

1	Título de la Invención (200 caracteres o espacios máximos)		
PREPARACIÓN DE ETANOL A PARTIR DE MATERIALES LIGNOCELULÓSICOS			
2	Datos del Solicitante / Titular		
Nombre:	PRAJ INDUSTRIES LIMITED	Dirección Electrónica:	notificaciones@wolfmendez.com
Dirección:	PRAJ Tower, 274-275 Bhumkar Chowk - Hinjewadi Road, Hinjewadi Pune 411057	Domicilio/País de constitución:	INDIA - MAHARASHTRA - PUNE
Identificación:			

☐ CEDULA DE CIUDADANIA
☒ EMPRESA EXTRANJERA
☐ PASAPORTE

☐ CEDULA DE EXTRANJERIA
☐ NIT

Número:

880353-

3

Solicitantes

Apellidos - Nombres o Razón Social

Tipo

Identificación

1. PRAJ INDUSTRIES LIMITED

EE

880353

4

Datos del Inventor

Nombre:

Waman Joshi
SATYENDRA

**Dirección
Electrónica:**

notificaciones@wolfmendez.com

Dirección:

PRAJ Industries
Limited PRAJ
Tower, 264-275
Bhumkar Chowk-
Hinjewadi Road,
Hinjewadi Pune-
411057 (IN)

**Domicilio/País de
constitución:**

INDIA - MAHARASHTRA -
PUNE

Identificación:

☐ CEDULA DE CIUDADANIA
☐ CEDULA DE EXTRANJERIA
☐ EMPRESA EXTRANJERA
☒ PASAPORTE
☐ NIT

Número:

777888-

5

Inventor(es)

Apellidos - Nombres

Domicilio

1. SATYENDRA Waman Joshi

INDIA

2. MOHAN Ganpat Kashid

INDIA

3. SHRIKANT Subhash Rathi

INDIA

4.	GHANSHYAM Baburao Deshpande	INDIA
5.	RAVIKUMAR Rao Pallinti	INDIA
6.	GEETANJALI Dattatray Moghe	INDIA
7.	ASHVINI Monish Shete	INDIA
8.	MOHAN Babu	INDIA
9.	SIDDHARTHA Pal	INDIA

6	Datos Inventor(es)			
	País de Residencia	Departamento/Estado	Ciudad	Dirección
1.	INDIA	MAHARASHTRA	PUNE	PRAJ Industries Limited PRAJ Tower, 264-275 Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi Pune-411057 (IN)
2.	INDIA	MAHARASHTRA	PUNE	PRAJ Industries Limited PRAJ Tower, 264-275 Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi Pune-411057 (IN)
3.	INDIA	MAHARASHTRA	PUNE	PRAJ Industries Limited PRAJ Tower, 264-275 Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi Pune-411057 (IN)
4.	INDIA	MAHARASHTRA	PUNE	PRAJ Industries Limited PRAJ Tower, 264-275 Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi Pune-411057 (IN)

5.	INDIA	MAHARASHTRA	PUNE	PRAJ Industries Limited PRAJ Tower, 264-275 Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi Pune-411057 (IN)
6.	INDIA	MAHARASHTRA	PUNE	PRAJ Industries Limited PRAJ Tower, 264-275 Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi Pune-411057 (IN)
7.	INDIA	MAHARASHTRA	PUNE	PRAJ Industries Limited PRAJ Tower, 264-275 Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi Pune-411057 (IN)
8.	INDIA	MAHARASHTRA	PUNE	PRAJ Industries Limited PRAJ Tower, 264-275 Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi Pune-411057 (IN)
9.	INDIA	MAHARASHTRA	PUNE	PRAJ Industries Limited PRAJ Tower, 264-275 Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi Pune-411057 (IN)
7	Datos del Representante Legal / Apoderado			
Nombre:		JESÚS MARÍA MÉNDEZ BERMÚDEZ	Dirección Electrónica:	notificaciones@wolfmendez.com
Dirección:		Calle 83 A No. 23 - 90	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.
Identificación: ☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT ☐ PASAPORTE Número: 13491525-				
Presentación de Poder				
Año de Radicación				
Número de Radicación				
8	Datos Solicitud: PCT / WO			
Número Solicitud:		PCT/IN2014/000433	Fecha Solicitud:	27/06/2014

Número Publicacion:		WO2015/019362		Fecha Publicacion:		12/02/2015	
9	Declaraciones de prioridad			☒ SI ☐ NO			
1.	(33) País de origen INDIA	Codigo del país IN	(31) No. Solicitud 2596/MUM/2013	(32) Fecha 06/08/2013			
10	Reivindicaciones						
Número reivindicaciones:		28		Pago Reivindicaciones:		Si	
11	Reducción de tasas.						
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i> ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.							
☐ Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Universidades públicas o privadas ☐ Entidades sin ánimo de lucro Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos							
12	Documentos Anexos						
☒ Reivindicaciones ☒ Descripción ☒ Dibujos y/o Figuras ☒ Resumen ☐ Certificado Depósito Material Biológico ☐ Uso de Conocimiento tradicional ☐ Listado de secuencias ☒ Artes finales 12 x 12 cm ☐ Poderes, si fuere el caso ☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad ☒ Otros Anexos							

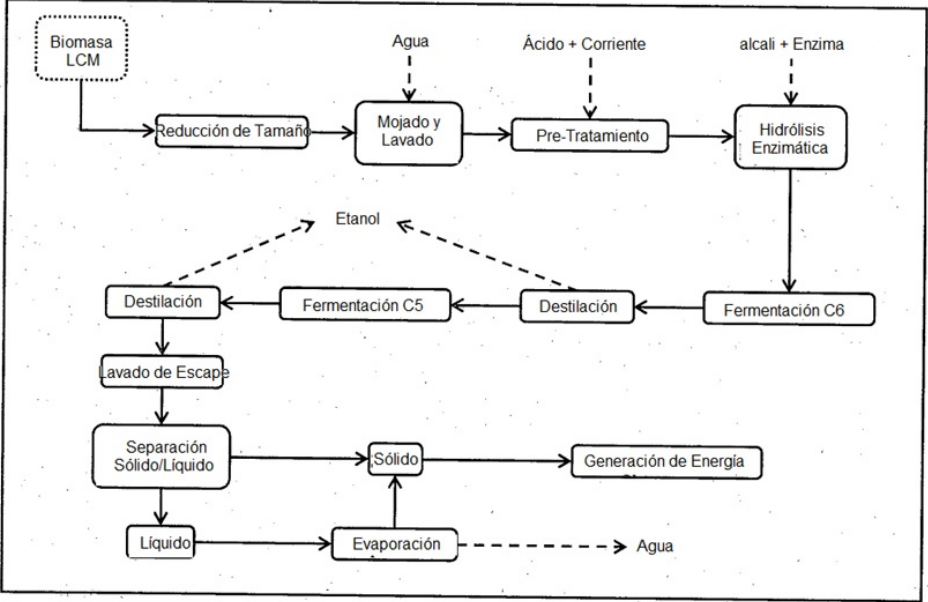


FIG 1

PREPARACIÓN DE ETANOL A PARTIR DE MATERIALES

LIGNOCELULÓSICOS

CAMPO DE LA INVENCION

La invención se relaciona con un proceso y sistema para la preparación de etanol a partir de materiales lignocelulósicos y más particularmente a partir de materiales lignocelulósicos como mazorca de maíz, rastrojo de maíz, bagazo de caña de azúcar/remolacha o cualquier otro material lignocelulósico.

ANTECEDENTES

Debido a las futuras limitaciones en la disponibilidad de combustibles fósiles particularmente de petróleo crudo, varios gobiernos nacionales están promoviendo el uso de combustibles alternos tales como etanol en vehículos de motor. El etanol es un combustible de vehículos de motor principal en Brasil y es utilizado a una gran escala en otros países como los Estados Unidos y Europa; mientras que en India se ha promovido significativamente desde los últimos pocos años. Sin embargo, la preparación de combustible de etanol es principalmente hecha a partir de cultivos de alimentos como maíz, caña de azúcar o remolacha, causando principales problemas sociales y económicos del uso de estos materiales alimenticios para aplicaciones no alimenticias. Por lo tanto, los gobiernos están promoviendo el uso de materias primas no alimenticias como materiales lignocelulósicos para la preparación de combustible de etanol a grandes escalas para cumplir con las demandas en aumentos para las fuentes de energía renovable.

Los materiales lignocelulósicos (LCM) de la industria agrícola son sub-productos de desecho. Este es principalmente utilizado de forma ineficiente como una fuente de energía o alimento para animales; sin embargo una gran parte se desperdicia

como tal sin ningún uso. El LCM es una estructura compleja de celulosa, hemicelulosa y lignina que forma un compuesto el cual dependiendo de su fuente es diferencialmente resistente a hidrólisis en comparación con otros materiales a base de carbohidrato como el almidón. El LCM forma componentes estructurales de plantas y tiene una composición variante con base en su ubicación en huésped o tipo del huésped. En el estado del arte hay varios métodos actuales de hidrólisis química y térmica de LCM utilizando agua a alta temperatura, ácido, álcali y otros químicos. Estos tratamientos son realizados para lograr la degradación efectiva del LCM en azúcares fermentables como xilosa y glucosa. Estos azúcares en fermentación por levaduras llevan a etanol que es utilizado en varias aplicaciones incluyendo como un aditivo de combustible.

La biomasa de LCM se refiere a biomasa de planta que está compuesta de celulosa, hemicelulosa, y lignina. Esta biomasa viene en varios diferentes tipos tal como madera, residuos de madera, desechos municipales, residuos agrícolas y cultivos de energía como pastos de madera y de crecimiento rápido y alto. En todas estas categorías, los polímeros de carbohidrato (celulosa y hemicelulosas) se unen de forma estrecha con la lignina por uniones de hidrógeno y covalentes que forman las estructuras fuertes de LCM. Una barrera para la producción de etanol a partir de LCM es que una gran fracción de los azúcares necesarios para la fermentación se presentan en la forma de lignocelulosas. El LCM ha evolucionado para soportar la degradación y para conferir estabilidad hidrolítica y robustez estructural a las paredes celulares de las plantas. Esta “obstinación” es atribuible a los enlaces cruzados entre los polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) y la lignina por medio de uniones de éster y éter creando así un material que es físicamente duro de acceder. Esto significa que para un uso eficiente de estos componentes, dicho LCM se debe desintegrar, separar y/o descristalizar.

