

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 553 028**

51 Int. Cl.:

**C12P 19/02** (2006.01)

**C12P 19/14** (2006.01)

**C12M 1/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2011 E 11791170 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.08.2015 EP 2640839**

54 Título: **Método y aparato para mezclar un material lignocelulósico con enzimas**

30 Prioridad:

**21.11.2010 US 415849 P**

**21.11.2010 US 415847 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**03.12.2015**

73 Titular/es:

**ANDRITZ, INC. (100.0%)**  
**One Namic Place**  
**Glens Falls, NY 12801, US**

72 Inventor/es:

**ROMERO, RODOLFO y**  
**STROMBERG, BERTIL**

74 Agente/Representante:

**ANGOLOTI BENAVIDES, Joaquín**

**ES 2 553 028 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

Método y aparato para mezclar un material lignocelulósico con enzimas

5 **Antecedentes de la invención**

Esta invención se refiere de manera general al campo de la conversión enzimática de material lignocelulósico en azúcares monoméricos y particularmente a maximizar el rendimiento enzimático durante una fase de licuación de material lignocelulósico previamente tratado.

10 La hidrólisis enzimática de material lignocelulósico previamente tratado plantea muchos desafíos. Estos desafíos van desde la interacción de las propias enzimas con la complejidad bioquímica del material previamente tratado y sus derivados y hasta las características físicas de la mezcla monomérica/oligomérica de líquido/fibra (denominada colectivamente "suspensión") y sus características reológicas.

15 Un reactor convencional para lograr la hidrólisis enzimática requería grandes tanques discontinuos que tienen rotores potentes y caros para mezclar las enzimas en la suspensión. La licuación enzimática de material lignocelulósico puede requerir varias horas de mezclado en los grandes tanques discontinuos. El procedimiento de mezclado reduce la viscosidad del material lignocelulósico convirtiendo el material de una composición generalmente sólida en una suspensión licuada. El material lignocelulósico previamente tratado normalmente comienza el mezclado y procesamiento teniendo una consistencia de tipo lodo.

20 El material lignocelulósico se trata previamente y se somete a conversión enzimática para dar azúcares monoméricos. Las enzimas añadidas al material lignocelulósico tienen normalmente una concentración relativamente baja con respecto al material lignocelulósico. La mezcla de material lignocelulósico y enzimas tiende a ser altamente viscosa a medida que entra en un sistema de reactor de mezclado y tratamiento previo. La alta viscosidad de la mezcla ha motivado el uso de recipientes de reactor relativamente pequeños para reducir el par motor necesario para mezclar la mezcla. Un sistema de este tipo incluye normalmente uno o más recipientes de reactor de hidrólisis.

25 Los recipientes de mezclado de un sistema de reactor de mezclado y tratamiento previo convencional para la licuación enzimática de material lignocelulósico se han hecho funcionar tradicionalmente en un modo discontinuo en lugar de un modo continuo. Con frecuencia un modo discontinuo para mezclar es más adecuado para situaciones en las que varios recipientes de mezclado más pequeños alimentan un recipiente aguas abajo más grande, tal como un digestor u otro recipiente de reactor.

30 Se ha propuesto la recirculación de material licuado para diluir el material lignocelulósico previamente tratado entrante para reducir la viscosidad y mejorar el mezclado. La recirculación tiene la desventaja de que se requiere un volumen de mezclado adicional para lograr el tiempo de retención deseado en el recipiente. El procesamiento discontinuo añade volumen al sistema, ya que tiene que proporcionarse tiempo para llenar y vaciar el recipiente.

35 A partir del documento de la técnica anterior se conoce que se necesita mezclado para fomentar una buena distribución enzimática en biomasa previamente tratada y que facilita altas tasas de conversión, véanse, por ejemplo, los siguientes documentos:

40 - ROCHE CHRISTINE M *ET AL*: "Laboratory-scale method for enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass at high-solids loadings", BIOTECHNOLOGY FOR BIOFUELS, BIOMED CENTRAL LTD, LONDRES, R.U., vol. 2, n.º 1, 4 de noviembre de 2009, página 28, y

50 - JORGENSEN H *ET AL*: "Liquefaction of Ligno-cellulose at High-Solids Concentrations", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, WILEY & SONS, HOBOKEN, NJ, EE.UU., vol. 96, n.º 5, 1 de abril de 2007, páginas 862-870.

55 La publicación "Yield-determining factors in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose", KRISTENSEN J B *ET AL*, BIOTECHNOLOGY FOR BIOFUELS, BIOMED CENTRAL LTD, LONDRES, vol. 2, n.º 11, 8 de junio de 2009, páginas 1 -10, describe el efecto inhibitorio de glucosa y celobiosa sobre la adsorción de celulosa, es decir reduciendo la adsorción de celulasas en el sustrato, lo que a su vez es responsable de la reducción en los rendimientos de conversión.

60 El documento WO-A2-2009/045651 A2 da a conocer un procedimiento para sacarificar biomasa previamente tratada en una biomasa con alto peso en seco para producir azúcares fermentables. La biomasa puede tratarse previamente, por ejemplo, con explosión por vapor. El procedimiento comprende las siguientes etapas: a) proporcionar una parte de componentes de reacción en un reactor de tanque con agitación vertical que tiene un mecanismo de reducción del tamaño de partícula, comprendiendo dichos componentes de reacción: i) una parte de suspensión de biomasa previamente tratada; y ii) una parte de un primer consorcio de enzimas de hidrólisis de celulosa de sacarificación; b) hacer reaccionar dicha suspensión y enzimas; c) aplicar el mecanismo de reducción del tamaño de partícula; d) añadir una parte adicional de biomasa previamente tratada produciendo una suspensión

de biomasa con mayor contenido en sólidos; e) opcionalmente añadir una parte adicional de un consorcio de enzimas de sacarificación; f) hacer reaccionar dicha suspensión de biomasa con mayor contenido en sólidos; y g) opcionalmente repetir una o más etapas (c), (d), (e), y (f) una o más veces, mediante lo cual se produce un hidrolizado con alto contenido en azúcar y en el que el límite elástico de la suspensión se mantiene a menos de 30 Pa.

El documento WO-A1-2009/046524 A1 da a conocer un método para tratar una alimentación lignocelulósica que comprende celulosa, hemicelulosa y lignina para producir una corriente de procedimiento rica en azúcar, comprendiendo el método: a) someter la alimentación a un primer procedimiento de hidrólisis enzimática usando una primera preparación enzimática y obtener una corriente de componentes volátiles y una corriente de efluente de baja viscosidad (viscosidad el 15-50% inferior a la de la alimentación); b) someter la corriente de efluente de baja viscosidad a un segundo procedimiento de hidrólisis enzimática usando una segunda preparación enzimática y obtener una corriente de procedimiento rica en azúcar. La alimentación puede someterse a autohidrólisis que se realiza mediante explosión por vapor antes de la etapa (a).

El documento WO-A1-2005/118828 da a conocer un procedimiento para convertir materiales de lignocelulosa en etanol que comprende las etapas: a) convertir el material de partida en una fracción lignocelulósica sólida con una concentración aumentada de celulosa y una fracción líquida que contiene principalmente hemicelulosas solubilizadas usando un tratamiento previo tal como explosión por vapor; b) someter a hidrólisis previa el material lignocelulósico fibroso con alta consistencia con una enzima de celulosa para proporcionar un material lignocelulósico modificado con fluidez aumentada (lo cual representa, por ejemplo, características mejoradas de mezclado y bombeo), c) simultáneamente someter el material lignocelulósico modificado a hidrólisis continua con una celulasa y a fermentación de etanol en una mezcla de fermentación, d) continuar la fermentación para convertir una parte esencial de los hidratos de carbono disponibles en etanol, e) añadir la fracción líquida que contiene hemicelulosas solubilizadas a la mezcla de fermentación y continuar la fermentación, y f) recuperar etanol a partir de la mezcla de fermentación.

### Sumario de la invención

Existe una necesidad desde hace mucho tiempo de grandes recipientes de mezclado que puedan mezclar material lignocelulósico altamente viscoso con enzimas. Estos recipientes pueden ser recipientes de flujo continuo en los que material lignocelulósico fluye de manera continua al interior, a través y al exterior del recipiente. Un gran recipiente proporcionaría una alta capacidad de flujo, eficaz, para mezclar material lignocelulósico y enzimas. El objeto subyacente a la presente invención es proporcionar un método y sistema correspondientes para tratar un material lignocelulósico. Este objeto se logra por medio del método según la reivindicación 1 y el sistema según la reivindicación 12. En las reivindicaciones dependientes respectivas se mencionan características opcionales preferidas.

La invención puede implicar la adición de una o más enzimas, opcionalmente en una disolución, a una suspensión viscosa para reducir rápidamente la viscosidad de la suspensión. La reducción de la viscosidad puede dar como resultado que la suspensión tenga características más similares a un líquido que a un sólido o una consistencia de tipo lodo espeso. Por ejemplo, la adición de enzimas a un material lignocelulósico provoca una reacción de hidrólisis enzimática que reduce la viscosidad del material hasta obtener la consistencia similar a un líquido y proporciona azúcar(es) monomérico(s).

