

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 623 442**

51 Int. Cl.:

C12P 7/08 (2006.01)

C12P 7/56 (2006.01)

C12P 19/02 (2006.01)

C12P 19/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.02.2009 PCT/JP2009/053629**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.09.2009 WO09110374**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.02.2009 E 09717824 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.04.2017 EP 2251427**

54 Título: **Procedimiento para la eliminacion de inhibidores de la fermentacion con una membrana de separación**

30 Prioridad:

05.03.2008 JP 2008054472

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

11.07.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**HANAKAWA, MASAYUKI;
MINEGISHI, SHINICHI y
KURIHARA, HIROYUKI**

74 Agente/Representante:

DURÁN MOYA, Carlos

ES 2 623 442 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 eliminación de inhibidores de la fermentación con una membrana de separación

5 SECTOR TÉCNICO

La presente invención se refiere a un procedimiento altamente eficiente de producción de un compuesto procedente de biomasa a base de polisacáridos, incluyendo el procedimiento proporcionar un tratamiento para la eliminación de un inhibidor de la fermentación con la utilización de una membrana de separación en la etapa anterior a la etapa de sacarificación y/o en la etapa anterior a la etapa de fermentación en, como mínimo, una de las siguientes etapas, es decir, una etapa para producir un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa mediante la utilización de biomasa a base de polisacáridos como material de partida y una etapa para la conversión del monosacárido y/u oligosacárido obtenido de este modo en un producto químico mediante fermentación.

15 ANTECEDENTES DE LA TÉCNICA

El siglo veinte, que se conoce como la era del consumo en masa y la generación de residuos masiva, ha llegado a su fin y en el siglo veintiuno, en el que se exige el establecimiento de una sociedad respetuosa con el medio ambiente, ya que el problema del agotamiento de los recursos fósiles y el problema del calentamiento global son cada vez más graves, genera expectativas la promoción de la utilización de recursos de biomasa, que son recursos reciclables.

Actualmente, entre los recursos de biomasa, la producción de bioetanol a partir de caña de azúcar o maíz como material de partida se encuentra en progreso activo en los Estados Unidos, Brasil y similares. Esto es debido a que la caña de azúcar o el maíz contienen un contenido elevado de sacarosa o almidón y, en consecuencia, es fácil preparar una solución que contiene azúcar a partir de los mismos para la fermentación. Sin embargo, la caña de azúcar y el maíz son originalmente productos alimenticios, y cuando se utilizan como materiales de partida, existe un problema serio debido a que tiene lugar una competición entre la utilización como material de partida y la utilización como productos de alimentación humana o animal, provocando un aumento en el precio del material de partida. De este modo, está en marcha el desarrollo de una tecnología para utilizar biomasa no comestible como material de partida.

Entre los ejemplos de biomasa no comestible se incluyen celulosa, que está presente de la forma más abundante en la Tierra, y la mayoría de la celulosa existe en la forma de biomasa a base de polisacáridos que es un complejo de celulosa con lignina o hemicelulosa, que es un polímero aromático. Está atrayendo la atención pública una tecnología de producción de un monosacárido o un oligosacárido de una pentosa o una hexosa a partir de celulosa o hemicelulosa de una biomasa a base de polisacáridos, la fermentación del monosacárido u oligosacárido obtenidos y la conversión del producto de fermentación en diversos compuestos procedentes de biomasa a base de polisacáridos, tales como etanol o ácido láctico. Sin embargo, tal como se describe en el documento no de patente 1, una biomasa a base de polisacáridos es una construcción complicada de celulosa, hemicelulosas y lignina, y la celulosa o la hemicelulosa están protegidas por la lignina de ser sometidas a biodegradación, por lo que las proporciones de composición varían en un amplio intervalo dependiendo de las condiciones regionales y de temporada y del material de partida. Por esta razón, no es fácil recoger de forma selectiva solamente un monosacárido o un oligosacárido de una pentosa o una hexosa.

Hasta el momento, las investigaciones se han realizado sobre un procedimiento de pretratamiento para destruir o reblandecer las paredes de protección de lignina mediante el tratamiento de una biomasa a base de polisacárido utilizando un ácido, un álcali, una enzima, agua subcrítica (o agua supercrítica) o similares, y recuperando un líquido o sólido que contiene un monosacárido o un oligosacárido de una pentosa o una hexosa. Por ejemplo, dado que un tratamiento basado en agua subcrítica (o agua supercrítica) tiene un tiempo de tratamiento corto y no requiere un ácido mineral o similares, es decir, no requiere un tratamiento de neutralización, el tratamiento es ventajoso desde un aspecto medioambiental porque no se genera un producto secundario, tal como el yeso. De este modo, este tratamiento está atrayendo la atención como un procedimiento de tratamiento de nueva generación de tipo respetuoso medioambientalmente. Sin embargo, tal como se describe en el documento de Patente 1, dado que el agua subcrítica (o agua supercrítica) es altamente reactiva, existen dificultades en el control de la reactividad y se generan también al mismo tiempo diversos inhibidores de la fermentación, tales como furfural y 5-hidroximetilfurfural, que son productos de la sobredegradación de azúcares, así como vainillina y guayacol, que son compuestos aromáticos derivados de la lignina, de modo que el producto de tratamiento no se puede utilizar directamente en la etapa de fermentación. Además, según las condiciones de pretratamiento, la concentración del monosacárido u oligosacárido de una pentosa o una hexosa obtenible puede ser baja y, en este caso, es necesario llevar a cabo la concentración simple del monosacárido u oligosacárido de, aproximadamente, varias veces a diez veces antes de suministrar el monosacárido u oligosacárido para el proceso de fermentación. En este momento, a la vez que se concentra el monosacárido u oligosacárido de una pentosa o una hexosa, se concentran también al mismo tiempo los inhibidores de fermentación, de modo que el concentrado en el proceso de fermentación es difícil de utilizar.

65

En lo que respecta a este tipo de problemas, se están realizando investigaciones para la eliminación de inhibidores de la fermentación. Por ejemplo, el documento no de patente 2 da a conocer un procedimiento para la eliminación de un inhibidor de la fermentación a través de la adsorción en carbono activado. Sin embargo, este procedimiento tiene el problema que, dado que el carbón activado adsorbe no sólo inhibidores de la fermentación, sino también monosacáridos u oligosacáridos de pentosas o hexosas, se reduce el rendimiento de los monosacáridos u oligosacáridos de pentosas o hexosas.

El documento de Patente 1 da a conocer un procedimiento para la eliminación de inhibidores de la fermentación mediante la adsorción en carbón a base de madera, y en este procedimiento, dado que los inhibidores de fermentación se pueden adsorber y eliminar selectivamente, se puede obtener con un buen rendimiento un monosacárido o un oligosacárido de una pentosa o una hexosa. Sin embargo, dado que el mecanismo de eliminación implica la adsorción, si la capacidad de adsorción está saturada, los inhibidores de la fermentación se escapan y contaminan los aparatos, conducciones y similares, en las etapas subsiguientes. A menos que la reacción de fermentación se lleve a cabo con precisión, no se pueden obtener productos de calidad elevada, y especialmente en el caso de llevar a cabo la producción operando de forma continua, a la vez que se suministran de forma continua los materiales de partida, se desea un procedimiento de eliminación de los inhibidores de la fermentación de forma estable y certera, porque si tiene lugar la contaminación de los aparatos, conducciones y similares se produce un aumento en el coste y una disminución en la calidad del producto. Además, en el caso de utilizar un material de partida que tiene una baja concentración de un monosacárido u oligosacárido de una pentosa o una hexosa, es deseable un procedimiento capaz de reducir dos etapas, en concreto, una etapa para la concentración de un monosacárido o un oligosacárido de una pentosa o una hexosa y una etapa para la eliminación de los inhibidores de la fermentación, a una sola etapa, o la reducción de la carga de la etapa de concentración, desde el punto de vista de reducir el coste y mejorar la calidad del producto.

Por otra parte, en el caso de la utilización de materiales de desecho de construcción tales como madera contrachapada, como biomasa a base de polisacárido, el ácido acético, el ácido fórmico y similares, que se originan del adhesivo contenido en la madera contrachapada, actúan como inhibidores de la fermentación. El documento de Patente 2 da a conocer sobre esto un procedimiento para la eliminación de inhibidores de la fermentación volátiles, tales como ácido acético y ácido fórmico, por destilación. Este procedimiento es apenas eficaz sólo cuando los inhibidores de la fermentación no volátiles que no se pueden eliminar por destilación están presentes a una concentración que no tiene efectos adversos sobre el proceso de fermentación, y es difícil aplicar el procedimiento cuando se utiliza como un material de partida biomasa a base de polisacáridos que tiene un amplio intervalo de composición.

Documento de Patente 1: JP-A-2005-270056

Documento de Patente 2: JP-A-2004-187650

Documento no patente 1: Technologies Utilizing Biomass Energy, revisado por Yukawa, Hideaki, CMC Publishing, Inc. (2006)

Documento no patente 2: Biotechnology Letters, Vol. 5, No. 3, págs.175-178 (1983)

La Patente de Estados Unidos 6.409.841 B1 da a conocer un procedimiento y un sistema para la producción de productos orgánicos útiles a partir de biomasa diversa que contiene lignocelulosa, que tiene un mayor rendimiento y eficiencia que los procesos existentes. El procedimiento comprende tratar el material de biomasa mediante una o más etapas de hidrólisis con ácido diluido con, aproximadamente, del 0,4% al 2% de ácido fuerte y tratar un componente lignocelulósico sólido sin reaccionar del material de biomasa hidrolizado con ácido mediante deslignificación alcalina para producir precursores para termoplásticos y derivados biodegradables. Después de la hidrólisis con ácido diluido, el primer producto puede ser separado y recuperado, lo que puede incluir una etapa de transportar el líquido a través de una membrana de nanofiltración con un límite de peso molecular estándar diseñado para concentrar y contener los azúcares.

B. Han y otros dan a conocer en Desalination 193 (2006), 361-366 membranas y resinas de absorción para la eliminación de ácido acético a partir de hidrolizados de biomasa. La eficacia de las membranas y resinas se comparó mediante dos parámetros adimensionales, la producción másica relativa y el número de lecho cromatográfico.

S. Kim y otros dan a conocer en Korean J. Chem. Ing. 23 (1), 28-33 (2006), membranas de nanofiltración, una realizada de alcohol polivinílico y la otra realizada de poliamida aromática, respectivamente, y se descubrió que las velocidades de rechazo de sustancias inorgánicas a partir de una solución de alimentación eran dependientes de la carga eléctrica de la membrana, así como del radio iónico y la valencia iónica.

La Patente de Estados Unidos No. 7.077.953 B2 da a conocer sistemas de nanofiltración en los procesos de conversión y reciclado de biomasa. El sistema y procedimiento se refieren a técnicas para la separación de azúcares y ácidos. Un sistema de recuperación de ácido se utiliza en una operación de hidrólisis que incluye una unidad

5 cromatográfica para proporcionar la separación inicial de azúcar y ácido. El producto que contiene azúcar proporcionado por la unidad de cromatografía se procesa para producir productos de mayor valor, tal como etanol. El ácido restante está contaminado por azúcar. Una unidad de nanofiltración que contiene una membrana de nanofiltración procesa el ácido contaminado por azúcar. Se deja que el ácido permee a través de la membrana de nanofiltración mientras que se rechaza el azúcar. El permeado se proporciona a un sistema de recuperación de ácido convencional y se recicla para su utilización en el proceso de hidrólisis.

