

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 706 395**

51 Int. Cl.:

**C12P 7/10** (2006.01)

**C12P 7/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.03.2012 PCT/FR2012/000108**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.10.2012 WO12140332**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.03.2012 E 12714746 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.10.2018 EP 2697383**

54 Título: **Procedimiento de producción de etanol a partir de biomasa celulósica o lignocelulósica con el reciclaje de un vino etílico obtenido a partir de la fermentación de pentosas**

30 Prioridad:

**14.04.2011 FR 1101147**

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

**28.03.2019**

73 Titular/es:

**IFP ENERGIES NOUVELLES (100.0%)  
1 & 4 avenue de Bois-Préau  
92500 Rueil-Malmaison, FR**

72 Inventor/es:

**ROPARS, MARCEL;  
AYMARD, CAROLINE;  
DASTILLUNG, RÉJANE y  
MENIR, SANDRA**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 706 395 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento de producción de etanol a partir de biomasa celulósica o lignocelulósica con el reciclaje de un vino etílico obtenido a partir de la fermentación de pentosas

5

### CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se inscribe en el marco de un procedimiento de producción de alcoholes y/o de solventes denominado de "segunda generación" a partir de biomasa lignocelulósica. Se refiere más particularmente a un procedimiento de producción de etanol a partir de biomasa celulósica o lignocelulósica.

10

### TÉCNICA ANTERIOR

La biomasa lignocelulósica representa uno de los recursos renovables más abundantes en la tierra. Los sustratos considerados son muy variados, ya que comprenden a la vez los sustratos leñosos (de hojas y resinosos), los subproductos de la agricultura (paja) o los de las industrias generadoras de residuos lignocelulósicos (industrias agroalimentarias, papelerías).

15

La biomasa lignocelulósica se compone de tres polímeros principales: la celulosa (el 30 al 50%), la hemicelulosa (el 20 al 30%) que es un polisacárido constituido esencialmente por pentosas y hexosas y la lignina (el 15 al 25%) que es un polímero de estructura compleja y con un peso molecular elevado, compuesto por alcoholes aromáticos unidos por enlaces éter.

20

Estas diferentes moléculas son responsables de las propiedades intrínsecas de la pared vegetal y se organizan en una interconexión compleja.

25

La celulosa y eventualmente las hemicelulosas son dianas de la hidrólisis enzimática pero no son accesibles directamente a las enzimas. Es la razón por la cual estos sustratos deben ser sometidos a un pretratamiento previo a la etapa de hidrólisis enzimática. El pretratamiento tiene como objetivo modificar las propiedades físicas y fisicoquímicas del material lignocelulósico, con vistas a mejorar la accesibilidad de la celulosa aprisionada en el interior de la matriz de lignina y de hemicelulosa.

30

Existen numerosas tecnologías para realizar este pretatamiento: cocciones ácidas, cocciones alcalinas, explosión por vapor, procedimientos organosolv, etc. La eficacia del pretratamiento se mide al mismo tiempo por el balance de materia al final del pretratamiento (tasa de recuperación de los azúcares en forma de monómeros u de oligómeros solubles o de polímeros insolubles) y también por la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática de los residuos celulósicos y hemicelulósicos.

35

Los procedimientos de producción de alcoholes y/o de solventes a partir de biomasa lignocelulósica, denominados "procedimientos de segunda generación" comprenden por lo menos las etapas siguientes:

40

- pretratamiento del sustrato,
- hidrólisis enzimática del sustrato pretratado,
- fermentación del hidrolizado obtenido, y
- separación/purificación del alcohol y/o solvente obtenido después de la fermentación.

45

La validez económica de este tipo de procedimiento de producción de alcohol y/o de solvente es difícil de obtener incluso para los operarios que disponen de grandes recursos movilizables. Diversos puestos tienen un fuerte impacto sobre el coste global de los cuales el recurso vegetal y la energía para la extracción se realizan más frecuentemente por destilación. La optimización de este tipo de procedimiento pasa obligatoriamente por una valorización óptima del conjunto de azúcares, y principalmente las pentosas obtenidas por hidrólisis por los microorganismos mejor adaptados.