Se ha diseñado el método que comprende: realizar una reacción de explosión por vapor para producir una suspensión que comprende material lignocelulósico; mezclar la suspensión con materiales basados en álcali y agua en un primer transportador hasta que el pH promedio de la suspensión es de desde aproximadamente 4,5 hasta 6,5, la temperatura promedio de la suspensión es de desde aproximadamente 45 hasta 55 grados centígrados (C), y la suspensión tiene una consistencia (% en peso del peso de partículas insolubles en comparación con el peso total de la suspensión) de desde aproximadamente el 10 hasta el 35%; transferir la suspensión a un segundo transportador; añadir una primera parte de una disolución de enzimas a la suspensión en el segundo transportador, en el que la enzima se añade al transportador desde más de una ubicación dentro del segundo transportador; transferir la suspensión a una mezcladora mediante una bomba de desplazamiento positivo; mezclar la suspensión en una mezcladora a una velocidad de desde aproximadamente 400 hasta 4.000 rpm, durante aproximadamente de 0,05 a 200 segundos, en el que una segunda parte de la disolución de enzimas se añade a la suspensión durante dicho mezclado; transferir la suspensión a un primer reactor para hacer que el material pase desde una viscosidad superior hasta una viscosidad inferior para crear un material sustancialmente líquido, en el que el primer reactor es un recipiente cónico invertido; y transferir el material sustancialmente líquido a un segundo reactor para la licuación adicional e hidrólisis enzimática, en el que la temperatura de la suspensión se mantiene a una temperatura de desde aproximadamente 45 hasta 55 grados desde justo antes de la adición de la primera parte de la disolución de enzimas y a lo largo de toda la duración del procedimiento.

### Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama de flujo de procedimiento del procedimiento global mediante el cual los materiales

lignocelulósicos se mezclan con una o más enzimas o disoluciones que contienen enzimas en una reacción de hidrólisis enzimática con el fin de producir azúcares monoméricos u otros subproductos útiles.

5 La figura 2 es un diagrama esquemático de un reactor que tiene una parte cónica invertida superior y una parte cilíndrica inferior opcional.

La figura 3 es un gráfico que ilustra el cambio en la viscosidad de la suspensión durante la sacarificación y el cambio en el rendimiento enzimático durante la licuación.

10 La figura 4 es un gráfico que ilustra la caracterización de la reología durante la sacarificación.

La figura 5 es un gráfico que también ilustra la caracterización de la reología durante la sacarificación.

15 La figura 6 es un gráfico que ilustra adicionalmente la caracterización de la reología durante la sacarificación.

La figura 7 es un diagrama de flujo que detalla etapas de una determinada realización a modo de ejemplo de la invención.

### 20 Descripción detallada de la invención

25 La invención dada a conocer en el presente documento puede usarse en un procedimiento para derivar, producir o extraer compuestos sencillos a partir de madera, pulpa, fibra, y similares, para su uso en otras aplicaciones tales como la producción de combustible, incluyendo gas etanol. En otras realizaciones, la invención puede aplicarse a reducir la viscosidad de material que contiene celulosa, viscoso, para facilitar el transporte del material para otros procedimientos. Además, la invención puede realizarse para extraer monómeros de determinados compuestos a partir de materiales que contienen celulosa, tales como materiales lignocelulósicos. Además, la invención puede aplicarse para hidrolizar enzimáticamente materiales lignocelulósicos previamente tratados con el fin de producir azúcares monoméricos.

30 La hidrólisis enzimática en materiales lignocelulósicos presenta desafíos, especialmente con respecto a las interacciones entre las enzimas y los materiales lignocelulósicos (y sus derivados), y debido a las características físicas de las fibras, la mezcla monomérica/oligomérica, por ejemplo, la suspensión, y las características reológicas de la misma del material lignocelulósico.

35 Existe una necesidad desde hace mucho tiempo de aumentar el rendimiento enzimático durante la fase de licuación de material lignocelulósico previamente tratado, y particularmente de aumentar el rendimiento enzimático de una manera oportuna para tener un impacto positivo sobre la eficacia del procedimiento de licuación, tal como acelerar el procedimiento de licuación. Las enzimas son un tipo de catalizadores y, en determinados casos, las enzimas pueden funcionar reduciendo la energía de activación para una reacción, aumentando por tanto la tasa a la que se producirá la reacción. Como resultado, pueden formarse productos más rápidamente mediante el uso de enzimas.

40 Enzimas particulares sólo pueden funcionar para "sustratos" o reactantes específicos. En determinadas realizaciones de ejemplo, las enzimas usadas para catalizar la licuación de los materiales lignocelulósicos pueden comprender celulasas o xilanasas.

45 En determinados casos, las celulasas son enzimas que catalizan la celulólisis, por ejemplo, la hidrólisis de celulosa. Hay varios tipos generales de celulasas. Las celulasas apropiadas para usarse como enzima dependen de la reacción que va a catalizarse. Un ejemplo es la endocelulasa, que rompe enlaces internos para alterar la estructura cristalina de la celulosa y expone cadenas de polisacáridos de celulosa individuales. Otro ejemplo es la exocelulasa, que escinde 2-4 unidades de los extremos de las cadenas expuestas producidas mediante endocelulasa, dando como resultado los tetrasacáridos o disacárido tales como celobiosa. En determinadas realizaciones de ejemplo, hay dos tipos principales de exocelulasas (o celobiohidrolasas, abreviadas como CBH), un tipo funciona progresivamente desde el extremo reductor, y un tipo funciona progresivamente desde el extremo no reductor de la celulosa. Otro ejemplo no limitativo de una celulasa es la celobiasa o beta-glucosidasa, que hidroliza el producto de la exocelulasa para dar monosacáridos individuales. Todavía un ejemplo no limitativo adicional de celulasas incluye celulasas oxidantes, que despolimerizan la celulosa mediante reacciones por radicales. Un ejemplo adicional de celulasas son las celulosa fosforilasas, que despolimerizan la celulosa usando fosfatos en lugar de agua. Esta lista de celulasas tiene únicamente fines ilustrativos, y no se pretende que sea limitativa. En determinadas realizaciones de ejemplo, puede usarse cualquier enzima basada en celulasa.

50 55 60 65 En otras realizaciones de ejemplo, puede usarse xilanasas además, o en lugar de, una celulasa. En determinados casos, la xilanasas puede referirse a una clase de enzimas que degradan el polisacárido lineal beta-1,4-xilano para dar xilosa, un azúcar monomérico (por ejemplo, un monosacárido). En determinados casos de ejemplo, la xilanasas puede ayudar a descomponer la hemicelulosa. Sin embargo, esto no es limitativo y en determinadas realizaciones de ejemplo puede usarse cualquier enzima basada en xilanasas para cualquier fin o reacción aplicable.

En determinadas realizaciones de ejemplo, enzimas particulares sólo pueden funcionar para “sustratos” o reactantes específicos. Además, en determinados casos, algunas enzimas funcionan mejor en condiciones específicas. En determinadas realizaciones de ejemplo, algunas enzimas pueden funcionar mejor (por ejemplo, permitir que la reacción global se produzca más rápido o en mayor grado) en un intervalo de temperatura particular, un intervalo de pH particular, o a una concentración particular de reactantes.

En determinadas realizaciones de ejemplo, particularmente cuando se añade una enzima basada en celulasa o xilanasas a una suspensión que comprende una mezcla de material lignocelulósico (y opcionalmente agua), la temperatura de la mezcla, y la temperatura a la que se produce la reacción, se controla para estar en intervalos tales como 40 y 60 grados centígrados (C), de 45 a 55 grados C, y de 48 a 50 grados C. En otras realizaciones de ejemplo, el pH de la mezcla puede controlarse a lo largo de toda la reacción, por ejemplo, el procedimiento de licuación para estar en intervalos tales como de aproximadamente 4 a 6, de aproximadamente 4,5 a 5,5, y de 5 a 6. En determinados ejemplos, estos intervalos de temperatura y pH pueden ser particularmente ventajosos en cuanto a que la enzima funciona “mejor” (por ejemplo, la reacción/el procedimiento puede avanzar más rápido o hasta un grado más completo).

En determinadas realizaciones de ejemplo, la suspensión que comprende material lignocelulósico previamente tratado puede resultar de un procedimiento de tipo explosión por vapor. En una realización de ejemplo de un procedimiento de este tipo mostrada en la figura 1, pueden impregnarse virutas de madera con templada o caliente (por ejemplo, por encima de la temperatura ambiente), a alta presión, de tal manera que el agua penetra en la estructura celular de las virutas de madera. Estos materiales 9 impregnados a alta presión se transferirán entonces a un ciclón o algún tipo de depósito que está a una presión inferior (por ejemplo, presión sustancialmente atmosférica). En determinadas realizaciones de ejemplo, una transición de este tipo desde alta presión hasta baja presión puede dar como resultado la vaporización de parte del agua. El ciclón 10 que contiene los materiales de la explosión por vapor puede tener respiraderos para liberar el vapor.

En determinadas realizaciones de ejemplo, tras haber sometido los materiales lignocelulósicos a un procedimiento de explosión por vapor, u otros métodos de tratamiento previo, se transfiere la suspensión resultante a un ciclón 10. La suspensión resultante de materiales lignocelulósicos estará a una temperatura elevada, de hasta aproximadamente 300 grados C, o un intervalo de 75 a 200 grados C, y de 100 a 200 grados C. En el ciclón 10, los materiales pueden permanecer a presión sustancialmente atmosférica en determinadas realizaciones de ejemplo.

