

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 409 855**

51 Int. Cl.:

**C12P 7/64**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2009 E 09765048 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2013 EP 2358890**

54 Título: **Procedimiento de producción de bioaceite a partir de biomasa**

30 Prioridad:

**18.12.2008 IT MI20082249**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**28.06.2013**

73 Titular/es:

**ENI S.P.A. (100.0%)  
Piazzale E. Mattei 1  
00144 Rome, IT**

72 Inventor/es:

**BIANCHI, DANIELE;  
ROMANO, ANNA MARIA;  
FRANZOSI, GIULIANA y  
BOSETTI, ALDO**

74 Agente/Representante:

**MIR PLAJA, Mireia**

**ES 2 409 855 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento de producción de bioaceite a partir de biomasa

- 5 **[0001]** La presente invención se refiere a un procedimiento de producción de bioaceite a partir de biomasa que incluye al menos un polisacárido.
- 10 **[0002]** Más específicamente, la presente invención se refiere a un procedimiento de producción de bioaceite a partir de biomasa que incluye al menos un polisacárido, comprendiendo dicho procedimiento los pasos de someter a dicha biomasa a hidrólisis ácida, someter a la mezcla obtenida de dicha hidrólisis ácida a hidrólisis enzimática, someter a los azúcares obtenidos de dichas hidrólisis ácida y enzimática a fermentación en presencia de al menos una levadura oleaginosa, y someter a tratamiento térmico a la suspensión acuosa que comprende células de dicha levadura oleaginosa y que ha sido obtenida de dicha fermentación.
- 15 **[0003]** El bioaceite así obtenido puede ser ventajosamente usado en la producción de biocarburantes que pueden usarse tal cual, o bien en una mezcla con otros carburantes, para vehículos automóviles. O bien dicho bioaceite puede usarse tal cual (biocombustible), o en una mezcla con combustibles fósiles (aceite combustible, lignito, etc.) para la generación de energía eléctrica.
- 20 **[0004]** Hablando en general, una biomasa es toda sustancia que tenga una matriz orgánica, vegetal o animal y pueda destinarse a finalidades energéticas, tal como por ejemplo como materia prima para la producción de biocarburantes y/o biocombustibles, o como componentes que puedan ser añadidos a carburantes y/o combustibles. La biomasa puede por consiguiente formar una fuente de energía renovable como alternativa a las tradicionales materias primas de origen fósil que normalmente se usan en la producción de carburantes. Con esta finalidad es particularmente útil la biomasa lignocelulósica.
- 25 **[0005]** Es conocida en la técnica la producción de azúcares a partir de biomasa, y en particular a partir de biomasa lignocelulósica.
- 30 **[0006]** La biomasa lignocelulósica es una estructura compleja que comprende tres componentes principales: celulosa, hemicelulosa y lignina. Sus cantidades relativas varían según el tipo de biomasa lignocelulósica que se use. En el caso de las plantas, por ejemplo, dichas cantidades varían según la especie y la edad de la planta.
- 35 **[0007]** La celulosa es el mayor constituyente de la biomasa lignocelulósica y está generalmente presente en cantidades que van desde un 30% en peso hasta un 60% en peso con respecto al peso total de la biomasa lignocelulósica. La celulosa consta de moléculas de glucosa (de aproximadamente 500 a 10000 unidades) unidas entre sí por medio de un enlace  $\beta$ -1,4-glucosídico. El establecimiento de enlaces de hidrógeno entre las cadenas ocasiona la formación de dominios cristalinos que les dan resistencia y elasticidad a las fibras vegetales. En la naturaleza tan sólo puede encontrarse en su estado puro en plantas anuales tales como el algodón y el lino, mientras que en las plantas leñosas va siempre acompañada de hemicelulosa y lignina.
- 40 **[0008]** La hemicelulosa, que está generalmente presente en una cantidad que va desde un 10% en peso hasta un 40% en peso con respecto al peso total de la biomasa lignocelulósica, se da en forma de un polímero mixto, relativamente corto (de 10 a 200 moléculas) y ramificado, que está constituido tanto por azúcares con seis átomos de carbono (glucosa, manosa, galactosa) como por azúcares con cinco átomos de carbono (xilosa, arabinosa). Algunas propiedades importantes de las fibras vegetales son debidas a la presencia de hemicelulosa, cuya principal propiedad es la de favorecer la imbibición de dichas fibras vegetales, cuando está presente agua, ocasionado su hinchamiento. La hemicelulosa también tiene propiedades adhesivas, y por consiguiente tiende a endurecerse o desarrollar una consistencia córnea cuando se deshidrata, con la consecuencia de que dichas fibras vegetales devienen rígidas y son embebidas más lentamente.
- 45 **[0009]** La lignina está generalmente presente en una cantidad que va desde un 10% en peso hasta un 30% en peso con respecto al peso total de la biomasa lignocelulósica. Su función principal consiste en unir y cementar las distintas fibras vegetales entre sí, para así darle a la planta compacidad y resistencia, y también proporciona protección contra los insectos, los agentes patógenos, las lesiones y la luz ultravioleta. La lignina se usa principalmente como combustible, pero en la actualidad también se usa extensamente en la industria como dispersante, endurecedor y agente emulsionante, para laminados de plástico, cartones y productos de caucho. También puede ser tratada químicamente para producir compuestos aromáticos tales como vainillina, siringaldehído y p-hidroxibenzaldehído, que pueden ser usados en la química farmacéutica, o en la industria cosmética y alimentaria.
- 50 **[0010]** A fin de optimizar la transformación de biomasa lignocelulósica en productos para uso energético, es conocida la técnica de someter a dicha biomasa a un tratamiento preliminar para separar la lignina e hidrolizar la celulosa y la hemicelulosa para convertirlas en azúcares simples tales como por ejemplo glucosa y xilosa. Dichos azúcares pueden

usarse como fuentes de carbono en procesos de fermentación en presencia de microorganismos para la producción de alcoholes y/o lípidos.

5 [0011] La solicitud de patente US 2008/0102176, por ejemplo, describe un método que es para la extracción de grasas vegetales y comprende los pasos de: pulverizar la materia prima que contiene celulosa a fin de obtener partículas con un diámetro de 1-2 mm; sumergir las partículas en ácido sulfúrico a una concentración igual a un 1-2% para acidificar dichas partículas a fin de incrementar la hidrólisis de la celulosa y de regular el pH ajustándolo a un valor de  $4,5 \pm 0,5$ ; retirar las partículas acidificadas por el ácido sulfúrico y añadir, en secuencia, celulosa y una levadura oleaginosa a las partículas acidificadas y someterlas a fermentación por espacio de 8-9 días a una temperatura de 25-30°C y con una humedad de un 85-90%; añadir un hidrocarburo alifático como solvente a los productos de fermentación a fin de extraer las grasas, obteniendo así una mezcla de extracción; y retirar las partículas acidificadas que queden en la mezcla de extracción y separar las grasas del solvente mediante destilación, obteniendo así aceite crudo. La celulosa es preferiblemente *Trichoderma viride* y la levadura oleaginosa es *Rhodotorula glutinis*. Las grasas obtenidas pueden ser convertidas en biodiesel tras esterificación.

15 [0012] Dai et al. describen la producción de biodiesel a partir de levaduras oleaginosas en el artículo: "Biodiesel generation from oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* with xylose assimilating capacity" publicado en el "African Journal of Biotechnology" (2007), vol. 6 (18), páginas 2130-2134. En este artículo, la biomasa lignocelulósica es molida y sometida a hidrólisis ácida en presencia de ácido sulfúrico. Los azúcares así obtenidos son usados como fuentes de carbono en un proceso de fermentación en presencia de una cepa de *Rhodotorula glutinis* previamente seleccionada, pudiendo también usarse pentosas, y en particular xilosa, con la finalidad de obtener aceites que son posteriormente extraídos mediante el método de extracción Soxhlet y sometidos a transesterificación a fin de obtener biodiesel.