10 El documento EP 2371973 A1, un documento bajo el artículo 54(3) EPC, da a conocer un procedimiento para producir un líquido que contiene azúcar, utilizando una biomasa que contiene celulosa como materia prima, comprendiendo dicho procedimiento: (1) una etapa de hidrólisis de biomasa que contiene celulosa para producir una solución acuosa que contiene azúcar; y (2) una etapa de filtración de la solución acuosa que contiene azúcar obtenida a través de una membrana de nanofiltración y/o una membrana de ósmosis inversa para recoger un líquido que contiene azúcar purificado desde el lado de la alimentación, mientras se eliminan sustancias inhibitoras de la fermentación desde la cara del permeado.

15 **CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION**

PROBLEMA A RESOLVER POR LA INVENCION

20 La presente invención se ha llevado a cabo en vista de los problemas anteriores de la técnica relacionada, y es un objetivo de la presente invención dar a conocer un procedimiento de producción de un compuesto procedente de biomasa de polisacáridos eliminando de forma estable y certera los inhibidores de la fermentación, que actúan como un obstáculo, con el fin de reducir la carga y promover la racionalización de, como mínimo, una de las siguientes etapas, es decir, una etapa para producir un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa utilizando una biomasa a base de polisacárido que tiene un amplio intervalo de composición como material de partida, y un etapa para la conversión del monosacárido y/u oligosacárido obtenido de este modo en un producto químico mediante fermentación.

30 **MEDIOS PARA RESOLVER EL PROBLEMA**

La presente invención, que está dirigida a resolver los problemas descritos anteriormente, se consigue mediante las siguientes constituciones de 1) a 5).

35 1) Un procedimiento de producción de un compuesto procedente de una biomasa a base de polisacárido, incluyendo el procedimiento, como mínimo, una de una etapa de sacarificación para la producción de una solución que contiene azúcar que contiene un monosacárido y/o un oligosacárido a partir de un producto obtenible mediante la hidrólisis de biomasa a base de polisacárido, y una etapa de fermentación para la fermentación de la solución que contiene azúcar que contiene el monosacárido y/u oligosacárido procedente de biomasa a base de polisacárido, en el que se lleva a cabo un tratamiento para la eliminación de un inhibidor de la fermentación mediante la utilización de una membrana de separación, que tiene una tasa de eliminación de glucosa y una tasa de eliminación de alcohol isopropílico que satisfacen simultáneamente las siguientes relaciones (I) y (II) cuando una solución acuosa que contiene glucosa de 500 ppm a pH 6,5 a 25°C y una solución acuosa que contiene alcohol isopropílico de 500 ppm a pH 6,5 a 25°C se permean respectivamente a través de la membrana a una presión de funcionamiento de 0,5 MPa, en la etapa anterior a la etapa de sacarificación y/o en la etapa anterior a la etapa de fermentación:

- 45 Tasa de eliminación de glucosa $\geq 80\%$ (I)
 Tasa de eliminación de glucosa – tasa de eliminación de alcohol isopropílico $\geq 20\%$ (II)

50 2) El procedimiento, según se expone en el punto 1), en el que el tratamiento para la eliminación de un inhibidor de la fermentación mediante la utilización de una membrana de separación permite la eliminación del inhibidor de la fermentación y la concentración simultánea de celulosa, hemicelulosa, un monosacárido y/o un oligosacárido.

55 3) El procedimiento, según se expone en el punto 1), en el que el tratamiento para la eliminación de un inhibidor de la fermentación con la utilización de una membrana de separación se lleva a cabo hasta que el contenido del inhibidor de la fermentación en la solución que contiene azúcar obtenible inmediatamente antes de la etapa de fermentación llega a 500 ppm o menos.

60 4) El procedimiento, según se expone en el punto 1), en el que la membrana de separación tiene poros que tienen un radio promedio de poro, medido por espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones, de 0,8 nm a 4,0 nm.

5) El procedimiento, según se expone en el punto 1), en el que el radio promedio de poro es de 2,5 nm a 4,0 nm.

EFECTO DE LA INVENCION

Según la presente invención, se da a conocer un procedimiento de producción de un compuesto procedente de una biomasa de polisacárido, procedimiento en el que se lleva a cabo, en la etapa anterior a la etapa de sacarificación y/o en la etapa anterior a la etapa de fermentación, un tratamiento para la eliminación, con la utilización de una membrana de separación, según se define en la reivindicación 1, de un inhibidor de la fermentación, que actúa como un obstáculo en, como mínimo, una de las siguientes etapas, es decir, una etapa para producir un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa utilizando biomasa a base de polisacárido como material de partida, y una etapa para la conversión del monosacárido y/u oligosacárido obtenido de esta manera en un producto químico mediante fermentación. La membrana de separación es capaz de eliminar continuamente los inhibidores de la fermentación y es capaz de controlar la calidad del agua cuando se seleccionan y se conectan las membranas de separación, según sea necesario. Además, se puede también diseñar libremente el procedimiento de suministro de agua de alimentación a la membrana de separación, tal como para incluir la variación de la velocidad de recuperación o la circulación de una parte del agua de alimentación. Por lo tanto, se hace posible eliminar los inhibidores de fermentación a una concentración que no afecte adversamente a los procesos posteriores, incluso cuando se utiliza como material de partida una biomasa a base de polisacárido que tiene un amplio intervalo de composición.

MEJOR MODO O MODOS PARA LLEVAR A CABO LA INVENCION

La biomasa a base de polisacárido que es un sujeto a tratar mediante el procedimiento de producción de la presente invención, contiene principalmente celulosa, hemicelulosa y lignina, y entre sus ejemplos se incluyen recursos agroforestales, materiales de desecho agroforestales y productos agroforestales procesados tales como madera blanda, madera dura, materiales de desecho de construcción, residuos de madera, residuos forestales de podado de madera, paja de arroz, cáscara de arroz, paja de trigo, virutas de madera, fibra de madera, pulpas químicas, papel utilizado y madera contrachapada. Además, se pueden utilizar también materiales que contienen menos lignina o nada de ésta, por ejemplo, recursos que contienen sacarosa tales como la caña de azúcar y remolacha azucarera y recursos que contienen almidón tales como maíz y boniato, como el sujeto a ser tratado mediante el procedimiento de producción de la presente invención, siempre que los materiales contengan o produzcan inhibidores de la fermentación, entre los ejemplos representativos de los cuales se incluyen los productos de sobredegradación de azúcares. Estas biomásas a base de polisacáridos se pueden utilizar solas o se pueden utilizar en una mezcla.

Las hemicelulosas tienen azúcares llamados pentosas, tales como xilosa, cada uno con cinco átomos de carbono como unidades constituyentes, azúcares llamados hexosas tales como manosa, arabinosa y ácido galacturónico, que tienen, cada uno, seis átomos de carbono como unidades constituyentes, y polisacáridos complejos, como el glucomanano y glucuronoxilano. De este modo, cuando se someten a hidrólisis, las hemicelulosas generan un monosacárido de una pentosa formado a partir de cinco átomos de carbono, un oligosacárido de pentosas que tiene un número plural de monosacáridos unidos entre sí, un monosacárido de una hexosa formada a partir de seis átomos de carbono, un oligosacárido de hexosas que tiene un número plural de monosacáridos unidos entre sí y un oligosacárido que tiene números plurales de un monosacárido de pentosas y un monosacárido de hexosas unidos entre sí. La celulosa tiene seis átomos de carbono como unidades constituyentes y, por lo tanto, cuando se somete a la hidrólisis, la celulosa genera un monosacárido de una hexosa formado a partir de seis átomos de carbono, y un oligosacárido de hexosas que tiene un número plural de monosacáridos unidos entre sí. En general, la relación de composición o la cantidad de producción de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa varía con el procedimiento de pretratamiento o con el tipo de recurso agroforestal, material de desecho agroforestal o producto procesado agroforestal utilizado como material de partida.

Se han sugerido diversos flujos de tratamiento para biomásas a base de polisacáridos, pero en resumen se pueden explicar tal como sigue. En primer lugar, una biomasa a base de polisacárido se trata por hidrólisis para eliminar o reblandecer la lignina, y se suministra a un proceso de pretratamiento para hacer más fácil la extracción de la celulosa o la hemicelulosa. Posteriormente, se lleva a cabo un proceso de sacarificación en el que la celulosa y la hemicelulosa obtenida de este modo se tratan adicionalmente mediante hidrólisis, y se recoge un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa. Aquí, los tratamientos de hidrólisis en el proceso de pretratamiento y el proceso de sacarificación pueden ser, por ejemplo, tratamientos que utilizan ácido, álcali, enzima, alta temperatura y alta presión (agua subcrítica, agua supercrítica) o similares y estos tratamientos se pueden utilizar por separado o en combinación. Además, el proceso de pretratamiento y el proceso de sacarificación se pueden llevar a cabo, cada uno, independientemente o pueden llevarse a cabo simultáneamente. Después del proceso de sacarificación, se lleva a cabo un proceso de fermentación en el que celulosa, una hemicelulosa, un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa se utilizan como materiales de partida para convertirlos mediante fermentación en diversos compuestos procedentes de una biomasa a base de polisacáridos tales como, por ejemplo, alcoholes tales como etanol, butanol, 1,3-propanodiol, 1,4-butanodiol y glicerol; ácidos orgánicos tales como ácido pirúvico, ácido succínico, ácido málico, ácido itacónico, ácido cítrico y ácido láctico; nucleósidos tales como inosina y guanosina; nucleótidos tales como ácido inosínico y ácido guanílico y compuestos de diamina tales como cadaverina. Cuando el compuesto obtenido de este modo mediante fermentación es un monómero tal como ácido láctico, se puede llevar a cabo también un procedimiento de polimerización para convertir el monómero en un polímero mediante polimerización. Finalmente, después del proceso de fermentación o el proceso de polimerización,

a menudo se lleva a cabo un proceso de purificación con el fin de mejorar la calidad de los diversos compuestos resultantes procedentes de biomasa a base de polisacáridos.

5 Tal como se ha descrito anteriormente, en el proceso de pretratamiento o en el proceso de sacarificación, la biomasa a base de polisacáridos se somete a un tratamiento de hidrólisis según un procedimiento conocido
10 utilizando ácido, álcali, enzima, alta temperatura y alta presión (agua subcrítica, agua supercrítica), o similares. El tipo o las condiciones del tratamiento de hidrólisis se pueden seleccionar adecuadamente en vista del tipo de biomasa a base de polisacárido utilizada como material de partida, y el coste del proceso total, incluyendo la fermentación, la polimerización, la purificación y similares. El tratamiento de hidrólisis puede llevarse a cabo como
15 tratamiento de hidrólisis único, o puede llevarse a cabo en combinación de múltiples tratamientos de hidrólisis. Por ejemplo, si se utiliza un ácido en el tratamiento de hidrólisis en cualquiera del proceso de pretratamiento y el proceso de sacarificación, el proceso de pretratamiento y el proceso de sacarificación se pueden llevar a cabo en la misma etapa, o los respectivos procesos pueden llevarse a cabo de forma independiente de tal manera que el proceso de pretratamiento se lleva a cabo a una temperatura relativamente más alta, mientras que el proceso de sacarificación se lleva a cabo a una temperatura relativamente inferior. También se puede utilizar, por ejemplo, un procedimiento de llevar a cabo un proceso de pretratamiento que se centra en la eliminación o el reblandecimiento de la lignina con la utilización de agua subcrítica y, a continuación, llevar a cabo posteriormente un proceso de sacarificación que se centra en la producción de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa a partir de celulosa o una hemicelulosa con la utilización de una enzima.