50

Las levaduras alcoholígenas salvajes como las *Saccharomyces cerevisiae* son conocidas por ser los microorganismos más eficaces para la conversión de las hexosas en etanol. Los rendimientos máxicos de conversión de las hexosas en etanol están generalmente comprendidos entre 0,46 y 0,48, pero solo son de 0,35 a 0,40 para la conversión de las pentosas en etanol. Estas levaduras salvajes no son capaces de convertir las pentosas sin una modificación genética. El uso de microorganismos genéticamente modificados complica la gestión de las instalaciones y la de los procedimientos. De este modo, las levaduras modificadas utilizarán siempre prioritariamente las hexosas y solo pueden utilizar a continuación estas pentosas en presencia de una cantidad limitada de glucosa que se debe suministrar mediante una alimentación continua al microorganismo. Es sabido que la velocidad de consumo de las pentosas es claramente inferior a la de las hexosas (Olsson et Hahn-Hagerdahl, 1996; Hahn- Hägerdahl et al., 2007).

55

60

La valoración de las pentosas en etanol ha constituido siempre un problema importante para el procedimiento en su conjunto. Si determinadas levaduras salvajes son capaces de convertir estas pentosas en etanol, se deben

65

obligatoriamente cultivar en micro-aerobiosis para obtener unos rendimientos satisfactorios. Además, es preferible que el medio esté constituido principalmente por pentosas, porque estas levaduras presentan unos rendimientos claramente inferiores a los de *Saccharomyces cerevisiae* para la valoración de las hexosas (Olsson et Hahn-Hagerdahl, Enzymes Microb. Techno vol 18, 1996; Hahn-Hägerdal et al., Appl. Microbiol. Biotech 74, 937-953, 2007).

El documento de ABHIJIT DUTTA ET AL, "An economic comparison of different fermentation configurations to convert corn stover to ethanol using *Z. mobilis* and *Saccharomyces*", BIOTECHNOLOGY PROGRESS, (20090101), vol. 26, no. 1, pág. 64 - 72 describe y compara diferentes configuraciones del procedimiento de producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica.

Se pueden prever otras soluciones con el empleo de levaduras genéticamente modificadas que pueden utilizar correctamente la xilosa, después de haber consumido la glucosa o consumiéndola de forma concomitante. Sin embargo, este tipo de levaduras necesitan generalmente una inyección limitada y controlada de glucosa para asegurar el consumo de la xilosa, lo que complica muy claramente el control del procedimiento. Además, estos organismos genéticamente modificados se deben cultivar en unas condiciones estrictas de confinamiento, que son poco compatibles con una producción de masa en las instalaciones de gran tamaño y rústicas.

Por otra parte, la extracción de los alcoholes realizada por destilación es un puesto que consume particularmente mucha energía. Para la mejora del balance económico de la producción de etanol, conviene prever la reducción de los volúmenes de agua que se deben calentar principalmente mediante el reciclaje o reagrupamiento de diferentes flujos que centran los solventes.

La presente invención describe un procedimiento de producción de etanol en el que una parte del vino etílico producido principalmente a partir de pentosas únicamente se recicla en el interior de la línea de conversión de las hexosas en etanol para reducir el coste global de la extracción.

## RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se centra en un procedimiento de producción de etanol denominado de segunda generación, en el cual la biomasa lignocelulósica o celulósica se somete a un pretratamiento, antes de convertirse en etanol después de una hidrólisis y una fermentación etílica. Los polímeros glucídicos del vegetal de pretratado son hidrolizados por unas celulasas. Los microorganismos alcoholígenos utilizados para la fermentación etílica utilizan principalmente las hexosas y preferentemente la glucosa y la manosa. El etanol del vino, con o sin separación de las materias en suspensión (MES), se extrae por destilación. Las vinazas contienen principalmente las pentosas que no se han utilizado. Estas pentosas se fermentan en un vino etílico ex-pentosas y por lo menos una parte de este vino obtenido de este modo se recicla antes de la hidrólisis enzimática. Por lo tanto, la hidrólisis enzimática y la fermentación etílica se realizan por separado o simultáneamente, en presencia de una parte del vino etílico, mezcla que no interfiere en los rendimientos de los enzimas y de los microorganismos en las condiciones ejecutadas.

## DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

La figura 1 es una representación esquemática de un procedimiento de producción de etanol a partir de sustratos lignocelulósicos, que comprende una etapa de reciclaje de un vino etílico ex-pentosas, según una primera realización.

La figura 2 es una representación esquemática de un procedimiento de producción de etanol a partir de sustratos lignocelulósicos, que comprende una etapa de reciclaje de un vino etílico ex-pentosas, según una segunda realización.

## DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención describe un procedimiento de producción de etanol a partir de biomasa celulósica o lignocelulósica según la reivindicación 1.

En el sentido de la presente invención, se designa con el término "pentosas" a los monómeros y oligómeros solubles de los azúcares que comprenden 5 átomos de carbono y con el término "hexosas" a los monómeros y oligómeros solubles de los azúcares que comprenden 6 átomos de carbono.

Se designa con la abreviatura MS las materias secas (sólidas y solubles) presentes en un medio y con la abreviatura MES las materias en suspensión (sólidas) presentes en un medio.

Se designa con el término vino etílico ex-hexosas el vino obtenido mediante la fermentación por unos microorganismos que fermentan las hexosas.

Se designa con el término vino etílico ex-pentosas el vino obtenido mediante la fermentación por unos microorganismos que fermentan las pentosas.

- 5 Gracias al procedimiento según la presente invención, es posible mejorar claramente el balance energético de la etapa de extracción. De hecho, los vinos etílicos obtenidos respectivamente de la fermentación de las hexosas y de las pentosas están agrupados, solo se necesita una etapa de extracción. El ahorro es aproximadamente del 5% al 50%.
- 10 Ventajosamente, esta etapa de extracción se lleva a cabo sobre un vino de título alcohólico muy elevado, la conversión de las hexosas se realiza en el medio que contiene etanol obtenido mediante la fermentación de las pentosas.
- 15 El procedimiento según la invención utiliza de forma preferida unos microorganismos diferentes en las etapas d) y f), unos se han adaptado a la fermentación de las hexosas, los otros son capaces de fermentar las pentosas únicamente, preferiblemente sin un aporte continuo y limitante de glucosa.
- 20 El sustrato celulósico o lignocelulósico utilizado en el procedimiento según la presente invención se selecciona de entre las biomásas más variadas, pero más particularmente a partir de las especies arborescentes resinosas (coníferas como las píceas o los pinos) o los frondosos (maderas nobles como los eucaliptos) o los residuos lignocelulósicos agrícolas (paja de trigo, arroz, etc.) o incluso de los cultivos dedicados (*miscanthus*, pastos).
- 25 Con anterioridad al pretratamiento termoquímico, la biomasa se puede someter a un tratamiento mecánico, por ejemplo, de tipo trituración.
- Bajo el término de pretratamiento termoquímico se engloba cualquier pretratamiento conocido por el experto en la materia que aplica unos agentes químicos alcalinos o ácidos, y/o un calentamiento de la biomasa.
- 30 El pretratamiento realizado en la etapa a) puede realizarse según numerosas configuraciones conocidas por el experto en la materia Hendriks et Zeeman, *Bioresource Technology*, 100(2009) 10-18; Ogier et al, *Oil & Gas Science and Technology*, vol 54 (1999) p 67-94). Se puede citar el pretratamiento alcalino por cocción en presencia de sosa, un pretratamiento por explosión de las fibras con amoníaco, también denominado pretratamiento AFEX (Ammonia Fiber Explosion) o un pretratamiento por percolación que utiliza amoníaco con el reciclaje, también denominado pretratamiento ARP (Ammonia Recycle Percolation). Se pueden asimismo citar las cocciones ácidas o la explosión por vapor en condiciones ácidas.
- 35 Preferentemente, el pretratamiento de la etapa a) es una cocción ácida o una explosión por vapor en condiciones ácidas.
- 40 El papel del pretratamiento es hacer que la celulosa sea accesible a las enzimas, desestructurando la matriz lignocelulósica. Dependiendo del pretratamiento realizado, se ataca preferentemente la lignina, las hemicelulosas o las dos a la vez.
- 45 Se pueden llevar a cabo unas etapas adicionales de ajuste de pH o de licuefacción con el fin de facilitar la aplicación y la eficacia del procedimiento y principalmente el desarrollo de las etapas de hidrólisis enzimática y de la fermentación etílica.
- 50 La conversión de la celulosa en etanol comprende por lo menos una etapa de hidrólisis enzimática de la celulosa en glucosa y una etapa de fermentación de la glucosa en etanol, estas dos etapas se pueden llevar a cabo por separado o simultáneamente. Cuando se llevan a cabo las dos etapas simultáneamente, el procedimiento se denomina "procedimiento SSF".
- 55 Las enzimas celulolíticas y/o hemicelulolíticas utilizados durante la etapa de hidrólisis son producidas por un microorganismo que pertenece a los géneros *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium* o *Schizophyllum*, o una bacteria anaeróbica que pertenece al género *Clostridium*.
- La hidrólisis se realiza preferentemente a un pH comprendido entre 4 y 5,5 y a una temperatura comprendida entre 40 °C y 60°C.
- 60 La fermentación etílica realizada en la etapa d) está asegurada por unas levaduras u otros microorganismos alcoholígenos.
- Los microorganismos alcoholígenos usados durante la etapa de fermentación etílica de las hexosas se seleccionan preferentemente de entre las levaduras y las bacterias, eventualmente modificadas genéticamente.
- 65 Cuando el microorganismo alcoholígeno es una levadura, la *Saccharomyces cerevisiae* es la que proporciona el mayor rendimiento. Asimismo, es posible seleccionar levaduras como la *Schizosaccharomyces pombe* o la *Saccharomyces uvarum* o la *diastaticus*. Unas levaduras más termófilas, como las *Kluyveromyces fragilis*