25 [0013] Son también conocidas en la técnica varias clases de tratamientos térmicos (tales como, por ejemplo, procesos de licuefacción y tratamientos hidrotérmicos) que permiten que las biomásas sólidas (tales como por ejemplo biomásas lignocelulósicas, biomásas derivadas de desechos orgánicos, desechos agrícolas y/o desechos derivados de la industria agrícola, o biomásas derivadas de desechos domésticos) sean convertidas en productos líquidos a fin de transformar un material voluminoso, que es difícil de manipular y tiene una baja densidad de energía, en un bioaceite que tenga una alta densidad de energía (es decir, un alto valor calorífico) y que pueda usarse tal cual como biocombustible y/o biocombustible, o como fuente de productos químicos o como fuente de biocombustibles y/o biocombustibles.

30 [0014] Pueden hallarse mayores detalles relativos a los tratamientos térmicos (tratamientos hidrotérmicos o tratamientos de licuefacción) de biomásas por ejemplo en "Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects", "Mechanisms of Thermochemical Biomass Conversion Processes, Part 3: Reactions of Liquefaction" (2008), 30:7, páginas 649-659; o en "Energy & Environmental Science" (2008), "Thermochemical biofuel production in hydrothermal media: A review of sub- and supercritical water Technologies", 1, páginas 32-65.

35 [0015] La patente US 4.334.026 describe un procedimiento híbrido biotécnico de licuefacción que es para mejorar la licuefacción de compuestos que contienen carbono para producir carburantes líquidos que contienen alcohol y comprende los pasos de: aportar compuestos orgánicos a un reactor de fermentación; fermentar dichos compuestos orgánicos bajo condiciones adecuadas para producir alcohol en un cultivo líquido biológico; separar el carburante líquido que contiene alcohol y el residuo de fermentación, retirar el agua e introducir dicho residuo de fermentación en un convertidor termoquímico; y convertir termoquímicamente al menos la mayor parte del componente orgánico de dicho residuo de fermentación operando bajo condiciones de alta temperatura obteniendo productos convertidos termoquímicamente y residuos termoquímicos, enviándose a dicho reactor de fermentación una parte de al menos uno de dichos productos convertidos termoquímicamente o sus derivados, o de dichos residuos termoquímicos. Pueden usarse como compuestos orgánicos plantas terrestres o acuáticas (como p. ej. algas), desechos forestales y/o agrícolas, desechos industriales y cosas similares.

40 [0016] La patente US 4.935.567 describe un procedimiento que es para la licuefacción de una biomasa que contiene celulosa a fin de obtener un producto licuado y comprende los pasos de: (a) aportar a un recipiente de reacción la biomasa, agua y un líquido orgánico que contenga oxígeno (como por ejemplo un éster, un acetona o un alcohol), obteniendo una mezcla que esencialmente consta de dicha biomasa, dicho líquido orgánico y agua, siendo el líquido orgánico total que contiene oxígeno y agua en dicha mezcla igual a 5-20 partes en peso por cada parte en peso de biomasa (peso en seco) y siendo la cantidad de líquido orgánico que contiene oxígeno en dicha mezcla igual a un 5%-80% con respecto al total de dicho líquido y agua; (b) calentar dicha mezcla hasta una temperatura de 200°C-400°C, a una presión de 3-100 atmósferas, obteniendo un producto licuado en forma de una fase líquida oleosa que coexiste con una fase acuosa; (c) separar dicha fase líquida oleosa de dicha fase acuosa y recuperar dicha fase líquida oleosa como producto licuado; y (d) calentar dicha fase líquida oleosa separada para destilar los compuestos que tengan un bajo punto de ebullición y recuperar el producto licuado que tiene un valor calorífico incrementado como residuo de destilación. A fin de acelerar la licuefacción, dicho proceso de licuefacción puede ser realizado en presencia de un catalizador alcalino (como por ejemplo hidróxido sódico, hidróxido potásico, carbonato sódico, carbonato potásico y compuestos similares). El producto licuado así obtenido puede ser usado como carburante o bien como materia prima para varios compuestos químicos.

**[0017]** Los procedimientos anteriormente descritos, sin embargo, pueden tener varios inconvenientes.

5 **[0018]** A fin de hidrolizar ambos componentes polisacáridos de la biomasa (como p. ej. la hemicelulosa y la celulosa), por ejemplo, en particular en presencia de ácido sulfúrico diluido (p. ej. a concentraciones que van desde un 0,5% hasta un 11%), es necesario operar a altas temperaturas (p. ej. de más de 160°C). A estas temperaturas hay formación de subproductos derivados de la deshidratación de los azúcares y de la despolimerización parcial de la lignina. Estos subproductos, que son en particular furfural, hidroximetilfurfural y compuestos fenólicos, pueden actuar como inhibidores del crecimiento de los microorganismos que normalmente se usan en los posteriores procesos de fermentación de los azúcares. Además, en presencia de ácido sulfúrico diluido la producción de azúcar, y en particular de glucosa, es normalmente baja (siendo p. ej. de menos de un 50%).

15 **[0019]** Además, antes de someter a los azúcares a fermentación, puede ser necesario neutralizar el ácido sulfúrico a fin de obtener valores pH aceptables para la posterior fermentación. La neutralización generalmente se realiza añadiendo óxidos y/o hidróxidos tales como, por ejemplo, óxido de calcio, hidróxido cálcico o hidróxido de bario, con la consiguiente formación de sales (como p. ej. sulfato cálcico, dihidrato de sulfato cálcico ("yeso") y sulfato de bario) que precipitan y deben por consiguiente ser separadas de los azúcares antes de que éstos últimos sean sometidos a fermentación. Además, estas sales deben ser posteriormente eliminadas por medio de un adecuado tratamiento, con un consiguiente incremento de los costes de producción. Además, es oneroso y extremadamente difícil recuperar y reutilizar dicho ácido inorgánico.

25 **[0020]** La presencia de alcohol en los carburantes líquidos producidos por licuefacción puede también ocasionar dificultades a la hora de separar dichos carburantes líquidos de la biomasa acuosa de partida debido a la alta polaridad de dichos carburantes líquidos. Además, el uso de un líquido orgánico (como por ejemplo éster, cetona o alcohol) en el proceso de licuefacción puede crear dificultades en la fase en la que se separa la fase líquida oleosa de la fase acuosa debido a la presencia de dicho líquido orgánico, además de un incremento de los costes de producción.

30 **[0021]** La Solicitante ha descubierto ahora que la producción de bioaceite a partir de biomasa (es decir, la conversión de la biomasa en productos líquidos que puedan ser usados, por ejemplo, como biocombustibles y/o biocarburantes), y en particular a partir de biomasa que incluya al menos un polisacárido, puede ser ventajosamente realizada por medio de un procedimiento que comprende los pasos de someter a dicha biomasa a hidrólisis ácida en presencia de una solución acuosa de al menos un ácido orgánico, seleccionado de entre los miembros del grupo que consta de ácido alquil- o aril-sulfónico que tenga de C<sub>7</sub> a C<sub>20</sub> átomos de carbono, o de ácidos carboxílicos halogenados, a una temperatura que va desde 80°C hasta 160°C, someter la mezcla obtenida de dicha hidrólisis ácida a hidrólisis enzimática, someter a los azúcares obtenidos de dicha hidrólisis ácida y dicha hidrólisis enzimática a fermentación en presencia de al menos una levadura oleaginosas, y someter a la suspensión acuosa que comprende células de dicha levadura oleaginosas y ha sido obtenida de dicha fermentación a tratamiento térmico a una temperatura que va desde 150°C hasta 330°C.