Aunque hay varios métodos de hidrólisis de LCM conocidos, sin embargo, existe una necesidad por encontrar métodos más efectivos y económicos para el tratamiento de LCM en condiciones más benignas y económicas ya que el etanol es un producto de comodidad y los precios son muy competitivos. Además, durante el tratamiento de LCM utilizando tratamiento químico y térmico varios inhibidores del proceso de fermentación se producen que llevan a una reducción marcada de las eficiencias de los organismos de fermentación ya que estos inhibidores son tóxicos a estos microbios. Estos inhibidores son principalmente fenólicos, ciertos ácidos orgánicos y otros orgánicos producidos a partir de componentes de LCM durante el tratamiento de hidrólisis.

Por lo tanto, el control del tratamiento de hidrólisis de LCM (también denominado pretratamiento) es un paso principal en el procesamiento de LCM para la preparación de etanol. En el estado del arte, los métodos actuales de pretratamiento utilizan ácidos, álcalis u otros químicos como amonio a altas temperaturas para hidrolizar la parte hemicelulosa del azúcar de xilosa que libera LCM en el primer paso. Luego, la parte restante rica en celulosa se somete a hidrólisis enzimática o química para liberar azúcar de glucosa y la parte restante rica en lignina se quema para generar energía. Estos dos azúcares luego se fermentan para hacer etanol o se utilizan para preparar otros químicos a base bio. Sin embargo, se presentan dos problemas importantes con dicho tratamiento: 1) el calentamiento puede sólo ser corto, ya que de otra forma se forman demasiados sub-productos indeseados a partir de los carbohidratos; y 2) es difícil producir una suspensión de biomasa con más de 30% de sólidos por peso, lo cual es necesario para un uso económico en el procesamiento posterior.

La invención acá divulgada aborda varios problemas de los métodos anteriores tal como: 1) alta concentración de inhibidores en los hidrolizados; 2) baja eficiencia de

la hidrólisis de LCM en condiciones benignas y 3) baja eficiencia de conversión de azúcares derivados de LCM en etanol en el proceso de fermentación. Para tal fin, se divulga un método novedoso que tiene ventajas como: 1) bajo nivel de inhibidores que no limitan el crecimiento de microbios, 2) más condiciones de procesamiento benignas y económicas de LCM y 3) mayor eficiencia de conversión de azúcares en etanol en un novedoso proceso de fermentación de dos pasos.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Estas y otras características, aspectos, y ventajas de la presente invención serán mejor entendidas cuando se lea la siguiente descripción detallada con referencia a las figuras adjuntas, en donde:

FIGURA 1 ilustra un diagrama de bloques del flujo de masa durante la producción de etanol a partir de un LCM. Los diferentes elementos del proceso se identifican y el movimiento direccional de diferentes aditivos y corrientes formadas durante el proceso se muestran para describir las características de una modalidad de la presente invención.

FIGURA 2 es un plano ejemplar de la invención que muestra varias características que controlan el proceso de producción de etanol a partir de una material primera lignocelulósica. Todo el sistema se puede dividir en cinco unidades, principalmente: 1) unidad de hidrólisis ('A'), 2) unidad de hidrólisis enzimática y fermentación C6 (azúcar hexosa) ('B'), 3) unidad de destilación y recuperación de etanol ('C'), 4) unidad de fermentación C5 (azúcar pentosa) ('D'), y 5) unidad de evaporación ('E'). En una modalidad de la presente invención, dicha unidad de destilación y recuperación de etanol es utilizada para recuperar etanol a partir del lavado de C6 fermentado así como el lavado de C5 fermentado que lleva a la

recuperación del etanol hecho a partir de azúcares de glucosa y xilosa. Un experto en la materia puede apreciar variaciones del sistema para lograr la conversión de azúcares en etanol como se divulga acá.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En una modalidad de la invención divulgada como se ilustra en la FIGURA 1 para producir etanol a partir de biomasa de LCM, dicha biomasa como mazorca de maíz, bagazo, rastrojo u otro material agrícola similar se reduce en tamaño a una materia particulada. Esta materia particulada de aproximadamente 40 mm de tamaño luego se moja y se lava en agua para remover cualquier suelo u otro agente contaminante. Luego, dicha biomasa empapada es pretratada en la presencia de uno o más ácidos (inorgánicos u orgánicos) a cierta alta presión y temperatura provista por una corriente a alta presión como fuente de energía y de agua. Al llevar a cabo dicho proceso de pretratamiento por el periodo de tiempo deseado a condiciones deseadas, se obtiene una corriente hidrolizada de LCM, la cual posteriormente se somete a un proceso de neutralización e hidrólisis enzimática. El pretratamiento sobre dicho LCM libera xilosa de la parte hemicelulósica, mientras que las fibras de celulosa cristalina se sueltan de modo que se pueden tratar posteriormente con enzimas celulósicas. Dicha corriente hidrolizada primer se neutraliza con un álcali como NaOH o CaOH para aumentar el pH a aproximadamente 6 y luego se adicionan una o más celulasas, y se permite la reacción por varias horas a condiciones deseadas. Este paso libera glucosa de las fibras de celulosa que llevan a aumentar sustancialmente la glucosa en la primera corriente formada. Dicha corriente luego se somete a una levadura fermentadora de hexosa como una *Saccharomyces* sp. que lleva a la conversión de dicha hexosa en etanol que forma una primera corriente fermentada. Esta corriente contiene etanol producido de dicha glucosa presente en dicha primera corriente. Luego, dicha primera corriente fermentada se somete a

una primera destilación para separar el etanol acuoso lo que lleva a la formación de una corriente de escape. El etanol acuoso obtenido así luego se procesa para obtener etanol anhidro u otros productos de etanol. Luego, dicha corriente de escape se recolecta y bajo ciertas condiciones deseadas se somete a una segunda fermentación por medio de una levadura fermentadora de pentosa como *Pichia* sp, lo que lleva a la conversión de la xilosa presente en ésta en etanol que forma una corriente fermentada final. Esta corriente fermentada final se somete a una segunda destilación para separar el etanol acuoso, el cual luego se procesa para obtener etanol anhidro u otros productos de etanol. Una corriente de lavado de escape obtenida al final de este proceso luego se somete a separación de sólido-líquido utilizando un dispositivo similar a una prensa de filtro para remover los sólidos (los cuales son principalmente lignina) del agua de desecho. Estos sólidos se queman en un quemador para generar energía que posteriormente se utiliza para correr dicho sistema descrito acá. El agua de desecho se somete a evaporación y tratamiento posterior para obtener agua de proceso para reciclaje/reúso en dicho sistema. De nuevo los sólidos obtenidos en dicho paso de evaporación se queman en dicho quemador.

En una modalidad adicional de la invención divulgada como se ilustra en la FIGURA 2, los pasos de dicho proceso son: 1) la materia prima (30) que comprende mazorca de maíz reducida en tamaño y lavada o material particulado de bagazo es pretratado en una unidad de hidrólisis ('A'). Antes de esto un tanque de lavado se utiliza para humedecer y remover los materiales extraños de dicha biomasa particulada. La biomasa de LCM se reduce en tamaño utilizando un mecanismo mecánico que comprende un dispositivo para cortar, picar o triturar. Luego, un hidrolizador de tipo de tornillo de cierre (1) se alimenta con dicha corriente de materia prima (30); en dicho hidrolizador dicha materia prima es tratada con vapor a alta presión (21) a aproximadamente 140 a 210°C en la

presencia de uno o más ácidos suministrados desde un tanque (2). En dicho hidrolizador debido a las acciones de la alta temperatura y la presión así como los ácidos, la hemicelulosa presente en LCM es hidrolizada llevando a la liberación de xilosa en una corriente hidrolizada (26). Esta corriente hidrolizada (26) se dirige a un tanque de expansión (3) para remover el exceso de agua de ésta, la cual se condensa mediante un condensador (13) y se reutiliza en el proceso. La corriente hidrolizada (31) obtenida de dicho tanque de expansión (3) que comprende la mayoría de sólidos en la forma de celulosa y lignina y xilosa soluble, es dirigida a un reactor o tanque de digestión (5) el cual tiene provisiones para el suministro de un álcali y enzimas celulolíticas en la unidad ('B'). En dicho reactor (5) dicha corriente hidrolizada (31) es neutralizada con la adición de una solución álcali adecuada para aumentar el pH para hacerla más adecuada para las acciones de las enzimas de hidrolización. Después de la neutralización, dicha corriente rica en celulosa es hidrolizada por la acción de celulasas por un periodo de tiempo deseado llevando a la formación de una primera corriente (32). Esta primera corriente (32) luego se somete a una primera fermentación en un fermentador o biorreactor (6) mediante una levadura fermentadora de azúcar de hexosa como *S. cerevisiae* llevando a la producción de etanol a partir de la glucosa presente en dicha corriente y la formación de una primera corriente fermentada (33). Esta corriente (33) se somete a la unidad de destilación y recuperación de etanol (7, 'C'), en donde el etanol es recuperado y una corriente gastada (34) rica en azúcar de xilosa se somete a una segunda fermentación mediante una levadura fermentadora de pentosa como *P. stipitis* en un segundo fermentador o biorreactor (8, 'D') llevando a la producción de etanol a partir de la xilosa presente en dicha corriente y la formación de una corriente fermentada final (35). Esta corriente (35) se somete a la unidad de destilación y recuperación de etanol (7, 'C'), en donde el etanol es recuperado y se forma una corriente de desecho (36). Los vapores de alcohol (41) de dicha unidad ('C') se condensan (42) en un evaporador (10) y se

dirigen de regreso a dicha unidad para rectificación para obtener una corriente de alcohol anhidro (43). Dicha unidad de destilación y recuperación de etanol ('C') comprende varios elementos que eficientemente destilan etanol de las corrientes (33) y (35) que contienen tan bajo como 1% de etanol por peso y simultáneamente rectifica dicha corriente (42) a una corriente de etanol más concentrado (43). Dicha corriente de desecho (36) con sólidos que comprenden lignina se somete a una presa de filtro (9) para remover el agua de desecho (37) de dichos sólidos (44). Los sólidos (44) se queman en un quemador (14) para generar energía, mientras que el agua de desecho (37) se envía a un tanque de expansión (11) para remover los vapores (38) que se condensan en un condensador (12) para formar una corriente de agua de proceso (39). La corriente líquida del tanque de expansión (11) se evapora en el evaporador para recuperar el agua (38), mientras que los sólidos (40) restantes se someten a incineración en dicho quemador (14). Una bomba de vacío (51) mantiene una presión negativa en dicho sistema para la operación efectiva de diferentes unidades del aparato.

