

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 567 325**

51 Int. Cl.:

C13K 1/04 (2006.01)

C12P 19/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.07.2012 E 12820603 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2016 EP 2749656**

54 Título: **Procedimiento para la fabricación de una solución de azúcar**

30 Prioridad:

29.07.2011 JP 2011167542

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

21.04.2016

73 Titular/es:

**TORAY INDUSTRIES, INC. (100.0%)
1-1, Nihonbashi-Muromachi 2-chome
Chuo-ku, Tokyo 103-8666, JP**

72 Inventor/es:

**MINAMINO, ATSUSHI;
KURIHARA, HIROYUKI y
YAMADA, KATSUSHIGE**

74 Agente/Representante:

DURÁN MOYA, Carlos

ES 2 567 325 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 para la fabricación de una solución de azúcar

- 5 La presente invención se refiere a un procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares a partir de una biomasa que contiene celulosa.

ANTECEDENTES DE LA TÉCNICA

- 10 Se ha utilizado el proceso de producción por fermentación de productos químicos, que utiliza azúcares como materia prima, para la producción de diversos materiales industriales. En la actualidad, como los azúcares que se utilizan como materia prima para la fermentación, se utilizan a nivel industrial los derivados de materiales alimenticios tales como caña de azúcar, almidón y remolacha azucarera. Sin embargo, en vista del hecho de que se espera que aumenten los precios de los productos alimenticios debido al futuro aumento de la población mundial, o desde un punto de vista ético del hecho de que los azúcares para materiales industriales puedan competir con los azúcares para los alimentos, es necesario construir para el futuro un proceso para producir de manera eficiente un líquido que contiene azúcares a partir de un recurso renovable no alimenticio, es decir, biomasa que contiene celulosa, o un proceso para utilizar el líquido que contiene azúcares obtenido como materia prima de fermentación para convertirlo de manera eficiente en un material industrial.

- 20 Como técnica anterior para la obtención de azúcar a partir de una biomasa, son conocidos de forma general procedimientos en los que se utiliza ácido sulfúrico concentrado para hidrolizar la celulosa y la hemicelulosa contenida en la biomasa, en monosacáridos representados por glucosa y xilosa (documentos de patente 1 y 2), y procedimientos en los que se lleva a cabo un tratamiento previo para mejorar la reactividad de la biomasa, seguido de hidrólisis de la biomasa por reacción enzimática (documentos de patente 3 y 4). En estos casos, en la hidrólisis de una biomasa que contiene celulosa, se produce la descomposición de los componentes de celulosa y hemicelulosa y similares, a la vez que tiene lugar la reacción de descomposición de los azúcares producidos, tales como glucosa y xilosa, lo que causa la producción de subproductos tales como compuestos de furano, entre los que se incluyen furfural y hidroximetilfurfural y ácidos orgánicos entre los que se incluyen ácido fórmico y ácido acético, lo que es problemático. Estos compuestos tienen acciones inhibitorias durante la etapa de fermentación que utiliza microorganismos, provocando la inhibición del crecimiento del microorganismo, dando lugar a un rendimiento menor del producto de fermentación. Por lo tanto, estos compuestos se denominan inhibidores de la fermentación y han sido seriamente problemáticos cuando se ha utilizado un líquido que contiene azúcares derivado de una biomasa que contiene celulosa como materia prima de fermentación. Como un procedimiento para la eliminación de estos inhibidores de la fermentación en el proceso de producción de líquido que contiene azúcares, se conoce un procedimiento de eliminación de inhibidores de la fermentación mediante una membrana de nanofiltración o membrana de ósmosis inversa (documento de patente 5).

DOCUMENTOS DE LA TÉCNICA ANTERIOR

- 40 [Documentos de patente]

Documento de patente 1: Solicitud de Patente PCT japonesa traducida abierta a inspección pública No. 11-506934

- 45 Documento de patente 2: JP 2005-229821 A

Documento de patente 3: JP 2001-95594 A

- 50 Documento de patente 4: JP 3041380 B

Documento de patente 5: WO2010/067785

CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCIÓN

- 55 PROBLEMAS A RESOLVER POR LA INVENCIÓN

- Los inventores de la presente invención han descubierto que, tal como se ha descrito anteriormente, la operación de eliminación de inhibidores de la fermentación contenidos en un líquido que contiene azúcares derivado de una biomasa que contiene celulosa, utilizando una membrana de nanofiltración o membrana de ósmosis inversa, a veces da como resultado la eliminación incompleta de los inhibidores de la fermentación, y han asumido que esto se debe a que inhibidores de la fermentación no identificados que difícilmente se pueden eliminar con una membrana de nanofiltración o membrana de ósmosis inversa pueden estar contenidos en un líquido que contiene azúcares derivado de una biomasa que contiene celulosa. La presente invención tiene como objetivo dar a conocer un procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares que contenga sólo una cantidad muy pequeña de inhibidores de la fermentación, mediante la eliminación de inhibidores de la fermentación que han sido difíciles de

eliminar por procedimientos convencionales a partir de un líquido que contiene azúcares derivado de una biomasa que contiene celulosa.

MEDIOS PARA RESOLVER LOS PROBLEMAS

5 Como resultado de un estudio intensivo, los inventores de la presente invención han identificado recientemente que los inhibidores de la fermentación producidos en la etapa de producción un líquido que contiene azúcares a partir de una biomasa que contiene celulosa contienen sustancias que tienen pesos moleculares que son equivalentes a los de los monosacáridos o superiores a los mismos, tales como ácido cumárico, ácido ferúlico, aldehído coniferílico y 2,3-dihidrobenzofurano, y han descubierto que éstos se pueden eliminar de manera eficiente con una membrana de ultrafiltración, completando de este modo la presente invención.

Es decir, la presente invención está constituida por los siguientes puntos [1] a [6].

15 [1] Un procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares utilizando una biomasa que contiene celulosa como materia prima, comprendiendo el procedimiento las etapas de:

(1) hidrolizar una biomasa que contiene celulosa para producir una solución acuosa de azúcares; y
 (2) filtrar la solución acuosa de azúcares obtenida en la etapa (1) a través de una membrana de ultrafiltración con un límite de peso molecular de 600 a 2000, para eliminar uno o más inhibidores de la fermentación en el lado del permeado y recoger un líquido que contiene azúcares del lado de la alimentación.

20 [2] El procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares, según el punto [1], en el que el o los inhibidores de la fermentación comprenden una o más sustancias seleccionadas entre el grupo que comprende ácido cumárico, ácido ferúlico y 2,3-dihidrobenzofurano.

[3] El procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares, según los puntos [1] ó [2], en el que, en la etapa (2), la solución acuosa de azúcares se filtra después de ajustar el pH a no más de 5.

30 [4] El procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares, según cualquiera de los puntos [1] a [3], en el que el material de la capa funcional de la membrana de ultrafiltración utilizada en la etapa (2) es poliétersulfona.

[5] El procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares, según cualquiera de los puntos [1] a [4], procedimiento que comprende filtrar el permeado obtenido en la etapa (2) que contiene un líquido que contiene azúcares y/o inhibidores de la fermentación a través de una membrana de nanofiltración y/o membrana de ósmosis inversa, para recoger un líquido que contiene azúcares concentrado del lado de la alimentación.

40 [6] Un procedimiento para producir un producto químico, comprendiendo dicho procedimiento la etapa de producir un líquido que contiene azúcares, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, y una etapa de utilizar el líquido que contiene azúcares como materia prima de fermentación.

EFFECTO DE LA INVENCION

45 Mediante la presente invención, un líquido que contiene azúcares, tales como glucosa y xilosa, se puede producir con pureza elevada y rendimiento elevado. Como resultado, al utilizar el líquido que contiene azúcares purificado obtenido mediante la presente invención como materia prima de fermentación, se puede mejorar la eficiencia de producción mediante fermentación de diferentes productos químicos.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

50 La figura 1 muestra los resultados de una prueba de fermentación con un líquido que contiene azúcares producido mediante concentración, utilizando una membrana de ultrafiltración o membrana de nanofiltración, de una solución acuosa de azúcares obtenida mediante el tratamiento con ácido sulfúrico diluido de una biomasa que contiene celulosa, prueba que se llevó a cabo utilizando como índice la velocidad de consumo de glucosa.

55 La figura 2 muestra los resultados de una prueba de fermentación con un líquido que contiene azúcares producido mediante concentración, utilizando una membrana de ultrafiltración o membrana de nanofiltración, de una solución acuosa de azúcares obtenida por tratamiento de explosión con vapor de una biomasa que contiene celulosa, prueba que se llevó a cabo utilizando como índice la velocidad de consumo de glucosa.

60 La figura 3 muestra los resultados de la mejora de la capacidad de fermentación sometiendo una biomasa que contiene celulosa a tratamiento hidrotérmico para obtener una solución acuosa de azúcares, filtrando la solución resultante a través de una membrana de ultrafiltración, y sometiendo posteriormente el permeado obtenido a concentración con membrana, capacidad de fermentación que se evaluó utilizando como índice la velocidad de consumo de xilosa.

La figura 4 muestra los resultados de la mejora de la capacidad de fermentación sometiendo una biomasa que contiene celulosa a tratamiento con ácido sulfúrico diluido para obtener una solución acuosa de ácido sulfúrico, filtrando la solución resultante a través de una membrana de ultrafiltración, y posteriormente sometiendo el permeado obtenido a concentración con membrana, capacidad de fermentación que se evaluó utilizando como índice la velocidad de consumo de xilosa.

MEJOR MODO DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

[Etapa (1)]

La biomasa que contiene celulosa en la presente invención significa un recurso que se deriva de un organismo y comprende no menos del 5% en peso de celulosa. Entre los ejemplos específicos de la biomasa que contiene celulosa se incluyen biomásas herbáceas tales como bagazo, pasto varilla, pasto elefante, *Erianthus*, forraje de maíz, paja de arroz y paja de trigo; y biomásas leñosas tales como árboles y desechos de materiales de construcción. Dado que estas biomásas que contienen celulosa contienen lignina como macromoléculas aromáticas además de celulosa/hemicelulosa, son denominadas también lignocelulosa. Mediante la hidrólisis de la celulosa y hemicelulosa, que son componentes de polisacáridos contenidos en la biomasa que contiene celulosa, se puede obtener un líquido que contiene azúcares que contiene monosacáridos que pueden ser utilizados como materia prima de fermentación para la producción de un producto químico, más específicamente, un líquido que contiene azúcares que contiene como componentes principales xilosa y glucosa.

Entre los ejemplos específicos del tratamiento de hidrólisis de una biomasa que contiene celulosa se incluyen tratamientos químicos, por ejemplo, tratamiento con ácido en el que se lleva a cabo el tratamiento con ácido sulfúrico diluido, un sulfito o similar a alta temperatura y alta presión; tratamiento con álcali en el que se lleva a cabo el tratamiento con una solución acuosa de un álcali, tal como hidróxido de calcio o hidróxido de sodio; tratamiento con amoníaco en el que se lleva a cabo el tratamiento con amoníaco líquido, amoníaco gaseoso o una solución acuosa de amoníaco; y tratamiento hidrotérmico en el que se lleva a cabo el tratamiento con agua caliente presurizada. Estos tratamientos de hidrólisis se pueden combinar adicionalmente con tratamiento de hidrólisis con una enzima de sacarificación.