20 A partir de la biomasa a base de polisacárido que se ha sometido a un tratamiento de hidrólisis en el proceso de pretratamiento, se obtienen diversos productos secundarios además del monosacárido y/u oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa. Si estos productos secundarios son sustancias que no afectan negativamente a la sacarificación y fermentación enzimáticas y similares de las etapas posteriores, los productos secundarios se pueden retirar en cualquier proceso, tal como un proceso de purificación para mejorar la calidad del producto y, por lo tanto, no plantean un problema serio. Sin embargo, si los productos secundarios son inhibidores de la fermentación que tienen efectos adversos, aparece la necesidad de eliminar los productos secundarios en las etapas anteriores a la sacarificación y fermentación enzimáticas, hasta un nivel en el que los productos secundarios no afecten negativamente a los respectivos procesos.

30 En general, un inhibidor de la fermentación es una sustancia que obstruye una reacción enzimática o una reacción de fermentación en un proceso de sacarificación que utiliza la enzima o en un proceso de fermentación. Entre los ejemplos representativos del inhibidor de la fermentación se incluyen productos de sobredegradación de azúcares, la lignina o compuestos aromáticos derivados de la lignina y compuestos procedentes de adhesivos o materiales de revestimiento. Entre estos, los compuestos procedentes de productos químicos artificiales tales como adhesivos y materiales de revestimiento se pueden evitar hasta cierto nivel, mediante la utilización de biomasa a base de polisacáridos de origen natural que no hayan sido sometidas a dichos tratamientos. Sin embargo, siempre que se utiliza como material de partida una biomasa a base de polisacáridos, es difícil de evitar la generación de productos de sobredegradación de azúcares o compuestos aromáticos derivados de la lignina. En este caso, cuando los inhibidores de la fermentación son sólidos insolubles, tales como lignina y celulosa, hemicelulosas, y los monosacáridos y/u oligosacáridos de pentosas y/o hexosas son solubles, es posible eliminar los inhibidores de la fermentación mediante separación sólido-líquido convencional. Sin embargo, si los inhibidores de la fermentación y las sustancias útiles son todas solubles, no se puede aplicar la separación sólido-líquido convencional y, por lo tanto, se aplica preferentemente el procedimiento de tratamiento de eliminación de un inhibidor de la fermentación con la utilización de una membrana de separación, tal como se utiliza en la presente invención. Es decir, un inhibidor de la fermentación que se trata principalmente en la presente invención, se refiere a un material que forma sustancialmente una solución mezclada con celulosa, una hemicelulosa, un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa de una hexosa, y está en un estado de ser inseparables o difícilmente separables o mediante la separación sólido-líquido convencional. Los ejemplos de un inhibidor de fermentación de este tipo incluyen ácido acético, ácido fórmico, ácido levulínico, furfural y 5-hidroximetilfurfural, que son productos de sobredegradación de azúcares, vainillina, acetovainillina y guayacol, que son compuestos aromáticos derivados de la lignina.

55 La concentración de inhibidor de la fermentación que inhibe una reacción enzimática o una reacción de fermentación puede variar con las respectivas reacciones, pero en general se dice que es una concentración de 500 a 1000 ppm o mayor. En consecuencia, es preferente eliminar el inhibidor de la fermentación a una concentración de 500 ppm o menos, más preferente eliminarlo a una concentración de 150 ppm o menos, y lo más preferente eliminarlo a 0 ppm (límite de detección), antes de que la biomasa se suministre a un proceso de sacarificación que utiliza una enzima o a un proceso de fermentación. A medida que la concentración de inhibidor de fermentación se reduce más y más, se reduce la carga del proceso de sacarificación que utiliza una enzima o del proceso de fermentación, y de este modo se puede intentar una operación más eficiente del proceso de sacarificación que utiliza una enzima o el proceso de fermentación. Sin embargo, en la práctica, se toman en consideración el coste requerido en la etapa para eliminar el inhibidor de la fermentación con la utilización de una membrana de separación y el coste requerido en los procesos de sacarificación enzimática, la fermentación, la polimerización, la purificación y similares en las etapas posteriores, y se calcula la concentración de inhibidor de la fermentación que generaría un coste total mínimo.

65

La presente invención se caracteriza porque una membrana de separación, según se define en la reivindicación 1, se utiliza para eliminar un inhibidor de la fermentación a partir de una solución que contiene celulosa, una hemicelulosa, un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa y la membrana de separación no está particularmente limitada con tal de que sea capaz de separar el inhibidor de la fermentación de la celulosa, una hemicelulosa, un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa. El inhibidor de la fermentación que se va a eliminar puede variar con el procedimiento de fermentación, pero los inhibidores de la fermentación son principalmente compuestos de bajo peso molecular que tienen un peso molecular de aproximadamente 100 a 200, tales como productos de sobredegradación de azúcares o compuestos aromáticos derivados de la lignina. Por otra parte, el peso molecular de la celulosa o una hemicelulosa es, generalmente, tan grande como de varios cientos a varias decenas de miles, mientras que el peso molecular de un monosacárido de una pentosa y/o una hexosa es de aproximadamente 100 a 200. Por esta razón, se esperaba que iba a ser difícil, en particular, separar un inhibidor de la fermentación que tiene un peso molecular de aproximadamente 100 a 200 y un monosacárido de una pentosa y/o una hexosa, sobre la base del diámetro de poro de la membrana, y la eficiencia de separación sería baja.

Sin embargo, los inventores han descubierto que cuando se utiliza una membrana de nanofiltración como una membrana de separación, la tasa de eliminación de glucosa es particularmente elevada, y por otro lado, cuando se utiliza una membrana de nanofiltración que tiene una gran diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico, se logra la separación de las dos sustancias con una elevada eficiencia, completando de este modo la presente invención.

En el presente documento, una membrana de nanofiltración es un material llamado de nanofiltración (membrana de nanofiltración, membrana NF) y es una membrana que generalmente se define como "una membrana que permite la permeación de un ion monovalente y bloquea a un ion divalente". Se trata de una membrana que se cree que tiene microporos con un tamaño de, aproximadamente, unos pocos nanómetros, y se utiliza principalmente para el bloqueo de micropartículas, moléculas, iones, sales y similares en el agua.

Aún hasta la actualidad, el mecanismo para la separación de un soluto con la utilización de una membrana de nanofiltración no ha sido dilucidado satisfactoriamente, pero se dice que la separación se consigue mediante una combinación de un mecanismo de separación basado en repulsión de carga, un mecanismo de separación basado en la diferencia en la afinidad con la membrana de separación, un mecanismo de separación basado en el diámetro de poro de membrana y similares. No es muy difícil imaginar que una membrana de separación que tiene una tasa de eliminación de glucosa elevada, que es un tipo de monosacárido de hexosa, sería capaz de concentrar una pentosa o una hexosa sin permear el azúcar. Sin embargo, es un hecho sorprendente que la tendencia de separación entre un inhibidor de la fermentación y los monosacáridos de una pentosa y/o una hexosa se puede predecir conociendo la diferencia entre las tasas de eliminación para la glucosa y el alcohol isopropílico, que son sustancias orgánicas sin capacidad de carga. La razón es la siguiente. Los inhibidores de la fermentación contienen una gran cantidad de compuestos que tienen aromaticidad, ya sean los productos de sobredegradación de azúcares o los compuestos aromáticos derivados de la lignina. En la separación entre los compuestos que tienen aromaticidad y los compuestos que no tienen aromaticidad, tales como pentosas o hexosas, el mecanismo de separación basado en la diferencia en la afinidad con la membrana de separación trabaja fuertemente. Por lo tanto, se ha pensado que era difícil el predecir que aquellos compuestos se pueden separar fácilmente, solamente mediante la investigación de la tendencia de separación de sustancias orgánicas sin capacidad de carga.

Aunque la razón de mostrar una tendencia tan sorprendente no se conoce ciertamente, se cree que el mecanismo de separación basado en el diámetro de poro de membrana es predominante en la separación entre los monosacáridos de pentosas y/o hexosas y el inhibidor de la fermentación, con la utilización de una membrana de nanofiltración de la membrana de separación utilizada en la presente invención. Es decir, se cree que, dado que un monosacárido de una pentosa y/o una hexosa es muy hidrófilo, las moléculas de monosacáridos portan muchas moléculas de agua consigo mismas en agua y tienen un gran radio de hidratación; sin embargo, dado que un inhibidor de la fermentación tiene una baja hidrofiliadad, las moléculas de inhibidor no tienen un radio de hidratación similar al de un monosacárido de una pentosa y/o una hexosa, y esta diferencia en el radio de la hidratación tiene efectos sobre el mecanismo de separación basado en el tamaño de poro de la membrana, consiguiéndose de este modo la separación.

En la presente invención, es preferente utilizar una membrana de nanofiltración como una membrana de separación. Como material para la membrana de nanofiltración utilizada en la presente invención, se puede utilizar un material polimérico, tal como un polímero a base de éster de celulosa, tal como acetato de celulosa, poliamida, poliéster, poliimida o un polímero de vinilo. Sin embargo, la membrana no se limita a una membrana construida a partir de un solo tipo de material, y también puede ser una membrana que contiene una pluralidad de materiales de membrana. La estructura de la membrana puede ser una membrana asimétrica que tiene una capa densa en, como mínimo, una superficie de la membrana y tiene poros con un diámetro de poro que aumenta gradualmente desde la capa densa hacia el interior de la membrana o hacia la otra superficie, o una membrana de material compuesto que tiene, en la capa densa de la membrana asimétrica, una capa funcional muy delgada formada a partir de un material diferente. Como membrana de material compuesto, se puede utilizar, por ejemplo, una membrana de material compuesto que

constituye un nanofiltro formado a partir de una capa funcional de poliamida sobre una película de soporte de polisulfona como el material de película, tal como se da a conocer en el documento JP-A-62-201606.

5 Entre éstas, es preferente una membrana de material compuesto que tiene una capa funcional formada a partir de poliamida, que tiene conjuntamente una resistencia a la presión elevada, una permeabilidad elevada al agua y un rendimiento elevado de eliminación de solutos y tiene un excelente potencial. Con el fin de que la membrana de material compuesto sea capaz de mantener la durabilidad contra la presión de trabajo, la permeabilidad al agua y el rendimiento de bloqueo elevados, es adecuada una estructura que tiene una capa funcional realizada de poliamida y que retiene la capa funcional sobre un soporte formado a partir de una membrana porosa o una tela no tejida.
10 Además, una membrana semipermeable de poliamida adecuada es una membrana semipermeable compuesta que tiene una capa funcional de poliamida reticulada que se puede obtener mediante una reacción de policondensación entre una amina polifuncional y un haluro de ácido polifuncional, proporcionada sobre un soporte.