En determinados casos, la consistencia (el porcentaje en peso de partículas sólidas insolubles en la mezcla que comprende esas partículas y agua) de la suspensión es de desde aproximadamente el 20 hasta el 50% (% en peso). En realizaciones de ejemplo adicionales, el pH de la suspensión puede ser de desde aproximadamente 1 hasta 4 (y todos los subintervalos dentro del mismo). En determinadas realizaciones de ejemplo, puede necesitarse aumentar el pH de la suspensión con el fin de que las condiciones sean más ideales para la enzima. En realizaciones de ejemplo adicionales, puede necesitarse reducir la temperatura de la suspensión con el fin de que esté dentro del intervalo de temperatura que es más ideal para el rendimiento de la enzima.

La figura 1 muestra una realización a modo de ejemplo para mezclar una enzima con suspensión 9 basada en material lignocelulósico. En determinadas realizaciones de ejemplo, tras este procedimiento de explosión por vapor u otro tratamiento previo, la suspensión 9 que comprende los materiales lignocelulósicos se transfiere desde un ciclón 10 o cualquier tipo de recipiente en el que se realizó el tratamiento previo a un primer transportador 12. La suspensión 9 en el ciclón puede estar a una temperatura de aproximadamente 100 grados C (dentro de 15 grados con respecto a 100°C), tener un contenido en sólidos del 40% en peso y tener un pH de 1 a 4. Desde el ciclón, la suspensión 1 se transfiere al transportador 12. El primer transportador 12 puede ser un tornillo, o más particularmente, un “tornillo de enfriamiento y ajuste del pH.” En este transportador 12, en determinados ejemplos, pueden alterarse la temperatura o el pH de la suspensión, tal como se describió anteriormente, de tal manera que las condiciones se vuelven más ideales para la enzima. En determinadas realizaciones de ejemplo, se reduce la temperatura de la suspensión, y se aumenta el pH. Sin embargo, esto es únicamente ilustrativo, y puede no ser siempre así dependiendo del pH o la temperatura de la mezcla durante o tras el tratamiento previo.

En determinadas realizaciones de ejemplo, mientras está en el transportador 12, pueden añadirse materiales 3 de cambio del pH, tales como un material de álcali, o materiales 5 de cambio de la temperatura, tales como agua fría, a la suspensión con el fin de alterar el pH, o la consistencia o la temperatura de la suspensión de tal manera que estos valores se encuentren dentro de los intervalos tal como se describieron anteriormente. Un sensor 11, tal como un sensor de temperatura, puede monitorizar la suspensión descargada por el transportador 12 y proporcionar datos para ajustar el pH y la temperatura de la suspensión en el transportador 12. En determinados ejemplos, los materiales 3 de cambio del pH pueden ser compuestos basados en álcali o los materiales 5 de cambio de la temperatura pueden ser agua fría, por ejemplo, agua a una temperatura inferior a la temperatura inicial de la suspensión. En otras realizaciones de ejemplo, si la temperatura de la suspensión es demasiado alta, o el pH es demasiado alto, pueden añadirse materiales de cambio del pH y de la temperatura que comprenden compuestos ácidos o agua caliente con el fin de alterar el pH o la temperatura de la suspensión de tal manera que estos valores se encuentren dentro de los intervalos descritos anteriormente. En realizaciones de ejemplo adicionales, mientras está en el primer transportador, se reduce la consistencia de la suspensión hasta aproximadamente del 10 al 30%

en peso, o hasta aproximadamente del 15 al 30%, o hasta aproximadamente del 18 al 25%.

- Tras alterarse el pH, la temperatura, o la consistencia de la suspensión mediante la adición de materiales 3 de cambio del pH, por ejemplo, compuestos de álcali, y materiales 5 de cambio de la temperatura, por ejemplo, agua fría, en el primer transportador 12 para que se encuentren dentro de un intervalo más ideal o deseado para el rendimiento de la enzima, la suspensión 1 puede transferirse a un segundo transportador 14 que también puede ser un transportador de tornillo. En este segundo transportador, una parte 7' de la disolución 7 de enzimas puede pulverizarse o combinarse de otro modo con la suspensión en el transportador 14. En algunos casos, la disolución 7' de enzimas puede pulverizarse en el transportador mediante boquillas 15 de pulverización que están uniformemente distribuidas a lo largo de todo el transportador. En otras realizaciones de ejemplo, la disolución 7' de enzimas puede añadirse a la suspensión mediante entradas 13 axiales (que pueden estar en ambos extremos del transportador) no mostradas en la figura 1, o entradas ubicadas en diversas posiciones separadas de manera irregular en el transportador 14 (tampoco mostradas en la figura 1).
- Tras la adición de la parte 7' de disolución de enzimas a la suspensión, la suspensión (incluyendo la disolución 7' de enzimas) puede transferirse a un recipiente 16. En determinadas realizaciones de ejemplo, la suspensión permanecerá en el recipiente 16 hasta añadir más suspensión al recipiente para las etapas de procesamiento restantes. El recipiente 16 puede ser un tanque intermedio. En otras realizaciones de ejemplo, la suspensión puede transferirse directamente a una mezcladora 18, en vez de ir al recipiente 16. En algunos casos, puede usarse una bomba 17 de desplazamiento positivo, para transferir la suspensión a la mezcladora 18 a través de tuberías 23. La bomba 17 de desplazamiento positivo puede ser una bomba de desplazamiento positivo de consistencia media. La bomba de desplazamiento positivo puede estar alternativamente en una tubería que se extiende directamente desde el transportador 14 hasta la mezcladora 18.
- En determinadas realizaciones de ejemplo, cuando se transfiere la suspensión a la mezcladora 18, la suspensión tiene una viscosidad de más de aproximadamente 15.000 mPa·s, más particularmente una viscosidad de más de aproximadamente 20.000 mPa·s, y en determinados ejemplos, puede incluso tener una viscosidad de más de aproximadamente 25.000 mPa·s.
- La mezcladora 18 puede ser una mezcladora de consistencia media (MC) La parte 7" de disolución de enzimas puede añadirse a la mezcladora 18 con la suspensión. Alternativamente, una vez transferida la suspensión a la mezcladora 18, la suspensión puede mezclarse, y posteriormente puede añadirse la parte 7" de la disolución 7 de enzimas a la suspensión. En algunos casos, la disolución 7" de enzimas puede añadirse antes de mezclar la suspensión y la parte de disolución de enzimas. En otras realizaciones de ejemplo, la disolución 7" puede añadirse simultáneamente, o con posterioridad, al inicio del mezclado. En realizaciones de ejemplo adicionales, la disolución 7" puede añadirse a la mezcladora 18 al mismo tiempo que se añade la suspensión a la mezcladora 18 de tal manera que tanto la suspensión como la parte 7" de disolución de enzimas están ambas presentes antes del inicio del mezclado.
- En una realización a modo de ejemplo, la parte 7" de disolución de enzimas y la suspensión se añaden a la mezcladora 18 de manera sustancialmente simultánea, mientras que la mezcladora está funcionando a velocidades de giro tales como velocidades en intervalos de 200 a 6.000 rpm (revoluciones por minuto), de 300 a 5.000 rpm, y de 400 a 4.000 rpm. La suspensión y la parte 7" de enzimas pueden mezclarse durante determinados periodos predeterminados tales como periodos en intervalos de 0,05 a 500 segundos, de 0,1 a 300 segundos, y de 0,1 a 100 segundos. Mezclar la suspensión y la parte 7" de disolución de enzimas en la mezcladora 18 de esta manera y a las velocidades anteriormente comentadas puede dar ventajosamente como resultado una digestión más rápida de las fibras en la suspensión, sin degradar ni desnaturalizar significativamente las enzimas de la disolución de enzimas.
- Tras haber mezclado ambas partes 7' y 7" de enzimas en la suspensión, entonces se transfiere la suspensión, por ejemplo, se bombea, a otro recipiente 20. El recipiente 20 puede ser una mezcladora o reactor de alta consistencia. El recipiente 20 puede permitir una transición más suave desde un material muy viscoso hasta un material menos viscoso, o incluso un líquido, en determinadas realizaciones de ejemplo.
- La figura 2 muestra una realización a modo de ejemplo del recipiente 20. En determinadas realizaciones a modo de ejemplo, el recipiente 20 puede comprender un reactor y recipiente de mezclado que tiene una sección 30 superior cónica y una sección 32 inferior cilíndrica. Estas secciones 30, 32 definen una cámara de reacción interna en la que la suspensión se mezcla adicionalmente con la(s) enzima(s) y se hidroliza al menos parcialmente. La cámara de reacción interna del recipiente 20 puede tener un volumen de 20.000 metros cúbicos; 25.000 metros cúbicos o más (o menos). La cámara de reacción puede tener un volumen sustancialmente más grande que recipientes de mezclado/reactor discontinuos convencionales usados convencionalmente para mezclar una suspensión altamente viscosa.
- El recipiente incluye un árbol 36 giratorio que se extiende a lo largo del eje vertical del recipiente. El árbol se impulsa (se hace girar) mediante un conjunto 34 de motor y caja de engranajes, que puede montarse en la parte superior o de fondo del recipiente. El árbol 36 es coaxial a un eje vertical del recipiente y se extiende a lo largo de la altura del

recipiente.

5 La suspensión 24 previamente tratada que comprende materiales lignocelulósicos, enzimas y posiblemente otros componentes puede alimentarse de manera continua a una entrada 40 superior del recipiente 20. La suspensión (incluyendo las enzimas) puede alimentarse como una mezcla al recipiente. En otras realizaciones, la suspensión y partes adicionales de enzimas o disoluciones de enzimas pueden alimentarse por separado al recipiente 20. Si se desea, también puede introducirse suspensión hidrolizada de baja viscosidad recirculada en la entrada 40 superior del recipiente 20.