40 **[0022]** Por medio de este procedimiento se obtienen numerosas ventajas. Por ejemplo, dicho procedimiento permite obtener un alto rendimiento de producción de azúcares de pentosa y hexosa que se derivan de la hidrólisis ácida de dicha biomasa y pueden ser a continuación usados como fuentes de carbono en procesos de fermentación de levaduras oleaginosas para la producción de bioaceite. El bioaceite así obtenido puede ser ventajosamente usado en la producción de biocarburantes, los cuales pueden ser usados en la producción de biocarburantes, los cuales pueden ser usados tal cual, o bien mezclados con otros carburantes, para vehículos automóviles. O bien dicho bioaceite puede ser usado tal cual (biocombustible), o en una mezcla con biocombustibles fósiles (aceite combustible, lignito, etc.), para la generación de energía eléctrica o calor.

50 **[0023]** Además, la posibilidad de operar a temperaturas que no son altas, es decir que son iguales a 160°C o más bajas, permite reducir la formación de subproductos tales como, por ejemplo, furfural, hidroximetilfurfural o compuestos fenólicos que pueden actuar como inhibidores del crecimiento de los microorganismos que normalmente se usan en los posteriores procesos de fermentación de los azúcares.

55 **[0024]** Otra ventaja importante radica en el hecho de que dicho procedimiento permite recuperar el ácido orgánico, que entonces puede ser enviado de regreso al proceso anteriormente mencionado, y en particular a la hidrólisis ácida de la biomasa. Dicha recuperación también permite evitar el paso de neutralización, y por consiguiente, la producción de sales y su posterior eliminación.

60 **[0025]** Otra ventaja importante radica en el hecho de que la fase acuosa que es obtenida tras el tratamiento térmico de la suspensión acuosa que comprende células de dicha levadura oleaginosas, comprendiendo dicha fase acuosa azúcares y fracciones glucosídicas y proteínicas solubles en agua, derivados del tratamiento térmico (hidrólisis térmica) de las proteínas y los polisacáridos contenidos en la membrana celular de las levaduras oleaginosas usadas, puede ser enviada de regreso al proceso anteriormente mencionado, y en particular puede ser enviada de regreso a la fermentación. De esta manera, es posible reducir la cantidad de nitrógeno que debe normalmente ser añadida al medio de cultivo en el cual tiene lugar la fermentación y proporcionar azúcares adicionales para la fermentación.

- [0026]** Un objeto de la presente invención por consiguiente se refiere a un procedimiento que es para la producción de bioaceite a partir de biomasa que incluyan al menos un polisacárido y comprende los pasos de:
- someter a dicha biomasa a hidrólisis ácida en presencia de una solución acuosa de al menos un ácido orgánico seleccionado de entre los miembros del grupo que consta de ácidos alquil- o aril-sulfónicos que tengan de C<sub>7</sub> a C<sub>20</sub> átomos de carbono, y preferiblemente de C<sub>9</sub> a C<sub>15</sub> átomos de carbono, o de ácidos carboxílicos halogenados, a una temperatura que va desde 80°C hasta 160°C, y preferiblemente desde 100°C hasta 150°C, obteniendo una primera mezcla que comprende una primera fase sólida y una primera fase acuosa;
  - someter a dicha primera mezcla a hidrólisis enzimática obteniendo una segunda mezcla que comprende una segunda fase sólida y una segunda fase acuosa;
  - someter a dicha segunda fase acuosa a fermentación en presencia de al menos una levadura oleaginosa obteniendo una suspensión acuosa que comprende células de dicha levadura oleaginosa;
  - someter a dicha suspensión acuosa a tratamiento térmico obteniendo una fase oleosa que comprende bioaceite y una tercera fase acuosa, en donde dicho tratamiento térmico es realizado a una temperatura que va desde 150°C hasta 330°C.
- [0027]** A los efectos de la presente descripción y de las siguientes reivindicaciones, la definición de las gamas de valores numéricos siempre incluye a los valores extremos, a no ser que se especifique otra cosa.
- [0028]** Según una realización preferida de la presente invención, dicho polisacárido puede seleccionarse de entre los miembros del grupo que consta de celulosa, hemicelulosa o mezclas de las mismas. Son particularmente preferidas la celulosa o las mezclas de hemicelulosa y celulosa.
- [0029]** Según una adicional realización preferida de la presente invención, dicha biomasa es una biomasa lignocelulósica. Como ya se ha mencionado anteriormente, la biomasa lignocelulósica incluye tres componentes: hemicelulosa, celulosa y lignina.
- [0030]** Dicha biomasa lignocelulósica es preferiblemente seleccionada de entre los miembros del grupo que consta de:
- los productos de cosechas expresamente cultivadas para su uso energético (como por ejemplo miscantus, mijo o caña común), comprendiendo los subproductos, residuos y desechos de dichas cosechas o de su procesamiento;
  - los productos de cultivos agrícolas, forestación y silvicultura, comprendiendo madera, plantas, residuos y subproductos de procesamiento agrícola, de forestación y de silvicultura;
  - los subproductos de agrocomestibles destinados a la alimentación humana o animal;
  - los residuos tratados no químicamente de la industria papelera;
  - el desecho procedente de la recogida diferenciada de desechos urbanos sólidos (como p. ej. desechos urbanos de origen vegetal, papel, etc.).
- [0031]** Según una realización preferida de la presente invención, dicha biomasa puede ser tratada sometiéndola a un proceso preliminar de molienda o cribado antes de que la misma sea sometida a hidrólisis ácida. Dicha biomasa es preferiblemente tratada hasta ser obtenidas partículas que tengan un diámetro que vaya desde 0,1 mm hasta 10 mm, y que más preferiblemente vaya desde 0,5 mm hasta 4 mm. Se prefieren particularmente las partículas que tienen un diámetro de menos de 1 mm.
- [0032]** Según una realización preferida de la presente invención, dicha biomasa está presente en la mezcla de reacción en una cantidad que va desde un 5% en peso hasta un 40% en peso, y preferiblemente desde un 20% en peso hasta un 35% en peso, con respecto al peso total de la mezcla de reacción.
- [0033]** A los efectos de la presente descripción y de las siguientes reivindicaciones, la expresión “mezcla de reacción” significa la mezcla que comprende la biomasa y la solución acuosa de dicho ácido orgánico que es al menos uno como se ha definido anteriormente.
- [0034]** Según una realización preferida de la presente invención, dicho ácido orgánico que es al menos uno es soluble en agua y extraíble con un solvente orgánico insoluble en agua.
- [0035]** A los efectos de la presente invención y de las siguientes reivindicaciones, la expresión “ácido orgánico soluble en agua” significa un ácido orgánico que tiene una solubilidad en agua destilada, a 25°C, de al menos 0,5 g/100 ml de agua destilada, y preferiblemente de al menos 2 g/100 ml de agua destilada.
- [0036]** A los efectos de la presente invención y de las siguientes reivindicaciones, la expresión “ácido orgánico extraíble con un solvente orgánico insoluble en agua” se refiere a un ácido orgánico que puede ser extraído con un solvente orgánico insoluble en agua con un rendimiento de al menos un 80%, y preferiblemente de al menos un 90%, calculándose dicho rendimiento con respecto a la cantidad total de ácido orgánico presente en la solución acuosa.