15 En lo que se refiere a una membrana de nanofiltración que tiene una capa funcional realizada de poliamida, entre los ejemplos preferentes del componente de ácido carboxílico del monómero que constituye la poliamida se incluyen ácidos carboxílicos aromáticos tales como ácido trimésico, ácido benzofenonatetracarboxílico, ácido trimelítico, ácido piromético, ácido isoftálico, ácido tereftálico, ácido naftalenodicarboxílico, ácido difenilcarboxílico y ácido piridinocarboxílico. Después de la formación de una membrana, se utilizan preferentemente haluros o anhídridos de estos ácidos carboxílicos para aumentar la reactividad con el componente de amina que se describirá a continuación; sin embargo, si se toma en consideración la manejabilidad, tal como solubilidad en disolventes, son más preferentes en particular los haluros de ácido trimésico, ácido isoftálico, ácido tereftálico y mezclas de estos ácidos.

25 Entre los ejemplos preferentes del componente de amina para el monómero que constituye la poliamida se incluyen diaminas primarias que tienen anillos aromáticos, tales como m-fenilendiamina, p-fenilendiamina, bencidina, metilendisianilina, 4,4'-diaminobifeniléter, dianisidina, 3,3',4'-triaminobifeniléter, 3,3',4,4'-tetraaminobifeniléter, 3,3'-dioxibencidina, 1,8-naftalendiamina, m(p)-monometilfenilendiamina, 3,3'-monometilamino-4,4'-diaminobifeniléter, 4, N, N'-(4-aminobenzoil)-p(m)fenilendiamina-2,2'-bis(4-aminofenilbenzimidazol), 2,2'-bis(4-aminofenilbenzoxazol) y 2,2'-bis(4-aminofenilbenzotiazol); y diaminas secundarias, tales como piperacina, 2,5-dimetilpiperacina, piperidina y derivados de las mismas. En el presente documento, una membrana de nanofiltración que tiene una capa funcional realizada de una poliamida reticulada que contiene piperacina o piperidina como un monómero, tiene resistencia al calor y resistencia química además de resistencia a la presión y durabilidad y, de este modo, se utiliza de forma preferente. Un ejemplo más preferente es una poliamida que contiene la poliamida de piperacina reticulada y la poliamida de piperidina reticulada como componente principal, y un ejemplo más preferente es una poliamida que contiene la poliamida de piperacina reticulada como componente principal. Entre los ejemplos de la membrana de nanofiltración que contiene una poliamida de piperacina reticulada como componente principal se incluyen los datos a conocer en el documento JP-A-62-201606, y un ejemplo específico puede ser la membrana de nanofiltración (NF) de poliamida reticulada (UTC-60), fabricada por Toray Industries, Inc.

40 Además, incluso en el procedimiento de formación de una capa de película ultrafina de una poliamida reticulada sobre una película de soporte que contiene polisulfona como un material de película, y posteriormente el tratamiento de la capa de película ultrafina con una solución acuosa de un compuesto peroximono o una solución acuosa de un compuesto ácido peroxidisulfúrico, tal como se da a conocer en el documento JP-A-5-96140, se puede obtener una membrana de nanofiltración mediante el control de las condiciones de tratamiento. La poliamida reticulada puede ser producida a partir de los componentes de ácido carboxílico y los componentes de amina mencionados anteriormente.

50 Una membrana de nanofiltración se puede obtener también poniendo una película de poliamida que tiene una capa funcional que contiene un grupo amino primario, en contacto en condiciones apropiadas, con un reactivo que es capaz de producir una sal de diazonio o un derivado de la misma mediante la reacción con un grupo amino primario, tal como se da a conocer en el documento JP-A-2005-177741. Con el fin de obtener una capa funcional que contiene un grupo amino primario, entre los componentes de amina mencionados anteriormente, se pueden utilizar diaminas primarias que tienen un anillo aromático, tal como m-fenilendiamina, p-fenilendiamina, bencidina, metilendisianilina, 4,4'-diaminobifeniléter, dianisidina, 3,3',4'-triaminobifeniléter, 3,3',4,4'-tetraaminobifeniléter, 3,3'-dioxibencidina, 1,8-naftalendiamina, m(p)-monometilfenilendiamina, 3,3'-monometilamino-4,4'-diaminobifeniléter, 4,N,N'-(4-aminobenzoil)-p(m)fenilendiamina-2,2'-bis(4-aminofenilbenzimidazol), 2,2'-bis(4-aminofenilbenzoxazol) o 2,2'-bis(4-aminofenilbenzotiazol).

60 Como membrana de nanofiltración que es preferente como la membrana de separación utilizada en la presente invención, en particular, es preferente una membrana de nanofiltración que tenga una tasa de eliminación de glucosa elevada y que tenga una gran diferencia en la tasa de eliminación de la glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico, porque es más fácil separar un monosacárido de una pentosa y/o una hexosa y un inhibidor de la fermentación. Por lo tanto, se necesita una membrana de nanofiltración que tenga una tasa de eliminación de glucosa del 80% o mayor y una diferencia entre la tasa de eliminación de la glucosa y la tasa de eliminación del alcohol isopropílico del 20% o mayor. Es más preferente que la tasa de eliminación de la glucosa sea del 90% o mayor, e incluso es más preferente que la tasa de eliminación de la glucosa sea del 95% o mayor. Además, es más

preferente que la diferencia entre la tasa de eliminación de la glucosa y la tasa de eliminación del alcohol isopropílico sea del 30% o mayor, e incluso es más preferente que la tasa de eliminación de la glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico sea del 50% o mayor.

5 Según la presente invención, se necesita una membrana de nanofiltración que tenga una tasa de eliminación de glucosa del 80% o mayor y una diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 20% o mayor, pero se puede seleccionar adecuadamente una membrana de nanofiltración de modo que, después de que se satisfagan estas condiciones, se pueda obtener una tasa de recuperación de celulosa, hemicelulosa, un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa, y una tasa de recuperación para un inhibidor de la fermentación en vistas de la calidad del agua del líquido a tratar y de los costes totales. Por ejemplo, cuando la concentración del inhibidor de la fermentación es baja y la concentración de celulosa, hemicelulosa, monosacárido y/o oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa es elevada, es preferente dar prioridad a la tasa de eliminación de glucosa sobre la diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico, de modo que se pueda suprimir el flujo de salida de celulosa, hemicelulosa, monosacárido y/o oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa, y posteriormente se puede eliminar el inhibidor de la fermentación. En este caso, es preferente una tasa de eliminación de glucosa de la membrana de nanofiltración del 95% o mayor, es más preferente una tasa de eliminación de glucosa del 98% o mayor, y es aún más preferente una tasa de eliminación de glucosa del 99% o mayor. Por otra parte, es preferente una diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico de la membrana de nanofiltración del 25% o mayor, y es más preferente una diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación del alcohol isopropílico del 30% o mayor. Además, por ejemplo, cuando la concentración del inhibidor de la fermentación es elevada y la concentración de celulosa, hemicelulosa, monosacárido y/o oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa es baja, es preferente dar prioridad a la diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico sobre la tasa de eliminación de glucosa, debido a que el inhibidor de la fermentación se puede eliminar en un tiempo corto. En este caso, es preferente una diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico de la membrana de nanofiltración del 30% o mayor, es más preferente una diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 50% o mayor, y es aún más preferente una diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 60% o mayor. Por otra parte, es preferente una tasa de eliminación de glucosa de la membrana de nanofiltración del 90% o mayor, y es más preferente una tasa de eliminación de glucosa del 95% o mayor.

La tasa de eliminación de glucosa o la tasa de eliminación de alcohol isopropílico se evalúan mediante la utilización de una solución acuosa de 500 ppm de glucosa o una solución acuosa de 500 ppm de alcohol isopropílico a pH 6,5 a 25°C, permeando cada una de las soluciones a través de una membrana de separación a una presión de funcionamiento de 0,5 MPa, y comparando las concentraciones de glucosa o alcohol isopropílico en el agua de permeación y en el agua de alimentación. Es decir, el cálculo se realiza mediante la siguiente fórmula: tasa de eliminación de glucosa (%) = $100 \times (1 - (\text{concentración de glucosa en el agua permeada} / \text{concentración de glucosa en el agua de alimentación}))$, y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico (%) = $100 \times (1 - (\text{concentración de alcohol isopropílico en el agua permeada} / \text{concentración de alcohol isopropílico en el agua de alimentación}))$.

Para la membrana de nanofiltración que muestra una tasa de eliminación de glucosa y una tasa de eliminación de alcohol isopropílico en el intervalo mencionado anteriormente, cuando el radio de poros promedio de la capa funcional de separación de la membrana se mide mediante una espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones, se descubrió que el radio de poro promedio es de 0,8 nm a 4,0 nm. La capa funcional de separación de la membrana de nanofiltración es la capa responsable de la separación sustancial de un soluto en la membrana de nanofiltración, y generalmente se encuentra en la capa más externa o cerca de la capa superficial de la membrana de nanofiltración.

La espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones es una técnica que mide el tiempo utilizado por un positrón desde el punto de entrada en una muestra hasta el punto de aniquilación (en el orden de varios cientos de picosegundos a varias decenas de nanosegundos), y evalúa de forma no invasiva los datos relacionados con el tamaño de poros de, aproximadamente, 0,1 a 10 nm, la densidad numérica y la distribución de tamaños en base al tiempo de aniquilación. Respecto a un procedimiento de análisis de este tipo, se describen en los detalles, por ejemplo, "Lectures on Experimental Chemistry, 4ª edición," Vol. 14, p. 485, editado por la Sociedad Química de Japón, publicado por Maruzen Corp. (1992).

De forma genérica, esta técnica se clasifica en dos tipos en base al tipo de la fuente de radiación de positrones. Un tipo es un procedimiento de ^{22}Na que utiliza un radioisótopo (^{22}Na) como la fuente de radiación de positrones y es apropiado para una evaluación de los poros en resinas, polvos, fibras, líquidos y similares. El otro tipo es un procedimiento de haz de positrones que utiliza un haz de positrones emitido desde un acelerador lineal de electrones, como la fuente de radiación de positrones, y permite una evaluación de los poros de las películas delgadas que tienen un espesor de varios cientos de nanómetros formadas en diversas bases. Particularmente, en el último procedimiento de haz de positrones, incluso cuando se utiliza una membrana de nanofiltración como la muestra a medir, se puede medir la capa funcional de la membrana de nanofiltración solamente poniendo la membrana en un estado seco, y no es necesario, en particular, realizar ningún procesamiento tal como la separación

de la capa funcional de separación de la membrana de nanofiltración. Por lo tanto, es más preferente el procedimiento de haz de positrones como un procedimiento para el análisis de la capa funcional de separación de una membrana de nanofiltración.