(actualmente designadas frecuentemente como *K. marxianus*) presentan también un interés, principalmente cuando la hidrólisis enzimática y la fermentación etílica se realizan simultáneamente (procedimiento SFF).

5 Un organismo genéticamente modificado, como por ejemplo una levadura del tipo *Saccharomyces cerevisiae* como la TMB 3400 (Ohgren et al, J. of Biotech 126, 488-498, 2006) también se puede utilizar. Esta levadura permite fermentar en etanol una parte de las pentosas en la etapa de fermentación etílica de las hexosas, cuando la glucosa está en una concentración limitante.

10 Cuando el microorganismo alcoholígeno es una bacteria, se preferirá la *Zymomonas mobilis* que presenta una vía de asimilación eficaz.

La fermentación etílica de las hexosas se lleva a cabo preferentemente a una temperatura comprendida entre 30 °C y 40 °C y un pH entre 3 y 6,5.

15 Las levaduras y preferentemente la *Saccharomyces cerevisiae* son los microorganismos utilizados de forma más preferida. Presentan una mejor robustez, seguridad y no necesitan un ambiente estéril para la gestión del procedimiento y de las instalaciones.

20 Las levaduras del género *Saccharomyces* son capaces de fermentar las hexosas solas y únicas (glucosa y manosa esencialmente). Estas levaduras valoran de forma óptima las hexosas en etanol y permiten alcanzar un rendimiento de conversión del orden de 0,46 (p/p) a 0,48 (p/p), lo que está cerca del rendimiento teórico máximo que tiene un valor de 0,51 (p/p). Solo las pentosas y algunas fuentes carbonatadas marginales no se utilizan para estas levaduras.