[0037] A los efectos de la presente invención y de las siguientes reivindicaciones, la expresión "solvente orgánico insoluble en agua" se refiere a un solvente orgánico que tiene una solubilidad en agua destilada, a 25°C, de menos de un 4% volumétrico, y preferiblemente de menos de un 2% volumétrico.

5 [0038] Según una realización preferida de la presente invención, dichos ácidos alquil- o aril-sulfónicos pueden ser seleccionados de entre los miembros del grupo que consta de: ácido dodecilsulfónico, ácido paratoluenosulfónico, ácido 1-naftalenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 1,5-naftalenodisulfónico o mezclas de los mismos. Son particularmente preferidos el ácido paratoluenosulfónico, el ácido 2-naftalenosulfónico, el ácido 1,5-naftalenodisulfónico o las mezclas de los mismos.

10 [0039] Según una realización preferida de la presente invención, dichos ácidos carboxílicos halogenados pueden ser seleccionados de entre los que tienen un número de átomos de carbono de no más de 20, y preferiblemente de 2 a 15, tales como, por ejemplo, los miembros del grupo que consta de ácido trifluoroacético, ácido dicloroacético, ácido tricloroacético, ácido perfluorooctanoico, o mezclas de los mismos. Son particularmente preferidos el ácido dicloroacético, el ácido tricloroacético, el ácido perfluorooctanoico o las mezclas de los mismos.

15 [0040] Según una realización preferida de la presente invención, dicho ácido orgánico que es al menos uno está presente en la solución acuosa a una concentración de un 0,1% en peso a un 5% en peso, y preferiblemente de un 0,5% en peso a un 2,5% en peso, con respecto al peso total de la solución acuosa.

20 [0041] Dicho ácido orgánico actúa como catalizador para la hidrólisis ácida de dicha biomasa. En particular, cuando la biomasa de partida es una biomasa lignocelulósica, dicho ácido orgánico específicamente actúa como catalizador para la hidrólisis ácida de la hemicelulosa. Hay que observar que el procedimiento que constituye el objeto de la presente invención, cuando la biomasa de partida es una biomasa lignocelulósica, no tan sólo permite obtener la hidrólisis ácida de la hemicelulosa, sino que también permite mejorar la disposición de la celulosa, manteniéndose dicha celulosa prácticamente no hidrolizada, para la subsiguiente hidrólisis enzimática, gracias a una mejorada desestructuración de la biomasa de partida.

25 [0042] Según una realización preferida de la presente invención, dicha hidrólisis ácida puede ser realizada por espacio de un periodo de tiempo que va desde 20 minutos hasta 6 horas, y preferiblemente desde 30 minutos hasta 3 horas.

[0043] Dicha hidrólisis ácida puede ser realizada en reactores conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, autoclaves o extrusionadoras adecuadas.

35 [0044] Según una realización preferida de la presente invención, dicha primera fase sólida comprende lignina y celulosa y dicha primera fase acuosa comprende al menos un azúcar que tiene de C<sub>5</sub> a C<sub>6</sub> átomos de carbono y dicho ácido orgánico que es al menos uno. Dicho azúcar es preferiblemente xilosa. Dicha xilosa preferiblemente se deriva de la hidrólisis ácida de la hemicelulosa.

40 [0045] Dicha hidrólisis ácida permite que sea obtenido al menos un azúcar que tiene de C<sub>5</sub> a C<sub>6</sub> átomos de carbono, y en particular xilosa derivada de la hidrólisis ácida de la hemicelulosa, con un alto rendimiento. Más específicamente, dicha hidrólisis ácida permite obtener un rendimiento de producción de xilosa igual a un 80% o de más de un 80%, calculándose dicho rendimiento con respecto a la cantidad total de xilosa presente en la biomasa de partida.

45 [0046] Dicha hidrólisis ácida también permite obtener altos rendimientos de producción de celulosa y lignina.

[0047] A fin de recuperar dicho ácido orgánico que es al menos uno, dicha primera mezcla puede ser sometida a extracción con un solvente orgánico insoluble en agua.

50 [0048] Según una realización preferida de la presente invención, dicho procedimiento también comprende el paso de someter a dicha primera mezcla a extracción con al menos un solvente orgánico insoluble en agua. Dicho solvente orgánico insoluble en agua puede ser preferiblemente seleccionado de entre los miembros del grupo que consta de: hidrocarburos halogenados tales como, por ejemplo, cloruro de metileno, monoclorobenceno, diclorobenceno o mezclas de los mismos; hidrocarburos aromáticos tales como, por ejemplo, tolueno, xileno o mezclas de los mismos; y alcoholes alifáticos de C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub> tales como n-butanol, n-pentanol o mezclas de los mismos. Son particularmente preferidas las mezclas que comprenden al menos un alcohol alifático de C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub> (como p. ej. butanol) y al menos un hidrocarburo aromático (como p. ej. tolueno).

55 [0049] Dicho solvente orgánico insoluble en agua es posteriormente evaporado, obteniéndose así una adicional fase sólida que comprende dicho ácido orgánico que es al menos uno.

60 [0050] Como se ha especificado anteriormente, el procedimiento que constituye el objeto de la presente invención permite que dicho ácido orgánico que es al menos uno sea recuperado con un alto rendimiento, y en particular con un rendimiento de al menos un 80%, y preferiblemente de al menos un 90%, calculándose dicho rendimiento con respecto