5 En el procedimiento de haz de positrones, la banda de medición en la dirección de la profundidad, desde la superficie de la muestra, se regula sobre la base de la cantidad de energía del haz de positrones incidente. A medida que aumenta la energía, una proporción más profunda de la superficie de la muestra se incluye en la banda de medición, pero la profundidad es dependiente de la densidad de la muestra. Con el fin de medir la capa funcional de separación de una membrana de nanofiltración, cuando un haz de positrones incide de forma general con una
10 energía de aproximadamente de 1 keV, se mide una banda de, aproximadamente, 50 a 150 nm de la superficie de la muestra. En el caso de una capa funcional de separación que tiene un espesor de, aproximadamente, 150 a 300 nm, particularmente, se puede medir de forma selectiva la parte central en la capa funcional de separación.

15 Un positrón y un electrón se unen con su fuerza coulombiana mutua y generan positronio Ps, que es un átomo de tipo hidrógeno neutro. Ps tiene para-positronio, p-Ps, y orto-positronio, o-Ps, dependiendo de si los espines de los positrones y los electrones son antiparalelos o paralelos, o similares, y el para-positronio y el orto-positronio se generan en una proporción de 1:3 según el teorema de estadística de espín. Sus respectivos ciclos de vida media son 125 p para el p-Ps y 140 ps para el o-Ps. Sin embargo, en una sustancia en un estado agregado, el o-Ps se superpone con un electrón que es diferente al que tiene unido a sí mismo, y tiene una mayor probabilidad de
20 provocar una aniquilación denominada aniquilación de pick-off. Como resultado, la vida media del o-Ps se acorta a unos pocos nanosegundos. La aniquilación de o-Ps en un material aislante está provocada por la superposición de un o-Ps con un electrón presente en las paredes de los poros de la sustancia, y como el tamaño de poro es menor, se acelera la tasa de aniquilación. Es decir, la vida media de aniquilación de un o-Ps se puede correlacionar con el diámetro de poro en un material aislante.

25 La vida media de aniquilación τ basado en la aniquilación pick-off de o-Ps se puede obtener en un análisis realizado dividiendo una curva de vida media de aniquilación de positrones medida mediante espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones, en cuatro componentes por un programa por mínimos cuadrados no lineales, POSITRONFIT (los detalles se describen en, por ejemplo, P. Kirkegaard, y otros, Computer Physic Communications, Vol. 3, p. 240, North Holland Publishing Company (1972)), específicamente a partir de los resultados del análisis para el cuarto componente.

30 El radio de poro promedio R en la capa funcional de separación de la membrana de nanofiltración, según la presente invención, es un valor determinado a partir de la siguiente fórmula (1), utilizando la vida media τ de aniquilación de positrones. La fórmula (1) representa la relación en el caso de suponer que el o-Ps está presente en un poro que tiene un radio R en una capa de electrones que tiene un espesor de ΔR , y ΔR se determina empíricamente que es 0,166 nm (los detalles están descritos en Nakanishi, y otros, Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics, Vol 27, pág. 1419, John Wiley & Sons, Incorporated (1989)).

40 [Expresión 1]

$$[\text{Expresión 1}] \quad \tau^{-1} = 2 \left[1 - \frac{R}{R + \Delta R} + \frac{1}{2\pi} \operatorname{sen} \left(\frac{2\pi R}{R + \Delta R} \right) \right] \quad (1)$$

45 Tras la expresión de la eficiencia de una membrana de separación, se utiliza no sólo las tasas de eliminación que se han descrito anteriormente, sino también el rendimiento de permeación, que está en una relación de compensación con las tasas de eliminación. Por ejemplo, en una membrana de separación que tiene tasas de eliminación iguales y un elevado rendimiento de permeación, se acorta el tiempo requerido para la operación de separación, lo que es preferente. En la presente invención, se utiliza de forma preferente una membrana de separación que presenta un
50 rendimiento de permeación de 0,5 m³/m²d o mayor cuando una solución acuosa de 500 ppm de glucosa a pH 6,5 a 25°C se permea a través de la misma a una presión de funcionamiento de 0,5 MPa. Una membrana de separación que muestra un rendimiento de permeación de 0,7 m³/m²d o mayor es más preferente debido a que la operación de separación se puede realizar en un tiempo más corto.

55 En lo que respecta a la membrana de separación utilizada en la presente invención, las membranas de separación pueden ser cuidadosamente seleccionadas y conectadas entre sí para su utilización de acuerdo a las necesidades, con el fin de controlar la calidad del agua. En lo que respecta a la selección y conexión de las membranas de separación, si se utiliza, como mínimo, una membrana de separación que presenta una tasa de eliminación de glucosa y una tasa de eliminación de alcohol isopropílico en los intervalos que se han descrito anteriormente, se pueden eliminar de manera eficiente los inhibidores de la fermentación. Por ejemplo, en primer lugar, es aceptable
60 llevar a cabo un tratamiento genérico utilizando una membrana de separación que tiene una tasa de eliminación baja para los inhibidores de la fermentación, pero tiene un elevado rendimiento de permeación, y posteriormente llevar a cabo un tratamiento para la mejora de la calidad del agua utilizando una membrana de separación que tiene un rendimiento de permeabilidad bajo, pero que tiene una elevada tasa de eliminación de inhibidores de la

fermentación. Esta selección y conexión de membranas de separación se utiliza de forma preferente en el caso en el que la concentración del monosacárido y/u oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa, de este modo como la concentración del inhibidor de la fermentación sean bajos, porque puede llevarse a cabo de forma simultánea la concentración y la eliminación del inhibidor de la fermentación.

5 La forma de la membrana de separación utilizada en la presente invención no está particularmente limitada, siempre y cuando la membrana sea capaz de tratar una biomasa a base de polisacáridos, y se puede seleccionar para su utilización una forma de membrana lisa, una forma de membrana de fibras huecas, una forma de la membrana plisada, una forma de membrana tubular y similares. En particular, se utiliza de forma preferente un elemento
10 denominado de tipo espiral, que se produce procesando una membrana lisa en una forma de sobre, y enrollando la membrana en una forma de espiral, junto con diversos miembros tales como una red, debido a que se puede ampliar el área de la membrana.

15 La membrana de separación se puede disponer desde un punto en el que se genera un inhibidor de la fermentación, hasta un punto en el que el inhibidor de la fermentación se transporta a las etapas que se ven afectadas negativamente por el inhibidor de la fermentación, tales como la sacarificación que utiliza una enzima y los procesos de separación, de modo que el inhibidor de la fermentación se puede eliminar en la medida en que el inhibidor de la fermentación no afecta negativamente a los procesos posteriores. Además, con el fin de controlar la calidad del agua, el procedimiento de suministro de agua de alimentación a la membrana de separación también se puede
20 diseñar libremente, de manera que se modifique la tasa de recuperación, o se haga circular una parte del agua de alimentación. Por ejemplo, el procedimiento de suministro se puede modificar también en función del tipo de biomasa a base de polisacárido.

25 Como tal, el tratamiento de biomasa a base de polisacárido con la utilización de una membrana de separación tiene un alto grado de libertad de diseño y, por lo tanto, incluso cuando se utilizan diversas biomásas a base de polisacáridos como materiales de partida, el inhibidor de la fermentación se puede eliminar en la medida en la que los inhibidores de la fermentación no afectan adversamente a los procesos posteriores.

30 Además, con el fin de eliminar un inhibidor de la fermentación de una solución que contiene un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa, mediante la utilización de una membrana de separación que presenta una tasa de eliminación de glucosa y una tasa de eliminación de alcohol isopropílico en los intervalos mencionados anteriormente, el monosacárido y/u oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa está más concentrado que el inhibidor de la fermentación, y se recupera en un lado de solución saturada de cloruro sódico o solución concentrada. Es decir, cuando se utiliza una membrana de separación que presenta una tasa de eliminación de
35 glucosa y una tasa de eliminación de alcohol isopropílico en los intervalos descritos anteriormente, puede producirse una situación en la que se puede llevar a cabo simultáneamente la concentración de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa a la vez que se elimina un inhibidor de la fermentación. De este modo, la membrana de separación se puede utilizar de forma particularmente adecuada en una solución que tiene una baja concentración de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa. Como resultado, un procedimiento convencional que requiere dos etapas, una etapa para la concentración de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa, y una etapa para la eliminación de un inhibidor de la fermentación, se puede acortar a una sola etapa, o se puede reducir la carga de la etapa de concentración.
40

45 A continuación, la presente invención se describirá por medio de ejemplos específicos, pero la presente invención no pretende quedar limitada por estos ejemplos.

EJEMPLOS

50 Las mediciones en los ejemplos y ejemplos comparativos se llevaron a cabo tal como se describe a continuación. Además, las membranas de separación A a G utilizadas en los ejemplos y ejemplos comparativos se produjeron tal como se describe a continuación.

55 En los ejemplos 1 a 8 y ejemplos comparativos 1 y 2, se preparó la siguiente solución acuosa modelo y se suministró a diversas membranas de separación, con el fin de evaluar si un inhibidor de la fermentación se puede eliminar de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa. Es decir, se utilizaron glucosa y sacarosa como el monosacárido y/u oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa, y se utilizaron furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina como los inhibidores de la fermentación. Se preparó una solución acuosa modelo disolviendo cada una de las sustancias en agua a una concentración de 500 ppm.

60 En el ejemplo 9, se utilizó glucosa como el monosacárido y/u oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa y se utilizaron furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina como los inhibidores de la fermentación, a fin de investigar el efecto de la concentración de inhibidor de la fermentación sobre la tasa de crecimiento de un bacilo de colon y una levadura.

(Tasa de eliminación de alcohol isopropílico)

Se realizó una evaluación mediante la comparación de las concentraciones de alcohol isopropílico en el agua de permeación y el agua de alimentación, que se obtienen cuando se suministró una solución acuosa de 500 ppm de alcohol isopropílico ajustada a pH 6,5 y una temperatura de 25°C a una membrana de separación a una presión de funcionamiento de 0,5 MPa. Es decir, se realizó el cálculo mediante la fórmula: tasa de eliminación de alcohol isopropílico (%) = $100 \times (1 - (\text{concentración de alcohol isopropílico en el agua de permeación} / \text{concentración de alcohol isopropílico en el agua de alimentación}))$. La concentración de alcohol isopropílico se determinó por análisis de cromatografía de gases convencional.

(Tasa de eliminación de glucosa)

Se realizó una evaluación mediante la comparación de las concentraciones de glucosa en el agua de permeación y el agua de alimentación, que se obtiene cuando se suministró una solución acuosa de 500 ppm de glucosa ajustada a pH 6,5 y una temperatura de 25°C a una membrana de separación a una presión de funcionamiento de 0,5 MPa. Es decir, se realizó el cálculo mediante la fórmula: tasa de eliminación de glucosa (%) = $100 \times (1 - (\text{concentración de glucosa en el agua de permeación} / \text{concentración de glucosa en agua de alimentación}))$. La concentración de glucosa se determinó utilizando un refractómetro (RID-6A, fabricado por Shimadzu Corp.).

(Eficacia de permeabilidad)

Se midió la cantidad de agua de permeación (m^3) por unidad de tiempo (d) y unidad de área (m^2) obtenida cuando se suministró una solución acuosa de 500 ppm de glucosa ajustada a pH 6,5 a una temperatura de 25°C a una membrana de separación a una presión de funcionamiento de 0,5 MPa y se calculó el rendimiento de permeación ($\text{m}^3/\text{m}^2\text{d}$).