10 La entrada 40 alimenta la suspensión a una región estrecha de la sección 30 superior cónica. El fondo de la sección inferior es adyacente a una salida 38 de descarga para la suspensión parcial o sustancialmente hidrolizada que fluye continuamente al exterior del recipiente 20 a través de la bomba 21 a otras unidades de procesamiento, tales como otro reactor.

15 En determinados casos, la suspensión puede tener inicialmente una viscosidad de más de aproximadamente 12.500 mPa-s (miliPascales por segundo), más particularmente de más de aproximadamente 15.000 mPa-s, e incluso de más de aproximadamente 20.000 mPa-s, cuando la suspensión llega por primera vez al recipiente 20. En determinadas realizaciones de ejemplo, la viscosidad de la suspensión puede cambiar desde los valores altamente viscosos anteriormente mencionados hasta valores menos viscosos tales como menos de aproximadamente 5.000 mPa-s, menos de aproximadamente 3.000 mPa-s, y menos de aproximadamente 2.000 mPa-s. En determinadas realizaciones de ejemplo, la suspensión puede incluso volverse un líquido.

25 La sección 30 superior cónica del recipiente 20 es estrecha en la entrada 40 que recibe la suspensión altamente viscosa que entra en el recipiente. Aunque la alta viscosidad de la suspensión aumenta el par motor inicial necesario para hacer girar el dispositivo de mezclado, el par motor se reduce debido a los brazos 42' de mezclado cortos en la parte superior estrecha. La suspensión puede volverse menos viscosa a medida que se mueve hacia abajo a través del recipiente. La reducción de la viscosidad reduce la demanda de par motor para hacer girar los brazos de mezclado, en determinadas realizaciones de ejemplo. Los brazos en las partes inferiores de la sección 42" cónica superior son más largos que los brazos 42' superiores. Los brazos más largos requieren más par motor para girar a través de la suspensión. Los efectos combinados de la reducción de la viscosidad de la suspensión y los brazos más largos dan como resultado requisitos de par motor aceptables para el dispositivo de mezclado en la sección cónica superior. Al mismo tiempo permite un recipiente 20 de capacidad relativamente grande.

35 La parte 32 cilíndrica inferior del recipiente 20 puede tener pata 42" y brazos de mezclado de longitud uniforme. Un dispositivo 36 alargado o de descarga en el fondo del recipiente se descarga desde el recipiente.

40 En determinadas realizaciones de ejemplo, el procedimiento de reducir la viscosidad de la suspensión en el recipiente 20 puede requerir ciertos periodos predeterminados en un intervalo de aproximadamente 5 a 2000 minutos (min), de aproximadamente 10 a 1000 min, y de aproximadamente 10 a 600 min (y todos los intervalos entre los mismos).

45 Tal como se muestra en la figura 1, tras haberse vuelto la suspensión un líquido en el recipiente 20, puede usarse una bomba 21 para transferir el líquido a otro reactor 22 en el que puede tener lugar licuación adicional o hidrólisis enzimática adicional, en determinadas realizaciones de ejemplo. La bomba 21 usada para transferir el líquido al reactor 22', 22", 22''' puede ser una bomba centrífuga o de desplazamiento positivo en determinadas realizaciones de ejemplo. En realizaciones de ejemplo adicionales, el reactor 22 puede ser un reactor de hidrólisis enzimática. En algunos casos, puede tener lugar una hidrólisis enzimática sustancialmente completa en uno o más reactores 22', 22", 22''', cada uno con dispositivos de mezclado giratorios. El producto 44 descargado de los reactores 22', 22", 22''' puede ser una suspensión licuada del material celulósico tras la hidrólisis enzimática.

50 En determinadas realizaciones de ejemplo, los productos 44 del procedimiento de hidrólisis enzimática pueden incluir azúcares, tales como azúcares monoméricos. Estos productos pueden bombearse mediante bombas 46 de desplazamiento positivo para usarse en una amplia variedad de campos o usos. Los productos 44 pueden usarse para producir etanol, o cualquier otro producto químico de valor añadido.

55 Aunque la temperatura o el pH de la suspensión pueden fluctuar ligeramente a lo largo del procedimiento de hidrólisis, resulta ventajoso que la temperatura permanezca por debajo de aproximadamente 50 grados C, y el pH permanezca en el intervalo de aproximadamente 5 a 6, con el fin de aumentar el rendimiento enzimático, en determinadas realizaciones de ejemplo.

60 La figura 3 es un gráfico que ilustra el cambio en la viscosidad y la sacarificación enzimática de una premezcla de PCS en una mezcladora Quantum a dos velocidades diferentes. Los datos en la figura 3 indican que la viscosidad de una suspensión que contiene material celulósico disminuye rápidamente durante la sacarificación enzimática y el rendimiento enzimático aumenta de manera relativamente lenta en comparación con la disminución de la viscosidad. La figura 3 respalda el uso de un primer reactor cónico invertido para mezclar un material celulósico y enzima durante un periodo relativamente corto, por ejemplo, de 0,5 horas a 1,5 horas, mientras que la viscosidad del

material es alta. El primer reactor cónico invertido es adecuado para mezclar un material que tiene una viscosidad que se reduce rápidamente porque la región superior del primer reactor cónico tiene brazos de mezclado relativamente cortos adaptados para mezclar un material altamente viscoso y los brazos se alargan progresivamente en un sentido descendente del recipiente que corresponde a la reducción de la viscosidad del material.

La figura 4 es un gráfico que ilustra la caracterización de la reología de forraje de maíz previamente tratado durante la sacarificación a una mezcla inicial de 50 hz (2000 rpm) y 10 segundos. La figura 4 muestra que la viscosidad (mPa\*s) del forraje de maíz se reduce mezclando el forraje durante la sacarificación enzimática a velocidades de giro por encima de 20 rpm, y tras la mezcla inicial de sacarificación enzimática.

La figura 5 es un gráfico que ilustra la caracterización de la reología de forraje de maíz previamente tratado durante la sacarificación a una mezcla inicial de 35 hz (1400 rpm) y 10 segundos. La figura 5 muestra que la viscosidad (mPa\*s) del forraje de maíz se reduce mezclando el forraje durante la sacarificación enzimática a velocidades de giro por encima de 20 rpm, y tras la mezcla inicial de sacarificación enzimática.

La figura 6 es un gráfico que ilustra la caracterización de la reología de forraje de maíz previamente tratado durante la sacarificación a una mezcla inicial de 50 hz (2000 rpm) y 10 segundos, y después mezclando de manera continua a 200 rpm. La figura 6 muestra que la viscosidad (mPa\*s) del forraje de maíz se reduce mezclando el forraje durante la sacarificación enzimática a velocidades de giro por encima de 20 rpm, y tras la mezcla inicial de sacarificación enzimática.

La figura 7 ilustra un método de ejemplo para la licuación según un aspecto de esta invención. Se proporciona una suspensión que comprende materiales lignocelulósicos. Se alteran la temperatura, el pH y la consistencia de la suspensión hasta que se encuentran dentro de un intervalo particular lo más adecuado para una enzima o disolución de enzimas particular. Tras alcanzar la temperatura, el pH y la consistencia deseados, se añaden partes de una disolución de enzimas a la suspensión, y se mezcla la suspensión en diferentes fases hasta que su viscosidad se reduce de tal manera que se vuelve un líquido. La suspensión experimenta una reacción de hidrólisis enzimática. La hidrólisis enzimática de la suspensión puede producir azúcares monoméricos.

Este método de ejemplo comprende: realizar una reacción de explosión por vapor para producir una suspensión que comprende material lignocelulósico en la etapa S1. Mezclar la suspensión con materiales basados en álcali y agua en un primer transportador hasta que el pH promedio de la suspensión es de desde aproximadamente 4,5 hasta 6,5, la temperatura promedio de la suspensión es de desde aproximadamente 45 hasta 55 grados C, y la suspensión tiene una consistencia (% en peso de partículas insolubles en comparación con el peso total de la suspensión) de desde aproximadamente el 10 hasta el 35% en la etapa S2. Transferir la suspensión a un segundo transportador en la etapa S3. Añadir una primera parte de una disolución de enzimas a la suspensión en el segundo transportador, en el que la enzima se añade al transportador desde más de una ubicación dentro del segundo transportador en la etapa S4. Transferir la suspensión a una mezcladora mediante una bomba de desplazamiento positivo en la etapa S5. Mezclar la suspensión en una mezcladora a una velocidad de desde aproximadamente 400 hasta 4.000 rpm, durante aproximadamente de 0,05 a 200 segundos, en el que se añade una segunda parte de la disolución de enzimas a la suspensión durante dicho mezclado en la etapa S6. Transferir la suspensión a un primer reactor para hacer que el material pase desde una viscosidad superior hasta viscosidad inferior para crear un material sustancialmente líquido, en el que el primer reactor es un recipiente cónico invertido en la etapa S7. Transferir el material sustancialmente líquido a un segundo reactor para la licuación adicional e hidrólisis enzimática, en el que la temperatura de la suspensión se mantiene a una temperatura de desde aproximadamente 45 hasta 55 grados C desde justo antes de la adición de la primera parte de la disolución de enzimas y a lo largo de toda la duración del procedimiento, en la etapa S8.