- a la cantidad total de ácido orgánico presente en dicha solución acuosa. Dicho ácido orgánico que es al menos uno puede ser por consiguiente posteriormente reutilizado según el procedimiento que constituye el objeto de la presente invención, y en particular puede ser enviado de regreso a la hidrólisis ácida. Debería observarse que, cuando la recuperación de dicho ácido orgánico que es al menos uno es igual al 100%, dicha primera fase acuosa estará exenta de dicho ácido orgánico que es al menos uno. Además, el solvente orgánico evaporado puede ser tras su condensación enviado de regreso al proceso de la presente invención, y en particular puede ser enviado de regreso a dicha extracción.
- 5
- [0051] Según una realización preferida de la presente invención, dicho procedimiento también comprende el paso de enviar a dicho ácido orgánico que es al menos uno de regreso a dicha hidrólisis ácida.
- 10
- [0052] Según una realización preferida de la presente invención, dicho procedimiento también comprende el paso de enviar a dicho solvente orgánico que es al menos uno y es insoluble en agua de regreso a dicha extracción.
- 15
- [0053] A los efectos del procedimiento que constituye el objeto de la presente invención, dicha hidrólisis enzimática puede realizarse según técnicas que son conocidas en el ramo tal como se describe, por ejemplo, en las patentes estadounidenses US 5.628.830, US 5.916.780 y US 6.090.595, usando enzimas comerciales tales como, por ejemplo, la Celluclast 1,5L (Novozymes), la Econase CE (Rohm Enzymes), la Spezyme (Genecor) y la Novozym 188 (Novozymes), usadas individualmente o mezcladas unas con otras.
- 20
- [0054] A fin de ajustar el pH a valores que vayan desde 4 hasta 6, y preferiblemente desde 4,5 hasta 5,5, puede añadirse ácido acético glacial a dicha primera mezcla, antes de la hidrólisis enzimática, en una cantidad adecuada para obtener el pH deseado.
- 25
- [0055] Según una realización preferida de la presente invención, dicha segunda fase sólida comprende lignina y dicha segunda fase acuosa comprende al menos un azúcar que tiene de C<sub>5</sub> a C<sub>6</sub> átomos de carbono, y preferiblemente xilosa, glucosa, celobiosa o mezclas de las mismas. En particular, dicha segunda fase acuosa comprende xilosa derivada de la hidrólisis ácida de hemicelulosa, glucosa y celobiosa derivada de la hidrólisis enzimática de la celulosa.
- 30
- [0056] En particular, esta hidrólisis enzimática permite obtener un alto rendimiento de producción de glucosa, y más específicamente un rendimiento de producción de glucosa de más de un 90% o igual a un 90%, calculándose dicho rendimiento con respecto a la cantidad total de glucosa presente en la biomasa de partida.
- 35
- [0057] La cantidad de azúcares contenida en la biomasa de partida, así como también la cantidad de azúcares obtenida tras la hidrólisis (la hidrólisis ácida y/o la hidrólisis enzimática), pueden determinarse por medio de técnicas conocidas en el ramo, tales como, por ejemplo, la cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC).
- 40
- [0058] Dicha segunda fase sólida y dicha segunda fase acuosa pueden ser separadas mediante técnicas conocidas en el ramo tales como, por ejemplo, las de filtración y centrifugación. Dichas fases son preferiblemente separadas por filtración.
- 45
- [0059] Dicha segunda fase sólida, que comprende lignina, puede ser mejorada como combustible, tal como por ejemplo como combustible para producir la energía necesaria para sostener los procesos de tratamiento de la biomasa.
- 50
- [0060] Según una realización preferida de la presente invención, dicha fermentación puede realizarse a una temperatura que va desde 20°C hasta 40°C, y preferiblemente desde 25°C hasta 35°C.
- [0061] Según una realización preferida de la presente invención, dicha fermentación puede realizarse por espacio de un periodo de tiempo que va desde 3 días hasta 10 días, y preferiblemente desde 4 días hasta 8 días.
- 55
- [0062] Según una realización preferida de la presente invención, dicha fermentación puede realizarse a un pH que vaya desde 4,5 hasta 6,5, y preferiblemente desde 5 hasta 6. A fin de mantener el pH dentro de las deseadas gamas de valores, puede añadirse al medio de cultivo que se use para la fermentación y en una cantidad adecuada para obtener el pH deseado una solución acuosa de al menos una base inorgánica tal como, por ejemplo, hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido cálcico, hidróxido de magnesio o mezclas de los mismos.
- 60
- [0063] Según una realización preferida de la presente invención, dicha levadura oleaginosas puede ser seleccionada de entre los miembros del grupo que consta de: *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula gracilis*, *Rhodotorula graminis*, *Lypomices starkeyi*, *Lypomices lipofer*, *Trigonopsis variabilis*, *Candida kefir*, *Candida curvata*, *Candida lipolytica*, *Torulopsis sp.* y *Pichia stipitis*.
- [0064] Según una realización preferida de la presente invención, dicha fermentación es una fermentación alimentada.

- [0065] Antes de ser usada en dicha fermentación, dicha levadura oleaginosa es preferiblemente cultivada en un medio de cultivo que contiene xilosa, celobiosa, glucosa o mezclas de las mismas, a una concentración que va preferiblemente desde un 1% en peso hasta un 2% en peso, con respecto al peso total de dicho medio de cultivo.
- 5 [0066] Dicha fermentación puede ventajosamente ser realizada en fermentadores conocidos en la técnica, en presencia de medios de cultivo de los que normalmente se usan con esta finalidad, que comprenden varios nutrientes tales como, por ejemplo, nitrógeno, fosfato potásico, magnesio, sales y vitaminas.
- 10 [0067] A fin de concentrar la células de levadura en la suspensión acuosa obtenida de la fermentación, antes de ser sometida a tratamiento térmico dicha suspensión acuosa puede ser sometida a tratamiento de espesamiento.
- 15 [0068] Según una realización preferida de la presente invención, al final de la fermentación dicha suspensión acuosa puede ser enviada a un tratamiento de espesamiento. En esta fase, la concentración de las células de levadura es llevada a valores que van desde un 5% en peso hasta un 50% en peso, y preferiblemente desde un 15% en peso hasta un 30% en peso, con respecto al peso total (peso en seco) de la suspensión acuosa. Dicho espesamiento puede realizarse usando técnicas conocidas en el ramo, tales como, por ejemplo, las de sedimentación, decantación, floculación y filtración y técnicas similares.
- 20 [0069] Dicho tratamiento térmico (tratamiento hidrotérmico) lleva a cabo el calentamiento de la suspensión acuosa concentrada que sale del tratamiento de espesamiento en un recipiente, bajo presión. Dicho tratamiento térmico puede realizarse operando de distintas maneras tal como, por ejemplo, "en discontinuo", "en semidiscontinuo", o en continuo.
- 25 [0070] Según la presente invención, dicho tratamiento térmico es realizado a una temperatura que va desde 150°C hasta 330°C.
- [0071] La presión es preferiblemente mantenida al nivel de valores adecuados para mantener en estado líquido al menos parte del agua en dicha suspensión acuosa.
- 30 [0072] Según una realización preferida de la presente invención, dicho tratamiento térmico puede ser realizado a una presión que vaya desde 0,1 MPa hasta 25 MPa y preferiblemente desde 0,5 MPa hasta 18 MPa.
- [0073] Según una realización preferida de la presente invención, dicho tratamiento térmico puede ser realizado por espacio de un periodo de tiempo igual a 1 minuto o de más de 1 minuto, y preferiblemente por espacio de un periodo de tiempo que vaya desde 0,5 horas hasta 2 horas.
- 35 [0074] Al igual como la energía térmica que es necesaria para el tratamiento térmico puede derivarse total o parcialmente de la recuperación térmica o de la combustión de tradicionales vectores de energía, tales como por ejemplo gas metano, gas licuado de petróleo, aceite mineral, carbón, etc., no queda excluida la posibilidad de que la energía térmica se derive de la energía solar.
- 40 [0075] Durante dicho tratamiento térmico también tiene lugar la rotura de las membranas celulares de las células de la levadura oleaginosa que está presente en dicha suspensión acuosa, obteniéndose una mezcla que incluye una fase oleosa que comprende bioaceite y una fase acuosa que comprende azúcares, fracciones glucosídicas y proteínas solubles en agua y se deriva del tratamiento térmico (hidrólisis térmica) de las proteínas y de los polisacáridos contenidos en la membrana celular de las levaduras oleaginosas que se usen. Hay que señalar que durante dicho tratamiento térmico puede convertirse en bioaceite parte de dichas proteínas y de dichos polisacáridos.
- 45 [0076] Según una realización preferida de la presente invención, al final de dicho tratamiento térmico la mezcla obtenida (fase oleosa + fase acuosa) puede ser enfriada hasta una temperatura que vaya desde 40°C hasta 90°C, y preferiblemente desde 45°C hasta 80°C, antes de ser aportada a una sección de separación/recuperación a fin de separar las dos fases.
- 50 [0077] Dicha separación es generalmente realizada por medio de técnicas conocidas en el ramo. Dicha separación puede ser ventajosamente realizada, por ejemplo, por medio de separación estática, o bien mediante extracción con al menos un solvente orgánico insoluble en agua que puede ser seleccionado, por ejemplo, de entre los miembros del grupo que consta de cloruro de metileno o cortes de hidrocarburos de refinería, obteniéndose una fase oleosa que comprende bioaceite y una tercera fase acuosa. Como alternativa, dicha separación puede ser realizada por medio de destilación fraccionada.
- 55 [0078] Dicha tercera fase acuosa es de manera opcional enfriada adicionalmente hasta una temperatura que va desde la temperatura ambiente (25°C) hasta 50°C, y es enviada de regreso a la fermentación. Si aún están presentes impurezas (como por ejemplo trazas de bioaceite, trazas de inhibidores, etc.), dicha fase acuosa puede ser sometida a un tratamiento de desintoxicación que puede ser realizado, por ejemplo, por filtración, centrifugación o extracción con un solvente orgánico insoluble en agua (como p. ej. una mezcla de tolueno y n-butanol).
- 60