Los ejemplos mostrados a continuación dan una utilidad más amplia de la invención sin ninguna limitación con relación a las variaciones que se pueden apreciar por un experto en la materia. Un resumen no limitante de varios resultados experimentales se suministra en los ejemplos, lo cual demuestra los aspectos ventajosos y novedosos del proceso de utilización de LCM para la preparación de etanol.

EJEMPLO 1

En un primer paso, un lote de aproximadamente 118 kg de mazorcas de maíz tiene un total de sólidos de aproximadamente 92% en peso, celulosa de aproximadamente 33% en peso, hemicelulosas de aproximadamente 27% en peso y lignina de aproximadamente 13% en peso se utilizó como materia prima. Esta se

sometió a rasgado mecánico para reducción de tamaño a partículas de menos de 40 mm que abarcan aproximadamente 108 kg del material particulado. Este material particulado se empapó en agua por aproximadamente 30 min. Luego aproximadamente 360 kg de suspensión (también denominada mezcla) que contiene aproximadamente 30% en peso de sólidos totales se preparó y se introdujo continuamente en un hidrolizador de tipo tornillo de cierre. Acá, la suspensión se mezcló con aproximadamente 240 litros de la mezcla de ácidos oxálico y sulfúrico. Esta mezcla de ácidos contenía aproximadamente 1% en peso de ácido oxálico y aproximadamente 2% en peso de ácido sulfúrico en base de peso de biomasa seca (total de 3% de ácido con base en el peso de biomasa seca). La mezcla de reacción resultante luego se sometió a hidrólisis en dicho hidrolizador a una temperatura de aproximadamente 160°C y presión de aproximadamente 6 bar (absoluta) por un periodo de aproximadamente 24 minutos a pH de aproximadamente 1.3. Al final de este pretratamiento la suspensión final de aproximadamente 700 kg contenía aproximadamente 13% de sólidos totales; y aproximadamente 0.29% de glucosa, aproximadamente 4% de xilosa, aproximadamente 0.01% de furfural, aproximadamente 0.03% de HMF y aproximadamente 3800 PPM de componentes fenólicos junto con celulosa sin digerir y lignina como se detectó por métodos de HPLC. En este pretratamiento, la eficiencia de la conversión de xilano a xilosa fue aproximadamente 86%. En el segundo paso, este hidrolizado pretratado rico con azúcares C5 junto con sólidos C6 (celulosa + lignina) se sometió a hidrólisis enzimática por celulasas. Antes de la hidrólisis enzimática, se neutralizó con NaOH para aumentar el pH a aproximadamente 5. Luego, un coctel de celulasa disponible comercialmente (aproximadamente 20 mg/g de celulosa) se adicionó al material pretratado y se dejó digerir dichos sólidos a condiciones deseadas por aproximadamente 120 h a 52°C. Después de dicha hidrólisis enzimática, glucosa de aproximadamente 3.95% en peso fue suministrada en la corriente con eficiencia de hidrólisis de celulosa de

aproximadamente 72%. Al final de estos tratamientos, la corriente contenía xilosa de aproximadamente 4% en peso y glucosa de aproximadamente 3.95% en peso. En el tercer paso, dicha corriente rica en azúcar se sometió a fermentación mediante levadura *S. cerevisiae*, la cual fermentó la glucosa presente en dicha corriente en etanol llevando a una concentración de etanol en la corriente de aproximadamente 1.7% en peso. Acá, la eficiencia de conversión de glucosa en etanol fue de aproximadamente 90% de la eficiencia máxima teórica después de aproximadamente 36 h de tiempo de fermentación. Este proceso también remueve los inhibidores de la fermentación presentes en dicha corriente ya que *S. cerevisiae* es un microbio más robusto y puede sustituir amplias variaciones en las condiciones de crecimiento y sustancias tóxicas presentes en el medio de fermentación. Este también modera estos inhibidores de modo que posteriormente otras levaduras se pueden crecer en el mismo medio. Después de la fermentación, la corriente obtenida fue sometida a destilación para obtener etanol. En un cuarto paso, esta corriente de escape de nuevo se sometió a una segunda fermentación por levadura *P. stipitis*, la cual fermentó la xilosa presente en dicha corriente en etanol llevando a una concentración de etanol en la corriente de aproximadamente 1.55 en peso. Acá, la eficiencia de conversión de xilosa en etanol fue de aproximadamente 68% de la eficiencia máxima teórica después de aproximadamente 72 h de tiempo de fermentación. Luego esta segunda corriente fermentada se sometió posteriormente a destilación para obtener etanol. Esta fermentación y destilación de dos partes suministró etanol a partir de azúcares de xilosa y glucosa en una forma más eficiente y económica que las anteriormente divulgadas. Aproximadamente 27 litros de etanol se obtuvieron de aproximadamente 108 kg de biomasa de mazorca de maíz seca.

EJEMPLO 2

En un primer paso, un lote de aproximadamente 135 kg de bagazo de caña de azúcar que tiene un total de sólidos de aproximadamente 90% en peso, celulosa de aproximadamente 35% en peso, hemicelulosas de aproximadamente 21% en peso y lignina de aproximadamente 21% en peso se utilizó como materia prima. Este se sometió a rasgadura mecánica para reducción de tamaño a partículas de menos de 40 mm que suministran aproximadamente 122 kg del material particulado. Este material particulado se empapó en agua por aproximadamente 30 min. Luego, aproximadamente 489 kg de suspensión que contiene aproximadamente 25% en peso de sólidos totales se preparó y se introdujo continuamente en un hidrolizador de tipo tornillo de cierre. Acá, la suspensión se mezcló con aproximadamente 240 litros de la mezcla de ácidos oxálico y sulfúrico. Esta mezcla de ácidos mezclados contenía aproximadamente 1% en peso de ácido oxálico y aproximadamente 1.5% en peso de ácido sulfúrico en base de peso de biomasa seca (total de 2.5% de ácido en base de peso de biomasa seca). Esta mezcla de reacción resultante luego se sometió a hidrólisis en dicho hidrolizador a una temperatura de aproximadamente 150°C y presión de aproximadamente 5 bar por un periodo de aproximadamente 24 minutos a pH de aproximadamente 1.2. Al final de este pretratamiento la suspensión final de aproximadamente 714 kg contenía aproximadamente 14.5% de sólidos totales; y aproximadamente 0.31% de glucosa, aproximadamente 3.5% de xilosa, y aproximadamente 3800 PPM de componentes fenólicos junto con celulosa sin digerir y lignina como se detectó por los métodos de HPLC. En este pretratamiento, la eficiencia de la conversión de xilosa en xilano fue de aproximadamente 85%. En una segunda etapa, este hidrolizado pretratado rico con azúcares C5 junto con sólidos C6 (celulosa + lignina) se sometió a hidrólisis enzimática por celulasas. Antes de la hidrólisis enzimática, este se neutralizó con NaOH para aumentar el pH a aproximadamente 5. Luego un coctel de celulasa comercialmente disponible (aproximadamente 30 mg/g de celulosa) se adicionó al

material pretratado y dejó digerir dichos sólidos a condiciones deseadas por aproximadamente 120 h a 52°C. Después de dicha hidrólisis enzimática, glucosa de aproximadamente 3.3% en peso se suministró en la corriente con eficiencia de hidrólisis de celulosa de aproximadamente 52%. Al final de estos tratamientos, la corriente contenía xilosa de aproximadamente 3.5% en peso y glucosa de aproximadamente 3.3% en peso. En un tercer paso, dicha corriente rica en azúcar se sometió a fermentación por levadura *S. cerevisiae*, la cual fermentó la glucosa presente en dicha corriente en etanol llevando a una concentración de etanol en la corriente de aproximadamente 1.3% en peso. Acá la eficiencia de conversión de glucosa en etanol fue de aproximadamente 90% de la eficiencia máxima teórica después de aproximadamente 36 h de tiempo de fermentación. Este proceso también remueve los inhibidores de la fermentación presentes en dicha corriente ya que *S. cerevisiae* es un microbio más robusto y puede sostener variaciones amplias en las condiciones de crecimiento y sustancias tóxicas presentes en el medio de fermentación. Esto también modera estos inhibidores de modo que posteriormente otras levaduras se pueden crecer en el mismo medio. Después de la fermentación, la corriente obtenida se sometió a destilación para obtener etanol. En un cuarto paso, esta corriente de escape de nuevo se sometió a una segunda fermentación por levadura *P. stipitis*, la cual fermentó la xilosa presente en dicha corriente en etanol llevando a una concentración de etanol en la corriente de aproximadamente 1.2% en peso. Acá, la eficiencia de conversión de xilosa en etanol fue de aproximadamente 65% de la eficiencia máxima teórica después de aproximadamente 80 h de tiempo de fermentación. Luego, esta segunda corriente fermentada se sometió adicionalmente a destilación para obtener etanol. Esta fermentación y destilación de dos partes suministró etanol a partir de azúcares de xilosa y glucosa en una forma más eficiente y económica que las divulgadas anteriormente. Aproximadamente 23 litros de etanol se obtuvieron de aproximadamente 122 kg de biomasa de bagazo de caña de azúcar.