En general, la lignina se disuelve en el tratamiento ácido. Además, el componente de hemicelulosa, que tiene una baja cristalinidad, se hidroliza en primer lugar, seguido por la degradación del componente de celulosa, que tiene una cristalinidad elevada. Por lo tanto, se puede obtener un líquido que contiene una mayor cantidad de xilosa derivado de la hemicelulosa. El número de veces del tratamiento no está limitado y, mediante el establecimiento de dos o más etapas del proceso de tratamiento con ácido, se pueden establecer de forma selectiva condiciones de hidrólisis adecuadas para la hemicelulosa o celulosa y, por lo tanto, se puede lograr un aumento de la eficiencia de la degradación y rendimiento de azúcares. El ácido utilizado en el tratamiento ácido no está limitado, siempre y cuando el ácido provoque la hidrólisis, y es preferente el ácido sulfúrico desde un punto de vista económico. La concentración del ácido es, preferentemente, del 0,1 al 100% en peso, más preferentemente, del 0,5 al 15% en peso. La temperatura de reacción puede ajustarse dentro del intervalo de 100 a 300°C, y el tiempo de reacción puede ajustarse dentro del intervalo de 1 segundo a 60 minutos. El componente líquido obtenido después del tratamiento ácido comprende una gran cantidad de monosacáridos y sus oligosacáridos obtenidos por hidrólisis, que contienen principalmente componentes derivados de la hemicelulosa. En particular, la hidrólisis se puede lograr en una sola etapa mediante la utilización de la acción de ácido sulfúrico concentrado a una concentración no menor del 50%, más preferentemente no menor del 80%, para hidrolizar tanto hemicelulosa como celulosa. En los casos en los que el tratamiento con ácido es seguido por hidrólisis con una enzima de sacarificación, el contenido sólido y el componente líquido obtenido después del tratamiento ácido se pueden someter por separado a la hidrólisis con una enzima de sacarificación, o la mezcla del contenido sólido y el componente líquido se pueden someter a hidrólisis sin separación. Dado que el contenido sólido y el componente líquido obtenido por el tratamiento con ácido contienen el ácido utilizado, preferentemente el producto tratado con ácido se neutraliza antes de realizar la reacción de hidrólisis utilizando una enzima de sacarificación.

El tratamiento con álcali es un procedimiento de tratamiento en el que biomasa que contiene celulosa se hace reaccionar en una solución alcalina acuosa, más específicamente, una solución acuosa de una sal de hidróxido (con exclusión de hidróxido de amonio). Mediante el tratamiento con álcali, se puede eliminar la lignina, que inhibe principalmente la reacción de la celulosa/hemicelulosa provocada por la enzima de sacarificación. Como sal de hidróxido, se utiliza preferentemente hidróxido de sodio o hidróxido de calcio. La concentración del álcali en la solución acuosa está, preferentemente, dentro del intervalo del 0,1 al 60% en peso. Esta solución se añade a la biomasa que contiene celulosa, y el tratamiento se lleva a cabo normalmente a una temperatura dentro del intervalo de 100 a 200°C, preferentemente dentro del intervalo de 110 a 180°C. El número de veces del tratamiento no está limitado, y el tratamiento se puede llevar a cabo una o más veces. En los casos en los que se lleva a cabo el tratamiento 2 o más veces, las condiciones para la pluralidad de tiempos de tratamiento pueden ser diferentes unas de otras. Dado que el producto pretratado obtenido por el tratamiento con álcali contiene un álcali, el producto pretratado se neutraliza preferentemente antes de la hidrólisis con una enzima de sacarificación.

El tratamiento con amoníaco es un procedimiento de tratamiento en el que una solución acuosa de amoníaco o amoníaco al 100% (líquido o gas) se hace reaccionar con una biomasa derivada de celulosa y, por ejemplo, se puede utilizar el procedimiento dado a conocer en los documentos JP 2008-161125 A o JP 2008-535664 A. Se dice que, en el tratamiento con amoníaco, el amoníaco reacciona con el componente de celulosa para romper la cristalinidad de la celulosa, dando lugar a un incremento notable en la eficiencia de la reacción mediante la enzima de sacarificación. El amoníaco se añade normalmente a la biomasa que contiene celulosa de tal manera que la concentración de amoníaco está dentro del intervalo del 0,1 al 15% en peso con respecto a la biomasa que contiene celulosa, y el tratamiento se lleva a cabo de 4°C a 200°C, preferentemente de 60°C a 150°C. El número de veces del tratamiento no está limitado, y el tratamiento puede llevarse a cabo una o más veces. En los casos en los que el producto pretratado obtenido por el tratamiento con amoníaco se somete además, a la hidrólisis utilizando una enzima de sacarificación, es preferente llevar a cabo la neutralización del amoníaco o eliminación de amoníaco con antelación.

El tratamiento hidrotérmico es un procedimiento de tratamiento en el que una biomasa derivada de celulosa se trata con agua caliente presurizada a una temperatura de 100 a 400°C durante de 1 segundo a 60 minutos. El tratamiento se lleva a cabo habitualmente de tal manera que la biomasa que contiene celulosa después del tratamiento, que es insoluble en agua a una temperatura normal de 25°C, está contenida en una concentración del 0,1 al 50% en peso con respecto al peso total de la biomasa y el agua que contiene celulosa. La presión no está limitada, ya que depende de la temperatura de procesamiento, y preferentemente es de 0,01 a 10 MPa. En el tratamiento hidrotérmico, los componentes eluidos en el agua caliente varían dependiendo de la temperatura del agua caliente presurizada. En general, a medida que la temperatura del agua caliente presurizada aumenta, se produce en primer lugar la elución de taninos y lignina, como primer grupo de la biomasa que contiene celulosa y, a continuación, se produce la elución de la hemicelulosa, como segundo grupo, a una temperatura no menor de 140 a 150°C, seguida adicionalmente por la elución de la celulosa, como tercer grupo, a una temperatura superior a 230°C, aproximadamente. Además, se puede producir la hidrólisis de la hemicelulosa y celulosa al mismo tiempo que la elución. La diferencia en los componentes eluidos en función de la temperatura del agua caliente presurizada puede ser utilizada para incrementar las eficiencias de reacción de la enzima de sacarificación hacia la celulosa y la hemicelulosa, mediante la realización de un tratamiento de varias etapas a diferentes temperaturas. En el presente documento, entre las fracciones obtenidas por el tratamiento hidrotérmico, se hace referencia a la materia soluble en agua que contiene los componentes eluidos en el agua caliente presurizada como materia soluble en agua caliente, y se hace referencia a los componentes distintos de la materia soluble en agua caliente como materia insoluble en agua caliente.

La materia insoluble de agua caliente es una materia sólida obtenida como resultado de la elución de grandes cantidades de los componentes lignina y hemicelulosa, y contiene principalmente disacáridos y sacáridos superiores como el componente celulosa (C6). Además de celulosa como componente principal, la materia insoluble en agua caliente puede contener el componente hemicelulosa y el componente lignina. Las proporciones de los contenidos de estos componentes pueden variar dependiendo de la temperatura del agua caliente presurizada durante el tratamiento hidrotérmico y del tipo de una biomasa a procesar. El contenido de agua en la materia insoluble en agua caliente es del 10% al 90%, más preferentemente del 20% al 80%.

La materia soluble en agua caliente es materia soluble en agua en estado líquido o estado en suspensión, y contiene hemicelulosa, lignina, taninos y una parte del componente celulosa, eluidos en el agua caliente presurizada en estado líquido o en estado de suspensión. La materia soluble en agua caliente contiene una gran cantidad de polisacáridos, oligosacáridos y monosacáridos producidos por hidrólisis. Estos pueden ser utilizados tal cual o después de la hidrólisis adicional con una enzima de sacarificación, como solución acuosa de azúcares.

Se puede llevar a cabo uno o más tratamientos previos antes de realizar el procedimiento de tratamiento de hidrólisis, y entre los ejemplos del o los tratamientos previos se incluyen tratamiento de pulverización en el que las fibras se cortan mecánicamente utilizando un molino de cuchillas, un molino de martillo o similar; tratamiento de pulverización fina en el que se utiliza un molino de bolas o molino de chorros; tratamiento en húmedo en el que se utiliza un molino; tratamiento mecanoquímico; y tratamiento de explosión de vapor en el que biomasa que contiene celulosa se cuece al vapor con vapor de agua durante un periodo de tiempo corto y, a continuación, la presión se libera instantáneamente para provocar la pulverización debido a la expansión de volumen. Esto es debido a que la pulverización aumenta el área de celulosa/hemicelulosa expuesta y, por lo tanto, mejora la eficiencia de la hidrólisis con una enzima de sacarificación.

La enzima de sacarificación no está limitada siempre y cuando la enzima tenga actividad degradante de celulosa o hemicelulosa y, preferentemente, es una enzima de sacarificación producida por un hongo filamentoso que pertenece al género *Trichoderma*. Los hongos filamentosos del género *Trichoderma* son microorganismos que secretan de forma extracelular muchos tipos de enzimas de sacarificación, y la enzima de sacarificación se deriva preferentemente de *Trichoderma reesei*. Además, conjuntamente con una enzima que tiene una actividad degradante de celulosa o hemicelulosa, preferentemente está contenida también una enzima que ayuda a la degradación de la celulosa o hemicelulosa. Entre los ejemplos de la enzima que ayuda a la degradación de la celulosa o hemicelulosa se incluyen celobiohidrolasa, endoglucanasa, exoglucanasa, β -glucosidasa, xilanasas y xilosidasas, y las enzimas de expansión de una biomasa. Preferentemente, la reacción de hidrólisis que utiliza una

enzima de sacarificación se lleva a cabo a un pH de aproximadamente 3 a 7, más preferentemente a un pH de 5, aproximadamente. Preferentemente, la temperatura de reacción es de 40 a 70°C. Además, la hidrólisis con una enzima es seguida, preferentemente, por la separación sólido-líquido para eliminar los sólidos no degradados. Entre los ejemplos del procedimiento para la eliminación de sólidos se incluyen, sin que constituyan limitación, centrifugación y separación por membrana. Se puede utilizar en combinación una pluralidad de estos procedimientos de separación sólido-líquido.

Para evitar la obstrucción o ensuciamiento de la membrana de ultrafiltración en la etapa (2), la solución acuosa de azúcares obtenida en la etapa (1) se somete preferentemente, a la eliminación de sólidos, y macromoléculas solubles en agua tales como oligosacáridos, polisacáridos, taninos, enzimas de sacarificación y componentes proteicos derivados de la biomasa antes de someter la solución a la etapa (2). El procedimiento para eliminar estos componentes no está limitado, y entre los ejemplos preferentes del procedimiento de eliminación se incluyen un procedimiento en el que la solución acuosa de azúcares se filtra a través de una membrana de microfiltración, y/o una membrana de ultrafiltración con un límite de peso molecular mayor que 2000, para eliminar los sólidos y macromoléculas solubles en agua en el lado de alimentación. Entre los ejemplos del procedimiento de filtración se incluyen, sin que constituyan limitación, filtración a presión, filtración al vacío y filtración centrífuga. La operación de filtración no está limitada, y se puede clasificar a grandes rasgos en filtración a presión constante, filtración a flujo constante y filtración a presión variable/flujo variable. La operación de filtración puede ser filtración de múltiples etapas en la que una o más membranas de microfiltración, y/o una o más membranas de ultrafiltración que tienen un límite de peso molecular mayor que 2000, se utilizan dos o más veces para la eliminación eficaz de los sólidos.