5 **[0079]** Durante dicho tratamiento térmico también se forma una fase gaseosa que es igual a aproximadamente un 10%-25% en peso con respecto al peso (peso en seco) de las células de levadura que están presentes en dicha suspensión acuosa, comprendiendo dicha fase gaseosa aproximadamente un 80% - 95% en moles de dióxido de carbono y de un 10% a un 20% en moles de hidrocarburos que tienen de 1 a 3 átomos de carbono. Tras la separación, que puede ser realizada por ejemplo despresionizando el recipiente a presión en el cual se realiza dicho tratamiento térmico, y antes de enviar a la separación la mezcla obtenida (fase oleosa + fase acuosa) tras dicho tratamiento térmico, dicha fase gaseosa es generalmente mejorada para ser así convertida en su componente hidrocarburo como gas combustible. Como alternativa, la separación de la fase gaseosa puede realizarse durante el paso en el que se separa la fase oleosa de la fase acuosa.

10 **[0080]** El procedimiento que constituye el objeto de la presente invención permite que los bioaceites sean recuperados con un rendimiento que va desde un 50% hasta un 95%, y preferiblemente desde un 55% hasta un 85%, calculándose dicho rendimiento con respecto al peso total (peso en seco) de las células de levadura oleaginosa que están presentes en la suspensión acuosa obtenida tras la fermentación.

15 **[0081]** El bioaceite obtenido por medio del procedimiento anteriormente descrito puede ser enviado a las posteriores fases de procesamiento a fin de transformarlo, por ejemplo, en biocombustible por medio de un tratamiento de los que son conocidos en la técnica, tal como, por ejemplo, el de hidrogenación o el de craqueo.

20 **[0082]** Se describe a continuación la presente invención por medio de una forma ilustrativa haciendo referencia a la Figura 1 que acompaña a la presente.

25 **[0083]** Según una típica realización del procedimiento que constituye el objeto de la presente invención, la biomasa (línea 1) (como p. ej. biomasa lignocelulósica previamente molida) es sometida a hidrólisis ácida en presencia de un ácido orgánico (como p. ej. ácido 2-naftalenosulfónico), obteniéndose una primera mezcla (línea 2) que comprende una primera fase acuosa que incluye xilosa derivada de la hidrólisis de hemicelulosa y dicho ácido orgánico, y una primera fase sólida que comprende lignina y celulosa.

30 **[0084]** Como está representado en la Figura 1, dicha primera mezcla (línea 2) es sometida a extracción con un solvente orgánico insoluble en agua (como p. ej. una mezcla de tolueno y n-butanol) a fin de recuperar dicho ácido orgánico (línea 3) y de enviarlo de regreso, tras la evaporación del solvente orgánico, a dicha hidrólisis ácida (línea 4). Dicho solvente orgánico evaporado (línea 5) es condensado, recuperado y enviado de regreso a dicha extracción (línea 6).

35 **[0085]** Tras la extracción con el solvente orgánico, dicha primera mezcla (línea 7) es sometida a hidrólisis enzimática, en presencia de una enzima (como p. ej. una solución acuosa de Celluclast 1.5L y Novozym 188), obteniéndose una segunda mezcla que comprende una segunda fase acuosa que incluye xilosa derivada de la hidrólisis ácida de hemicelulosa, glucosa y celobiosa derivada de la hidrólisis enzimática de celulosa, y una segunda fase sólida que incluye lignina.

40 **[0086]** Antes de ser dicha primera mezcla sometida a hidrólisis enzimática, puede añadirse ácido acético glacial a dicha primera mezcla (línea 7) a fin de ajustar el pH a valores que vayan desde 4 hasta 6 (no representado en la Figura 1).

45 **[0087]** Dicha segunda fase acuosa (línea 8) y dicha segunda fase sólida (línea 9) son separadas por filtración (no representado en la Figura 1).

**[0088]** Dicha segunda fase acuosa (línea 8) es sometida a fermentación en presencia de una levadura oleaginosa (como p. ej. *Lypomyces starkey* NRRL 1389).

50 **[0089]** Al final de la fermentación se obtiene una suspensión acuosa que comprende células de dicha levadura oleaginosa (línea 10) y es sometida a un tratamiento de espesamiento a fin de concentrar las células de dicha levadura oleaginosa en dicha suspensión acuosa para así obtener valores de concentración que preferiblemente van desde un 5% en peso hasta un 30% en peso, con respecto al peso total (peso en seco) de dicha suspensión acuosa.

55 **[0090]** Al final del tratamiento de espesamiento, la suspensión acuosa concentrada (línea 11) es sometida a tratamiento térmico operando a una temperatura y a una presión y con tiempos de permanencia que permiten obtener una mezcla que comprende una fase oleosa que incluye bioaceite y una tercera fase acuosa que comprende azúcares, fracciones glucosídicas y proteínas solubles en agua, que se derivan del tratamiento térmico (hidrólisis térmica) de las proteínas y de los polisacáridos contenidos en la membrana celular de las levaduras oleaginosas usadas, y posibles impurezas (como por ejemplo trazas de bioaceite).

60 **[0091]** Durante el tratamiento térmico es también producida una fase gaseosa que comprende CO<sub>2</sub> e hidrocarburos gaseosos que tienen de 1 a 3 átomos de carbono y que pueden ser separados, por ejemplo, despresionizando el recipiente a presión en el que se realiza dicho tratamiento térmico, antes de enviar la mezcla obtenida (fase oleosa +

fase acuosa) tras dicho tratamiento térmico a la sección de separación de fases. La fase gaseosa así obtenida (línea 13) puede ser enviada a un adicional tratamiento a fin de mejorar su componente de hidrocarburos como gas combustible.

[0092] La mezcla (fase oleosa + fase acuosa) obtenida tras el tratamiento térmico es enfriada pasándola por intercambiadores de calor (no representados en la Figura 1) y es enviada (línea 12) a una sección de separación de fases a fin de separar y extraer las dos fases, obteniéndose bioaceite y una fase acuosa.

[0093] El bioaceite (línea 14) puede ser enviado a las subsiguientes fases de procesamiento para transformarlo, por ejemplo, en biocarburante por medio de un tratamiento tal como por ejemplo un tratamiento de hidrogenación o de craqueo (no ilustrado en la Figura 1).

[0094] Como está representado en la Figura 1, la fase acuosa (línea 15) es enviada a un tratamiento de desintoxicación y es posteriormente enviada de regreso, tras un posible adicional enfriamiento en un intercambiador de calor (no representado en la Figura 1), a la fermentación (línea 16).

[0095] Se dan a continuación algunos ejemplos ilustrativos y no limitativos para una mejor comprensión de la presente invención y para su realización.

### Ejemplo 1

#### Hidrólisis ácida de la biomasa

[0096] 300 g de madera de coníferas previamente molida (diámetro de partículas < 1 mm) fueron añadidos a una solución de 20 g de ácido 2-naftalenosulfónico en 1 l de agua.

[0097] La composición de la biomasa de partida era la siguiente: un 50% en peso de celulosa, un 25% en peso de hemicelulosa y un 25% en peso de lignina, con respecto al peso total de la biomasa de partida.

[0098] La mezcla de reacción así obtenida fue mantenida bajo agitación en una autoclave, a 140°C, por espacio de 1 hora, obteniéndose así una primera mezcla que comprendía 225 g (peso en seco) de una primera fase sólida (que comprendía celulosa y lignina) y 1095 g de una primera fase acuosa (que comprendía xilosa derivada de la hidrólisis de hemicelulosa y ácido 2-naftalenosulfónico).