(Espectroscopía de vida media de aniquilación de positrones según el procedimiento de haz de positrones)

Para llevar a cabo la espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones sin procesar particularmente la capa funcional de separación de una membrana de separación, el análisis puede hacerse mediante la utilización de un procedimiento de haz de positrones tal como se describe a continuación. Es decir, se midió una muestra de medición secada a presión reducida a temperatura ambiente y cortada a un tamaño de 1,5 cm x 1,5 cm, con un aparato de medición de película delgada correspondiente a un aparato de medición de la vida media de aniquilación de positrones que tiene un generador de haces de positrones (los detalles del aparato se describen en, por ejemplo, Radiation Physics and Chemistry, vol. 58, pág. 603, Pergamon Press (2000)), con una intensidad del haz de 1 keV, en vacío a temperatura ambiente, en un número de recuento total de 5.000.000 por medio de un contador de centelleo realizado de difluoruro de bario mediante un tubo fotomultiplicador. La interpretación se realiza con POSITRONFIT. A partir de la vida media τ del cuarto componente obtenido por la interpretación, se puede analizar el radio de poros promedio R, el volumen de poro promedio V, intensidad relativa I y la cantidad poros $V \times I$.

(Producción de película de polisulfona de soporte)

La película de soporte de polisulfona utilizada en la presente invención se produce mediante la siguiente técnica. Es decir, se fijó sobre una placa de vidrio una tela no tejida húmeda de un tejido mixto de fibras de poliéster que tienen, respectivamente, una finura de hilo único de 0,5 y 1,5 decitex, la tela no tejida que tiene un tamaño de 30 cm de longitud y 20 cm de ancho, una permeabilidad al aire de $0,7 \text{ cm}^3/\text{cm}^2\text{-segundo}$ y un diámetro de poro promedio de 7 μm o menos. Se conformó una solución de polisulfona a una concentración del 15% en peso en disolvente dimetilformamida (DMF) (2,5 Poise: 20°C) sobre la tela no tejida húmeda a un grosor total de 200 μm , y el conjunto se sumergió inmediatamente en agua. De este modo, se obtuvo una película de polisulfona de soporte.

(Producción de la membrana de separación A)

La película de polisulfona de soporte se sumergió durante 2 minutos en una solución acuosa que contenía el 2,0% en peso de m-fenilendiamina y el 2,0% en peso de ϵ -caprolactama y, posteriormente, una solución preparada por disolución de cloruro de ácido trimésico en decano a una concentración del 0,1% en peso se aplicó sobre la misma a una proporción de $160 \text{ cm}^3/\text{m}^2$. A continuación, se eliminó el exceso de solución, y se obtuvo de este modo una membrana de separación. La membrana de separación obtenida de este modo se trató durante 2 minutos a temperatura ambiente con una solución acuosa que contenía el 0,07% en peso de nitrito de sodio y el 0,1% en peso de ácido sulfúrico concentrado, posteriormente se lavó inmediatamente con agua y se almacenó a temperatura ambiente. De este modo, se obtuvo una membrana de separación A.

(Producción de la membrana de separación B)

Se añadieron 20,0 g de etanol y 10,8 g de glicerina a un vaso de precipitados, y mientras la mezcla se agitaba vigorosamente, se añadieron a la misma 20,0 g de tetra-n-butoxititanio. Después de 5 minutos, mientras se agitaba

el gel obtenido de este modo con una varilla de vidrio, se añadieron a la misma 6,0 g de amoniaco acuoso al 28%. Después de que el gel se convirtiera en una forma de solución turbia, el gel se agitó adicionalmente durante 2 horas con un agitador. La solución turbia obtenida de este modo se sometió a centrifugación (2.500 rpm, 3 minutos). Los sólidos blancos precipitados se resuspendieron de nuevo en una solución turbia con etanol y la solución turbia se sometió a centrifugación (2.500 rpm, 3 minutos). Se recuperaron los sólidos blancos precipitados. Los sólidos blancos obtenidos de este modo se secaron a vacío a temperatura ambiente y se secaron adicionalmente a vacío a 120°C durante 3 horas. De este modo, se obtuvo un sólido blanco en forma de polvo.

Se preparó el sólido de color blanco en forma de polvo obtenido de este modo en una solución de ácido clorhídrico diluido (sólido/agua/ácido clorhídrico 1 N = 1/5,5/3,5% en peso) y la solución se aplicó sobre la película de polisulfona de soporte. Se eliminaron las gotitas de líquido en la superficie con corriente de nitrógeno y posteriormente el conjunto se secó durante una hora con un secador de aire caliente a 90°C. De este modo, se obtuvo una membrana de separación B.

(Producción de la membrana de separación C)

La película de soporte de polisulfona se sumergió durante 2 minutos en una solución acuosa que contenía el 2,0% en peso de m-fenilendiamina y el 2,0% en peso de ϵ -caprolactama, y posteriormente se aplicó una solución preparada por disolución de cloruro de ácido trimésico en decano a una concentración del 0,1% en peso sobre la misma a una proporción de 160 cm³/m². A continuación, se eliminó el exceso de solución y de este modo se obtuvo una membrana de separación. Se trató la membrana de separación obtenida de este modo durante 2 minutos a temperatura ambiente con una solución acuosa que contenía el 7% en peso de nitrito de sodio y el 0,1% en peso de ácido sulfúrico concentrado, posteriormente se lavó inmediatamente con agua y se almacenó a temperatura ambiente. De este modo, se obtuvo una membrana de separación C.

(Producción de la membrana de separación D)

La película de soporte de polisulfona se sumergió durante 2 minutos en una solución acuosa que contenía el 2,0% en peso de m-fenilendiamina y el 2,0% en peso de ϵ -caprolactama, y posteriormente se aplicó una solución preparada por disolución de cloruro de ácido trimésico en decano a una concentración del 0,1% en peso sobre la misma a una proporción de 160 cm³/m². A continuación, se eliminó el exceso de solución y se obtuvo de este modo una membrana de separación. La membrana de separación obtenida de este modo se trató durante 60 minutos a temperatura ambiente con una solución acuosa que contenía el 0,07% en peso de nitrito de sodio y el 0,1% en peso de ácido sulfúrico concentrado, posteriormente se lavó inmediatamente con agua y se almacenó a temperatura ambiente. De este modo, se obtuvo una membrana de separación D.

(Producción de membrana de separación E)

La película de polisulfona de soporte se sumergió durante 1 minuto en una solución acuosa que contenía el 2,0% en peso de m-fenilendiamina, y posteriormente una solución preparada disolviendo cloruro de ácido trimésico en decano a una concentración del 0,1% en peso se aplicó sobre la misma a una proporción de 160 cm³/m². A continuación, se eliminó el exceso de solución y el conjunto se sumergió en una solución acuosa al 0,2% en peso de carbonato de sodio durante 5 minutos. La membrana de separación obtenida de este modo se sumergió durante 2 minutos en una solución acuosa de peroximonosulfato de potasio ajustada a una concentración del 1,0% en peso y pH 6, posteriormente se lavó inmediatamente con agua y se almacenó a temperatura ambiente. De este modo, se obtuvo una membrana de separación E.

(Producción de la membrana de separación F)

La película de polisulfona de soporte se recubrió con una solución acuosa que contenía el 1,0% en peso de piperacina, el 0,2% en peso de 1,3-bis(4-piperidil)propano, el 0,5% en peso de dodecilsulfato de sodio y el 1,0% en peso de fosfato trisódico y se secó con aire a temperatura ambiente durante 2 minutos. Posteriormente, se aplicó a la misma una solución preparada por disolución de una mezcla de cloruro de ácido isoftálico y cloruro de ácido trimésico (relación en peso 2:1) en decano al 1,0% en peso, a una proporción de 160 cm³/m² y el conjunto se trató térmicamente durante 5 minutos con aire caliente a 100°C. El conjunto se lavó inmediatamente con agua y se almacenó a temperatura ambiente. De este modo, se obtuvo una membrana de separación F.

(Producción de membrana de separación G)

La película de polisulfona de soporte se recubrió con una solución acuosa que contenía el 1,0% en peso de piperacina, el 0,2% en peso de 1,3-bis(4-piperidil)propano, el 2,0% en peso de dodecilsulfato de sodio y el 1,0% en peso de fosfato trisódico y se secó con aire caliente a 80°C durante 30 segundos. Posteriormente, se aplicó a la misma una solución preparada por disolución de una mezcla de cloruro de ácido isoftálico y cloruro de ácido trimésico (relación en peso 1:1) en decano a 0,5% en peso, a una proporción de 160 cm³/m², y el conjunto se trató térmicamente durante 5 minutos con aire caliente a 100°C. El conjunto se lavó inmediatamente con agua y se almacenó a temperatura ambiente. De este modo, se obtuvo una membrana de separación G.

<Ejemplo 1>

Se utilizó UTC-60 (membrana de nanofiltración (NF) de poliamida reticulada fabricada por Toray Industries, Inc.) como una membrana de separación para evaluar la tasa de eliminación de alcohol isopropílico, la tasa de eliminación de glucosa y el rendimiento de permeación. La UTC-60 tenía una tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 35%, una tasa de eliminación de glucosa del 95%, y un rendimiento de permeación de $1,1 \text{ m}^3/\text{m}^2\text{d}$ y la diferencia entre la tasa de eliminación de la glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico fue del 60%. Además, el radio de poro promedio de UTC-60, medido mediante espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones fue de 2,5 nm a 3,5 nm.

Se suministró una solución acuosa modelo ajustada a una temperatura de 25°C y a un pH de 6,5, a una presión de funcionamiento de 0,5 MPa y se midieron las concentraciones de glucosa, concentraciones de sacarosa, concentraciones de furfural, concentraciones de 5-hidroximetilfurfural y concentraciones de vainillina del agua de permeación y el agua de alimentación utilizando un refractómetro (RID-6A, fabricado por Shimadzu Corp.) o un absorciómetro de ultravioleta-visible (UV VISIBLE SPECTROPHOTOMETER 2450, fabricado por Shimadzu Corp.) y se determinaron las respectivas tasas de eliminación. Los resultados se resumen en la tabla 1. Tal como se puede ver en la tabla 1, dado que la UTC-60 tenía tasas de eliminación elevadas de glucosa y de sacarosa, y tasas de eliminación bajas de furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina, se descubrió que la membrana fue capaz de eliminar los inhibidores de fermentación de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa.

<Ejemplo 2>

La operación se realizó de la misma manera que en el ejemplo 1, excepto en que se utilizó UTC-20 (membrana de nanofiltración (NF) de poliamida reticulada, fabricada por Toray Industries, Inc.) como una membrana de separación. La UTC-20 tenía una tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 30%, una tasa de eliminación de glucosa del 84%, y un rendimiento de permeación de $0,8 \text{ m}^3/\text{m}^2\text{d}$ y la diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico fue del 54%. Además, el radio de poro promedio de UTC-20, medido por espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones fue de 3,5 nm a 4,0 nm.

Además, se resumen los resultados de la evaluación realizada utilizando la solución acuosa modelo, en la tabla 1. Tal como se puede ver en la tabla 1, dado que UTC-20 tenía tasas de eliminación elevadas de glucosa y de sacarosa, y tasas de eliminación bajas de furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina, se descubrió que la membrana fue capaz de eliminar los inhibidores de fermentación de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa.