Aunque la invención se ha mostrado y descrito de forma particular con referencia a las modalidades enunciadas en los ejemplos, se apreciará que varias de otras de las características y funciones anteriormente divulgadas, o alternativas de las mismas, se pueden combinar de forma deseable en varios otros diferentes sistemas o aplicaciones. También que varias alternativas, modificaciones, variaciones, o mejoras actualmente imprevistas y no anticipadas allí se pueden hacer posteriormente por los expertos en la materia las cuales también pretender ser abarcadas por las siguientes reivindicaciones. Aunque la invención se ha descrito con referencia a las modalidades preferidas específicas, no se pretende limitar a las mismas, por el contrario los expertos en la materia reconocerán que se pueden hacer variaciones y modificaciones allí las cuales están dentro del espíritu de la invención y dentro del alcance de las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la preparación de etanol a partir de una biomasa lignocelulósica seca que comprende:

- (a) convertir dicha biomasa en una materia particulada;
- (b) preparar una mezcla con dicha materia en agua;
- (c) poner en contacto dicha mezcla con una mezcla de ácidos a una temperatura deseada por un periodo de tiempo deseado para obtener una primera corriente;
- (d) ajustar el pH de dicha primera corriente con una base para obtener una corriente neutralizada;
- (e) poner en contacto dicha corriente neutralizada con una o más enzimas celulolíticas a temperatura deseada por un periodo de tiempo deseado para obtener una corriente final;
- (f) someter dicha corriente final a una levadura de fermentación de hexosa para obtener una primera corriente fermentada;
- (g) separar etanol de dicha primera corriente fermentada por destilación para obtener una corriente de escape;
- (h) someter dicha corriente de escape a una levadura de fermentación de pentosa para obtener una corriente fermentada final; y
- (i) separar el etanol de dicha corriente fermentada por destilación.

2. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha mezcla de ácidos comprende ácido oxálico y ácido sulfúrico.

3. El proceso de la reivindicación 1, en donde la cantidad de ácido oxálico está entre 0.1 y 5 por ciento y la cantidad de ácido sulfúrico está entre 0.1 y 5 por ciento de dicha biomasa en peso.
4. El proceso de la reivindicación 1, en donde dichas enzimas celulolíticas comprenden una o más de celulasa, una hemicelulasa o una combinación de las mismas.
5. El proceso de la reivindicación 1, en donde dichas enzimas se utilizan entre 10 mg y 100 mg por gramo de celulosa presente en dicha corriente neutralizada.
6. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha temperatura deseada para obtener dicha primera corriente está en el rango de aproximadamente 140°C a aproximadamente 210°C.
7. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicho periodo de tiempo deseado para obtener dicha primera corriente está en el rango de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 120 minutos.
8. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha temperatura deseada para obtener dicha corriente final está en el rango de aproximadamente 40°C a aproximadamente 80°C.

9. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicho periodo de tiempo deseado para obtener dicha corriente final está en el rango de aproximadamente 36 horas a aproximadamente 120 horas.
10. El proceso de la reivindicación 1, en donde el pH de dicha primera corriente se ajusta a entre aproximadamente 4 y aproximadamente 6.
11. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha primera corriente comprende azúcares de pentosa derivados de hidrólisis termo-química de parte hemicelulosa de dicha biomasa.
12. El proceso de la reivindicación 1, en donde la eficiencia de la hidrólisis de hemicelulosa es por lo menos 60 por ciento de la eficiencia teórica.
13. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha corriente final comprende azúcares de hexosa derivados de hidrólisis enzimática de parte celulosa de dicha biomasa.
14. El proceso de la reivindicación 1, en donde la eficiencia de la hidrólisis enzimática de celulosa es por lo menos 40 por ciento de la eficiencia teórica.
15. El proceso de la reivindicación 1, en donde la eficiencia de la conversión de azúcares de hexosa en etanol es por lo menos 80% de la eficiencia teórica.

16. El proceso de la reivindicación 1, en donde la eficiencia de conversión de azúcares de pentosa en etanol es de por lo menos 65% de la eficiencia teórica.
17. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha levadura de fermentación de hexosa es una *Saccharomyces sp.*
18. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha levadura de fermentación de pentosa es una *Pichia sp.*
19. Un sistema para la preparación de etanol a partir de una biomasa lignocelulósica seca que comprende:
- (a) un mecanismo mecánico para convertir dicha biomasa en una biomasa particulada;
 - (b) un tanque de remojo para remojar y lavar dicha biomasa particulada en agua;
 - (c) un digeridor para pre-tratar dicha biomasa remojada con un ácido o una mezcla de ácidos para obtener una primera corriente con azúcares de pentosa liberados de parte hemicelulosa de dicha biomasa;
 - (d) un reactor para ajustar el pH de dicha primera corriente para obtener una corriente neutralizada y simultáneamente licuar dicha corriente neutralizada con enzimas celulolíticas par obtener una corriente hidrolizada;
 - (e) una provisión en un segundo reactor para tratar dicha corriente hidrolizada con enzimas celulolíticas adicionales para obtener una corriente final con azúcares de hexosa liberados de la parte celulosa de dicha biomasa;

(f) un primer bioreactor para tratar dicha corriente final con un microorganismo que fermenta azúcares de hexosa para obtener una primera corriente fermentada;

(g) un mecanismo de destilación para recuperar etanol acuoso de dicha primera corriente fermentada para obtener una corriente de escape;

(h) un segundo bioreactor para tratar dicha corriente de escape con un microorganismo que fermenta azúcares de pentosa para obtener una corriente fermentada final;

(i) dicho mecanismo de destilación para recuperar además etanol acuoso de dicha corriente fermentada final y una corriente de desecho;

(j) un mecanismo de rectificación para convertir dicho etanol acuoso en una corriente de etanol concentrada;

(k) un mecanismo de prensa de filtro para separar agua de dicha corriente de desecho para obtener una corriente sólida como combustible del quemador; y

(l) un mecanismo de purificación para purificar dicha agua separada en agua reutilizable.

20. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho mecanismo mecánico comprende un dispositivo para cortar, picar o triturar.

21. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho tanque de remojo es para mojar y remover el material extraño de dicha biomasa particulada.

22. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho digeridor es un reactor de tipo tornillo que tiene uno o más elementos para la hidrólisis de ácido efectiva de dicha biomasa particulada.

23. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho reactor es un recipiente con provisiones para la adición de un agente neutralizador y una preparación de enzima.

24. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho primer bioreactor es un recipiente adecuado para llevar a cabo la fermentación utilizando un microorganismo fermentador de hexosa.

25. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho segundo bioreactor es un recipiente adecuado para llevar a cabo la fermentación utilizando un microorganismo fermentador de pentosa.

26. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho mecanismo de destilación es un dispositivo con uno o más elementos para la destilación efectiva de etanol de una corriente fermentada.

27. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho mecanismo de rectificación es un dispositivo con uno o más elementos para la rectificación efectiva de etanol para obtener una corriente concentrada de etanol.

28. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho mecanismo de prensa de filtro es un dispositivo para la remoción efectiva de agua de dicha corriente sólida bajo alta presión.

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(10) International Publication Number
WO 2015/019362 A8

(43) International Publication Date
12 February 2015 (12.02.2015)

- (51) International Patent Classification:
C12P 7/10 (2006.01) *C12M 1/00* (2006.01)
C12P 7/14 (2006.01)
- (21) International Application Number: PCT/IN2014/000433
- (22) International Filing Date: 27 June 2014 (27.06.2014)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
2596/MUM/2013 6 August 2013 (06.08.2013) IN
- (71) Applicant: **PRAJ INDUSTRIES LIMITED** [IN/IN];
PRAJ Tower, 274-275, Bhumkar Chowk - Hinjewadi
Road, Hinjewadi, Pune 411057 (IN).
- (72) Inventors: **SIDDHARTHA Pal**; PRAJ Industries Limited,
PRAJ Tower, 264-275, Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road,
Hinjewadi, Pune-411057 (IN). **MOHAN, Babu**; PRAJ In-
dustries Limited, PRAJ Tower, 264-275, Bhumkar Chowk-
Hinjewadi Road, Hinjewadi, Pune-411057 (IN). **ASHVINI
Monish Shete**; PRAJ Industries Limited, PRAJ Tower,
264-275, Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi,
Pune-411057 (IN). **GEETANJALI, Dattatray Moghe**;

PRAJ Industries Limited, PRAJ Tower, 264-275, Bhumkar
Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi, Pune-411057 (IN). **SATYENDRA Waman Joshi**; PRAJ Industries Limited,
PRAJ Tower, 264-275, Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road,
Hinjewadi, Pune-411057 (IN). **MOHAN Ganpat Kashid**;
PRAJ Industries Limited, PRAJ Tower, 264-275, Bhumkar
Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi, Pune-411057 (IN). **SHRIKANT Subhash Rathi**; PRAJ Industries Limited,
PRAJ Tower, 264-275, Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road,
Hinjewadi, Pune-411057 (IN). **GHANSHYAM Baburao
Deshpande**; PRAJ Industries Limited, PRAJ Tower, 264-
275, Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinjewadi, Pune-
411057 (IN). **RAVIKUMAR, Rao Pallinti**; Praj Industries
Limited, Praj Tower, 274-275, Bhumkar Chowk-Hinjewadi
Road, Hinjewadi, Pune-411057, (IN).