## Bibliografía

Documento WO-A1-2005/118828

Documento WO-A1-2009/046524

Documento WO-A1-2011/080154

Documento WO-A2-2009/045651

ROCHE CHRISTINE M *ET AL*: "Laboratory-scale method for enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass at high-solids loadings", BIOTECHNOLOGY FOR BIOFUELS, BIOMED CENTRAL LTD, LONDRES, R.U., vol. 2, n.º 1, 4 de noviembre de 2009 (04-11-2009), página 28, XP021064812, ISSN: 1754-6834, DOI: 10.1186/1754-6834-2-28

JORGENSEN H *ET AL*: "Liquefaction of Lignocellulose at High-Solids Concentrations", BIOTECHNOLOGY AND BIOENGINEERING, WILEY & SONS, HOBOKEN, NJ, EE.UU., vol. 96, n.º 5, 1 de abril de 2007 (01-04-2007), páginas 862-870, XP003019466, ISSN: 0006-3592, DOI: 10.1002/BIT. 21115

- 5 KRISTENSEN J B *ET AL*: "Yield-determining factors in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose", BIOTECHNOLOGY FOR BIOFUELS, BIOMED CENTRAL LTD, LONDRES, R.U., vol. 2, n.º 11, 8 de junio de 2009 (08-06-2009), páginas 1-10, XP002638186, ISSN: 1754-6834, DOI: 10.1186/1754-6834-2-11 [recuperado el 08-06-2009]
- 10 LU Y *ET AL*: "Influence of high solid concentration on enzymatic hydrolysis and fermentation of steam-exploded corn stover biomass", APPLIED BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY, HUMANA PRESS, INC, ESTADOS UNIDOS, vol. 160, n.º 2, 1 de enero de 2010 (01-01-2010), páginas 360-369, XP002638185, ISSN: 0273-2289, DOI: 10.1007/S12010-008-8306-0 [recuperado el 15-07-2008]
- 15 GEORGIEVA T I *ET AL*: "Enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation of high dry matter wet-exploded wheat straw at low enzyme loading", APPLIED BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY 200803 EE.UU. LNKD- DOI: 10.1007/S12010-007-8085-Z, vol. 148, n.º 1-3, marzo de 2008 (03-2008), páginas 35-44, XP002668849, ISSN: 0273-2289
- 20 ROSGAARD L *ET AL*: "Effects of substrate loading on enzymatic hydrolysis and viscosity of pretreated barley straw", APPLIED BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY 200710 EE.UU. LNKD- DOI:10.1007/S12010-007-0028-1, vol. 143, n.º 1, octubre de 2007 (10-2007), páginas 27-40, XP002668850, ISSN: 0273-2289
- PAMLQVIST, B. *ET AL*: "Effect of mixing on enzymatic hydrolysis of steam-pretreated spruce: a quantitative analysis of conversion and power consumption", BIOTECHNOLOGY FOR BIOFUELS, [en línea] vol. 4, n.º 10, 11 de mayo de 2011 (11-05-2011), páginas 1-8, XP002668851, DOI: 10.1186/1754-6834-4-10 Recuperado de Internet: URL: <http://www.biotechnologyforbiofuels.com/content/4/1/10> [recuperado el 01-02-2012]

## REIVINDICACIONES

1. Método para tratar un material lignocelulósico de manera continua, que comprende:
  - 5 realizar una reacción de explosión por vapor en el material lignocelulósico para producir una suspensión (9) que incluye el material lignocelulósico;
  - añadir un material (3) de álcali a la suspensión (9) en un primer transportador (12), en el que el material (3) de álcali aumenta el pH promedio de la suspensión (9) que pasa a través del primer transportador (12);
  - 10 transferir la suspensión (9) con el material (3) de álcali desde el primer transportador (12) hasta un segundo transportador (14);
  - añadir una primera parte (7') de una disolución (7) de enzimas a la suspensión (9) mientras está en, entrando en, o en la descarga del, segundo transportador (14);
  - 15 transferir la suspensión (9) con la disolución (7) de enzimas desde el segundo transportador (14) hasta una mezcladora (18);
  - mezclar la suspensión (9) en la mezcladora (18), en el que una segunda parte (7'') de la disolución (7) de enzimas se añade a la suspensión (9) durante el mezclado, transferir la suspensión (9) con la disolución (7) de enzimas desde la mezcladora (18) hasta un primer reactor, y
  - 20 someter la suspensión (9) en el primer reactor a hidrólisis enzimática, en el que la viscosidad de la suspensión (9) se reduce en el primer reactor.
2. Método según la reivindicación 1, que comprende además descargar la suspensión (9) como material sustancialmente líquido desde el primer reactor y transferir la suspensión (9) hasta un segundo reactor (22) para una hidrólisis enzimática adicional, en el que el primer reactor es un primer recipiente (20) de reactor que tiene una sección (30) superior que incluye una pared exterior troncocónica y un área de sección transversal que se expande en un sentido descendente.
- 30 3. Método según la reivindicación 1 ó 2, que comprende además mantener la temperatura de la suspensión (9) en un intervalo de aproximadamente 45 a 55 grados C desde la adición de la primera parte (7') de la disolución (7) de enzimas hasta al menos una descarga desde el primer o el segundo reactor (22).
4. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el primer reactor es un primer recipiente (20) de reactor que incluye una entrada (40) superior que recibe la suspensión (9) con disolución (7) de enzimas y una sección (30) superior que tiene una forma cónica con un área de sección transversal que se expande en un sentido descendente, y la sección (30) superior incluye una mezcladora giratoria interna con brazos (42', 42'') giratorios que se extienden radialmente hacia fuera desde un árbol (36) axial orientado verticalmente, siendo los brazos (42', 42'') sucesivamente más largos a medida que aumenta el área de sección transversal de la sección (30) superior.
- 40 5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la suspensión (9) con el material (3) de álcali en el primer transportador (12) tiene un pH promedio en un intervalo de aproximadamente 4,5 a 6,5, una temperatura promedio en un intervalo de aproximadamente 45 a 55 grados centígrados (C), y una consistencia en un intervalo de aproximadamente el 10 al 35% en peso en el que el % en peso se basa en el peso de partículas insolubles en la suspensión (9) y el peso total de la suspensión (9).
- 50 6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la primera parte (7') de la disolución (7) de enzimas se añade a la suspensión (9) en una pluralidad de ubicaciones dentro del segundo transportador (14), por ejemplo entradas (13) para inyección de enzimas que están igualmente separadas en una pluralidad de ubicaciones a lo largo de una longitud longitudinal de un tornillo del segundo transportador (14).
- 55 7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la mezcladora (18) incluye un dispositivo de mezclado que gira dentro de la mezcladora (18) a una velocidad en un intervalo de aproximadamente 400 a 4.000 revoluciones por minuto (rpm).
- 60 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la suspensión (9) se retiene en la mezcladora (18) tan sólo durante un periodo en un intervalo de aproximadamente 0,05 a 200 segundos.
9. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la suspensión (9) se transfiere desde el segundo transportador (14) hasta la mezcladora (18) mediante una bomba (17) de desplazamiento positivo.
- 65

10. Método según la reivindicación 9, que comprende además retener temporalmente la suspensión (9) desde el segundo transportador (14) en un tanque (16) intermedio y bombear la suspensión (9) desde el tanque (16) intermedio mediante la bomba (17) de desplazamiento positivo hasta la mezcladora (18).
- 5 11. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el mezclado en el primer transportador (12) enfría y aumenta el pH de la suspensión (9) en comparación con las condiciones de la suspensión (9) que entra en el primer transportador (12).
- 10 12. Sistema para licuar de manera continua un material lignocelulósico que comprende:
- un reactor de explosión por vapor que recibe el material lignocelulósico saturado con agua, que somete el material a una rápida liberación de presión para provocar una reacción de explosión por vapor y que descarga una suspensión (9) que comprende el material lignocelulósico tras la reacción de explosión por vapor;
- 15 un primer transportador (12) de tornillo en comunicación de fluido con una descarga del reactor de explosión por vapor, incluyendo el primer transportador (12) de tornillo un tornillo giratorio a través del cual pasa la suspensión (9) descargada desde el reactor de explosión por vapor, y una entrada a través de la cual se inyecta un material (3) basado en álcali en la suspensión (9) que pasa a través del primer transportador (12) de tornillo;
- 20 un segundo transportador (14) de tornillo en comunicación de fluido con una descarga de la suspensión (9) desde el primer transportador (12) de tornillo, en el que el segundo transportador (14) de tornillo incluye un tornillo giratorio a través del cual pasa la suspensión (9) desde el primer transportador (12) de tornillo y una pluralidad de entradas (13) para inyectar una primera parte (7') de una disolución (7) de enzimas en la suspensión (9) en el segundo transportador de tornillo, en el que las entradas (13) para la inyección de enzimas están preferiblemente separadas por igual en una pluralidad de ubicaciones a lo largo de una longitud longitudinal de un tornillo del segundo transportador (14) de tornillo;
- 25 una mezcladora (18) en comunicación de fluido con una descarga del segundo transportador (14) de tornillo, en el que la mezcladora (18) incluye un dispositivo de mezclado que gira a una velocidad de aproximadamente 400 a 4.000 rpm, y la mezcladora (18) retiene la suspensión (9) desde el segundo transportador (14) de tornillo durante aproximadamente de 0,05 a 200 segundos, y el dispositivo de mezclado incluye una entrada a través de la cual se añade una segunda parte (7'') de la disolución (7) de enzimas a la suspensión (9) durante el mezclado; y
- 30 un primer reactor para hacer que la suspensión (9) con la disolución (7) de enzimas pase desde una viscosidad superior hasta una viscosidad inferior para crear un material sustancialmente líquido, en el que el primer reactor es un primer recipiente (20) de reactor que incluye una sección (30) superior que tiene una pared exterior troncocónica, un área de sección transversal que se expande en un sentido descendente, y un dispositivo de mezclado con brazos (42', 42'') radiales giratorios que son progresivamente más largos en un sentido descendente a través de la sección (30) superior.
- 35 13. Sistema según la reivindicación 12, en el que el primer recipiente (20) de reactor incluye un fondo abierto, y el segundo reactor está inmediatamente por debajo del primer recipiente (20) de reactor e incluye una pared exterior cilíndrica y una parte superior abierta conectada al fondo abierto del primer recipiente (20) de reactor.
- 40 14. Sistema según la reivindicación 12, en el que el segundo reactor (22) incluye una pluralidad de segundos recipientes (22', 22'', 22''') de reactor que reciben cada uno la suspensión (9).
- 45 15. Sistema según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, que comprende además un tanque (16) intermedio que retiene temporalmente la suspensión (19) desde el segundo transportador (14) y que descarga la suspensión (19) a una bomba (17) de desplazamiento positivo.
- 50
- 55