25 Cuando la hidrólisis enzimática y la fermentación etílica de las hexosas se realizan en una misma y sola operación (SSF), esta operación se realiza preferentemente a una temperatura comprendida entre 30 y 45 °C y a un pH comprendido entre 4 y 6.

30 En la etapa e1), el etanol producido en la etapa d) o presente en la etapa d) tras un reciclaje del vino etílico ex – pentosas se purifica y se separa. Posteriormente, se separan usando cualquier procedimiento conocido por el experto de la técnica, y en particular por destilación.

35 En la etapa e2) una pasta sólida que contiene el residuo insoluble se separa de los vinazas que contienen los azúcares no fermentados por el microorganismo alcoholígeno. Los vinazas contienen por lo tanto las pentosas no fermentadas.

40 La etapa e2) se puede realizar después de las etapas c) y/o d) y se puede acoplar eventualmente a un lavado de la pasta. El lavado puede mejorar la recuperación de los azúcares resultantes de la hidrólisis (etapa c), del etanol producido en la etapa c) o presentes debido al reciclaje y/o igualmente de los azúcares no fermentados por el microorganismo en la etapa d).

45 En la etapa f) de fermentación etílica de las pentosas f) por un organismo que fermenta más específicamente las pentosas, los azúcares contenidos en las vinazas y principalmente las pentosas no fermentadas, se convierten asimismo en vino etílico ex-pentosas.

Los microorganismos utilizados para la fermentación de las pentosas pueden ser bacterias, levaduras u hongos.

50 De entre las bacterias, se pueden citar las bacterias “salvajes” que pertenecen a los géneros *Bacillus*, *Bacteroides*, *Thermoanaerobacter* o *Clostridium*, unas bacterias recombinantes de las cuales las más interesantes son la *Escherichia coli*, la *Klebsiella oxytoca* y la *Zymomonas mobilis*.

55 Se pueden utilizar las levaduras salvajes como la *Pichia stipitis*, la *Candida shehatae* y la *Pachysolen tannophilus*, identificadas como las más eficaces. De entre las otras levaduras salvajes mencionadas en la literatura se pueden citar la *Candida guilliermondii* o la *Candida tropicalis*.

Es posible seleccionar unas levaduras recombinantes, principalmente las *Saccharomyces cerevisiae*, como las descritas por Olsson et Hahn-Hagerdahl, 1996 o Hahn-Hagerdahl et al. 2007.

60 Un organismo genéticamente modificado, como por ejemplo una levadura del tipo *Saccharomyces cerevisiae* como la TMB 3400 (Ohgren et al, 2006) también se puede utilizar para la conversión de las pentosas en etanol, siempre y cuando se suministre glucosa en condiciones limitantes para permitir la asimilación de las pentosas.

65 Los hongos son también capaces de producir etanol, como numerosos *Fusarium*, pero todos con unos rendimientos muy bajos.

De forma preferida, se utilizan unas levaduras seleccionadas de entre los géneros *Pichia* o *Candida*. Se trata de microorganismos más difíciles de cultivar que la levadura de *Saccharomyces cerevisiae* porque necesitan oxígeno para poder obtener unos rendimientos aceptables (condiciones de "micro-aerobios", Fromanger et al., J. Ind. Microbiol. Biotechnol, 37, 437-445, 2010) Hahn-Hägerdal et al., 2007). Estas levaduras que fermentan las pentosas son también conocidas por ser sensibles a los compuestos inhibidores que alteran el rendimiento (Girio et al., Biores Technol, 101, 4775-4800, 2010).

En el procedimiento según la presente invención, estas levaduras que fermentan las pentosas son ventajosamente utilizadas sobre un medio que ha sido parcialmente desintoxicado por la levadura que fermenta las hexosas, por ejemplo, por *Saccharomyces cerevisiae*, conocida por reducir especialmente los principales aldehídos (Ohgren et al., Applied Biochemistry and Biotechnology vol 121-124, 1055-1067 (2005); Klinke et al., Appl Microbiol Biotechnol 66: 10-26, 2004) como el furfural y el 5-HMF.