(74) Agent: **PARAG Kinge**; PRAJ Industries Limited, PRAJ
Tower, 264-275, Bhumkar Chowk-Hinjewadi Road, Hinje-
wadi, Pune-411057 (IN).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,

[Continued on next page]

(54) Title: PREPARATION OF ETHANOL FROM LIGNOCELLULOSIC MATERIALS

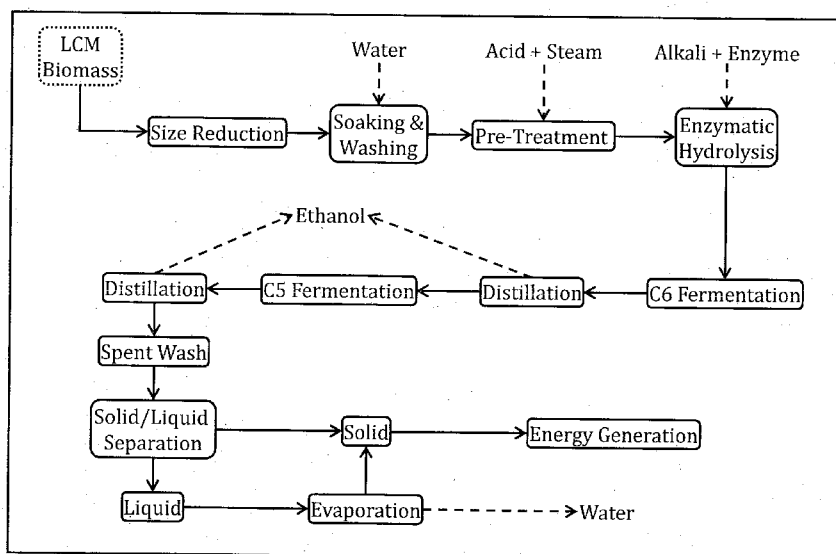


FIGURE 1

(57) Abstract: The invention relates to a process and system for the preparation of ethanol from lignocellulosic materials and more particularly from lignocellulosic materials like corncob, corn stover, sugarcane/ beet bagasse or any other lignocellulosic materials.

PREPARACIÓN DE ETANOL A PARTIR DE MATERIALES

LIGNOCELULÓSICOS

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La invención se relaciona con un proceso y sistema para la preparación de etanol a partir de materiales lignocelulósicos y más particularmente a partir de materiales lignocelulósicos como mazorca de maíz, rastrojo de maíz, bagazo de caña de azúcar/remolacha o cualquier otro material lignocelulósico.

ANTECEDENTES

Debido a las futuras limitaciones en la disponibilidad de combustibles fósiles particularmente de petróleo crudo, varios gobiernos nacionales están promoviendo el uso de combustibles alternos tales como etanol en vehículos de motor. El etanol es un combustible de vehículos de motor principal en Brasil y es utilizado a una gran escala en otros países como los Estados Unidos y Europa; mientras que en India se ha promovido significativamente desde los últimos pocos años. Sin embargo, la preparación de combustible de etanol es principalmente hecha a partir de cultivos de alimentos como maíz, caña de azúcar o remolacha, causando principales problemas sociales y económicos del uso de estos materiales alimenticios para aplicaciones no alimenticias. Por lo tanto, los gobiernos están promoviendo el uso de materias primas no alimenticias como materiales lignocelulósicos para la preparación de combustible de etanol a grandes escalas para cumplir con las demandas en aumentos para las fuentes de energía renovable.

Los materiales lignocelulósicos (LCM) de la industria agrícola son sub-productos de desecho. Este es principalmente utilizado de forma ineficiente como una fuente de energía o alimento para animales; sin embargo una gran parte se desperdicia

como tal sin ningún uso. El LCM es una estructura compleja de celulosa, hemicelulosa y lignina que forma un compuesto el cual dependiendo de su fuente es diferencialmente resistente a hidrólisis en comparación con otros materiales a base de carbohidrato como el almidón. El LCM forma componentes estructurales de plantas y tiene una composición variante con base en su ubicación en huésped o tipo del huésped. En el estado del arte hay varios métodos actuales de hidrólisis química y térmica de LCM utilizando agua a alta temperatura, ácido, álcali y otros químicos. Estos tratamientos son realizados para lograr la degradación efectiva del LCM en azúcares fermentables como xilosa y glucosa. Estos azúcares en fermentación por levaduras llevan a etanol que es utilizado en varias aplicaciones incluyendo como un aditivo de combustible.

La biomasa de LCM se refiere a biomasa de planta que está compuesta de celulosa, hemicelulosa, y lignina. Esta biomasa viene en varios diferentes tipos tal como madera, residuos de madera, desechos municipales, residuos agrícolas y cultivos de energía como pastos de madera y de crecimiento rápido y alto. En todas estas categorías, los polímeros de carbohidrato (celulosa y hemicelulosas) se unen de forma estrecha con la lignina por uniones de hidrógeno y covalentes que forman las estructuras fuertes de LCM. Una barrera para la producción de etanol a partir de LCM es que una gran fracción de los azúcares necesarios para la fermentación se presentan en la forma de lignocelulosas. El LCM ha evolucionado para soportar la degradación y para conferir estabilidad hidrolítica y robustez estructural a las paredes celulares de las plantas. Esta “obstinación” es atribuible a los enlaces cruzados entre los polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) y la lignina por medio de uniones de éster y éter creando así un material que es físicamente duro de acceder. Esto significa que para un uso eficiente de estos componentes, dicho LCM se debe desintegrar, separar y/o descristalizar.

Aunque hay varios métodos de hidrólisis de LCM conocidos, sin embargo, existe una necesidad por encontrar métodos más efectivos y económicos para el tratamiento de LCM en condiciones más benignas y económicas ya que el etanol es un producto de comodidad y los precios son muy competitivos. Además, durante el tratamiento de LCM utilizando tratamiento químico y térmico varios inhibidores del proceso de fermentación se producen que llevan a una reducción marcada de las eficiencias de los organismos de fermentación ya que estos inhibidores son tóxicos a estos microbios. Estos inhibidores son principalmente fenólicos, ciertos ácidos orgánicos y otros orgánicos producidos a partir de componentes de LCM durante el tratamiento de hidrólisis.

Por lo tanto, el control del tratamiento de hidrólisis de LCM (también denominado pretratamiento) es un paso principal en el procesamiento de LCM para la preparación de etanol. En el estado del arte, los métodos actuales de pretratamiento utilizan ácidos, álcalis u otros químicos como amonio a altas temperaturas para hidrolizar la parte hemicelulosa del azúcar de xilosa que libera LCM en el primer paso. Luego, la parte restante rica en celulosa se somete a hidrólisis enzimática o química para liberar azúcar de glucosa y la parte restante rica en lignina se quema para generar energía. Estos dos azúcares luego se fermentan para hacer etanol o se utilizan para preparar otros químicos a base bio. Sin embargo, se presentan dos problemas importantes con dicho tratamiento: 1) el calentamiento puede sólo ser corto, ya que de otra forma se forman demasiados sub-productos indeseados a partir de los carbohidratos; y 2) es difícil producir una suspensión de biomasa con más de 30% de sólidos por peso, lo cual es necesario para un uso económico en el procesamiento posterior.

La invención acá divulgada aborda varios problemas de los métodos anteriores tal como: 1) alta concentración de inhibidores en los hidrolizados; 2) baja eficiencia de

la hidrólisis de LCM en condiciones benignas y 3) baja eficiencia de conversión de azúcares derivados de LCM en etanol en el proceso de fermentación. Para tal fin, se divulga un método novedoso que tiene ventajas como: 1) bajo nivel de inhibidores que no limitan el crecimiento de microbios, 2) más condiciones de procesamiento benignas y económicas de LCM y 3) mayor eficiencia de conversión de azúcares en etanol en un novedoso proceso de fermentación de dos pasos.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Estas y otras características, aspectos, y ventajas de la presente invención serán mejor entendidas cuando se lea la siguiente descripción detallada con referencia a las figuras adjuntas, en donde:

FIGURA 1 ilustra un diagrama de bloques del flujo de masa durante la producción de etanol a partir de un LCM. Los diferentes elementos del proceso se identifican y el movimiento direccional de diferentes aditivos y corrientes formadas durante el proceso se muestran para describir las características de una modalidad de la presente invención.

FIGURA 2 es un plano ejemplar de la invención que muestra varias características que controlan el proceso de producción de etanol a partir de una material primera lignocelulósica. Todo el sistema se puede dividir en cinco unidades, principalmente: 1) unidad de hidrólisis ('A'), 2) unidad de hidrólisis enzimática y fermentación C6 (azúcar hexosa) ('B'), 3) unidad de destilación y recuperación de etanol ('C'), 4) unidad de fermentación C5 (azúcar pentosa) ('D'), y 5) unidad de evaporación ('E'). En una modalidad de la presente invención, dicha unidad de destilación y recuperación de etanol es utilizada para recuperar etanol a partir del lavado de C6 fermentado así como el lavado de C5 fermentado que lleva a la

recuperación del etanol hecho a partir de azúcares de glucosa y xilosa. Un experto en la materia puede apreciar variaciones del sistema para lograr la conversión de azúcares en etanol como se divulga acá.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En una modalidad de la invención divulgada como se ilustra en la FIGURA 1 para producir etanol a partir de biomasa de LCM, dicha biomasa como mazorca de maíz, bagazo, rastrojo u otro material agrícola similar se reduce en tamaño a una materia particulada. Esta materia particulada de aproximadamente 40 mm de tamaño luego se moja y se lava en agua para remover cualquier suelo u otro agente contaminante. Luego, dicha biomasa empapada es pretratada en la presencia de uno o más ácidos (inorgánicos u orgánicos) a cierta alta presión y temperatura provista por una corriente a alta presión como fuente de energía y de agua. Al llevar a cabo dicho proceso de pretratamiento por el periodo de tiempo deseado a condiciones deseadas, se obtiene una corriente hidrolizada de LCM, la cual posteriormente se somete a un proceso de neutralización e hidrólisis enzimática. El pretratamiento sobre dicho LCM libera xilosa de la parte hemicelulósica, mientras que las fibras de celulosa cristalina se sueltan de modo que se pueden tratar posteriormente con enzimas celulósicas. Dicha corriente hidrolizada primer se neutraliza con un álcali como NaOH o CaOH para aumentar el pH a aproximadamente 6 y luego se adicionan una o más celulasas, y se permite la reacción por varias horas a condiciones deseadas. Este paso libera glucosa de las fibras de celulosa que llevan a aumentar sustancialmente la glucosa en la primera corriente formada. Dicha corriente luego se somete a una levadura fermentadora de hexosa como una *Saccharomyces* sp. que lleva a la conversión de dicha hexosa en etanol que forma una primera corriente fermentada. Esta corriente contiene etanol producido de dicha glucosa presente en dicha primera corriente. Luego, dicha primera corriente fermentada se somete a

una primera destilación para separar el etanol acuoso lo que lleva a la formación de una corriente de escape. El etanol acuoso obtenido así luego se procesa para obtener etanol anhidro u otros productos de etanol. Luego, dicha corriente de escape se recolecta y bajo ciertas condiciones deseadas se somete a una segunda fermentación por medio de una levadura fermentadora de pentosa como *Pichia* sp, lo que lleva a la conversión de la xilosa presente en ésta en etanol que forma una corriente fermentada final. Esta corriente fermentada final se somete a una segunda destilación para separar el etanol acuoso, el cual luego se procesa para obtener etanol anhidro u otros productos de etanol. Una corriente de lavado de escape obtenida al final de este proceso luego se somete a separación de sólido-líquido utilizando un dispositivo similar a una prensa de filtro para remover los sólidos (los cuales son principalmente lignina) del agua de desecho. Estos sólidos se queman en un quemador para generar energía que posteriormente se utiliza para correr dicho sistema descrito acá. El agua de desecho se somete a evaporación y tratamiento posterior para obtener agua de proceso para reciclaje/reúso en dicho sistema. De nuevo los sólidos obtenidos en dicho paso de evaporación se queman en dicho quemador.