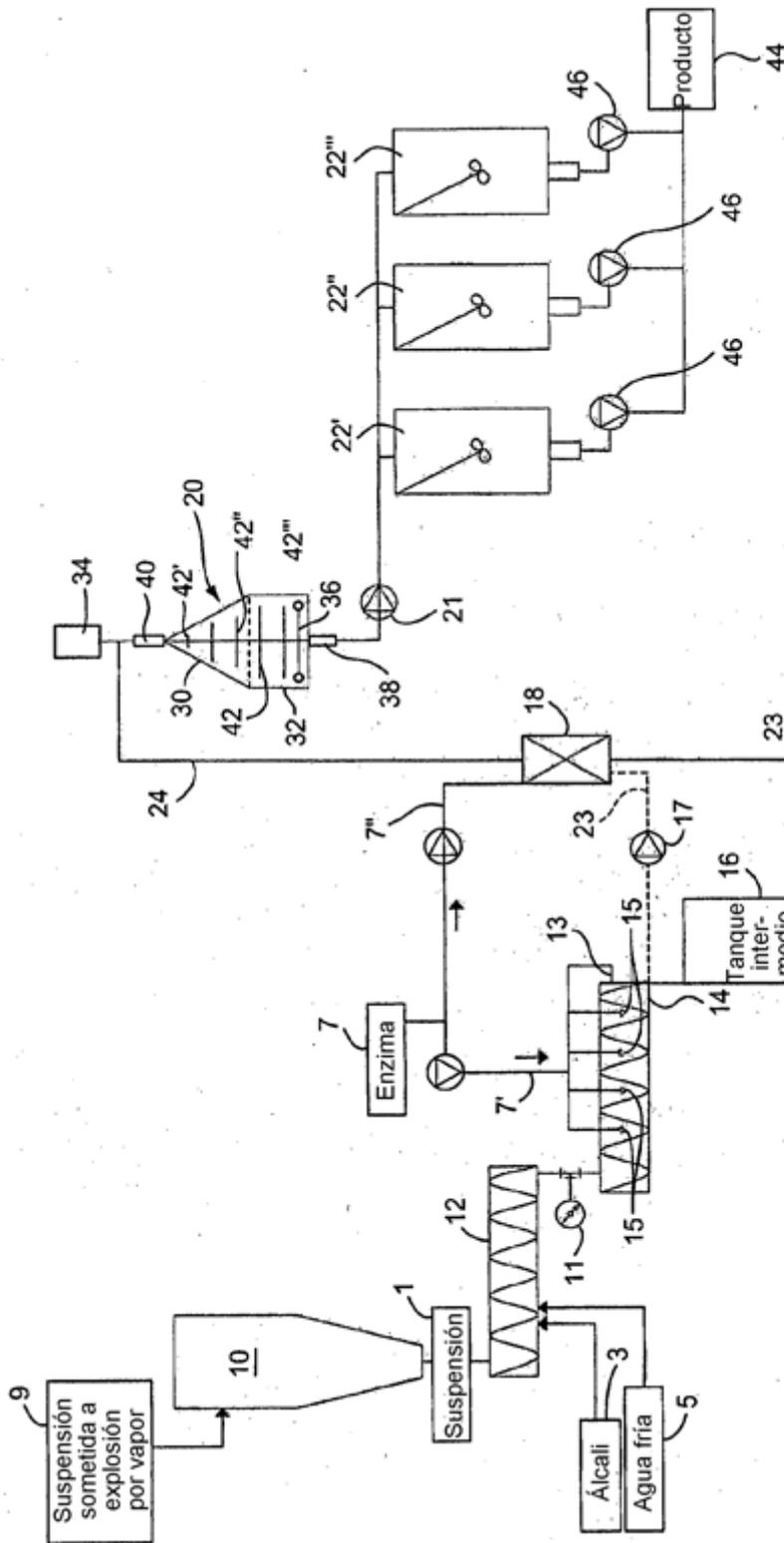


FIG. 1

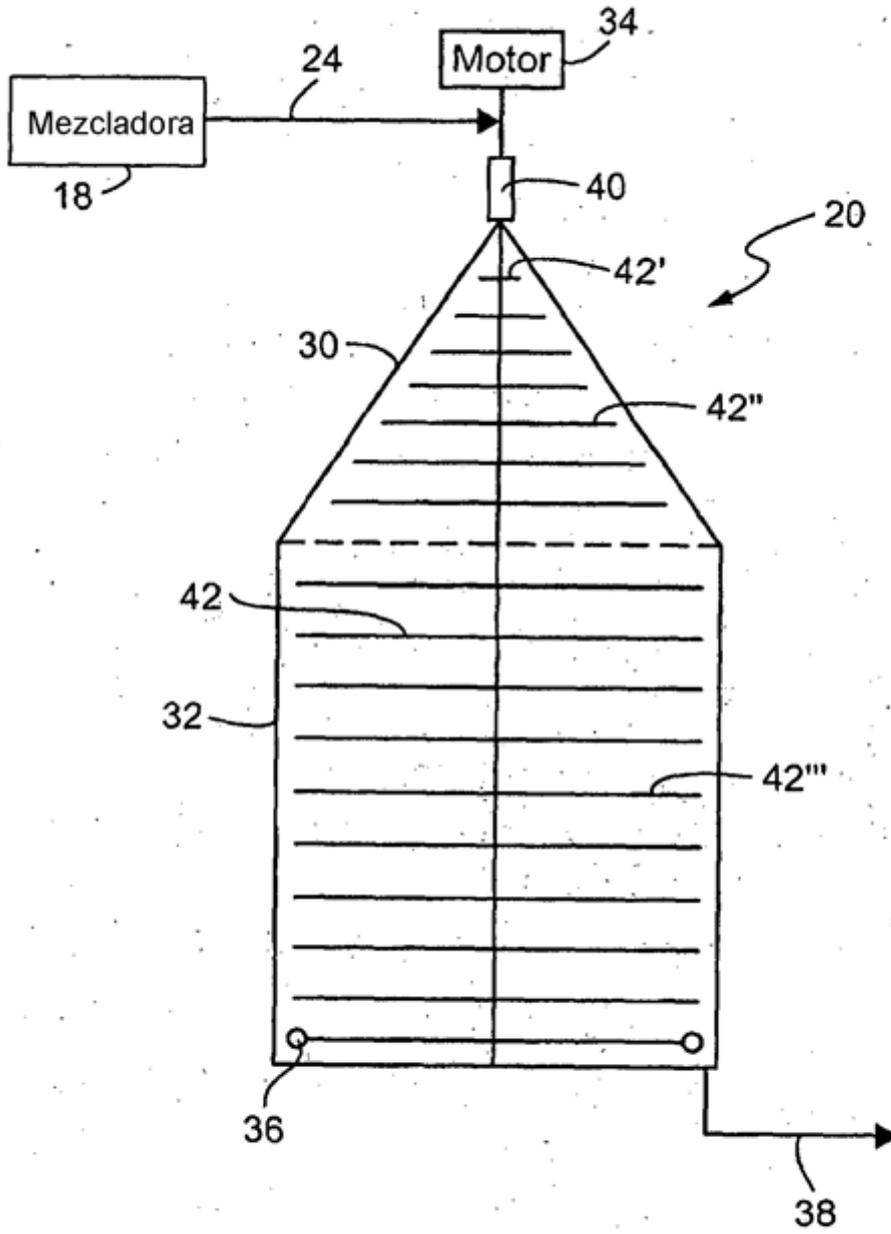


FIG. 2

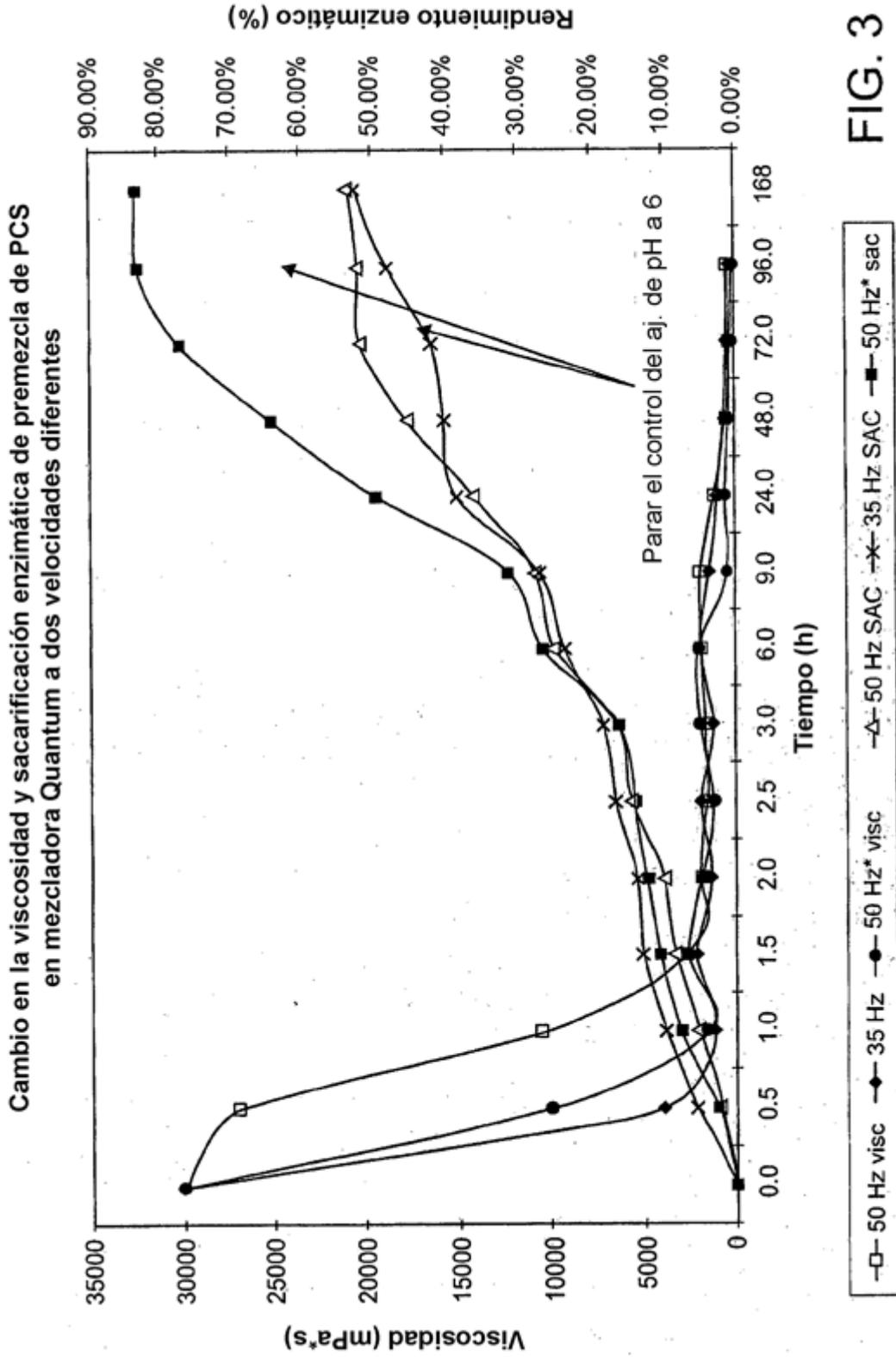
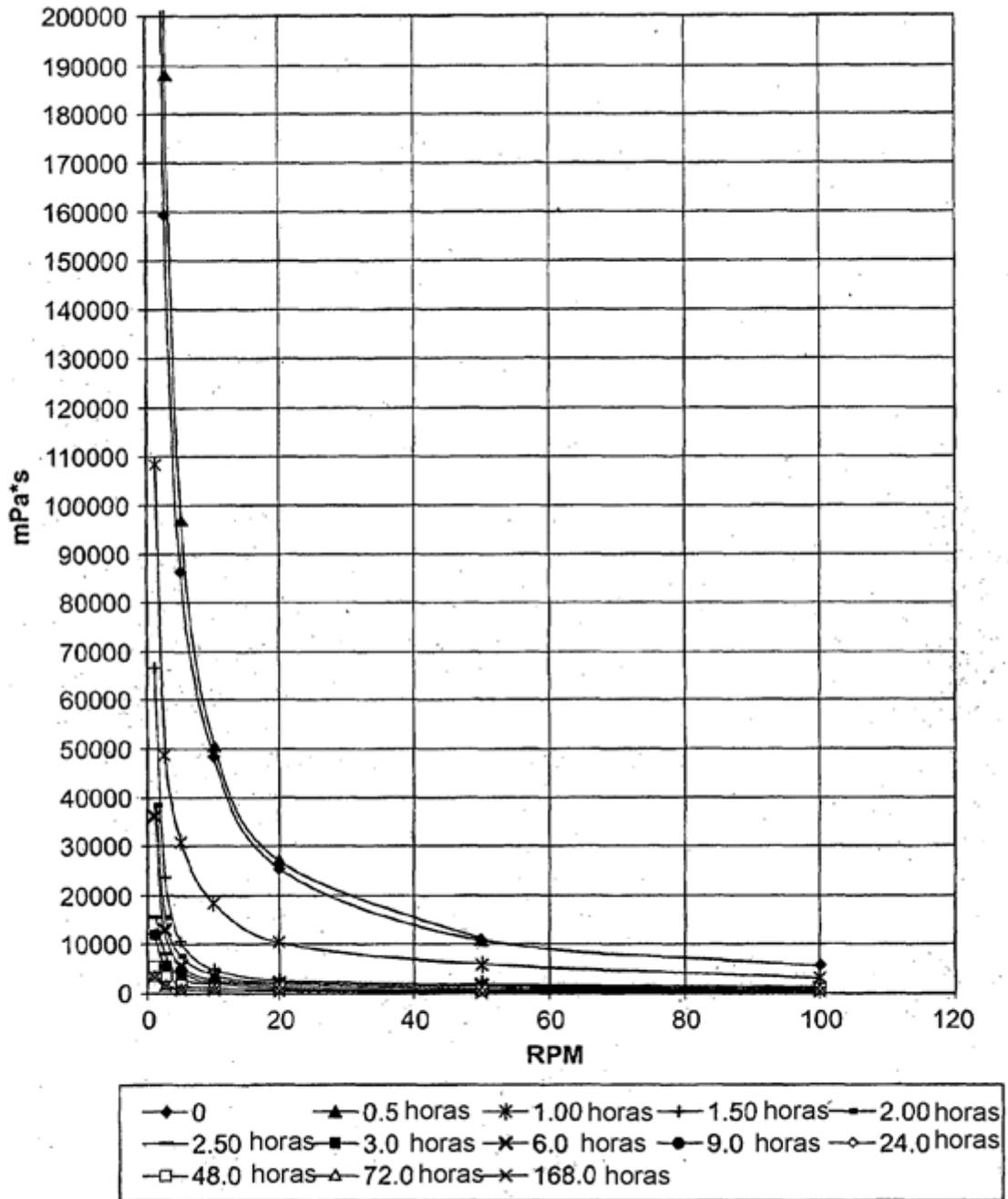


