceso.

APLICACIÓN PRÁCTICA DE LA INVENCION

Acopio de material amiláceo y lignocelulósico

La producción de un día de trabajo en una finca bananera con 120 hectáreas dedicadas al cultivo de banano de exportación produce 100 cajas de banano de exportación que equivalen a 5 toneladas de fruta de primera calidad. Con esa fruta exportable se producen 500 kg de fruta de rechazo y 500 kg de vástago que son dispuestos en algún lugar de la zona de empaque para ser procesados posteriormente. Al mismo tiempo en el área de cosecha se genera una cantidad de residuos vegetales constituidos por el pseudotallo y las hojas de la planta que en total equivalen a 2500 kg los que deben ser recolectados y transportados a la planta de producción de jarabe.

La fruta de rechazo es transportada hasta la planta de producción de jarabe y almacenada hasta que alcanza un grado de maduración entre 3 y 5 en la escala de color definida para el efecto. Al alcanzar el grado de maduración requerido, los 500 kg de fruta de rechazo son sometidos a lavado y pelado, produciéndose 100 kg de cáscara y aproximadamente 400 kg de pulpa. La cáscara es separada y adicionada a la corriente de material lignocelulósico.

La masa de la corriente de material lignocelulósico compuesto por el vástago y el pseudotallo generada en un día promedio de producción de banano de exportación se cuantifica en 3000 kg a los que se adicionarán 100 kg de cáscaras al momento de lavar y picar el material vegetal dando inicio al procedimiento de hidrólisis enzimática.

Así, un día de producción de banano de exportación genera 5 toneladas de fruta exportable, 0,4 toneladas de pulpa amilácea para llevar al procedimiento de hidrólisis ácida y 3,1 toneladas de material lignocelulósico para hidrolizar mediante enzimas.

Preparación del jarabe acidulado

Se toman 250 g de pulpa de banano, previamente molida, con un porcentaje de almidón en base seca entre 52 y 54%, se lleva a un reactor de 2.5 L de capacidad y se adiciona 200 ml de agua. Lo anterior permite obtener una concentración de almidón entre 156 y 171 g/L. Esta mezcla de banano se ajusta a un pH entre 0.7 y 0.9 mediante la adición de 100 ml de H_2SO_4 a una concentración entre 19 y 22 % (v/v). El banano a este pH es llevado a un baño maría a una temperatura entre 367.15K y 373.15K y agitación constante, mediante un agitador de paletas, a una velocidad entre 250 y 350 rpm, para un tiempo de reacción que puede variar entre 4 y 9 horas. Por este procedimiento se obtienen concentraciones de azúcares reductores entre 130 y 168 g/L, y por tanto rendimientos de azúcares reductores respecto a almidón inicial entre 75 a 97 %.

Preparación del jarabe enzimático

Se toman 1000g de mezcla de materiales lignocelulósicos, previamente lavados, picados y molidos, en una proporción de $1:\frac{1}{2}:\frac{1}{3}$ lo que corresponde aproximadamente a 550g de pseudotallo, 275g de vástago y 180g de cáscara, con porcentajes de celulosa cercanos, y variables, a 23, 32 y 13 %, respectivamente. Lo anterior permite obtener una cantidad de celulosa de cerca de 238 g. Esta mezcla es deslignificada utilizando el método alcalino, en el cual se sumerge en aproximadamente 2 litros de solución en un pH entre 11 y 13, con adición posterior de iones calcio, como $\text{Ca}(\text{OH})_2$ entre 3 y 5 mmol/L de solución. Luego, es separado mediante centrifugación la corriente líquida residual y la corriente sólida, la corriente sólida tras ser lavada pasa al proceso de hidrólisis enzimática en donde se adiciona inicialmente agua en una relación de 5 L/ kg de material, esta mezcla es acondicionada a un pH entre 4.0 y 6.0; Temperatura entre 313.15 y 333.15 K y adicionado una cantidad de enzima – celulasa – entre 1 y 1.5% (p/p) de la cantidad de material, es decir entre 10 y 15 g de enzima, posteriormente esta mezcla es puesta opcionalmente en agitación orbital o mediante paleta a una velocidad entre 100 y 150 rpm, por un tiempo de reacción entre 6 y 11 horas. Este montaje permite obtener concentraciones de azúcares reductores entre 21 y 23 (g/L), y por tanto rendimientos de azúcares reductores respecto a la concentración de celulosa inicial, entre 44 y 48 %.

Mezcla de jarabes

Tomando como base 1000 kg de materia prima comprendida por material amiláceo, y lignocelulósico de cáscara, vástago y pseudotallo, se obtiene sumando los jarabes azucarados obtenidos en los procesos de hidrólisis ácida sobre material amiláceo y enzimático sobre material lignocelulósico una producción entre 380 a 385 kg de jarabe, en una concentración de azúcares reductores cercana a los 100 g/L. Ambos procesos en las condiciones y proporciones descritas.