En una modalidad adicional de la invención divulgada como se ilustra en la FIGURA 2, los pasos de dicho proceso son: 1) la materia prima (30) que comprende mazorca de maíz reducida en tamaño y lavada o material particulado de bagazo es pretratado en una unidad de hidrólisis ('A'). Antes de esto un tanque de lavado se utiliza para humedecer y remover los materiales extraños de dicha biomasa particulada. La biomasa de LCM se reduce en tamaño utilizando un mecanismo mecánico que comprende un dispositivo para cortar, picar o triturar. Luego, un hidrolizador de tipo de tornillo de cierre (1) se alimenta con dicha corriente de materia prima (30); en dicho hidrolizador dicha materia prima es tratada con vapor a alta presión (21) a aproximadamente 140 a 210°C en la

presencia de uno o más ácidos suministrados desde un tanque (2). En dicho hidrolizador debido a las acciones de la alta temperatura y la presión así como los ácidos, la hemicelulosa presente en LCM es hidrolizada llevando a la liberación de xilosa en una corriente hidrolizada (26). Esta corriente hidrolizada (26) se dirige a un tanque de expansión (3) para remover el exceso de agua de ésta, la cual se condensa mediante un condensador (13) y se reutiliza en el proceso. La corriente hidrolizada (31) obtenida de dicho tanque de expansión (3) que comprende la mayoría de sólidos en la forma de celulosa y lignina y xilosa soluble, es dirigida a un reactor o tanque de digestión (5) el cual tiene provisiones para el suministro de un álcali y enzimas celulolíticas en la unidad ('B'). En dicho reactor (5) dicha corriente hidrolizada (31) es neutralizada con la adición de una solución álcali adecuada para aumentar el pH para hacerla más adecuada para las acciones de las enzimas de hidrolización. Después de la neutralización, dicha corriente rica en celulosa es hidrolizada por la acción de celulasas por un periodo de tiempo deseado llevando a la formación de una primera corriente (32). Esta primera corriente (32) luego se somete a una primera fermentación en un fermentador o biorreactor (6) mediante una levadura fermentadora de azúcar de hexosa como *S. cerevisiae* llevando a la producción de etanol a partir de la glucosa presente en dicha corriente y la formación de una primera corriente fermentada (33). Esta corriente (33) se somete a la unidad de destilación y recuperación de etanol (7, 'C'), en donde el etanol es recuperado y una corriente gastada (34) rica en azúcar de xilosa se somete a una segunda fermentación mediante una levadura fermentadora de pentosa como *P. stipitis* en un segundo fermentador o biorreactor (8, 'D') llevando a la producción de etanol a partir de la xilosa presente en dicha corriente y la formación de una corriente fermentada final (35). Esta corriente (35) se somete a la unidad de destilación y recuperación de etanol (7, 'C'), en donde el etanol es recuperado y se forma una corriente de desecho (36). Los vapores de alcohol (41) de dicha unidad ('C') se condensan (42) en un evaporador (10) y se

dirigen de regreso a dicha unidad para rectificación para obtener una corriente de alcohol anhidro (43). Dicha unidad de destilación y recuperación de etanol ('C') comprende varios elementos que eficientemente destilan etanol de las corrientes (33) y (35) que contienen tan bajo como 1% de etanol por peso y simultáneamente rectifica dicha corriente (42) a una corriente de etanol más concentrado (43). Dicha corriente de desecho (36) con sólidos que comprenden lignina se somete a una presa de filtro (9) para remover el agua de desecho (37) de dichos sólidos (44). Los sólidos (44) se queman en un quemador (14) para generar energía, mientras que el agua de desecho (37) se envía a un tanque de expansión (11) para remover los vapores (38) que se condensan en un condensador (12) para formar una corriente de agua de proceso (39). La corriente líquida del tanque de expansión (11) se evapora en el evaporador para recuperar el agua (38), mientras que los sólidos (40) restantes se someten a incineración en dicho quemador (14). Una bomba de vacío (51) mantiene una presión negativa en dicho sistema para la operación efectiva de diferentes unidades del aparato.

Los ejemplos mostrados a continuación dan una utilidad más amplia de la invención sin ninguna limitación con relación a las variaciones que se pueden apreciar por un experto en la materia. Un resumen no limitante de varios resultados experimentales se suministra en los ejemplos, lo cual demuestra los aspectos ventajosos y novedosos del proceso de utilización de LCM para la preparación de etanol.

EJEMPLO 1

En un primer paso, un lote de aproximadamente 118 kg de mazorcas de maíz tiene un total de sólidos de aproximadamente 92% en peso, celulosa de aproximadamente 33% en peso, hemicelulosas de aproximadamente 27% en peso y lignina de aproximadamente 13% en peso se utilizó como materia prima. Esta se

sometió a rasgado mecánico para reducción de tamaño a partículas de menos de 40 mm que abarcan aproximadamente 108 kg del material particulado. Este material particulado se empapó en agua por aproximadamente 30 min. Luego aproximadamente 360 kg de suspensión (también denominada mezcla) que contiene aproximadamente 30% en peso de sólidos totales se preparó y se introdujo continuamente en un hidrolizador de tipo tornillo de cierre. Acá, la suspensión se mezcló con aproximadamente 240 litros de la mezcla de ácidos oxálico y sulfúrico. Esta mezcla de ácidos contenía aproximadamente 1% en peso de ácido oxálico y aproximadamente 2% en peso de ácido sulfúrico en base de peso de biomasa seca (total de 3% de ácido con base en el peso de biomasa seca). La mezcla de reacción resultante luego se sometió a hidrólisis en dicho hidrolizador a una temperatura de aproximadamente 160°C y presión de aproximadamente 6 bar (absoluta) por un periodo de aproximadamente 24 minutos a pH de aproximadamente 1.3. Al final de este pretratamiento la suspensión final de aproximadamente 700 kg contenía aproximadamente 13% de sólidos totales; y aproximadamente 0.29% de glucosa, aproximadamente 4% de xilosa, aproximadamente 0.01% de furfural, aproximadamente 0.03% de HMF y aproximadamente 3800 PPM de componentes fenólicos junto con celulosa sin digerir y lignina como se detectó por métodos de HPLC. En este pretratamiento, la eficiencia de la conversión de xilano a xilosa fue aproximadamente 86%. En el segundo paso, este hidrolizado pretratado rico con azúcares C5 junto con sólidos C6 (celulosa + lignina) se sometió a hidrólisis enzimática por celulasas. Antes de la hidrólisis enzimática, se neutralizó con NaOH para aumentar el pH a aproximadamente 5. Luego, un coctel de celulasa disponible comercialmente (aproximadamente 20 mg/g de celulosa) se adicionó al material pretratado y se dejó digerir dichos sólidos a condiciones deseadas por aproximadamente 120 h a 52°C. Después de dicha hidrólisis enzimática, glucosa de aproximadamente 3.95% en peso fue suministrada en la corriente con eficiencia de hidrólisis de celulosa de

aproximadamente 72%. Al final de estos tratamientos, la corriente contenía xilosa de aproximadamente 4% en peso y glucosa de aproximadamente 3.95% en peso. En el tercer paso, dicha corriente rica en azúcar se sometió a fermentación mediante levadura *S. cerevisiae*, la cual fermentó la glucosa presente en dicha corriente en etanol llevando a una concentración de etanol en la corriente de aproximadamente 1.7% en peso. Acá, la eficiencia de conversión de glucosa en etanol fue de aproximadamente 90% de la eficiencia máxima teórica después de aproximadamente 36 h de tiempo de fermentación. Este proceso también remueve los inhibidores de la fermentación presentes en dicha corriente ya que *S. cerevisiae* es un microbio más robusto y puede sustituir amplias variaciones en las condiciones de crecimiento y sustancias tóxicas presentes en el medio de fermentación. Este también modera estos inhibidores de modo que posteriormente otras levaduras se pueden crecer en el mismo medio. Después de la fermentación, la corriente obtenida fue sometida a destilación para obtener etanol. En un cuarto paso, esta corriente de escape de nuevo se sometió a una segunda fermentación por levadura *P. stipitis*, la cual fermentó la xilosa presente en dicha corriente en etanol llevando a una concentración de etanol en la corriente de aproximadamente 1.55 en peso. Acá, la eficiencia de conversión de xilosa en etanol fue de aproximadamente 68% de la eficiencia máxima teórica después de aproximadamente 72 h de tiempo de fermentación. Luego esta segunda corriente fermentada se sometió posteriormente a destilación para obtener etanol. Esta fermentación y destilación de dos partes suministró etanol a partir de azúcares de xilosa y glucosa en una forma más eficiente y económica que las anteriormente divulgadas. Aproximadamente 27 litros de etanol se obtuvieron de aproximadamente 108 kg de biomasa de mazorca de maíz seca.