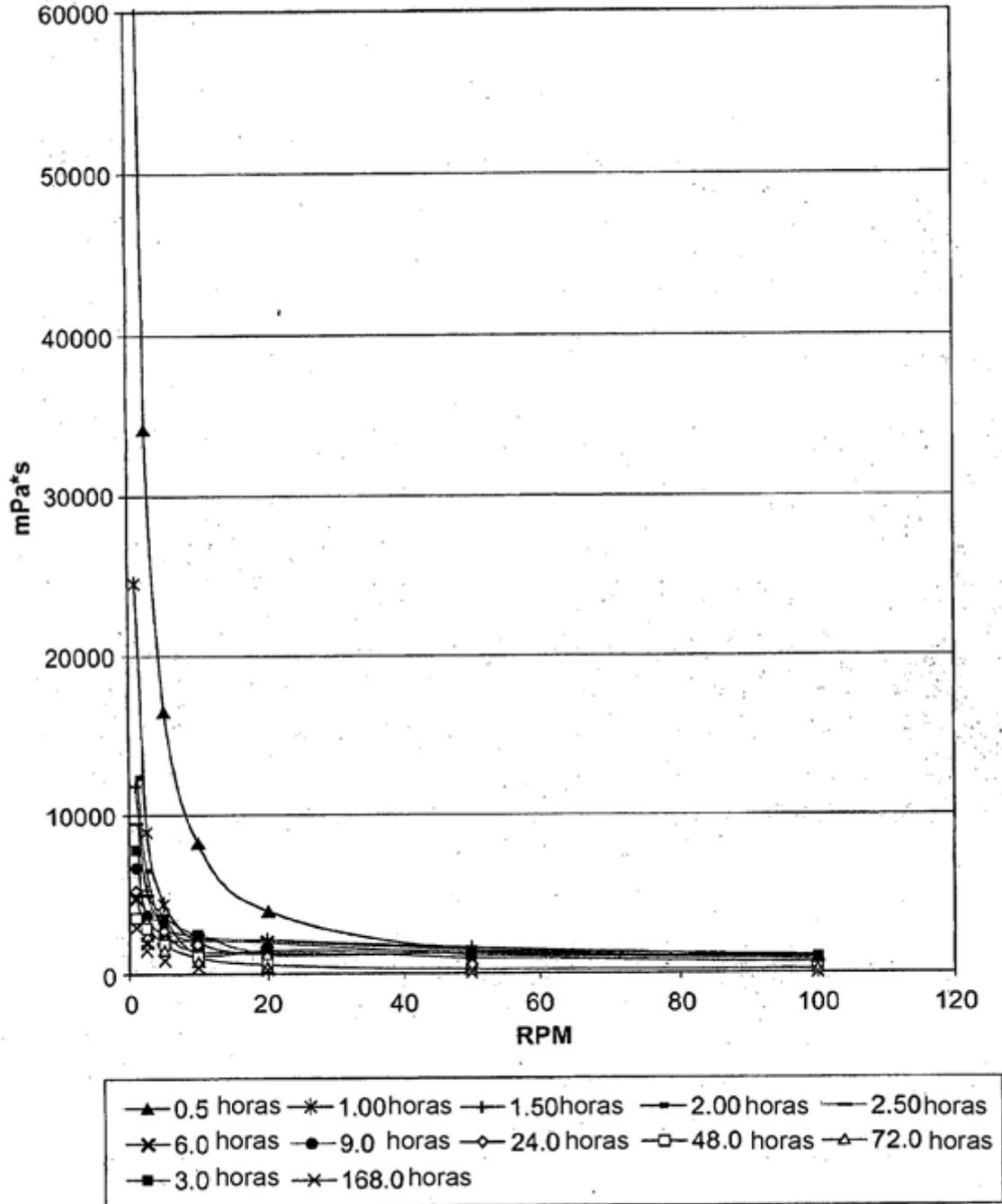
FIG. 3

**Caracterización de la reología de forraje de maíz previamente tratado durante la sacarificación a una mezcla inicial de 50 hz (2000 rpm), 10 s**