La membrana de microfiltración significa una membrana que tiene un tamaño de poros promedio de 0,01 µm a 5 mm, que se denomina membrana de MF o similar, para abreviar, y la membrana se utiliza, preferentemente, cuando se van a eliminar los sólidos contenidos en la solución acuosa de azúcares. La membrana de microfiltración que se utiliza en el presente documento puede ser bien una membrana inorgánica o membrana orgánica, y entre los ejemplos del material de la membrana se incluyen materiales orgánicos tales como celulosa, éster de celulosa, polisulfona, poliétersulfona, polietileno clorado, polipropileno, poliolefina, alcohol polivinílico, polimetacrilato de metilo, fluoruro de polivinilideno y politetrafluoroetileno; y materiales inorgánicos tales como metales, incluyendo acero inoxidable, y materiales cerámicos.

La membrana de ultrafiltración es la que se describe en detalle a continuación en la etapa (2), y es preferente la utilización de una membrana de ultrafiltración que tiene un límite de peso molecular mayor de 2000 para eliminar las macromoléculas solubles en agua, especialmente la enzima de sacarificación, contenida en la solución acuosa de azúcares.

[Etapa (2)]

Es conocido que cuando una biomasa que contiene celulosa se hidroliza en la etapa (1), se producen inhibidores de la fermentación además de los azúcares. Los inhibidores de la fermentación son compuestos producidos por la hidrólisis de una biomasa que contiene celulosa, y son sustancias que tienen la acción de provocar la reducción en la cantidad de un producto químico producido o acumulado, o en la velocidad de producción, en el proceso de fermentación para la producción de un producto químico utilizando un líquido que contiene azúcares como materia prima. En la presente invención, el grado de inhibición de la fermentación por los inhibidores de la fermentación no está limitado, ya que el grado de inhibición del microorganismo varía dependiendo de los tipos y cantidades de inhibidores de la fermentación presentes en la solución acuosa de azúcares, de la especie del microorganismo utilizado y del tipo de producto químico que se va a producir.

Se han reconocido hasta ahora como inhibidores de la fermentación los ácidos orgánicos tales como el ácido acético y ácido fórmico; compuestos de furano tales como furfural y hidroximetilfurfural (HMF) y compuestos fenólicos tales como vainillina y ácido 4-hidroxibenzoico, pero los inventores de la presente invención descubrieron que el ácido cumárico, ácido ferúlico, 2,3-dihidrobencofurano y similares, además de los inhibidores de la fermentación conocidos, pueden ser inhibidores de la fermentación. En la etapa (2), la solución acuosa de azúcares obtenida en la etapa (1) se filtra a través de una membrana de ultrafiltración que tiene un límite de peso molecular específico para eliminar los inhibidores de la fermentación en el lado del permeado, mientras que un líquido que contiene azúcares se recupera del lado de la alimentación.

La membrana de ultrafiltración en la presente descripción es una membrana de separación que tiene un límite de peso molecular de 600 a 200.000, que también se denomina membrana de UF o similar, para abreviar. El límite de peso molecular es bien conocido para los técnicos en la materia como un índice que indica un rendimiento de membrana de una membrana de ultrafiltración, tal como se describe en la pág. 92 del documento [The Membrane Society of Japan, ed. Membrane Experiment Series, vol. III, Artificial Membrane] ("Series de Experimentos de Membrana, Vol. III, membranas artificiales, editores de la Sociedad de Membranas de Japón"), miembros del comité editorial: Shoji Kimura, Shin-ichi Nakao, Haruhiko Ohya y Tsutomu Nakagawa (1993, Kyoritsu Shuppan Co., Ltd.), que "Se denomina la curva de límite de peso molecular a la curva obtenida representando gráficamente el peso molecular del soluto a lo largo del eje de abscisas y la velocidad de bloqueo a lo largo del eje de ordenadas. Se denomina el límite de peso molecular de la membrana al peso molecular con el que la velocidad de bloqueo alcanza

el 90%". En el sector técnico de las membranas de separación, una membrana de separación que tiene un límite de peso molecular dentro del intervalo de 600 a 1.000 se reconoce como una membrana en el límite entre una membrana de nanofiltración y una membrana de ultrafiltración. Por lo tanto, una membrana de separación que tiene un límite de peso molecular dentro del intervalo de 600 a 1.000 se llama una membrana de nanofiltración o una membrana de ultrafiltración en función de la bibliografía. En la presente descripción, una membrana de separación que tiene un límite de peso molecular dentro del intervalo de 600 a 200.000 se denomina una membrana de ultrafiltración, y una membrana de separación que tiene un límite de peso molecular menor de 600 y corresponde a una membrana que se define generalmente como "una membrana que permite la permeación de iones monovalentes pero bloquea iones divalentes" se denomina una membrana de nanofiltración.

La presente invención se caracteriza porque se utiliza una membrana de ultrafiltración que tiene un límite de peso molecular de 600 a 2.000. La utilización de una membrana de ultrafiltración con un límite de peso molecular de más de 2.000 no es preferente, ya que provoca la permeación tanto de la mayor parte de los azúcares y como de los inhibidores de la fermentación en el lado del permeado, y la utilización de una membrana que tiene un límite de peso molecular de menos de 600 no es preferente ya que conduce a un bajo rendimiento de eliminación de los inhibidores de la fermentación recientemente identificados, es decir, ácido cumárico, ácido ferúlico y 2,3-dihidrobenzofurano, en el lado del permeado.

Entre los ejemplos del material de la membrana de ultrafiltración se incluyen, sin que constituyan limitación, materiales orgánicos tales como celulosa, éster de celulosa, polisulfona, polisulfona sulfonada, poliétersulfona, poliétersulfona sulfonada, polietileno clorado, polipropileno, poliolefina, alcohol de polivinilo, metacrilato de polimetilo, fluoruro de polivinilideno y politetrafluoroetileno; metales tales como acero inoxidable; y materiales inorgánicos tales como cerámica. Una membrana orgánica es especialmente preferente desde el punto de vista de la capacidad de eliminación de sustancias hidrófobas. En particular, es preferente poliétersulfona. Esto es debido a que se ha descubierto que una membrana de poliétersulfona tiene un buen rendimiento de separación que contiene azúcares de interés de los inhibidores de la fermentación. Más preferentemente, el material es una poliétersulfona sulfonada. Esto es debido a que la poliétersulfona sulfonada tiene una velocidad de bloqueo superior para los azúcares que la poliétersulfona no sulfonada.

La forma de la membrana de ultrafiltración no está limitada, y puede ser cualquiera de tipo espiral, de tipo fibra hueca, de tipo tubular y de tipo membrana plana.

Entre los ejemplos específicos de la membrana de ultrafiltración utilizada en la presente invención se incluyen el tipo G-5, tipo GH y el tipo GK, fabricados por DESAL; SPE1, fabricado por Synder; PM1000, PM2000, MPS-36 y SR2, fabricados por KOCH; GR95Pp y ETNA01PP, fabricados por Alfa-Laval; y NTR-7450 (límite de peso molecular, 600 a 800; véase WaterResearch 37 (2003) 864-872) y NTR-7410 (límite de peso molecular, 1000 a 2000; véase el documento [Collection of Papers for Sanitary Engineering Symposium, 5: 246-251 (1.997)], ("Recopilación de ponencias para el Simposio de Ingeniería Sanitaria") fabricados por Nitto Denko Corporation.

La presión de filtración en el tratamiento de filtración con la membrana de ultrafiltración está, preferentemente, dentro del intervalo de 0,1 MPa a 8 MPa, aunque la presión de filtración varía dependiendo de la concentración de la solución acuosa de azúcares. En los casos en que la presión de filtración es menor que 0,1 MPa, la velocidad de permeación de la membrana es baja, mientras que en los casos en que la presión de filtración es superior a 8 MPa, la membrana puede resultar dañada. En los casos en los que la presión de filtración es de 0,5 MPa a 6 MPa, el flujo de permeación de membrana es elevado y, por lo tanto, es posible la permeación eficiente de la solución de azúcares, lo que es más preferente.

El flujo de permeación de membrana en el tratamiento de filtración con la membrana de ultrafiltración es preferentemente de 0,2 m/D a 2,0 m/D. Esto es debido a que un flujo de permeación de membrana de no más de 0,2 m/D no permite la concentración con una membrana de ultrafiltración, y un flujo de permeación de membrana de no menos de 2,0 m/D provoca un ensuciamiento notable de la membrana. Un flujo de permeación de filtración de 0,5 m/D a 2,0 m/D permite fácilmente la filtración con la membrana de ultrafiltración, lo que es más preferente.

El pH de la solución acuosa de azúcares en el tratamiento de filtración con la membrana de ultrafiltración no está limitado y, en vista de la permeabilidad a los inhibidores de la fermentación, preferentemente el pH es no mayor de 5, más preferentemente no mayor de 4. Dado que, en casos en que el pH no es superior a 1, se requiere una gran cantidad de ácido para ajustar el pH, el límite inferior del pH es preferentemente 1, desde el punto de vista económico. El efecto de ajuste del pH de la solución acuosa de azúcares es notable especialmente en los casos en los que está contenido como un inhibidor de fermentación una sustancia tal como el ácido cumárico o ácido ferúlico, que es un compuesto aromático que tiene un grupo carboxílico.

El líquido que contiene azúcares recuperado del lado de alimentación en el tratamiento de filtración con una membrana de ultrafiltración se puede utilizar tal cual como una materia prima en la etapa de fermentación descrita más adelante, o la solución de azúcares se puede someter adicionalmente al tratamiento de filtración descrito en el documento WO2010/067785 utilizando una membrana de nanofiltración y/o membrana de ósmosis inversa para

concentrar azúcares en el lado de alimentación, seguido de la utilización del líquido que contiene azúcares concentrado resultante en la etapa de fermentación descrita más adelante.

En el tratamiento de filtración con una membrana de ultrafiltración, los azúcares se pueden perder parcialmente en el lado del permeado y, en este caso, el permeado recuperado del lado del permeado, que contiene los inhibidores de la fermentación, se puede someter al tratamiento de filtración descrito en el documento WO2010/067785 utilizando una membrana de nanofiltración y/o membrana de ósmosis inversa, para recuperar un líquido que contiene azúcares concentrado desde el lado del retenido. El líquido que contiene azúcares concentrado obtenido mediante este procedimiento se utiliza también como la materia prima en la etapa de fermentación descrita más adelante. Debe señalarse que se ha descubierto que el líquido que contiene azúcares concentrado, obtenido por tratamiento de filtración con una membrana de nanofiltración y/o membrana de ósmosis inversa muestra, además, una tendencia a tener un mayor rendimiento de fermentación en la etapa de fermentación descrita más adelante, en los casos en los que se lleva a cabo tratamiento de filtración con una membrana de ultrafiltración que tiene un límite de peso molecular de 600 a 2.000, en comparación con los casos en los que no se realiza tratamiento de filtración o en los casos en los que se lleva a cabo el tratamiento de filtración con una membrana de ultrafiltración que tiene un límite de peso molecular superior a 2.000. Se cree que esto es debido a que una solución acuosa de azúcares derivada de una biomasa que contiene celulosa contiene una pequeña cantidad de inhibidores de la fermentación desconocidos que tienen pesos moleculares de aproximadamente 2000, y que estos inhibidores se concentran con la membrana de nanofiltración y/o membrana de ósmosis inversa.