Esto resulta particularmente ventajoso en el caso de los hidrolizados lignocelulósicos procedentes de los pretratamientos realizados en condiciones ácidas como la explosión por vapor (en presencia de ácido sulfúrico o SO<sub>2</sub>) o la cocción con ácido diluido (ácido sulfúrico). Estos pretratamientos conducen en general a la producción de compuestos furánicos, fenólicos y de ácidos orgánicos que son conocidos por ser tóxicos para los microorganismos.

De forma preferida, la cepa utilizada en la etapa de fermentación f) es una cepa del tipo *Pichia stipitis* o *Candida shehatae*.

En una forma preferida, las vinazas, que se envían hacia la etapa f) de fermentación etílica de las pentosas tienen una concentración en azúcares comprendida entre 30 y 90 g/L de azúcares o de productos fermentables.

Si la concentración en azúcares o productos fermentables no es suficiente, una realización particular permite desviar este flujo después de la etapa de pretratamiento antes de enviarlo hacia la etapa de fermentación f). Esto permite una puesta en suspensión de las materias insolubles y un enriquecimiento en pentosas y azúcares no utilizados por la fermentación etílica.

Según otro modo, las pentosas fermentadas en la etapa f) proceden a la vez de las vinazas y de un flujo directamente extraído después de la etapa de pretratamiento cuando éste es ácido.

Según una variante del procedimiento, un flujo que contiene mayoritariamente pentosas se extrae directamente en la etapa de pretratamiento y se envía hacia la etapa de fermentación etílica de las pentosas. Esta variante es aplicable cuando el pretratamiento es ácido e implica una hidrólisis química de las hemicelulosas. Es particularmente el caso cuando el pretratamiento es una explosión por vapor, realizada en condiciones ácidas. Entonces es posible obtener a la salida de la etapa de pretratamiento un caldo de pentosas convertible en solventes, por ejemplo, en ABE o utilizable para otra aplicación, si no se envía todo hacia la etapa de fermentación f). Esta posibilidad permite principalmente aumentar el porcentaje de materia seca del vegetal pretratado sometido a la hidrólisis enzimática, es decir desintoxicar parcialmente este flujo retirando por lo menos una parte de los inhibidores del caldo de pentosas.

Preferentemente, la concentración en etanol a la salida de la etapa de fermentación etílica ex-pentosas f) está comprendida entre 5 y 40 g/L, y de forma preferida entre 5 y 30 g/L.

Según la invención, por lo menos una parte del vino etílico ex-pentosas se recicla tras la etapa a) de pretratamiento.

La inactivación del microorganismo que ha fermentado las pentosas se efectúa ya sea por un aumento de la temperatura o bien por una modificación del pH, o cualquier otra técnica conocida por el experto en la técnica. Se prefiere la modificación del pH en la medida en que puede ser necesario corregir el pH en la etapa de hidrólisis enzimática (etapa b), después del pretratamiento (etapa a).

Según una realización, el flujo que contiene el vino etílico ex-pentosas que sale de la etapa de fermentación etílica de las pentosas se divide en dos flujos, uno de ellos se recicla después de la etapa de tratamiento.

Los vinos etílicos ex-pentosas y ex-hexosas sometidos a la extracción (etapa e) pueden contener entre 20 y 150 g/L de etanol. La concentración en etanol depende por una parte del contenido en materia seca, de las etapas de hidrólisis enzimática y de fermentación y por otra parte de complementos eventuales en azúcar que es posible proporcionar. Se puede prever complementar el medio con azúcar de caña de azúcar o remolacha azucarera o de plantas amiláceas.

La invención se describirá de forma detallada haciendo referencia a las figuras.

El sustrato se introduce por el conducto 1 en el reactor de pretratamiento 2. Los reactivos y las utilidades como el vapor necesarios para el desarrollo del pretratamiento se introducen por la canalización 3 y los residuos (condensados, licor negro, aguas de lavado, ...) se extraen por el conducto 4. El reciclaje, la reutilización o el tratamiento de este flujo es inherente a cada tipo de pretratamiento y no se detalla en el presente documento.