<Ejemplo 3>

La operación se realizó de la misma manera que en el ejemplo 1, excepto en que se utilizó la membrana de separación A como una membrana de separación. La membrana de separación A tenía una tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 70%, una tasa de eliminación de glucosa del 99,5% y un rendimiento de permeación de $1,3 \text{ m}^3/\text{m}^2\text{d}$, y la diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico era del 29,5%. Además, el radio de poro promedio de la membrana de separación A, medido por espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones fue de 0,8 nm a 1,0 nm.

Además, se resumen los resultados de la evaluación realizada utilizando la solución acuosa modelo en la tabla 1. Tal como puede verse en la tabla 1, la membrana de separación A tenía tasas de eliminación elevadas de glucosa y de sacarosa, y se descubrió que casi no había flujo de salida de glucosa y sacarosa en el lado de la permeación. Por otra parte, dado que las tasas de eliminación de furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina fueron menores en comparación con las tasas de eliminación de glucosa y de sacarosa, se constató que la membrana fue capaz de eliminar inhibidores de la fermentación de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa.

<Ejemplo 4>

La operación se realizó de la misma manera que en el ejemplo 1, excepto en que se utilizó la membrana de separación C como una membrana de separación. La membrana de separación C tenía una tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 62%, una tasa de eliminación de glucosa del 99% y un rendimiento de permeación de $1,6 \text{ m}^3/\text{m}^2\text{d}$, y la diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico era del 37%. Además, el radio de poro promedio de la membrana de separación C, medido por espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones fue de 1,0 nm a 1,5 nm.

Además, se resumen los resultados de la evaluación realizada utilizando la solución acuosa modelo en la tabla 1. Tal como puede verse en la tabla 1, la membrana de separación C tenía tasas de eliminación elevadas de glucosa y de sacarosa, y se descubrió que casi no había flujo de salida de glucosa y sacarosa en el lado de la permeación. Por otra parte, dado que las tasas de eliminación de furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina fueron menores en comparación con las tasas de eliminación de glucosa y de sacarosa, se constató que la membrana fue capaz de eliminar inhibidores de la fermentación de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa.

<Ejemplo 5>

La operación se realizó de la misma manera que en el ejemplo 1, excepto en que se utilizó la membrana de separación D como una membrana de separación. La membrana de separación D tenía una tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 60%, una tasa de eliminación de glucosa del 98,5% y un rendimiento de permeación de 1,7 m³/m²d, y la diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico era del 38,5%. Además, el radio de poro promedio de la membrana de separación D, medido por espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones fue de 1,0 nm a 1,7 nm.

Además, se resumen los resultados de la evaluación realizada utilizando la solución acuosa modelo en la tabla 1. Como puede verse en la tabla 1, la membrana de separación D tenía tasas de eliminación elevadas de glucosa y de sacarosa, y se descubrió que casi no había flujo de salida de glucosa y sacarosa en el lado de la permeación. Por otra parte, dado que las tasas de eliminación de furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina fueron menores en comparación con las tasas de eliminación de glucosa y de sacarosa, se constató que la membrana fue capaz de eliminar inhibidores de la fermentación de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa.

<Ejemplo 6>

La operación se realizó de la misma manera que en el ejemplo 1, excepto en que se utilizó la membrana de separación E como una membrana de separación. La membrana de separación de E tenía una tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 75%, una tasa de eliminación de glucosa del 98% y un rendimiento de permeación de 0,9 m³/m²d, y la diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico era del 23%. Además, el radio de poro promedio de la membrana de separación E, medido por espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones fue de 0,8 nm a 1,5 nm.

Además, se resumen los resultados de la evaluación realizada utilizando la solución acuosa modelo en la tabla 1. Como puede verse en la tabla 1, la membrana de separación E tenía tasas de eliminación elevadas de glucosa y de sacarosa, y se descubrió que casi no había flujo de salida de glucosa y sacarosa en el lado de la permeación. Por otra parte, dado que las tasas de eliminación de furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina fueron menores en comparación con las tasas de eliminación de glucosa y de sacarosa, se constató que la membrana fue capaz de eliminar inhibidores de la fermentación de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa.

<Ejemplo 7>

La operación se realizó de la misma manera que en el ejemplo 1, excepto en que se utilizó la membrana de separación F como una membrana de separación. La membrana de separación F tenía una tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 32%, una tasa de eliminación de glucosa del 90% y un rendimiento de permeación de 1,5 m³/m²d, y la diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico era del 58%. Además, el radio de poro promedio de la membrana de separación F, medido por espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones fue de 2,5 nm a 3,5 nm.

Además, se resumen los resultados de la evaluación realizada utilizando la solución acuosa modelo en la tabla 1. Tal como puede verse en la tabla 1, la membrana de separación F tenía tasas de eliminación elevadas de glucosa y de sacarosa, y se descubrió que casi no había flujo de salida de glucosa y sacarosa en el lado de la permeación. Por otra parte, dado que las tasas de eliminación de furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina fueron menores en comparación con las tasas de eliminación de glucosa y de sacarosa, se constató que la membrana fue capaz de eliminar inhibidores de la fermentación de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa.

<Ejemplo 8>

La operación se realizó de la misma manera que en el ejemplo 1, excepto en que se utilizó la membrana de separación G como una membrana de separación. La membrana de separación G tenía una tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 36%, una tasa de eliminación de glucosa del 95% y un rendimiento de permeación de 1,3 m³/m²d, y la diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico era del 59%. Además, el radio de poro promedio de la membrana de separación G, medido por espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones fue de 2,5 nm a 3,5 nm.

Además, se resumen los resultados de la evaluación realizada utilizando la solución acuosa modelo en la tabla 1. Como puede verse en la tabla 1, la membrana de separación G tenía tasas de eliminación elevadas de glucosa y de sacarosa, y se descubrió que casi no había flujo de salida de glucosa y sacarosa en el lado de la permeación. Por otra parte, dado que las tasas de eliminación de furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina fueron menores en comparación con las tasas de eliminación de glucosa y de sacarosa, se constató que la membrana fue capaz de eliminar inhibidores de la fermentación de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa.

<Ejemplo comparativo 1>

La operación se realizó de la misma manera que en el ejemplo 1, excepto en que se utilizó UTC-70U (membrana de ósmosis inversa (RO) de poliamida reticulada, fabricada por Toray Industries, Inc.) como una membrana de separación. UTC-70U tenía una tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 96,2%, una tasa de eliminación de glucosa del 99,9% y un rendimiento de permeación de 0,7 m³/m²d, y la diferencia entre la tasa de eliminación de glucosa y la tasa de eliminación de alcohol isopropílico fue sólo del 3,7%. Además, el radio de poro promedio de UTC-70U, tal como se mide por espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones era de 0,25 nm a 0,35 nm.

Además, se resumen los resultados de la evaluación realizada utilizando la solución acuosa modelo en la tabla 1. Tal como se puede observar en la tabla 1, UTC-70U tenía tasas de eliminación elevadas de glucosa y de sacarosa, pero las tasas de eliminación de furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina también eran elevadas. Por lo tanto, se descubrió que era difícil para la membrana eliminar los inhibidores de la fermentación de un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa.

<Ejemplo comparativo 2>

La operación se realizó de la misma manera que en el ejemplo 1, excepto en que se utilizó la membrana de separación B como una membrana de separación. La membrana de separación B tenía una tasa de eliminación de alcohol isopropílico del 1%, una tasa de eliminación de glucosa del 29%, y un rendimiento de permeación de 2,0 m³/m²d, y la diferencia entre la tasa de eliminación de la glucosa y la tasa de eliminación del alcohol isopropílico fue del 28%. Además, probablemente debido a que el diámetro de poro de la membrana de separación B era demasiado grande, el radio promedio de poro de la membrana de separación B no pudo ser medido mediante espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones.

Además, se resumen los resultados de la evaluación realizada utilizando la solución acuosa modelo en la tabla 1. Tal como se puede ver en la tabla 1, dado que la membrana de separación B tenía tasas de eliminación bajas de glucosa y sacarosa, se descubrió que permeaba un monosacárido y/o un oligosacárido de una pentosa y/o una hexosa.

<Ejemplo 9>

Se adquirió un elemento de tipo espiral SU-620 (fabricado por Toray Industries, Inc., área de membrana 28 m²) que contenía la UTC-60 utilizada en el ejemplo 1 como una membrana de separación y se utilizó este elemento de tipo espiral SU-620 para tratar 100 l de una solución (1) que contenía el 1,0% en peso de glucosa, 1000 ppm de furfural, 1000 ppm de 5-hidroximetilfurfural y 1000 ppm de vainillina a una tasa de recuperación del 60%. Como resultado, se obtuvieron 40 l de una solución (2) que contenía el 2,4% en peso de glucosa, 1150 ppm de furfural, 1200 ppm de 5-hidroximetilfurfural y 1150 ppm de vainillina. Se añadió agua a la solución (2) para ajustar la concentración de glucosa a 1,0% en peso, y se obtuvo de este modo una solución (3) que contenía 480 ppm de furfural, 500 ppm de 5-hidroximetilfurfural y 480 ppm de vainillina.

La solución (3) se trató de nuevo con SU-620 a una tasa de recuperación del 60% y, como resultado, se obtuvo una solución (4) que contenía el 2,4% en peso de glucosa, 550 ppm de furfural, 600 ppm de 5-hidroximetilfurfural y 550 ppm de vainillina. Se añadió agua a la solución (4) para ajustar la concentración de glucosa al 1,0% en peso, y se obtuvo de este modo una solución (5) que contenía 230 ppm de furfural, 250 ppm de 5-hidroximetilfurfural y 230 ppm de vainillina.

La solución (5) se trató adicionalmente utilizando SU-620 a una tasa de recuperación del 60% y, como resultado, se obtuvo una solución (6) que contenía el 2,4% en peso de glucosa, 290 ppm de furfural, 310 ppm de 5-hidroximetilfurfural y 290 ppm de vainillina. Se añadió agua a la solución (6) para ajustar la concentración de glucosa al 1,0% en peso, y se obtuvo de este modo una solución (7) que contenía 120 ppm de furfural, 130 ppm de 5-hidroximetilfurfural y 120 ppm de vainillina.

Se preparó una solución (0) que contenía solamente el 1,0% en peso de glucosa y no contenía furfural, 5-hidroximetilfurfural ni vainillina.

La razón para el ajuste de la concentración de glucosa de cada solución al 1,0% en peso fue evaluar las tasas de crecimiento del bacilo de colon y la levadura que se describirán a continuación, a una concentración igual de glucosa.

La medición de las concentraciones de glucosa, furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina se llevó a cabo utilizando cromatografía líquida de alto rendimiento. Es decir, se utilizó una unidad de transporte de líquido de cromatografía líquida (LC-10AD, fabricada por Shimadzu Corp.) y se utilizaron para llevar a cabo la separación una columna disponible en el mercado de fase inversa (columna ODS) y una columna disponible en el mercado de separación de azúcares (CAPCELL PAK NH2SG). Las concentraciones respectivas se midieron utilizando como detectores un

refractómetro (RID-6A, fabricado por Shimadzu Corp.) o un absorbímetro visible ultravioleta (SPD-10A, fabricado por Shimadzu Corp.).