[Etapa de fermentación]

El líquido que contiene azúcares obtenido en la etapa (2) comprende glucosa y/o xilosa como fuente o fuentes de carbono para el crecimiento de microorganismos y células cultivadas que pueden producir productos químicos en forma de metabolitos, mientras que el contenido de inhibidores de la fermentación tales como ácido cumárico, ácido ferúlico y 2,3-dihidrobenzofurano es muy pequeño, de modo que el líquido que contiene azúcares puede ser utilizado de forma efectiva como materia prima de fermentación, especialmente como fuente de carbono, para la producción de un producto químico. La etapa de fermentación puede llevarse a cabo, según la etapa de fermentación que se describe en el documento WO2010/067785.

El producto químico producido mediante la etapa de fermentación no está restringido, siempre y cuando se trate de una sustancia producida en un líquido de cultivo por el microorganismo o las células mencionadas anteriormente. Entre los ejemplos específicos del producto químico se incluyen alcoholes, ácidos orgánicos, aminoácidos y ácidos nucleicos, que son sustancias producidas en masa en la industria de la fermentación. Entre los ejemplos de los alcoholes se incluyen etanol, butanol, 1,3-propanodiol, 2,3-butanodiol, 1,4-butanodiol y glicerol; entre los ejemplos de los ácidos orgánicos se incluyen ácido acético, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido succínico, ácido málico, ácido itacónico y ácido cítrico; entre los ejemplos de los ácidos nucleicos se incluyen nucleósidos tales como inosina y guanosina, y los nucleótidos tales como el ácido inosínico y ácido guanílico; y compuestos de diamina tales como cadaverina. Además, la presente invención se puede aplicar también a la producción de sustancias tales como enzimas, antibióticos y proteínas recombinantes.

EJEMPLOS

(Ejemplo de referencia 1) Procedimiento para la medición de las concentraciones de monosacáridos

Las concentraciones de monosacáridos (concentración de glucosa y concentración de xilosa) contenidas en el líquido que contiene azúcares obtenido en cada uno de los ejemplos y ejemplos comparativos se analizaron por HPLC en las siguientes condiciones, y se cuantificaron en base a la comparación con muestras patrón.

Columna: Luna NH₂ (fabricada por Phenomenex, Inc.)
Fase móvil: agua ultrapura: acetonitrilo = 25:75 (caudal, 0,6 ml/min)
Líquido de reacción: Ninguno
Procedimiento de detección: RI (índice de refracción diferencial)
Temperatura: 30°C

(Ejemplo de referencia 2) Procedimiento para la medición de las concentraciones de los inhibidores de la fermentación

Las concentraciones de los inhibidores de la fermentación basados en furano (HMF y furfural) y los inhibidores de la fermentación basados en fenol (ácido cumárico, ácido ferúlico y 2,3-dihidrobenzofurano), entre los inhibidores de la fermentación contenidos en el líquido que contiene azúcares, se analizaron por HPLC en las siguientes condiciones, y se cuantificaron en base a la comparación con muestras patrón.

Columna: Synergi HidroRP 4,6 mm × 250 mm (fabricada por Phenomenex, Inc.)
Fase móvil: acetonitrilo - 0,1% en peso de H₃PO₄ (caudal, 1,0 ml/min)
Procedimiento de detección: UV (283 nm)

Temperatura: 40°C

Los ácidos orgánicos (ácido acético y ácido fórmico), entre los inhibidores de la fermentación contenidos en el líquido que contiene azúcares, se analizaron por HPLC en las siguientes condiciones, y se cuantificaron en base a la comparación con muestras patrón.

Columna: Shim-Pack SPR-H y Shim-pack SCR101H (fabricadas por Shimadzu Corporation) que se dispusieron linealmente

Fase móvil: ácido p-toluenosulfónico 5 mM (caudal, 0,8 ml/min)

Líquido de reacción: ácido p-toluenosulfónico 5 mM, Bis-Tris 20 mM, EDTA-2Na 0,1 mM (caudal, 0,8 ml/min)

Procedimiento de detección: conductividad eléctrica

Temperatura: 45°C

(Ejemplo de referencia 3) Etapa de hidrólisis de una biomasa que contiene celulosa por tratamiento con ácido sulfúrico diluido/tratamiento enzimático

Como biomasa que contiene celulosa, se utilizó paja de arroz. La biomasa que contiene celulosa se impregnó en solución de ácido sulfúrico acuoso al 1%, y se procesó utilizando una autoclave (fabricado por Nitto Koatsu Co., Ltd.) a 150°C durante 30 minutos. Posteriormente, se llevó a cabo separación sólido-líquido para separar la celulosa tratada con ácido sulfúrico de la solución de ácido sulfúrico acuoso. Posteriormente, la celulosa tratada con ácido sulfúrico se mezcló con el líquido tratado con ácido sulfúrico diluido, con agitación, de manera que la concentración de sólidos fue del 10% en peso, y el pH se ajustó a aproximadamente 5 con hidróxido sódico. A esta mezcla, se añadió "Accellerase Duet" (fabricado por Danisco Japón), que es una enzima de sacarificación derivada de *Trichoderma reesei*, como enzima de sacarificación. La mezcla resultante se mezcló por agitación a 50°C durante 1 día para llevar a cabo la reacción de hidrólisis. Después de esto, se realizó la centrifugación (3000 G) para separar y eliminar la celulosa y la lignina no degradada, para obtener una solución acuosa de azúcares tratada con ácido sulfúrico diluido. Las composiciones de inhibidores de la fermentación y monosacáridos contenidos en la solución acuosa de azúcares tratada con ácido sulfúrico diluido fueron las que se muestran en las tablas 1 a 3.

[Tabla 1]

Tabla 1 Cuantificación de los inhibidores de fermentación 1

	Unidades [g/l]			
	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural
Solución acuosa de azúcares tratada con ácido sulfúrico diluido	0,1	2,4	0,125	0,875

[Tabla 2]

Tabla 2 Cuantificación de los inhibidores de fermentación 2

	Unidades [g/l]		
	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	2,3-dihydrobenzofurano
Solución acuosa de azúcares tratada con ácido sulfúrico diluido	0,15	0,075	0,01

[Tabla 3]

Tabla 3 Cuantificación de monosacáridos

	Unidades [g/l]	
	Glucosa	Xilosa
Solución acuosa de azúcares tratada con ácido sulfúrico diluido	25	12

(Ejemplo de referencia 4) Etapa de hidrólisis de una biomasa que contiene celulosa mediante el tratamiento de explosión de vapor/tratamiento enzimático

Como biomasa que contiene celulosa, se utilizó paja de arroz. En un reactor de ensayo de explosión de vapor de 2 l (Nihon Dennetsu Co., Ltd.), se alimentaron 100 g de una biomasa que contiene celulosa, y luego se inyectó vapor a la misma. La presión se mantuvo a 2,5 MPa durante 2,5 minutos, y a continuación se liberó la presión en el recipiente de una vez, para llevar a cabo tratamiento de explosión, seguido de la recuperación de la muestra. La temperatura dentro del recipiente era de 225°C en ese momento. El contenido de agua del producto procesado fue del 84,4%. Se añadió agua al producto de tal manera que la concentración de sólidos fue del 10% en peso, y se añadió solución de hidróxido de sodio acuoso 1 N a la mezcla resultante para ajustar el pH a 5,0. Posteriormente, se añadió como enzima de sacarificación, "Accellerase Duet" a la mezcla, y la mezcla resultante se dejó reposar a 50°C durante 1 día para permitir que la reacción transcurriera. La composición de la solución acuosa de azúcares obtenida se muestra en las tablas 4 a 6.

[Tabla 4]

Tabla 4 Cuantificación de los inhibidores de fermentación 1 Unidades [g/l]

	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural
Solución acuosa de azúcares tratada con explosión de vapor	1,7	2,3	0,29	0,24

5 [Tabla 5]

Tabla 5 Cuantificación de los inhibidores de fermentación 2 Unidades [g/l]

	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	2,3-dihidrobenzofurano
Solución acuosa de azúcares tratada con explosión de vapor	0,15	0,11	0,08

[Tabla 6]

10

Tabla 6 Cuantificación de monosacáridos Unidades [g/l]

	Glucosa	Xilosa
Solución acuosa de azúcares tratada con explosión de vapor	34	2,5

(Ejemplo de referencia 5) Etapa de hidrólisis de una biomasa que contiene celulosa por tratamiento con amoníaco/tratamiento enzimático

15

Como biomasa que contiene celulosa, se utilizó paja de arroz. La biomasa que contiene celulosa se alimentó a un reactor compacto (fabricado por Taiatsu Techno Corporation, TVS-N2 30 ml), y se enfrió con nitrógeno líquido. En este reactor, se hizo fluir amoníaco gaseoso a una concentración del 100%, y la muestra se empapó completamente en 100% de amoníaco líquido. La tapa del reactor se cerró, y el reactor se dejó reposar a temperatura ambiente durante aproximadamente 15 minutos. Posteriormente, el reactor se procesó en un baño de aceite a 150°C durante 1 hora. A continuación, el reactor se retiró del baño de aceite, y el amoníaco gaseoso se eliminó inmediatamente en una campana extractora, seguido de generación de vacío en el interior del reactor a 10 Pa con una bomba de vacío, secando de este modo la biomasa que contiene celulosa. La biomasa que contiene celulosa procesada se mezcló con agua pura por agitación de tal manera que la concentración de sólidos era del 15% en peso, y el pH se ajustó con ácido sulfúrico a, aproximadamente, 5. A esta mezcla, se añadió "Accellerase Duet" como enzima de sacarificación, y se llevó a cabo reacción de hidrólisis con agitación a 50°C durante 3 días. Después de esto, se llevó a cabo la centrifugación (3000 G) para separar y eliminar la celulosa y la lignina no degradadas, para obtener una solución acuosa de azúcares de la que se habían eliminado la celulosa y la lignina no degradadas. Las composiciones de los inhibidores de la fermentación y monosacáridos contenidos en la solución acuosa de azúcares fueron tal como se muestra en las tablas 7 a 9.

20

25

30

[Tabla 7]

Tabla 7 Cuantificación de los inhibidores de fermentación 1 Unidades [g/l]

	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural
Solución acuosa de azúcares tratada con amoníaco	1,1	0,5	0,012	0,005

35

[Tabla 8]

Tabla 8 Cuantificación de los inhibidores de fermentación 2 Unidades [g/l]

	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	2,3-dihidrobenzofurano
Solución acuosa de azúcares tratada con amoníaco	0,03	0,008	0,005

40

[Tabla 9]

Tabla 9 Cuantificación de monosacáridos Unidades [g/l]

	Glucosa	Xilosa
Solución acuosa de azúcares tratada con amoníaco	40	24

(Ejemplo de referencia 6) Etapa de hidrólisis de una biomasa que contiene celulosa por tratamiento hidrotérmico/tratamiento enzimático

45

Como biomasa que contiene celulosa, se utilizó paja de arroz. La biomasa que contiene celulosa se empapó en agua, y se procesó utilizando una autoclave (fabricado por Nitto Koatsu Co., Ltd.) a 180°C durante 20 minutos. La presión en este momento fue de 10 MPa. Posteriormente, se llevó a cabo centrifugación (3000 G) para el componente de solución y el componente de una biomasa procesada, para llevar a cabo la separación sólido-

50

líquido. El pH del componente de solución fue de 4,0. Posteriormente, el pH del componente de solución se ajustó a 5,0 con hidróxido de sodio. Como enzima de sacarificación, se añadió "Accellerase Duet" a la mezcla, y la mezcla resultante se mezcló por agitación a 50°C durante 1 día para llevar a cabo la reacción de hidrólisis, para obtener un líquido tratado hidrotérmicamente. Las composiciones de los inhibidores de la fermentación y los monosacáridos contenidos en el líquido tratado hidrotérmicamente fueron tal como se muestra en las tablas 10 a 12.