## ES 2 706 395 T3

El sustrato pretratado se extrae por el conducto 6. Contiene preferentemente entre el 5% (p/v) y el 60% (p/v) de MS, más preferentemente entre el 15% (p/v) y el 60% (p/v) de MS y aún más preferentemente entre el 30% (p/v) y el 60% (p/v) de MS.

5 De este modo, según la realización representada en la figura 1, el sustrato pretratado extraído por el conducto 6 contiene la mayoría de las pentosas, en forma sólida (pentosanos) o soluble.

10 Según una variante del procedimiento en la que el pretratamiento es de tipo ácido, un flujo 5 que contiene mayoritariamente unas pentosas se extrae directamente en la etapa de pretratamiento y se envía hacia el reactor 14 en el cual tiene lugar la fermentación etílica de las pentosas.

15 Según otra variante no representada, las pentosas se pueden extraer en parte en el flujo 5 y en parte en el sustrato pretratado que circula en el conducto 6, y estos dos flujos mezclados completamente o en parte antes de la fermentación etílica de las pentosas.

El reactor 7 es el reactor en el cual se realiza la conversión de la celulosa en etanol.

20 Las condiciones de la hidrólisis enzimática, principalmente los porcentajes de materia seca de la mezcla a hidrolizar y la cantidad de enzimas utilizada, se seleccionan de forma que la etapa c) se realice para poder obtener una disolución de la celulosa comprendida entre el 20% y el 99% dentro del reactor 7, y más particularmente entre el 30% y el 95%. El agua necesaria para la obtención del porcentaje de MS buscado se añade por el conducto 8. El porcentaje de MS deseado está comprendido entre 5% (p/v) y 45% (p/v) y preferentemente entre 8% (p/v) y 35% en peso.

25 Las enzimas celulósicas y/o hemicelulósicas se añaden por la canalización 8a.

Los microorganismos utilizados para la fermentación etílica de las hexosas se introducen por la canalización 8b.

30 Los aditivos necesarios para el ajuste de PH o la licuefacción se introducen por la canalización 8c.

La extracción de etanol producido en la etapa de fermentación etílica se lleva a cabo en el reactor 11. El alcohol se extrae preferentemente por destilación, por el conducto 12.

35 La pasta que contiene el residuo insoluble se extrae por las canalizaciones (9a) y/o (9b).

En el reactor 11 a, se realiza la separación del etanol y las vinazas se extraen por la canalización 13.

40 En el reactor 11b, se realiza más específicamente la separación entre el etanol y el agua para extraer un flujo de productos por la canalización 12.

45 De este modo, a la salida de las etapas c) a e) realizadas en los reactores 7 y 11, se obtiene un flujo de productos 12 (etanol) extraído por cualquier medio conocido por el experto en la técnica, un residuo líquido 13 (denominado vinaza) que contiene azúcares no fermentados con particularmente las pentosas (xilosa, arabinosa), incluso trazas de hexosas (galactosa, por ejemplo), la hexosa más difícil de metabolizar para las levaduras convencionales) así como oligómeros o una pasta sólida que contiene la materia sólida derivada del sustrato inicial (residuo sólido) y una fracción líquida, debido a las limitaciones de los equipos de separación sólido/líquido. El residuo sólido está en parte compuesto por celulosa y hemicelulosa que no han sido hidrolizadas y por lignina.

50 El microorganismo utilizado en la etapa de fermentación etílica de las pentosas se introduce en el reactor 14 por el conducto 15a para ser mezclado con la vinaza, fracción 13. Las utilidades y los aditivos necesarios para un buen desarrollo de la fermentación se introducen por el conducto 15b. El reactor 14 puede ser un reactor esterilizable. Los gases de fermentación se evacúan. El pH en este reactor se puede controlar y regular si fuera necesario.

55 El flujo saliente del reactor 14 por la canalización 16 corresponde al vino etílico ex-pentosas. No resulta útil separar los microorganismos.