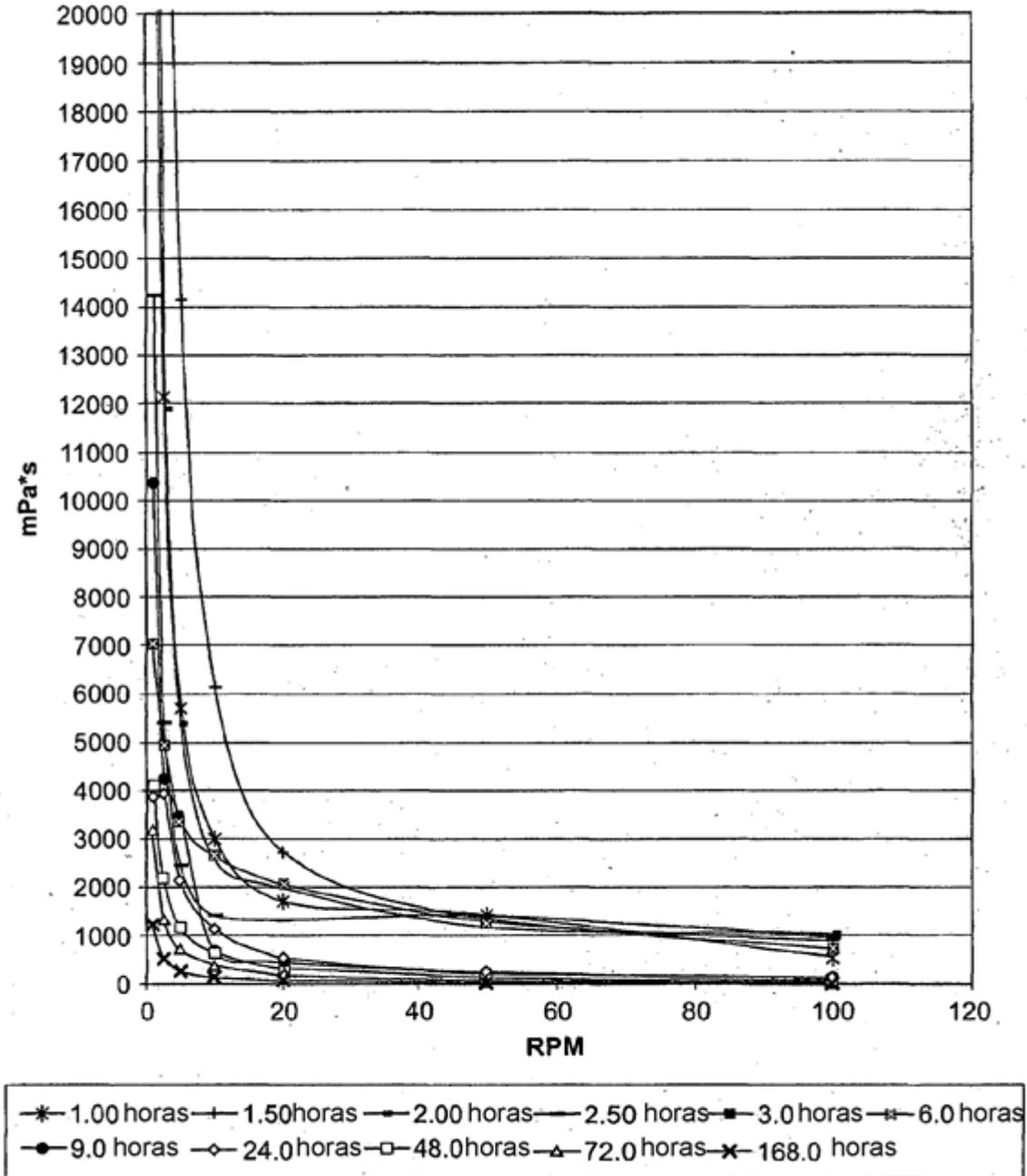
**FIG. 4**

**Caracterización de la reología de forraje de maíz previamente tratado durante la sacarificación a una mezcla inicial de 35hz (1400 rpm), 10 s**



**FIG. 5**

**Caracterización de la reología de forraje de maíz previamente tratado durante la sacarificación a una mezcla inicial de 50 hz (2000 rpm), 10 s, después mezclado continuo a 200 rpm**



**FIG. 6**

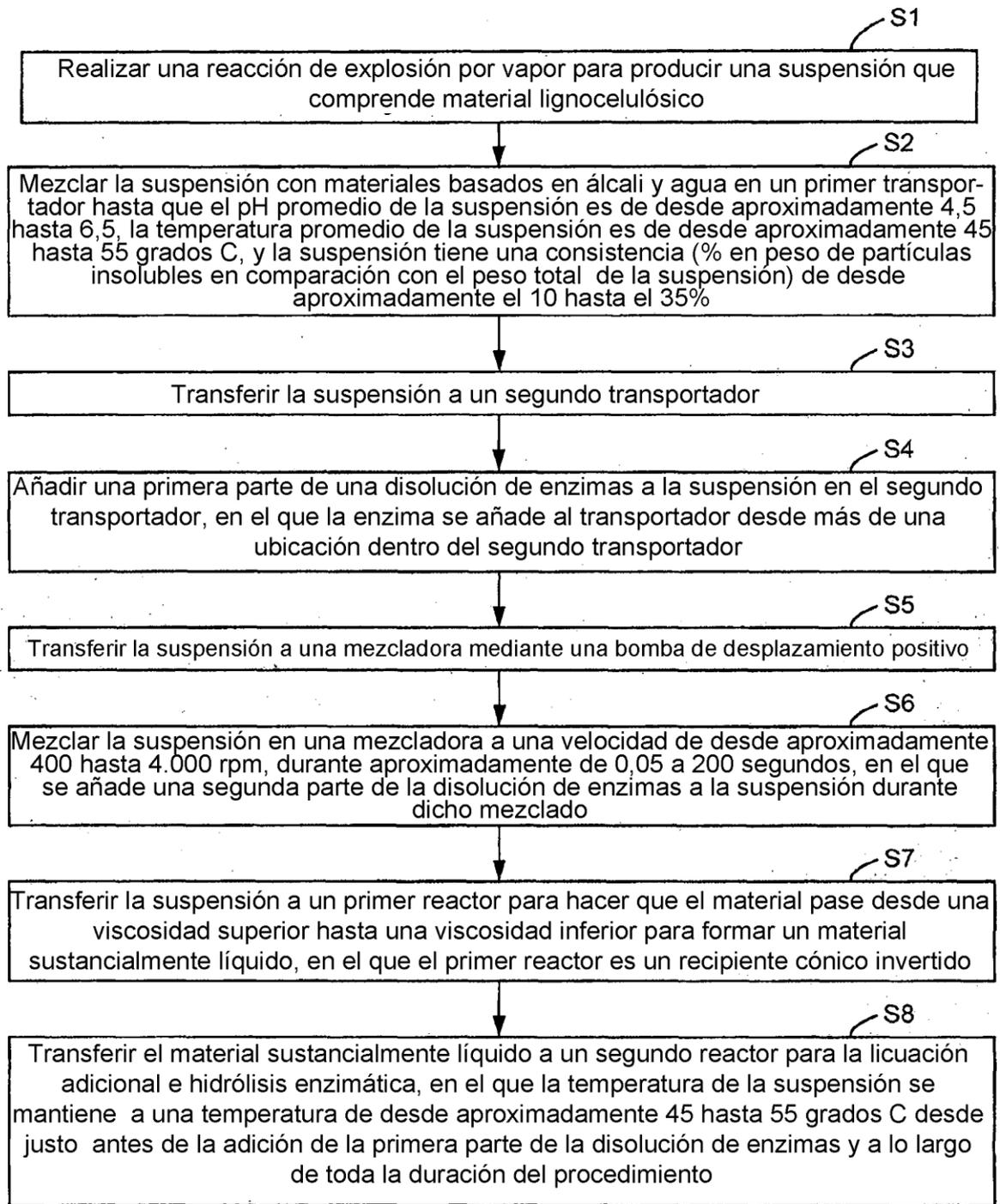


FIG. 7