[Tabla 10]

Tabla 10 Cuantificación de los inhibidores de fermentación 1 Unidades [g/l]

	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural
Líquido tratado hidrotérmicamente	1,1	2,2	0,12	0,5

[Tabla 11]

Tabla 11 Cuantificación de los inhibidores de fermentación 2 Unidades [g/l]

	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	2,3-dihidrobenzofurano
Líquido tratado hidrotérmicamente	0,2	0,13	0,03

[Tabla 12]

Tabla 12 Cuantificación de monosacáridos Unidades [g/l]

	Glucosa	Xilosa
Líquido tratado hidrotérmicamente	7	15

(Ejemplo de referencia 7) Procedimiento para la evaluación de la fermentación

Se llevó a cabo una prueba de fermentación utilizando una cepa de levadura (*Pichia stipitis*, NBRC1687). Se preparó un medio que se utilizará para la fermentación por dilución a una concentración de glucosa de 25 g/l y la adición de aditivos a la dilución resultante de manera que se obtuvo la composición mostrada en la tabla 13, seguido de esterilización por filtración (Millipore, Stericup 0,22 µm). El cultivo se llevó a cabo mediante la inoculación de la levadura en una cantidad del 0,5%, y agitando el matraz a 150 rpm a 28°C durante 72 horas. Se evaluó el grado de inhibición de la fermentación en base a la velocidad de consumo de glucosa de la cepa de levadura. El procedimiento de evaluación de la velocidad de consumo de glucosa de la cepa de levadura fue tal como se describe a continuación: el componente del medio se retiró en una campana de flujo laminar en condiciones estériles a las 16, 24, 40, 48, 64 y 72 horas después del comienzo del cultivo y el medio se centrifugó y se filtró, seguido por la cuantificación de la concentración de glucosa mediante HPLC, según el ejemplo de referencia 1.

[Tabla 13]

Composición	Concentración de la composición
Glucosa	25 g/l
Extracto de Bacto-levadura	10 g/l
Peptona	20 g/l

(Ejemplo 1)

La solución acuosa de azúcares tratada con ácido sulfúrico diluido que se describe en el ejemplo de referencia 3 se filtró a través de una membrana de microfiltración con un tamaño de poro de 0,08 µm, y el permeado de la membrana de microfiltración se filtró a través de una membrana de ultrafiltración. Como membrana de ultrafiltración, se utilizaron "NTR-7450" (fabricada por Nitto Denko Corporation; material: poliétersulfona sulfonada, límite de peso molecular: 600 a 800), "NTR-7410" (fabricada por Nitto Denko Corporation; material: poliétersulfona sulfonada, límite de peso molecular: 1000), "SPE1" (fabricada por Synder; material: poliétersulfona; límite de peso molecular: 1000), serie GH fabricada por GE Osmonics (material: polietilenglicol; límite de peso molecular; 1000), "GR95Pp" (fabricada por Alfa-Laval; material: poliétersulfona; límite de peso molecular: 2000), o serie GK fabricada por GE (material: polietilenglicol; límite de peso molecular: 2000). Para cada membrana, se proporcionaron 1,5 l del permeado obtenido por filtración del líquido tratado con ácido sulfúrico diluido y sacarificado a través de la membrana de microfiltración, y el tratamiento de filtración se llevó a cabo utilizando una unidad de filtración de membrana plana "SEPA-II" (fabricada por GE Osmonics) a una velocidad lineal en la superficie de la membrana de 20 cm/segundo y una presión de filtración de 3 MPa hasta que el volumen del líquido recogido desde el lado de alimentación fue de 0,5 l. Los resultados se muestran en la tabla 14. Como resultado, se descubrió que los monosacáridos se concentran por el tratamiento de membrana de ultrafiltración, pero que el ácido fórmico, ácido acético, HMF y furfural, que son las sustancias de bajo peso molecular, no se concentran y además, el ácido cumárico, ácido ferúlico y 2,3-dihidrobenzofurano apenas se concentraron. Se seleccionaron algunos de los líquidos que contienen azúcares recogidos en el lado de la alimentación de las membranas de ultrafiltración (A C), y se sometieron a una prueba de la fermentación en las condiciones del ejemplo de referencia 7. Los resultados se muestran en la figura 1.

(Ejemplo comparativo 1)

5 Se llevó a cabo el mismo tratamiento de filtración que en el ejemplo 1 utilizando una membrana de ultrafiltración que
tiene un límite de peso molecular más alto, "SPE3" (fabricada por Synder; material: poliétersulfona; límite de peso
molecular: 3000), o una membrana de nanofiltración "UTC-60 "(fabricada por Toray Industries, Inc.; materiales:
10 piperacina poliamida), serie HL (fabricado por GE Osmonics; materiales: membrana de material compuesto) o serie
DK (fabricado por Osmonics GE; materiales: membrana de material compuesto). Los resultados se muestran en la
tabla 14. Se descubrió que la utilización de la membrana de ultrafiltración con un límite de peso molecular de 3.000
dio como resultado una disminución extrema en la velocidad de concentración de monosacáridos. En términos de
concentración con las membranas de nanofiltración, el ácido cumárico, ácido ferúlico y 2,3-dihydrobenzofurano se
concentraron aunque la concentración del concentrado fue algo variable y, además, en la prueba de fermentación
15 (D), la velocidad de consumo de glucosa fue menor que en los casos del ejemplo 1, en el que se utilizaron
membranas de ultrafiltración (A a C).

[Tabla 14]

Tratamiento de filtración de la solución acuosa de azúcares tratada con ácido sulfúrico diluido											Unidades [g/l]	
Tabla 14	Tipo de membrana	Material	Límite de peso molecular	Glucosa	Xilosa	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	2,3-dihidrobenzofurano
Ejemplo 1 (Prueba de fermentación A)	NTR-7450	s-PES	600 a 800	73	30	0,1	2,4	0,12	0,75	0,2	0,09	0,015
Ejemplo 1	NTR-7410	s-PES	1000	65	25	0,1	2,4	0,12	0,75	0,18	0,08	0,01
Ejemplo 1 (Prueba de fermentación B)	SPE1 (Synder)	PES	1000	66	25	0,1	2,4	0,12	0,75	0,18	0,08	0,01
Ejemplo 1	GH (GE)	PEG	1000	65	25	0,1	2,4	0,12	0,75	0,2	0,085	0,012
Ejemplo 1 (Prueba de fermentación C)	GR95Pp (Alfa)	PES	2000	50	20	0,1	2,4	0,12	0,75	0,15	0,075	0,01
Ejemplo 1	GK (GE)	PEG	2000	48	20	0,1	2,4	0,12	0,75	0,18	0,08	0,01
Ejemplo comparativo 1	SPE3 (Synder)	PES	3000	27	12	0,1	2,4	0,12	0,75	0,15	0,075	0,01
Ejemplo comparativo 1 (Prueba de fermentación D)	UTC-60	PPA	Menor de 600 (Membrana NF)	75	35	0,1	2,6	0,13	0,78	0,45	0,235	0,025
Ejemplo comparativo 1	HL	Membrana de material compuesto	Menor de 600 (Membrana NF)	74	33	0,1	2,4	0,12	0,765	0,43	0,23	0,025
Ejemplo comparativo 1	DK	Membrana de material compuesto	Menor de 600 (Membrana NF)	75	36	0,1	2,8	0,15	0,82	0,45	0,235	0,025

(Ejemplo 2)

5 Se llevó a cabo el mismo tratamiento de filtración que en el ejemplo 1 para el permeado obtenido por filtración de la solución acuosa de azúcares tratada mediante explosión de vapor que se describe en el ejemplo de referencia 4 a través de la membrana de microfiltración. Los resultados se muestran en la tabla 15. Además, los resultados de la fermentación llevada a cabo mediante el procedimiento del ejemplo de referencia 7 (E a G) se muestran en la figura 2.

(Ejemplo comparativo 2)

10 El permeado obtenido por filtración del líquido tratado mediante explosión de vapor y sacarificación a través de una membrana de microfiltración, se sometió a tratamiento de filtración utilizando las mismas membranas que en el ejemplo comparativo 1. Los resultados en la composición líquida se muestran en la tabla 15, y los resultados de la prueba de fermentación se muestran en la figura 2. De manera similar a los resultados de la comparación entre el ejemplo 1 y el ejemplo comparativo 1, la utilización de la membrana de ultrafiltración con un límite de peso molecular 15 de 3.000 dio lugar a una disminución extrema en la velocidad de concentración de monosacáridos. En términos de concentración con las membranas de nanofiltración, el ácido cumárico, ácido ferúlico y 2,3-dihidrobencofurano se concentraron aunque la concentración del concentrado fue algo variable y, además, en la prueba de fermentación (H), la velocidad de consumo de glucosa fue menor que en los casos del ejemplo 2, en el que se utilizaron 20 membranas de ultrafiltración.

[Tabla 15]

Tabla 15		Tratamiento de filtración de la solución acuosa de azúcares tratada con explosión de vapor										Unidades [g/l]		
		Tipo de membrana	Material	Límite de peso molecular	Glucosa	Xilosa	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	2,3-dihidrobencofurano	
Ejemplo 2 (Prueba de fermentación E)		NTR-7450	s-PES	600 a 800	98	10	1,7	2,3	0,28	0,22	0,04	0,025	0,008	
Ejemplo 2		NTR-7410	s-PES	1000 a 2000	90	8	1,7	2,3	0,28	0,22	0,03	0,023	0,008	
Ejemplo 2 (Prueba de fermentación F)		SPE1 (Synder)	PES	1000	92	9	1,7	2,3	0,28	0,22	0,03	0,022	0,008	
Ejemplo 2		GH (GE)	PEG	1000	90	8	1,7	2,3	0,28	0,22	0,03	0,022	0,008	
Ejemplo 2 (Prueba de fermentación G)		GR95Pp (Alfa)	PES	2000	84	7	1,7	2,3	0,28	0,22	0,03	0,022	0,008	
Ejemplo 2		GK (GE)	PEG	2000	80	7	1,7	2,3	0,28	0,22	0,03	0,022	0,008	
Ejemplo comparativo 2		SPE3 (Synder)	PES	3000	40	5	1,7	2,3	0,28	0,22	0,03	0,022	0,008	
Ejemplo comparativo 2 (Prueba de fermentación H)		UTC-60	PPA	Menor de 600 (Membrana NF)	102	14	1,7	2,4	0,29	0,22	0,08	0,062	0,024	
Ejemplo comparativo 2		HL	Membrana de material compuesto	Menor de 600 (Membrana NF)	100	14	1,7	2,3	0,28	0,22	0,07	0,06	0,022	
Ejemplo comparativo 2		DK	Membrana de material compuesto	Menor de 600 (Membrana NF)	102	15	1,7	2,6	0,31	0,24	0,08	0,064	0,024	

(Ejemplo 3)

- 5 Se llevó a cabo la misma prueba de concentración que en el ejemplo 1 para el permeado obtenido por filtración de la solución acuosa de azúcares tratada con amoníaco, que se describe en el ejemplo de referencia 5 a través de la membrana de microfiltración. Los resultados se muestran en la tabla 16.