EJEMPLO 2

En un primer paso, un lote de aproximadamente 135 kg de bagazo de caña de azúcar que tiene un total de sólidos de aproximadamente 90% en peso, celulosa de aproximadamente 35% en peso, hemicelulosas de aproximadamente 21% en peso y lignina de aproximadamente 21% en peso se utilizó como materia prima. Este se sometió a rasgadura mecánica para reducción de tamaño a partículas de menos de 40 mm que suministran aproximadamente 122 kg del material particulado. Este material particulado se empapó en agua por aproximadamente 30 min. Luego, aproximadamente 489 kg de suspensión que contiene aproximadamente 25% en peso de sólidos totales se preparó y se introdujo continuamente en un hidrolizador de tipo tornillo de cierre. Acá, la suspensión se mezcló con aproximadamente 240 litros de la mezcla de ácidos oxálico y sulfúrico. Esta mezcla de ácidos mezclados contenía aproximadamente 1% en peso de ácido oxálico y aproximadamente 1.5% en peso de ácido sulfúrico en base de peso de biomasa seca (total de 2.5% de ácido en base de peso de biomasa seca). Esta mezcla de reacción resultante luego se sometió a hidrólisis en dicho hidrolizador a una temperatura de aproximadamente 150°C y presión de aproximadamente 5 bar por un periodo de aproximadamente 24 minutos a pH de aproximadamente 1.2. Al final de este pretratamiento la suspensión final de aproximadamente 714 kg contenía aproximadamente 14.5% de sólidos totales; y aproximadamente 0.31% de glucosa, aproximadamente 3.5% de xilosa, y aproximadamente 3800 PPM de componentes fenólicos junto con celulosa sin digerir y lignina como se detectó por los métodos de HPLC. En este pretratamiento, la eficiencia de la conversión de xilosa en xilano fue de aproximadamente 85%. En una segunda etapa, este hidrolizado pretratado rico con azúcares C5 junto con sólidos C6 (celulosa + lignina) se sometió a hidrólisis enzimática por celulasas. Antes de la hidrólisis enzimática, este se neutralizó con NaOH para aumentar el pH a aproximadamente 5. Luego un coctel de celulasa comercialmente disponible (aproximadamente 30 mg/g de celulosa) se adicionó al

material pretratado y dejó digerir dichos sólidos a condiciones deseadas por aproximadamente 120 h a 52°C. Después de dicha hidrólisis enzimática, glucosa de aproximadamente 3.3% en peso se suministró en la corriente con eficiencia de hidrólisis de celulosa de aproximadamente 52%. Al final de estos tratamientos, la corriente contenía xilosa de aproximadamente 3.5% en peso y glucosa de aproximadamente 3.3% en peso. En un tercer paso, dicha corriente rica en azúcar se sometió a fermentación por levadura *S. cerevisiae*, la cual fermentó la glucosa presente en dicha corriente en etanol llevando a una concentración de etanol en la corriente de aproximadamente 1.3% en peso. Acá la eficiencia de conversión de glucosa en etanol fue de aproximadamente 90% de la eficiencia máxima teórica después de aproximadamente 36 h de tiempo de fermentación. Este proceso también remueve los inhibidores de la fermentación presentes en dicha corriente ya que *S. cerevisiae* es un microbio más robusto y puede sostener variaciones amplias en las condiciones de crecimiento y sustancias tóxicas presentes en el medio de fermentación. Esto también modera estos inhibidores de modo que posteriormente otras levaduras se pueden crecer en el mismo medio. Después de la fermentación, la corriente obtenida se sometió a destilación para obtener etanol. En un cuarto paso, esta corriente de escape de nuevo se sometió a una segunda fermentación por levadura *P. stipitis*, la cual fermentó la xilosa presente en dicha corriente en etanol llevando a una concentración de etanol en la corriente de aproximadamente 1.2% en peso. Acá, la eficiencia de conversión de xilosa en etanol fue de aproximadamente 65% de la eficiencia máxima teórica después de aproximadamente 80 h de tiempo de fermentación. Luego, esta segunda corriente fermentada se sometió adicionalmente a destilación para obtener etanol. Esta fermentación y destilación de dos partes suministró etanol a partir de azúcares de xilosa y glucosa en una forma más eficiente y económica que las divulgadas anteriormente. Aproximadamente 23 litros de etanol se obtuvieron de aproximadamente 122 kg de biomasa de bagazo de caña de azúcar.

Aunque la invención se ha mostrado y descrito de forma particular con referencia a las modalidades enunciadas en los ejemplos, se apreciará que varias de otras de las características y funciones anteriormente divulgadas, o alternativas de las mismas, se pueden combinar de forma deseable en varios otros diferentes sistemas o aplicaciones. También que varias alternativas, modificaciones, variaciones, o mejoras actualmente imprevistas y no anticipadas allí se pueden hacer posteriormente por los expertos en la materia las cuales también pretender ser abarcadas por las siguientes reivindicaciones. Aunque la invención se ha descrito con referencia a las modalidades preferidas específicas, no se pretende limitar a las mismas, por el contrario los expertos en la materia reconocerán que se pueden hacer variaciones y modificaciones allí las cuales están dentro del espíritu de la invención y dentro del alcance de las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la preparación de etanol a partir de una biomasa lignocelulósica seca que comprende:

- (a) convertir dicha biomasa en una materia particulada;
- (b) preparar una mezcla con dicha materia en agua;
- (c) poner en contacto dicha mezcla con una mezcla de ácidos a una temperatura deseada por un periodo de tiempo deseado para obtener una primera corriente;
- (d) ajustar el pH de dicha primera corriente con una base para obtener una corriente neutralizada;
- (e) poner en contacto dicha corriente neutralizada con una o más enzimas celulolíticas a temperatura deseada por un periodo de tiempo deseado para obtener una corriente final;
- (f) someter dicha corriente final a una levadura de fermentación de hexosa para obtener una primera corriente fermentada;
- (g) separar etanol de dicha primera corriente fermentada por destilación para obtener una corriente de escape;
- (h) someter dicha corriente de escape a una levadura de fermentación de pentosa para obtener una corriente fermentada final; y
- (i) separar el etanol de dicha corriente fermentada por destilación.

2. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha mezcla de ácidos comprende ácido oxálico y ácido sulfúrico.

3. El proceso de la reivindicación 1, en donde la cantidad de ácido oxálico está entre 0.1 y 5 por ciento y la cantidad de ácido sulfúrico está entre 0.1 y 5 por ciento de dicha biomasa en peso.

4. El proceso de la reivindicación 1, en donde dichas enzimas celulolíticas comprenden una o más de celulasa, una hemicelulasa o una combinación de las mismas.
5. El proceso de la reivindicación 1, en donde dichas enzimas se utilizan entre 10 mg y 100 mg por gramo de celulosa presente en dicha corriente neutralizada.
6. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha temperatura deseada para obtener dicha primera corriente está en el rango de aproximadamente 140°C a aproximadamente 210°C.
7. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicho periodo de tiempo deseado para obtener dicha primera corriente está en el rango de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 120 minutos.
8. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha temperatura deseada para obtener dicha corriente final está en el rango de aproximadamente 40°C a aproximadamente 80°C.
9. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicho periodo de tiempo deseado para obtener dicha corriente final está en el rango de aproximadamente 36 horas a aproximadamente 120 horas.
10. El proceso de la reivindicación 1, en donde el pH de dicha primera corriente se ajusta a entre aproximadamente 4 y aproximadamente 6.

11. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha primera corriente comprende azúcares de pentosa derivados de hidrólisis termo-química de parte hemicelulosa de dicha biomasa.
12. El proceso de la reivindicación 1, en donde la eficiencia de la hidrólisis de hemicelulosa es por lo menos 60 por ciento de la eficiencia teórica.
13. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha corriente final comprende azúcares de hexosa derivados de hidrólisis enzimática de parte celulosa de dicha biomasa.
14. El proceso de la reivindicación 1, en donde la eficiencia de la hidrólisis enzimática de celulosa es por lo menos 40 por ciento de la eficiencia teórica.
15. El proceso de la reivindicación 1, en donde la eficiencia de la conversión de azúcares de hexosa en etanol es por lo menos 80% de la eficiencia teórica.
16. El proceso de la reivindicación 1, en donde la eficiencia de conversión de azúcares de pentosa en etanol es de por lo menos 65% de la eficiencia teórica.
17. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha levadura de fermentación de hexosa es una *Saccharomyces sp.*
18. El proceso de la reivindicación 1, en donde dicha levadura de fermentación de pentosa es una *Pichia sp.*
19. Un sistema para la preparación de etanol a partir de una biomasa lignocelulósica seca que comprende:

- (a) un mecanismo mecánico para convertir dicha biomasa en una biomasa particulada;
- (b) un tanque de remojo para remojar y lavar dicha biomasa particulada en agua;
- (c) un digeridor para pre-tratar dicha biomasa remojada con un ácido o una mezcla de ácidos para obtener una primera corriente con azúcares de pentosa liberados de parte hemicelulosa de dicha biomasa;
- (d) un reactor para ajustar el pH de dicha primera corriente para obtener una corriente neutralizada y simultáneamente licuar dicha corriente neutralizada con enzimas celulolíticas par obtener una corriente hidrolizada;
- (e) una provisión en un segundo reactor para tratar dicha corriente hidrolizada con enzimas celulolíticas adicionales para obtener una corriente final con azúcares de hexosa liberados de la parte celulosa de dicha biomasa;
- (f) un primer bioreactor para tratar dicha corriente final con un microorganismo que fermenta azúcares de hexosa para obtener una primera corriente fermentada;
- (g) un mecanismo de destilación para recuperar etanol acuoso de dicha primera corriente fermentada para obtener una corriente de escape;
- (h) un segundo bioreactor para tratar dicha corriente de escape con un microorganismo que fermenta azúcares de pentosa para obtener una corriente fermentada final;
- (i) dicho mecanismo de destilación para recuperar además etanol acuoso de dicha corriente fermentada final y una corriente de desecho;
- (j) un mecanismo de rectificación para convertir dicho etanol acuoso en una corriente de etanol concentrada;
- (k) un mecanismo de prensa de filtro para separar aguar de dicha corriente de desecho para obtener una corriente sólida como combustible del quemador; y

(l) un mecanismo de purificación para purificar dicha agua separada en agua reutilizable.

20. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho mecanismo mecánico comprende un dispositivo para cortar, picar o triturar.

21. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho tanque de remojo es para mojar y remover el material extraño de dicha biomasa particulada.

22. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho digeridor es un reactor de tipo tornillo que tiene uno o más elementos para la hidrólisis de ácido efectiva de dicha biomasa particulada.

23. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho reactor es un recipiente con provisiones para la adición de un agente neutralizador y una preparación de enzima.

24. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho primer bioreactor es un recipiente adecuado para llevar a cabo la fermentación utilizando un microorganismo fermentador de hexosa.

25. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho segundo bioreactor es un recipiente adecuado para llevar a cabo la fermentación utilizando un microorganismo fermentador de pentosa.

26. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho mecanismo de destilación es un dispositivo con uno o más elementos para la destilación efectiva de etanol de una corriente fermentada.

27. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho mecanismo de rectificación es un dispositivo con uno o más elementos para la rectificación efectiva de etanol para obtener una corriente concentrada de etanol.

28. El sistema de la reivindicación 19, en donde dicho mecanismo de prensa de filtro es un dispositivo para la remoción efectiva de agua de dicha corriente sólida bajo alta presión.

RESUMEN

La invención se relaciona con un proceso y sistema para la preparación de etanol a partir de materiales lignocelulósicos y más particularmente a partir de materiales lignocelulósicos como mazorca de maíz, rastrojo de maíz, bagazo de caña de azúcar/remolacha o cualquier otro material lignocelulósico.

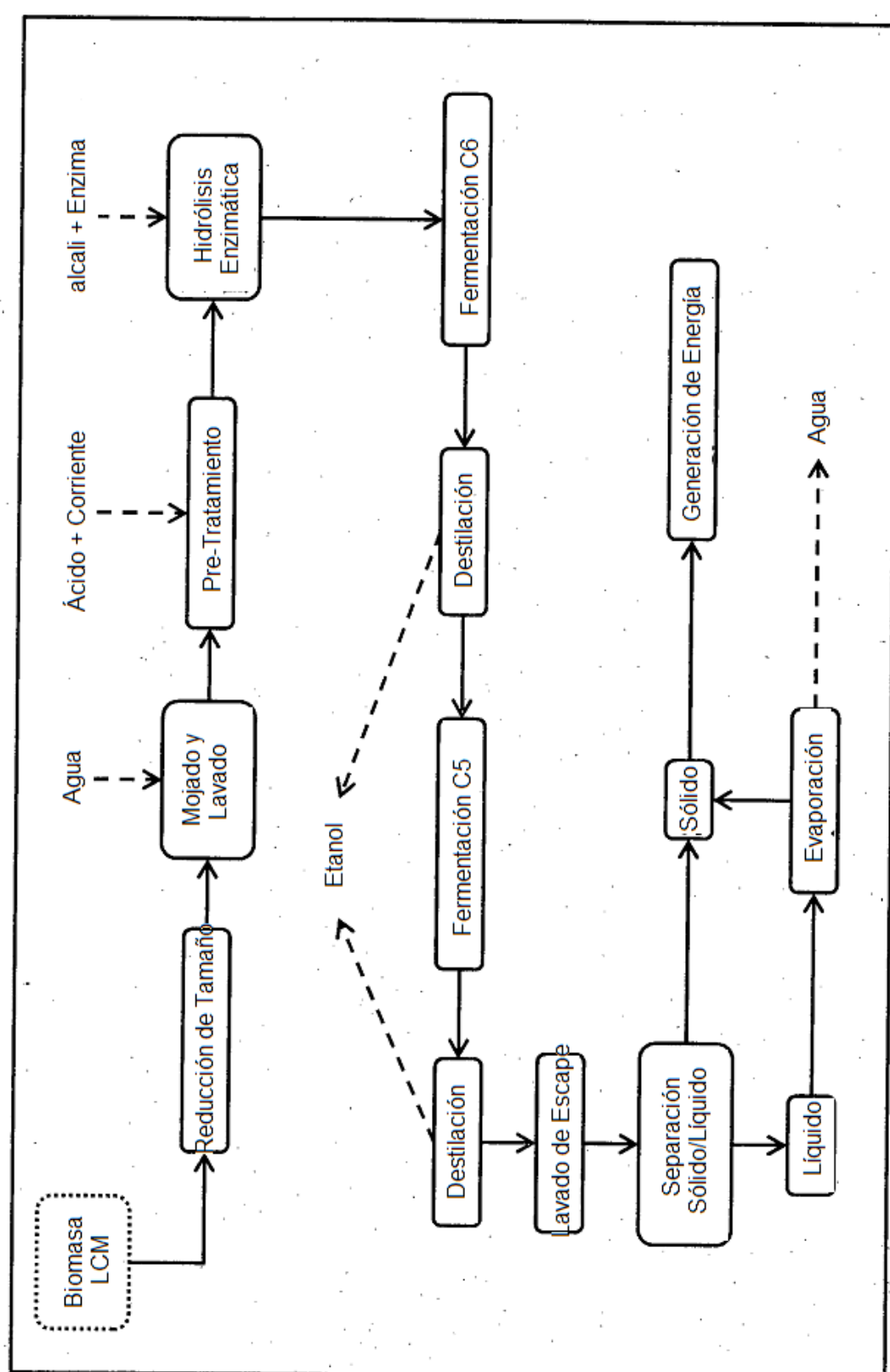


FIG 1

RESUMEN

La invención se relaciona con un proceso y sistema para la preparación de etanol a partir de materiales lignocelulósicos y más particularmente a partir de materiales lignocelulósicos como mazorca de maíz, rastrojo de maíz, bagazo de caña de azúcar/remolacha o cualquier otro material lignocelulósico.

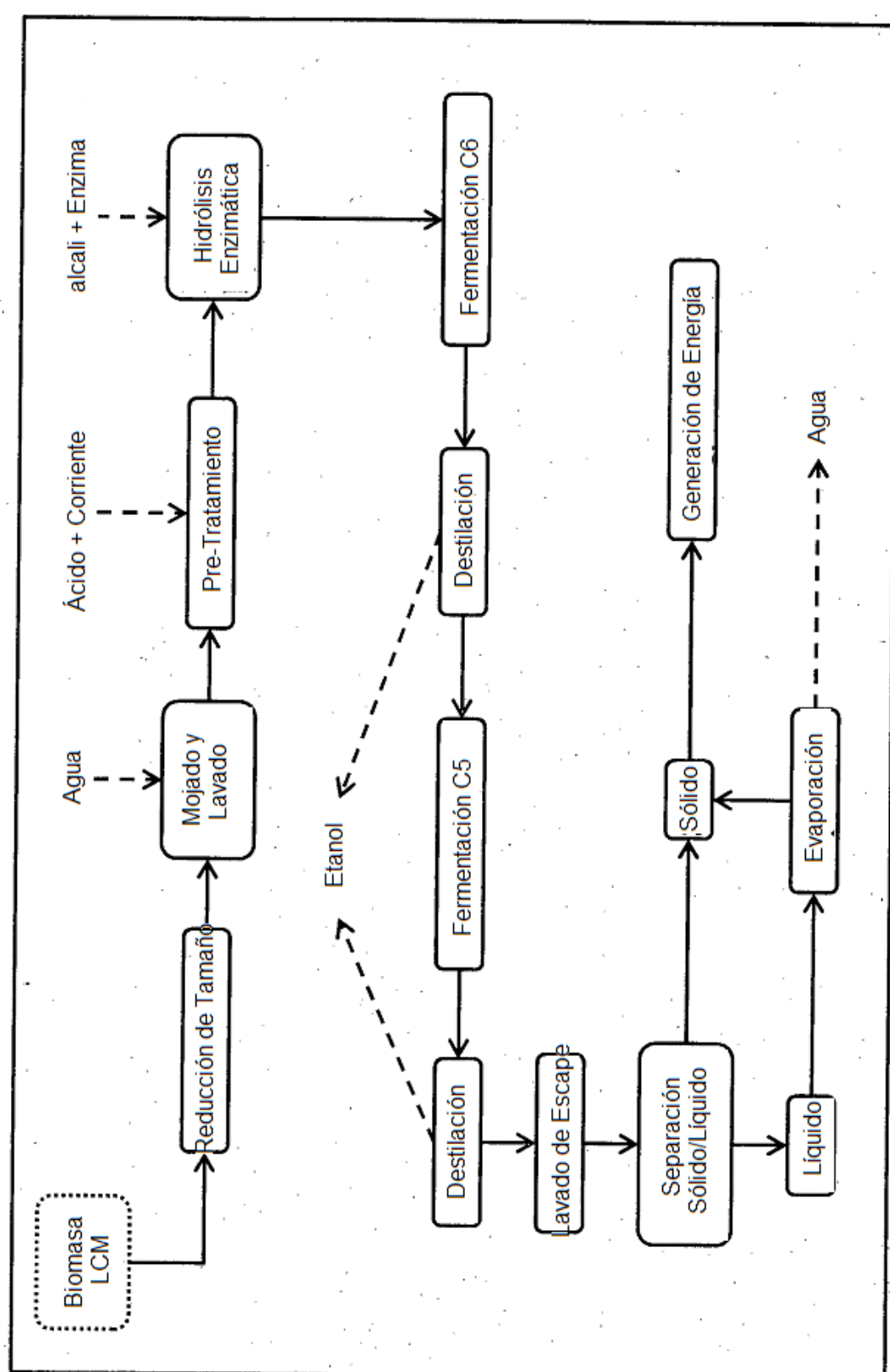


FIG 1