5 Las soluciones (0), (1), (3) y (7) se utilizaron como sustratos, y se evaluaron las tasas de crecimiento de bacilo de colon y levadura. De este modo, se investigó el efecto de las concentraciones de furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina sobre la fermentación.

Las tasas de crecimiento de bacilo de colon y la levadura se evaluaron por el procedimiento siguiente.

10 Se utilizó un bacilo de colon (*Escherichia coli* cepa W3110) y levadura (*Saccharomyces cerevisiae* NBRC2260) como las bacterias bajo prueba. El bacilo de colon y la levadura se sometieron a cultivo con agitación (cultivo conjunto) a 30°C durante 24 horas, utilizando un medio LB (1% de triptona, 0,5% de extracto de levadura y 1% de cloruro de sodio) para el bacilo de colon y utilizando un medio YPD (2% de triptona, 1% extracto de levadura y 2% de glucosa) para la levadura. Como medios de evaluación, se prepararon los medios de evaluación (0), (1), (3) y (7) mediante la adición de licor de maíz fermentado a las soluciones (0), (1), (3) y (7) para obtener una concentración final del 5%, y el ajuste de las soluciones a pH 7. A 50 ml de cada uno de estos medios de evaluación ((0), (1), (3) y (7)), se añadieron 3 ml de la solución de cultivo obtenida después del cultivo conjunto y las mezclas se sometieron a cultivo con agitación a 30°C durante 24 horas. Se calcularon las cantidades de crecimiento del bacilo de colon y de levadura después de 24 horas de cultivo mediante la medición de la absorbancia a 600 nm (OD600 valor). Cuando el valor OD600 del bacilo de colon o de levadura después de 24 horas en el medio de evaluación (0) se tomó como 100, las respectivas tasas de crecimiento en los medios de evaluación (1), (3) y (7) se resumen en la tabla 2.

25 En particular, el medio de evaluación (7) que contenía concentraciones de 120 a 130 ppm de furfural 5-hidroximetilfurfural y vainillina, mostró tasas de crecimiento del bacilo de colon y la levadura que eran casi iguales a las tasas de crecimiento que se pueden obtener en el medio de evaluación (0), que no contiene furfural, 5-hidroximetilfurfural y vainillina, y de este modo se observó un notable efecto de la eliminación de inhibidores de la fermentación.

[Tabla 1-1]

30

		Ejemplo 1	Ejemplo 2	Ejemplo 3	Ejemplo 4	Ejemplo 5
Tipo de membrana de separación		UTC-60	UTC-20	Membrana de separación A	Membrana de separación C	Membrana de separación D
Tasa de eliminación de alcohol isopropílico (%)		35	30	70	62	60
Tasa de eliminación de glucosa (%)		95	84	99,5	99	98,5
Tasa de eliminación de glucosa (%) - tasa de eliminación de alcohol isopropílico (%)		60	54	29,5	37	38,5
Rendimiento de permeabilidad (m ³ /m ² d)		1,1	0,8	1,3	1,6	1,7
Solución acuosa modelo	Tasa de eliminación de glucosa (%)	92	80	99	98,5	97
	Tasa de eliminación de sacarosa (%)	99	88	99,9	99,9	99
	Tasa de eliminación de furfural (%)	9	10	90	83	80
	Tasa de eliminación de 5-hidroximetilfurfural (%)	13	12	93	84	98
	Tasa de eliminación de vainillina (%)	10	10	90	84	82
Radio de poro promedio basado en el procedimiento de medición de vida media de aniquilación de positrones (nm)		2,5-3,5	3,5-4,0	0,8-1,0	1,0-1,5	1,0-1,7

[Tabla 1-2]

		Ejemplo 6	Ejemplo 7	Ejemplo 8	Ejemplo comparativo 1	Ejemplo comparativo 2
Tipo de membrana de separación		Membrana de separación E	Membrana de separación F	Membrana de separación G	UTC-70U	Membrana de separación B
Tasa de eliminación de alcohol isopropílico (%)		75	32	36	96,2	1
Tasa de eliminación de glucosa (%)		98	90	95	99,9	29
Tasa de eliminación de glucosa (%) - Tasa de eliminación de alcohol isopropílico (%)		23	58	59	3,7	28
Rendimiento de permeabilidad (m ² /m ² d)		0,9	1,5	1,3	0,7	2
Solución acuosa modelo	Tasa de eliminación de glucosa (%)	97	87	89	99,9	28
	Tasa de eliminación de sacarosa (%)	99	95	97	99,9	33
	Tasa de eliminación de furfural (%)	86	7	8	99,9	0
	Tasa de eliminación de 5-hidroximetilfurfural (%)	90	8	10	99,9	0
	Tasa de eliminación de vainillina (%)	90	8	11	99,9	0
Radio de poro promedio basado en el procedimiento de medición de vida media de aniquilación de positrones (nm)		0,8-1,5	2,5-3,5	2,5-3,5	0,25-0,35	Inmensurable

[Tabla 2]

5

Medio de evaluación	(1)	(3)	(7)	(0)
Solución	(1)	(3)	(7)	(0)
Concentración de glucosa (% en peso)	1,0	1,0	1,0	1,0
Concentración de furfural (ppm)	1000	480	120	0
Concentración de 5-hidroximetilfurfural (ppm)	1000	500	130	0
Concentración de vainillina (ppm)	1000	480	120	0
Tasa de crecimiento del bacilo de colon (-)	5	18	92	100
Tasa de crecimiento de la levadura (-)	23	62	96	100

APLICABILIDAD INDUSTRIAL

10

El procedimiento de la presente invención para la producción de un compuesto se puede utilizar adecuadamente cuando se producen sacáridos mediante la utilización de una biomasa a base de polisacárido como material de partida, y cuando los sacáridos obtenidos de este modo se convierten en productos químicos mediante fermentación.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de producción de un compuesto procedente de una biomasa a base de polisacárido, incluyendo el procedimiento, como mínimo, una de una etapa de sacarificación para producir una solución que contiene azúcar que contiene un monosacárido y/o un oligosacárido a partir de un producto obtenible mediante la hidrólisis de biomasa a base de polisacárido y una etapa de fermentación para fermentar la solución que contiene azúcar que contiene el monosacárido y/u oligosacárido procedente de biomasa a base de polisacárido, en el que se lleva a cabo un tratamiento para la eliminación de un inhibidor de la fermentación mediante la utilización de una membrana de separación, que tiene una tasa de eliminación de glucosa y una tasa de eliminación de alcohol isopropílico que satisfacen simultáneamente las siguientes relaciones (I) y (II) cuando una solución acuosa de glucosa de 500 ppm a pH 6,5 a 25°C y una solución acuosa de alcohol isopropílico de 500 ppm a pH 6,5 a 25°C se permean respectivamente a través de la membrana a una presión de funcionamiento de 0,5 MPa, en la etapa anterior a la etapa de sacarificación y/o en la etapa anterior a la etapa de fermentación:
- 15 Tasa de eliminación de glucosa $\geq 80\%$ (I)
Tasa de eliminación de glucosa – tasa de eliminación de alcohol isopropílico $\geq 20\%$ (II)
2. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que el tratamiento para la eliminación de un inhibidor de la fermentación mediante la utilización de una membrana de separación permite la eliminación del inhibidor de la fermentación y la concentración simultánea de uno cualquiera de celulosa, hemicelulosa, un monosacárido y un oligosacárido.
3. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que el tratamiento para la eliminación de un inhibidor de la fermentación con la utilización de una membrana de separación se lleva a cabo hasta que el contenido del inhibidor de la fermentación en la solución que contiene azúcar obtenible inmediatamente antes de la etapa de fermentación llega a 500 ppm o menos.
4. Procedimiento de producción de un compuesto procedente de una biomasa a base de polisacárido, según la reivindicación 1, en el que la membrana de separación tiene poros que tienen un radio promedio de poro, medido por espectroscopia de vida media de aniquilación de positrones, de 0,8 nm a 4,0 nm.
5. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que el radio promedio de poro es de 2,5 nm a 4,0 nm.

[Tabla 1-1]

		Ejemplo 1	Ejemplo 2	Ejemplo 3	Ejemplo 4	Ejemplo 5
Tipo de membrana de separación		UTC-60	UTC-20	Membrana de separación A	Membrana de separación C	Membrana de separación D
Tasa de eliminación de alcohol isopropílico (%)		35	30	70	62	60
Tasa de eliminación de glucosa (%)		95	84	99,5	99	98,5
Tasa de eliminación de glucosa (%) - tasa de eliminación de alcohol isopropílico (%)		60	54	29,5	37	38,5
Rendimiento de permeabilidad (m ³ /m ² d)		1,1	0,8	1,3	1,6	1,7
Solución acuosa modelo	Tasa de eliminación de glucosa (%)	92	80	99	98,5	97
	Tasa de eliminación de sacarosa (%)	99	88	99,9	99,9	99
	Tasa de eliminación de furfural (%)	9	10	90	83	80
	Tasa de eliminación de 5-hidroximetilfurfural (%)	13	12	93	84	98
	Tasa de eliminación de vainillina (%)	10	10	90	84	82
Radio de poro promedio basado en el procedimiento de medición de vida media de aniquilación de positrones (nm)		2,5-3,5	3,5-4,0	0,8-1,0	1,0-1,5	1,0-1,7

[Tabla 1-2]

		Ejemplo 6	Ejemplo 7	Ejemplo 8	Ejemplo comparativo 1	Ejemplo comparativo 2
Tipo de membrana de separación		Membrana de separación E	Membrana de separación F	Membrana de separación G	UTC-70U	Membrana de separación B
Tasa de eliminación de alcohol isopropílico (%)		75	32	36	96,2	1
Tasa de eliminación de glucosa (%)		98	90	95	99,9	29
Tasa de eliminación de glucosa (%) - Tasa de eliminación de alcohol isopropílico (%)		23	58	59	3,7	28
Rendimiento de permeabilidad (m ² /m ² d)		0,9	1,5	1,3	0,7	2
Solución acuosa modelo	Tasa de eliminación de glucosa (%)	97	87	89	99,9	28
	Tasa de eliminación de sacarosa (%)	99	95	97	99,9	33
	Tasa de eliminación de furfural (%)	86	7	8	99,9	0
	Tasa de eliminación de 5-hidroximetilfurfural (%)	90	8	10	99,9	0
	Tasa de eliminación de vainillina (%)	90	8	11	99,9	0
Radio de poro promedio basado en el procedimiento de medición de vida media de aniquilación de positrones (nm)		0,8-1,5	2,5-3,5	2,5-3,5	0,25-0,35	Inmensurable

[Tabla 2]

Medio de evaluación	(1)	(3)	(7)	(0)
Solución	(1)	(3)	(7)	(0)
Concentración de glucosa (% en peso)	1,0	1,0	1,0	1,0
Concentración de furfural (ppm)	1000	480	120	0
Concentración de 5-hidroximetilfurfural (ppm)	1000	500	130	0
Concentración de vainillina (ppm)	1000	480	120	0
Tasa de crecimiento del bacilo de colon (-)	5	18	92	100
Tasa de crecimiento de la levadura (-)	23	62	96	100