(Ejemplo comparativo 3)

- 10 El permeado obtenido por filtración de la solución acuosa de azúcares tratada con amoníaco a través de la membrana de microfiltración, se sometió a tratamiento de filtración utilizando las mismas membranas que en el ejemplo comparativo 1. Los resultados en la composición líquida se muestran en la tabla 16. De manera similar a los resultados de la comparación entre el ejemplo 1 y el ejemplo comparativo 1, la utilización de la membrana de ultrafiltración con un límite de peso molecular de 3.000 dio lugar a una disminución extrema en la velocidad de concentración de monosacáridos. En términos de concentración con las membranas de nanofiltración, se concentraron el ácido cumárico, ácido ferúlico y 2,3-dihidrobencofurano, aunque la concentración del concentrado fue algo variable.
- 15

[Tabla 16]

Tabla 16	Tratamiento de filtración de la solución acuosa de azúcares tratada con amoniaco										Unidades [g/l]		
		Tipo de membrana	Material	Límite de peso molecular	Glucosa	Xilosa	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural	Ácido cumárico	Ácido Ferúlico	2,3-dihidrobenzofurano
Ejemplo 3	NTR-7450	s-PES	600 a 800	110	58	1,1	0,5	0,012	0,004	0,04	0,008	0,005	
Ejemplo 3	NTR-7410	s-PES	1000 a 2000	106	52	1,1	0,5	0,012	0,004	0,03	0,008	0,005	
Ejemplo 3	SPE1 (Synder)	PES	1000	105	51	1,1	0,5	0,012	0,004	0,03	0,008	0,005	
Ejemplo 3	GH (GE)	PEG	1000	100	48	1,1	0,5	0,012	0,004	0,03	0,008	0,005	
Ejemplo 3	GR95Pp (Alfa)	PES	2000	82	42	1,1	0,5	0,012	0,004	0,03	0,008	0,005	
Ejemplo 3	GK (GE)	PEG	2000	80	40	1,1	0,5	0,012	0,004	0,03	0,008	0,005	
Ejemplo comparativo 3	SPE3 (Synder)	PES	3000	60	30	1,1	0,5	0,012	0,004	0,03	0,008	0,005	
Ejemplo comparativo 3	UTC-60	PPA	Menor de 600 (Membrana NF)	119	70	1,1	0,6	0,014	0,005	0,088	0,024	0,007	
Ejemplo comparativo 3	HL	Membrana de material compuesto	Menor de 600 (Membrana NF))	118	68	1,1	0,5	0,013	0,005	0,078	0,022	0,006	
Ejemplo comparativo 3	DK	Membrana de material	Menor de 600 (Membrana NF)	120	71	1,1	0,6	0,015	0,005	0,089	0,024	0,008	

(Ejemplo 4)

5 Se realizó una comparación entre el caso en el que, antes del tratamiento de filtración de la solución acuosa de azúcares tratada hidrotérmicamente preparada en el ejemplo de referencia 6 utilizando la membrana de ultrafiltración "NTR-7450" o "NTR-7410", se llevó a cabo un tratamiento de filtración utilizando como la segunda membrana de ultrafiltración una membrana de ultrafiltración con un límite de peso molecular de 10.000 (fabricada por Applied Membranes; material: poliétersulfona), y el caso en el que no se llevó a cabo el tratamiento de filtración utilizando la segunda membrana de ultrafiltración. Los resultados se muestran en la tabla 17. Se descubrió que, en los casos en los que se llevó a cabo el tratamiento con la segunda membrana de ultrafiltración, se incrementó en gran medida el flujo de permeación de la membrana durante el tratamiento con la membrana de ultrafiltración "NTR-7450" o "NTR-7410" (en términos de promedio a lo largo del tiempo de procesamiento), y se mejoró la velocidad de concentración de monosacáridos en el lado de la alimentación.

10

[Tabla 17]

Tabla 17		Comparación de las composiciones de los concentrados preparados con o sin un segundo tratamiento con membrana de ultrafiltración										Unidades [g/l]
	Tipo de membrana	Pretratamiento con membrana	Flujo de permeado	Glucosa	Xilosa	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural	Ácido cumárico	Ácido Ferúlico	2,3-dihidrobenzofurano
Ejemplo 4	NTR-7450	No	0,5 m/D	18	30	1,1	2,2	0,12	0,48	0,22	0,15	0,03
Ejemplo 4	NTR-7450	Sí	1,5 m/D	21	40	1,2	2,4	0,15	0,5	0,23	0,15	0,03
Ejemplo 4	NTR-7410	No	0,64 m/D	14	25	1,1	2,2	0,12	0,47	0,19	0,13	0,03
Ejemplo 4	NTR-7410	Sí	2,0 m/D	17	30	1,1	2,3	0,13	0,48	0,2	0,13	0,03

Ejemplo 5

De la misma manera que en el ejemplo 1, se sometieron 1,5 l del permeado obtenido por filtración de la solución acuosa de azúcares tratada hidrotérmicamente preparada en el ejemplo de referencia 6 a través de una membrana de microfiltración, a tratamiento de filtración utilizando una membrana de ultrafiltración "NTR-7410" (fabricada por Nitto Denko Corporation; material: poliétersulfona sulfonada; límite de peso molecular: 1000). En la tabla 18 se muestran las composiciones obtenidas de los inhibidores de la fermentación y monosacáridos en el concentrado en el lado de alimentación (0,5 l) y el filtrado en el lado del permeado (1,0 l). Posteriormente, el filtrado se filtró a través de una membrana de nanofiltración "UTC-60" (fabricada por Toray Industries, Inc.; material: piperacina poliamida). En la tabla 19 se muestran las composiciones de inhibidores de la fermentación y monosacáridos en el concentrado en el lado de la alimentación (0,33 l). A este concentrado, se añadieron reactivos de modo que se obtuvo la composición mostrada en la tabla 20. Se llevó a cabo la misma prueba de fermentación que en el ejemplo de referencia 7, y se midió la velocidad de consumo de xilosa. Los resultados se muestran en la figura 3 (véase J en la figura 3).

(Ejemplo comparativo 4)

La tabla 19 muestra las composiciones de los inhibidores de la fermentación y monosacáridos en 0,75 l del concentrado en el lado de la alimentación obtenido por tratamiento de filtración, utilizando una membrana de nanofiltración "UTC-60", de 1,5 l del permeado obtenido por filtración de la solución acuosa de azúcares tratada hidrotérmicamente, preparada en el ejemplo de referencia 6, a través de una membrana de microfiltración. De la misma manera que en el ejemplo 5, se añadieron los reactivos a este concentrado de manera que se obtuvo la composición mostrada en la tabla 20, y la mezcla resultante se sometió a una prueba de fermentación. Los resultados (velocidades de consumo de xilosa) fueron los que se muestran en la figura 3 (véase J en la figura 3).

Se descubrió que, aunque el líquido que contiene azúcares obtenido en el ejemplo 5 contenía concentraciones algo más elevadas de ácido cumárico, ácido ferúlico y 2,3-dihidrobencofurano, la capacidad de fermentación del líquido que contiene azúcares era mejor que en el ejemplo comparativo 4, en términos de la velocidad de consumo de xilosa. Esto se supone que es debido a la presencia, en la solución acuosa de azúcares, de inhibidores de la fermentación no identificados a los que una membrana de ultrafiltración que tiene un límite de peso molecular de 600 a 2000 es impermeable. Además, en el ejemplo 5, se descubrió que no sólo el líquido que contiene azúcares en el lado de alimentación de la membrana de ultrafiltración que tiene un límite de peso molecular de 600 a 2.000, sino que también el segundo líquido que contiene azúcares concentrado obtenido filtrando el filtrado en el lado del permeado a través una membrana de nanofiltración y/o membrana de ósmosis inversa y recogiendo el líquido que contiene azúcares desde el lado de la alimentación, son líquidos de azúcar que tienen buena capacidad de fermentación.

[Tabla 18]

Tabla 18		Composiciones del líquido tratado hidrotérmicamente concentrado y el filtrado obtenido con membrana de ultrafiltración										Unidades [g/l]
	Tipo de membrana	Líquido sometido a tratamiento	Glucosa	Xilosa	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	2,3-dihidrobencofurano	
Ejemplo 5	NTR-7410	Concentrado	14	25	1,1	2,2	0,12	0,47	0,2	0,13	0,03	
Ejemplo 5	NTR-7410	Filtrado	3,5	10	1,1	2,2	0,12	0,51	0,18	0,11	0,03	

[Tabla 19]

Tabla 19 Comparación entre el concentrado obtenido por tratamiento con membrana de nanofiltración de líquido tratado hidrotérmicamente sin procesar y el concentrado obtenido por tratamiento con membrana de ultrafiltración de líquido tratado hidrotérmicamente sin procesar seguido de tratamiento con membrana de nanofiltración del filtrado resultante

	Tipo de membrana	Líquido sometido a tratamiento	Velocidad de concentración	Glucosa	Xilosa	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	2,3-dihidrobenzofurano
Ejemplo comparativo 4 (prueba de fermentación I)	UTC-60	Líquido sin procesar	Doble	14	30	1,1	2,4	0,12	0,49	0,4	0,26	0,06
Ejemplo 5 (prueba de fermentación J)	UTC-60	Material filtrado sin procesar	Triple	10	30	1,1	2,5	0,12	0,5	0,54	0,33	0,09

[Tabla 20]

Composición	Concentración de la composición
Glucosa	15 g/l
Xilosa	25 g/l
Extracto de Bacto-levadura	10 g/l
Peptona	20 g/l

(Ejemplo de referencia 8) Evaluación de las capacidades de eliminación de inhibidores de la fermentación de soluciones acuosas de azúcares a diferentes pH

5 Utilizando el líquido tratado hidrotérmicamente que se describe en el ejemplo de referencia 6 después de ajustar el pH a diversos valores, se compararon y estudiaron las velocidades de permeación de los inhibidores de la fermentación contenidos en la solución acuosa de azúcares a través de una membrana de ultrafiltración. La velocidad de permeación de cada inhibidor de fermentación se representa como la relación (%) que se calcula dividiendo la concentración del componente en el lado del filtrado por la concentración del componente en el lado de la alimentación, en el tratamiento de la membrana, y multiplicando el valor resultante por 100. Dado que la adición de ácido sulfúrico diluido o hidróxido de sodio al líquido tratado hidrotérmicamente provoca la producción de precipitados, se llevó a cabo posteriormente la centrifugación y el posterior tratamiento con membrana de microfiltración. Posteriormente, una membrana de ultrafiltración "NTR-7410" (fabricado por Nitto Denko Corporation; material: poliétersulfona sulfonada; límite de peso molecular: 1000) se colocó en una unidad de filtración de membrana plana "SEPA-II" (fabricada por GE Osmonics), y se llevó a cabo el tratamiento de filtración a una velocidad lineal en la superficie de la membrana de 20 cm/segundo a una presión de filtración de 2 MPa. Dado que la concentración en el lado de filtrado no se vuelve estable en un período de tiempo corto, el filtrado obtenido por filtración durante 20 minutos se devolvió al lado de alimentación, y se tomaron muestras del filtrado estable 20 minutos más tarde. Como resultado del cálculo de las velocidades de permeación, se descubrió, tal como se muestra en la tabla 21, que, ajustando el pH a no más de 5, aumenta en gran medida el rendimiento de eliminación del ácido cumárico y ácido ferúlico, que son inhibidores de la fermentación aromáticos que tienen un grupo carboxílico.