[0099] Tras enfriamiento hasta 25°C, dicha primera mezcla fue sometida a extracción con 1 l de una mezcla de tolueno y n-butanol.

[0100] La mezcla de tolueno y n-butanol fue a continuación separada y evaporada, a presión reducida, obteniéndose así una adicional fase sólida que comprendía 19,6 g (peso en seco) de ácido 2-naftalenosulfónico (con un rendimiento de recuperación de un 98% calculado con respecto a la cantidad total del ácido presente en la solución acuosa).

[0101] Tras la separación del ácido, fue añadido ácido acético glacial a dicha primera mezcla hasta haber sido obtenido un pH de dicha primera fase acuosa igual a 5.

[0102] Posteriormente fue añadida una solución acuosa de la enzima Celluclast 1.5L (Novozymes) que correspondía a 1485 FPU (Unidades de Papel Filtro) y de la enzima Novozym 188 (de Novozymes) que correspondía a 18000 BGU (Unidades de Beta-Glucanasa). A la suspensión así obtenida se la mantuvo bajo agitación por espacio de 72 horas, a 45°C.

[0103] Al final de la hidrólisis enzimática fueron separados por filtración 90 g (peso en seco) de una segunda fase sólida que comprendía lignina (75 g - peso en seco) y celulosa no hidrolizada (15 g - peso en seco) y 1200 g de una segunda fase acuosa que comprendía glucosa (152 g - peso en seco) y xilosa (72 g - peso en seco).

#### Fermentación

[0104] 250 ml de dicha segunda fase acuosa obtenida como se ha descrito anteriormente, que contenía 200 g/l de azúcares, fueron diluidos adecuadamente con agua destilada hasta haber sido obtenida una solución que tenía una concentración final de azúcares igual a 50 g/l.

[0105] Fueron añadidos a esta solución los nutrientes siguientes: sulfato amónico 0,1%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1%,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,005%, NaCl 0,001%,  $\text{CaCl}_2$  0,001% y extracto de levadura 0,1%. El caldo de fermentación (medio de cultivo) así obtenido fue inoculado en un fermentador con células de levadura (*Lypomices starkey* NRRL 1389) (inóculo igual a 2,5 g/l - peso en seco) para un volumen de fermentación igual a 1 litro, y el pH fue mantenido al nivel de 5,5 mediante la adición de una solución acuosa de NaOH 0,1M.

[0106] Las células de levadura fueron cultivadas bajo agitación a 500 rpm, a 30°C, con una aireación de 0,5 l/min. de aire estéril.

5 [0107] Fueron añadidos al fermentador otros 250 ml de dicha segunda fase acuosa que fue obtenida de la hidrólisis de la biomasa y contenía 200 g/l de azúcares, adecuadamente diluida con agua destilada, para así obtener una solución que tenía una concentración final de azúcares igual a 50 g/l.

#### Tratamiento térmico

10 [0108] La suspensión acuosa obtenida, que era igual a aproximadamente 1,25 l y comprendía 52 g de células de levadura, fue concentrada por centrifugación a 7000 rpm, por espacio de 20 minutos, obteniéndose así 0,25 l que comprendían un 20% (peso en seco) de células de levadura y fueron puestos en una autoclave de 0,5 l.

15 [0109] La autoclave fue sometida a una atmósfera de nitrógeno y la temperatura interna fue llevada rápidamente a los 315°C, y toda la mezcla fue mantenida bajo agitación a dicha temperatura por espacio de 1 hora. La presión máxima registrada en la autoclave fue de 11 MPa.

20 [0110] La autoclave fue a continuación rápidamente llevada a una temperatura igual a 70°C, y fue despresionizada a fin de retirar la fase gaseosa formada. Dicha fase gaseosa, que era igual a aproximadamente 6,2 g, fue analizada por cromatografía de gases en línea, y se comprobó que comprendía un 90% en moles de dióxido de carbono.

[0111] La mezcla residual (fase oleosa + fase acuosa) fue aportada a un embudo separador y fue sometida a extracción con cloruro de metileno, obteniéndose así una fase oleosa y una tercera fase acuosa.

25 [0112] Dicha fase oleosa fue secada con sulfato sódico y fue a continuación evaporada a presión reducida para retirar el cloruro de metileno, obteniéndose así aproximadamente 35 g de aceite (el rendimiento sobre las células de levadura secas es igual a un 67,3%).

30 [0113] Dicha fase acuosa, que tenía una demanda química total de oxígeno igual a 43200 mg/l, fue enviada de regreso a la fermentación.

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento que es para la producción de bioaceite a partir de biomásas que incluyan al menos un polisacárido y comprende los pasos de:
  - 5 - someter a dicha biomasa a hidrólisis ácida en presencia de una solución acuosa de al menos un ácido orgánico seleccionado de entre los miembros del grupo que consta de ácidos alquil- o aril-sulfónicos que tengan de C<sub>7</sub> a C<sub>20</sub> átomos de carbono, o de ácidos carboxílicos halogenados, a una temperatura que va desde 80°C hasta 160°C, obteniendo una primera mezcla que comprende una primera fase sólida y una primera fase acuosa;
  - 10 - someter a dicha primera mezcla a hidrólisis enzimática obteniendo una segunda mezcla que comprende una segunda fase sólida y una segunda fase acuosa;
  - someter a dicha segunda fase acuosa a fermentación en presencia de al menos una levadura oleaginosa obteniendo una suspensión acuosa que comprende células de dicha levadura oleaginosa;
  - someter a dicha suspensión acuosa a tratamiento térmico obteniendo una fase oleosa que comprende bioaceite y una tercera fase acuosa, en donde dicho tratamiento térmico es realizado a una temperatura que va desde 150°C hasta 330°C.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, en donde dichos ácidos alquil- o aril-sulfónicos tienen de C<sub>9</sub> a C<sub>15</sub> átomos de carbono.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en donde dicha primera temperatura va desde 100°C hasta 150°C.
4. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho polisacárido es seleccionado de entre los miembros del grupo que consta de celulosa, hemicelulosa o mezclas de las mismas.
5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha biomasa es una biomasa lignocelulósica.
6. Procedimiento según la reivindicación 5, en donde dicha biomasa lignocelulósica es seleccionada de entre los miembros del grupo que consta de:
  - 30 - los productos de cosechas expresamente cultivadas para su uso energético, comprendiendo los subproductos, residuos y desechos de dichas cosechas o de su procesamiento;
  - los productos de cultivos agrícolas, forestación y silvicultura, comprendiendo madera, plantas, residuos y subproductos de procesamientos agrícolas, de forestación y de silvicultura;
  - 35 - los subproductos de agrocomestibles destinados a la alimentación humana o animal;
  - los residuos tratados no químicamente de la industria papelera;
  - el desecho procedente de la recogida diferenciada de desechos urbanos sólidos.
7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha biomasa es tratada sometiéndola a un preliminar proceso de molienda o cribado antes de ser sometida a hidrólisis ácida.
8. Procedimiento según la reivindicación 7, en donde dicha biomasa es tratada hasta obtener partículas que tienen un diámetro que va desde 0,1 mm hasta 10 mm.
9. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha biomasa está presente en la mezcla de reacción en una cantidad que va desde un 5% en peso hasta un 40% en peso con respecto al peso total de la mezcla de reacción.
10. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho ácido orgánico que es al menos uno es soluble en agua y extraíble con un solvente orgánico insoluble en agua.
- 50 11. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dichos ácidos alquil- o aril-sulfónicos son seleccionados de entre los miembros del grupo que consta de ácido dodecilsulfónico, ácido paratoluenosulfónico, ácido 1-naftalenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 1,5-naftalenodisulfónico o mezclas de los mismos.
- 55 12. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dichos ácidos carboxílicos halogenados son seleccionados de entre los que tienen un número de átomos de carbono de no más de 20, tales como ácido trifluoroacético, ácido dicloroacético, ácido tricloroacético, ácido perfluorooctanoico o mezclas de los mismos.
- 60 13. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho ácido orgánico que es al menos uno está presente en la solución acuosa a una concentración que va desde un 0,1% en peso hasta un 5% en peso con respecto al peso total de la solución acuosa.

14. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha hidrólisis ácida es realizada por espacio de un periodo de tiempo que va desde 20 minutos hasta 6 horas.
- 5 15. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha primera fase sólida comprende lignina y celulosa.
- 10 16. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha primera fase acuosa comprende al menos un azúcar que tiene de C<sub>5</sub> a C<sub>6</sub> átomos de carbono y dicho ácido orgánico que es al menos uno.
- 15 17. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha primera mezcla es sometida a extracción con un solvente orgánico insoluble en agua.
- 20 18. Procedimiento según la reivindicación 17, en donde dicho solvente orgánico insoluble en agua es seleccionado de entre los miembros del grupo que consta de: hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, monoclorobenceno, diclorobenceno o mezclas de los mismos; hidrocarburos aromáticos tales como tolueno, xileno o mezclas de los mismos; y alcoholes alifáticos de C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub> tales como n-butanol, n-pentanol o mezclas de los mismos.
- 25 19. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho procedimiento comprende el paso de reutilizar dicho ácido orgánico que es al menos uno en dicha hidrólisis ácida.
- 30 20. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho procedimiento comprende el paso de reutilizar dicho solvente orgánico que es al menos uno y es insoluble en agua en dicha extracción.
- 35 21. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha segunda fase sólida comprende lignina.
- 40 22. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha segunda fase acuosa comprende al menos un azúcar que tiene de C<sub>5</sub> a C<sub>6</sub> átomos de carbono.
- 45 23. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha fermentación es realizada a una temperatura que va desde 20°C hasta 40°C.
- 50 24. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha fermentación es realizada por espacio de un periodo de tiempo que va desde 3 días hasta 10 días.
- 55 25. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha fermentación es realizada a un pH que va desde 4,5 hasta 6,5.
- 60 26. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha levadura oleaginosa es seleccionada de entre los miembros del grupo que consta de: *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula gracilis*, *Rhodotorula graminis*, *Lypomices starkeyi*, *Lypomices lipofer*, *Trigonopsis variabilis*, *Candida kefyri*, *Candida curvata*, *Candida lipolytica*, *Torulopsis sp.* y *Pichia stipitis*.
27. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha fermentación es una fermentación alimentada.
28. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicha suspensión acuosa, al final de la fermentación, es enviada a un tratamiento de espesamiento en donde la concentración de las células de levadura es llevada a valores que van desde un 5% en peso hasta un 50% en peso con respecto al peso total (peso en seco) de la suspensión acuosa.
29. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho tratamiento térmico es realizado a una presión que va desde 0,1 MPa hasta 25 MPa.
30. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho tratamiento térmico es realizado por espacio de un periodo de tiempo igual a 1 minuto o de más de 1 minuto.
31. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho tratamiento térmico es realizado por espacio de un periodo de tiempo que va desde 0,5 horas hasta 2 horas.
32. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde al final de dicho tratamiento térmico la mezcla obtenida (fase oleosa + fase acuosa) es enfriada hasta una temperatura que va desde 40°C

hasta 90°C, antes de ser aportada a una sección de separación/recuperación de las fases siguientes: dicha fase oleosa que comprende bioaceite y dicha tercera fase acuosa.

- 5 33. Procedimiento según la reivindicación 32, en donde dicha tercera fase acuosa es enviada de regreso a la fermentación.

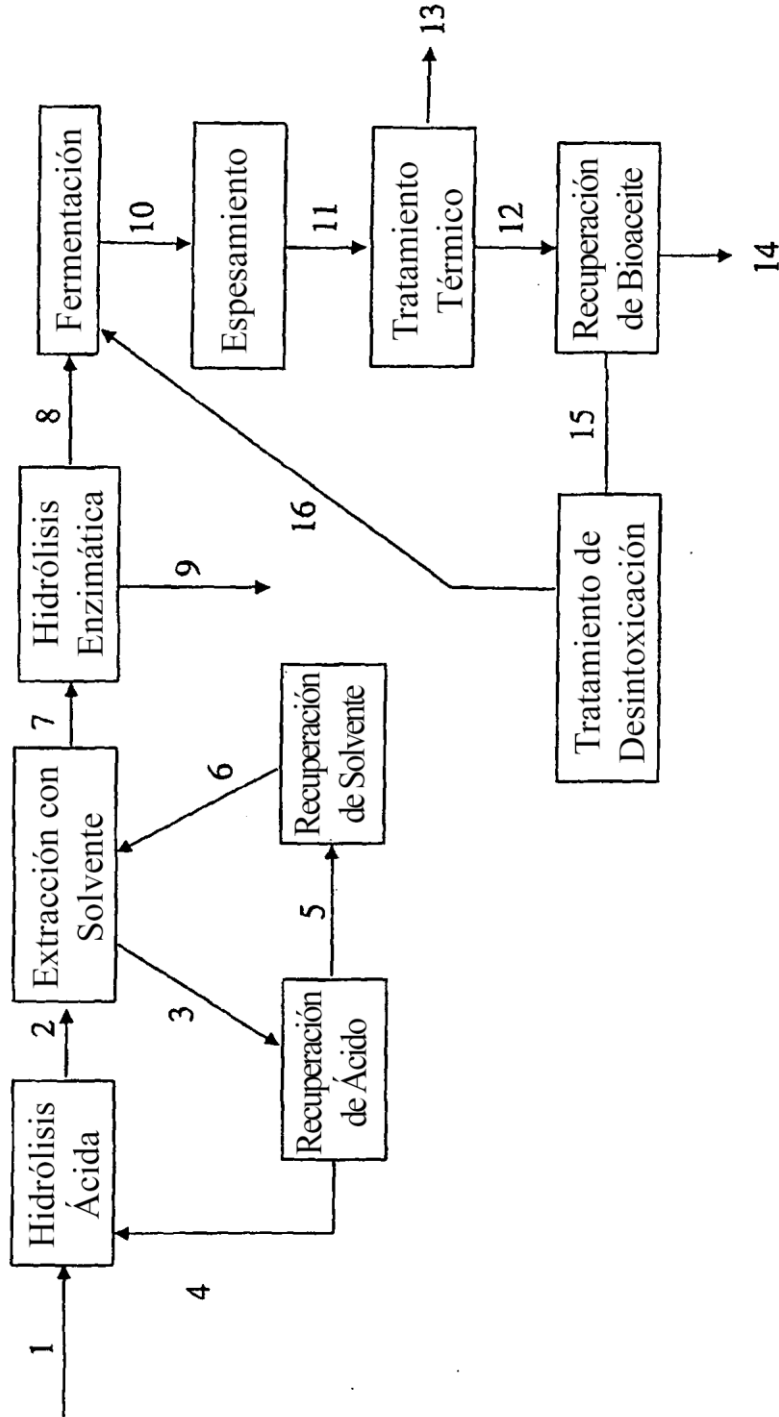


Fig. 1