25

[Tabla 21]

Tabla 21 Velocidades de permeación de soluciones acuosas que contiene azúcares (líquido tratado hidrotérmicamente) a través de una membrana de ultrafiltración a diferentes pH (Unidades %)

	Glucosa	Xilosa	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	2,3-dihidrobenzofurano
pH 3	9	30	110	105	100	105	100	100	95
pH 4	15	37	110	105	100	110	89	75	95
pH 5	17	42	100	100	102	110	68	49	100
pH 6	18	45	90	84	104	110	15	7	100
pH 7	17	43	88	80	110	115	10	5	100
pH 9	17	46	85	78	105	115	10	5	100

(Ejemplo 6)

5 La solución de ácido sulfúrico acuoso obtenida en el ejemplo de referencia 3 se neutralizó a pH 4,0 con amoníaco y se sometió a tratamiento con membrana de microfiltración. De la misma manera que en el ejemplo 1, se filtraron 1,5 l del permeado obtenido a través de una membrana de ultrafiltración "NTR-7450" (fabricada por Nitto Denko Corporation; material: poliétersulfona sulfonada; límite de peso molecular: 600 a 800). Las composiciones de los inhibidores de la fermentación y monosacáridos contenidos en el concentrado en el lado de la alimentación (0,5 l) y el filtrado en el lado del permeado (1,0 l) fueron las que se muestran en la tabla 22. El filtrado se filtró a través de una membrana de nanofiltración "UTC-60" (fabricado por Toray Industries, Inc.; material: piperacina poliamida). Las composiciones de inhibidores de la fermentación y monosacáridos en el concentrado en el lado de alimentación (0,33 l) se muestran en la tabla 23. Se añadieron los reactivos a este concentrado de tal manera que se obtuvo la composición mostrada en la tabla 24, y la mezcla resultante se sometió a la misma prueba de fermentación que en el ejemplo de referencia 7. Los resultados de la medición de la velocidad de consumo de xilosa se muestran en la figura 4 (véase L en la figura 4).

15

(Ejemplo comparativo 5)

20 La solución de ácido sulfúrico acuoso obtenida en el ejemplo de referencia 3 se neutralizó a pH 4,0 con amoníaco y se sometió a tratamiento con membrana de microfiltración. Se llevó a cabo el tratamiento de filtración de 1,5 l del permeado obtenido con una membrana de nanofiltración "UTC-60". Las composiciones de los inhibidores de la fermentación y monosacáridos contenidos en 0,75 l del concentrado en el lado de la alimentación fueron los que se muestran en la tabla 22. De la misma manera que en el ejemplo 6, se añadieron los reactivos a este concentrado de manera que se obtuvo la composición mostrada en la tabla 24, y la mezcla resultante se sometió a una prueba de fermentación. Los resultados (velocidades de consumo de xilosa) se muestran en la figura 4 (véase K en la figura. 4).

25

30 Se descubrió que, aunque el líquido que contiene azúcares obtenido en el ejemplo 6 contenía concentraciones algo más elevadas de ácido cumárico, ácido ferúlico y 2,3-dihidrobencofurano, el líquido que contiene azúcares tuvo una mayor capacidad de fermentación que el del ejemplo comparativo 5 en términos de velocidad de consumo de xilosa. Esto se supone que es debido a la presencia, en la solución acuosa de azúcares, de los inhibidores de la fermentación no identificados a los que una membrana de ultrafiltración que tiene un límite de peso molecular de 600 a 2000 es impermeable. Además, del ejemplo 6, se encontró que no sólo el líquido que contiene azúcares en el lado de alimentación de la membrana de ultrafiltración que tiene un límite de peso molecular de 600 a 2.000, sino que también el segundo líquido que contiene azúcares concentrado obtenido filtrando el filtrado en el lado del permeado a través una membrana de nanofiltración y/o membrana de ósmosis inversa y recogiendo el líquido que contiene azúcares desde el lado de la alimentación, son líquidos que contienen azúcares que tienen buena capacidad de fermentación.

35

[Tabla 22]

Tabla 22	Composiciones del concentrado y filtrado obtenido mediante tratamiento con membrana de ultrafiltración de la solución acuosa de ácido sulfúrico											Unidades [g/l]
	Tipo de membrana	Líquido sometido a tratamiento	Glucosa	Xilosa	Ácido fórmico	Ácido Acético	Ácido Acético	HMF	Furfural	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	
Ejemplo 6	NTR-7450	Concentrado	5	36	0,6		3,4	0,08	0,2	0,15	0,1	0,03
Ejemplo 6	NTR-7450	Filtrado	1	12	0,6		3,4	0,08	0,2	0,13	0,09	0,03

[Tabla 23]

Tabla 23 Comparación entre el concentrado obtenido por tratamiento con membrana de nanofiltración de la solución acuosa de ácido sulfúrico sin procesar y el concentrado obtenido por tratamiento con membrana de ultrafiltración de la solución acuosa de ácido sulfúrico sin procesar seguido de tratamiento con membrana de nanofiltración del filtrado resultante

	Tipo de membrana	Líquido sometido a tratamiento	Velocidad de concentración	Glucosa	Xilosa	Ácido fórmico	Ácido acético	HMF	Furfural	Ácido cumárico	Ácido ferúlico	2,3-dihidrobenzofurano	Unidades [g/l]
Ejemplo comparativo 5 (prueba de fermentación K)	UTC-60	Líquido sin procesar	doble	6	40	0,6	3,4	0,08	0,2	0,15	0,1	0,03	
Ejemplo 6 (prueba de fermentación J)	UTC-60	Material sin procesar filtrado	3,3 veces	2,7	40	0,7	3,6	0,1	0,25	0,16	0,11	0,04	

[Tabla 24]

Composición	Concentración de la composición
Glucosa	6 g/l
Xilosa	40 g/l
Extracto de Bacto-levadura	10 g/l
Peptona	20 g/l
pH	6,5

5 APLICABILIDAD INDUSTRIAL

5 Mediante la presente invención, se puede eliminar de manera eficiente inhibidores de la fermentación a partir de una solución acuosa de azúcares derivada de una biomasa que contiene celulosa y, además, un líquido que contiene azúcares purificado que contiene monosacáridos tales como glucosa y xilosa puede ser producido con gran pureza y con un rendimiento elevado, por lo que la utilización del líquido que contiene azúcares purificado como materia prima de fermentación permite la mejora de las eficiencias de producción fermentativa de diferentes productos químicos.

10 DESCRIPCIÓN DE LOS SÍMBOLOS

15 A Líquido que contiene azúcares obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de azúcares tratada con ácido sulfúrico diluido con una membrana de ultrafiltración "NTR-7450".

B Líquido que contiene azúcares obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de azúcares tratada con ácido sulfúrico diluido con una membrana de ultrafiltración "SPE1".

20 C Líquido que contiene azúcares obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de azúcares tratada con ácido sulfúrico diluido con una membrana de ultrafiltración "GR95Pp".

D Líquido que contiene azúcares obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de azúcares tratada con ácido sulfúrico diluido con una membrana de nanofiltración "UTC-60".

25 E Líquido que contiene azúcares obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de azúcares tratada con explosión de vapor con una membrana de ultrafiltración "NTR-7450".

30 F Líquido que contiene azúcares obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de azúcares tratada con explosión de vapor con una membrana de ultrafiltración "SPE1".

G Líquido que contiene azúcares obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de azúcares tratada con explosión de vapor con una membrana de ultrafiltración "GR95Pp".

35 H Líquido que contiene azúcares obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de azúcares tratada con explosión de vapor con una membrana de nanofiltración "UTC-60".

I Líquido que contiene azúcares concentrado obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de azúcares tratada hidrotérmicamente con una membrana de nanofiltración "UTC-60".

40 J Líquido que contiene azúcares concentrado obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de azúcares tratada hidrotérmicamente con una membrana de ultrafiltración "NTR-7410", seguido de tratamiento de filtración del permeado obtenido con una membrana de nanofiltración "UTC-60".

45 K Líquido que contiene azúcares concentrado obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de ácido sulfúrico con una membrana de nanofiltración "UTC-60".

50 L Líquido que contiene azúcares concentrado obtenido por tratamiento de filtración de una solución acuosa de ácido sulfúrico con una membrana de ultrafiltración "NTR-7450", seguido de tratamiento de filtración del permeado obtenido con una membrana de nanofiltración "UTC-60".

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares utilizando una biomasa que contiene celulosa como materia prima, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 5
10
- (1) hidrolizar una biomasa que contiene celulosa para producir una solución acuosa de azúcares; y
 - (2) filtrar dicha solución acuosa de azúcares obtenida en la etapa (1) a través de una membrana de ultrafiltración con un límite de peso molecular de 600 a 2000, para eliminar uno o más inhibidores de la fermentación en el lado del permeado y recoger un líquido que contiene azúcares del lado de la alimentación.

2. Procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares, según la reivindicación 1, en el que dicho o dichos inhibidores de la fermentación comprenden una o más sustancias seleccionadas entre el grupo que comprende ácido cumárico, ácido ferúlico y 2,3-dihidrobencofurano.

15
3. Procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares, según la reivindicación 1 ó 2, en el que en la etapa (2), dicha solución acuosa de azúcares se filtra después de ajustar el pH a no más de 5.

20
4. Procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el material de la capa funcional de dicha membrana de ultrafiltración utilizada en dicha etapa (2) es poliétersulfona.

25
5. Procedimiento para producir un líquido que contiene azúcares, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, comprendiendo dicho procedimiento filtrar el permeado obtenido en la etapa (2), que contiene un líquido que contiene azúcares y/o inhibidores de la fermentación, a través de una membrana de nanofiltración y/o membrana de ósmosis inversa, para recoger un líquido que contiene azúcares concentrado del lado de la alimentación.

30
6. Procedimiento para producir un producto químico, comprendiendo dicho procedimiento una etapa de producir un líquido que contiene azúcares, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, y una etapa de utilizar el líquido que contiene azúcares como materia prima de fermentación.

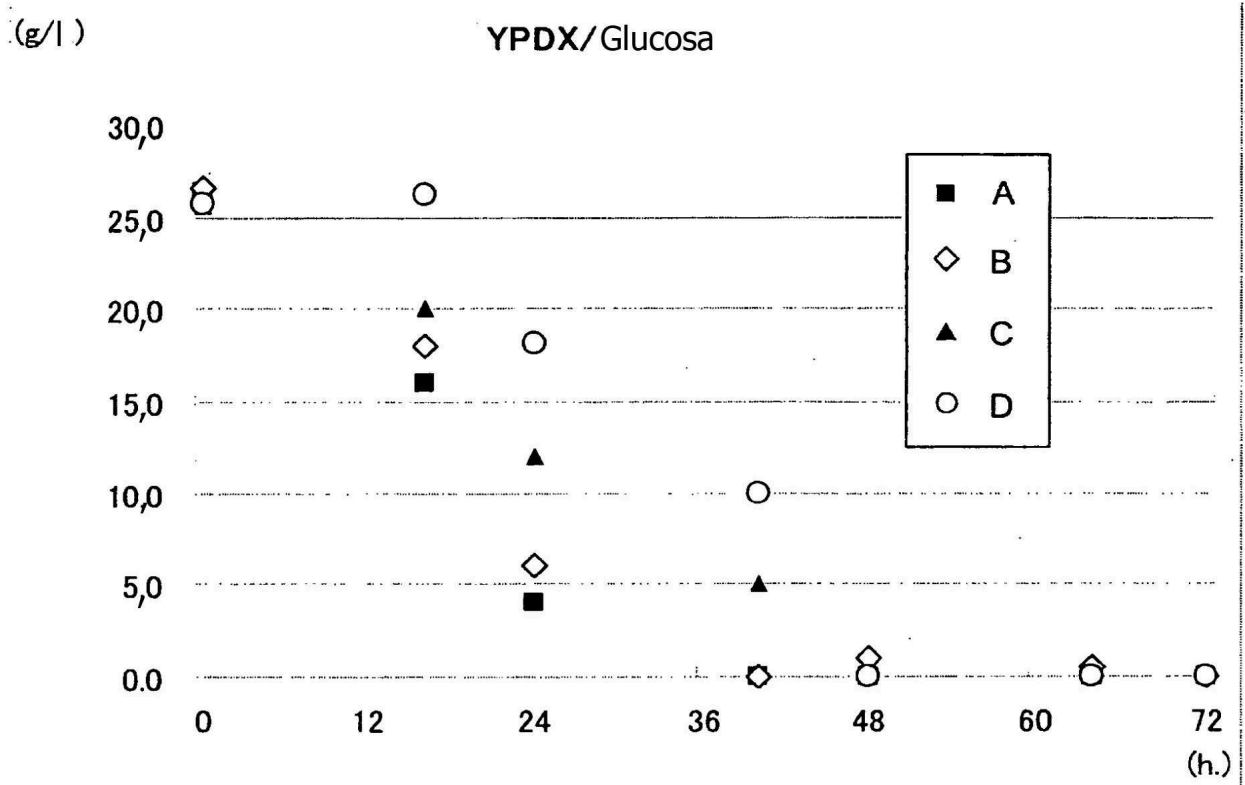


Fig.1

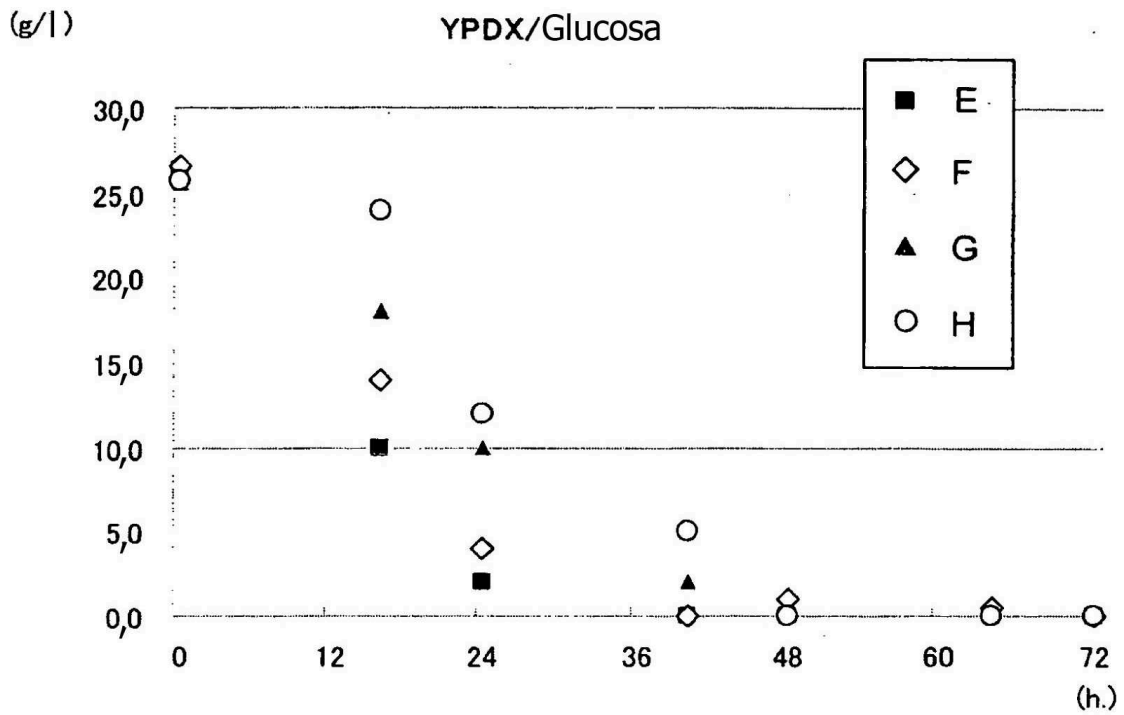


Fig.2

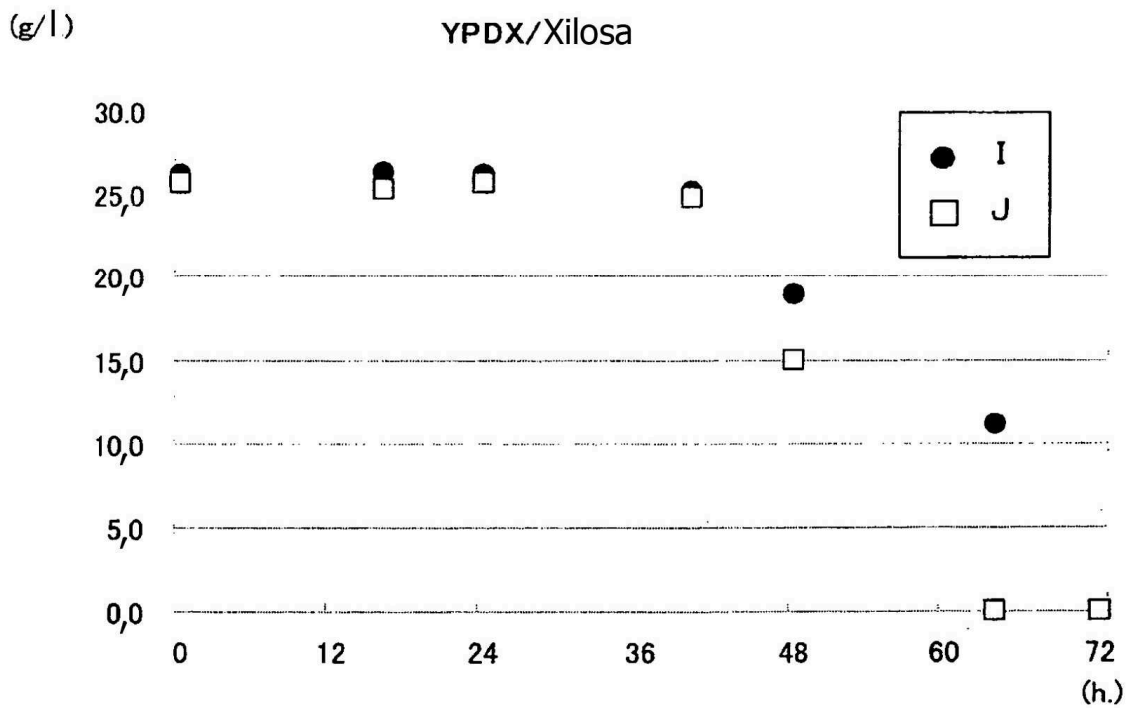


Fig.3

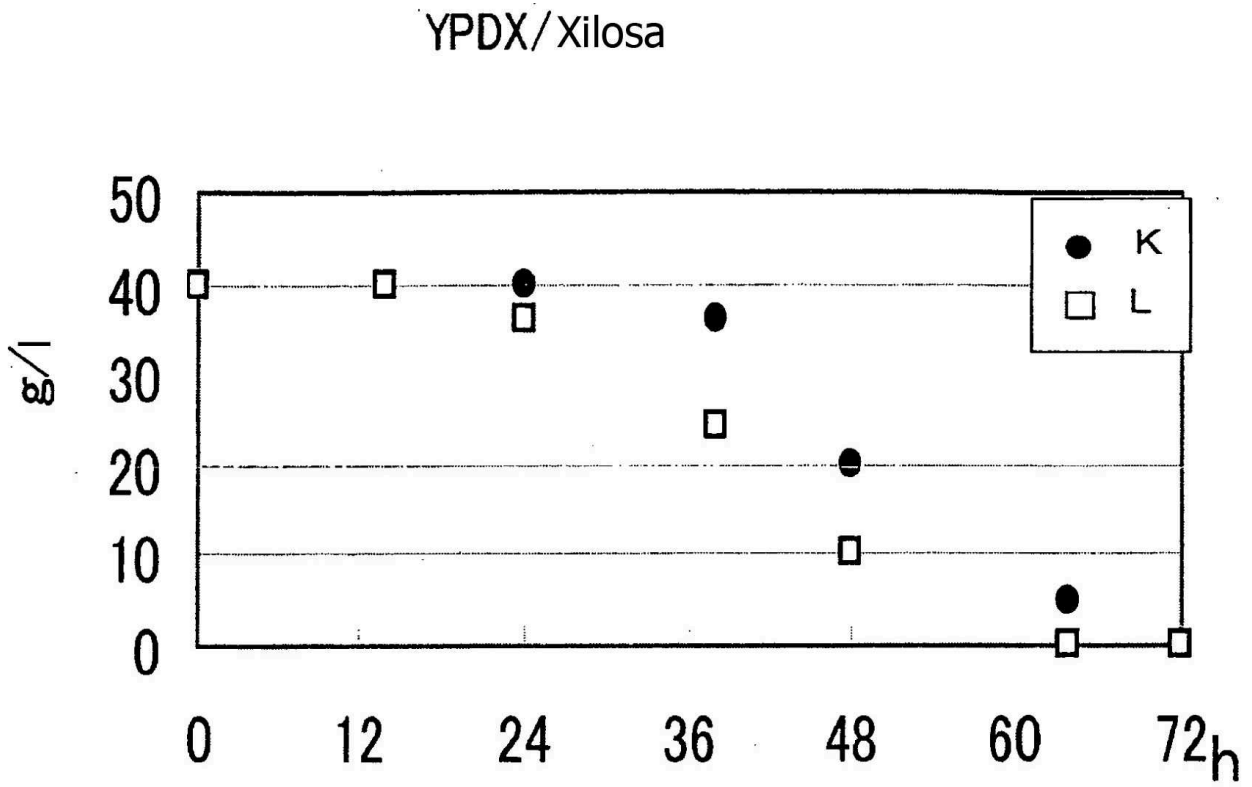


Fig.4