60 El flujo acuoso entrante en el reactor de hidrólisis y/o fermentación de las hexosas contiene entre 5 y 40 g/l de etanol.

Según la realización representada en la figura 1, el flujo 16 saliente de la etapa de fermentación etílica de las pentosas se divide en 2 flujos. El flujo 16a se recicla después de la etapa de pretratamiento.

65 El flujo 16b se puede enviar hacia una etapa separación agua/solventes en un reactor 17, antes de ser igualmente reciclado y reenviado hacia el reactor de separación 11b a través del conducto 18.

Según una realización, el flujo 16b se utiliza para otras aplicaciones sin reciclaje.

5 Según la realización representada en la figura 2, la totalidad del flujo 16 saliente del reactor de fermentación etílica de las pentosas se recicla después de la etapa de pretratamiento. La parte de vinazas en exceso que no se ha enviado hacia la etapa f) de fermentación se extrae por la canalización 19. Los azúcares contenidos en estas vinazas se pueden valorar de forma independiente.

10 Gracias al procedimiento según la invención, el ahorro realizado en la única etapa de extracción es sustancial. Como se muestra en los ejemplos siguientes, puede alcanzar hasta un 40%.

**EJEMPLOS**

Los ejemplos siguientes ilustran la invención sin limitar su alcance.

15 **Ejemplo 1 (no conforme a la invención)**

Se considera un procedimiento de producción de etanol a partir de la fermentación de los azúcares en C6 (hexosas) y de los azúcares en C5 (pentosas).

20 El sustrato utilizado es paja, pretratada en unas condiciones ácidas. El sustrato pretratado se neutraliza después, y posteriormente se introduce en el reactor para ser convertido en etanol por hidrólisis enzimática y fermentación de glucosa y de manosa (azúcares de 6 átomos de carbono).

25 El procedimiento trata 52 toneladas/hora de mezcla (base de materia seca). La composición de la materia seca es la siguiente:

Celulosa (%)	41,7%
Xilanos (%)	25,2 %
Mananos (%)	0 %
Lignina (%)	23,2 %
Otros (%)	9,9 %

30 Durante el pretratamiento, las pérdidas de celulosa y de hemicelulosas son del orden respectivamente del 5 y del 10%. Al fina del pretratamiento, el porcentaje de materia seca es del 35% (p/v).

35 El procedimiento de conversión en etanol de los azúcares C6 y C5 contiene las etapas siguientes: hidrólisis enzimática, fermentación etílica de los azúcares C6, separación de los residuos sólidos de los vinos, destilación del etanol, fermentación etílica de la copa de vinaza y después destilación del etanol. Las dos etapas de destilación del etanol se pueden agrupar para permitir tener solo una columna de rectificación del etanol.

La hidrólisis enzimática se realiza a un pH 5, con un flujo de entrada que contiene un 11,8% de materia seca. En las condiciones de hidrólisis seleccionadas, el 95% de los polímeros de azúcares se solubilizan en monómeros.

40 El caldo azucarado se envía después a la fermentación etílica donde el 90% de los azúcares glucosa y manosa son convertidos en etanol por *Saccharomyces cerevisiae*.

El vino se envía hacia una centrifugadora para separar las fases sólida y líquida.

45 La fase líquida se envía después a destilación. El primer producto contiene mayoritariamente la fracción con etanol; el último producto contiene las vinazas (mezcla de agua, de pentosas y los sólidos todavía presentes).

Los vinazas se envían hacia la etapa de fermentación etílica realizada por una levadura de la especie *Pichia stipitis*. Las pentosas se convierten respectivamente en etanol, los subproductos y los microorganismos para respetivamente 74,4; 24,5 y 1,1 molar.

50 En ausencia de reciclaje, la fracción de etanol recuperada al principio de la destilación se envía hacia una columna de rectificación, para proporcionar una mezcla etanol-agua en el azeótropo.

55 Los productos obtenidos de la fermentación etílica de las pentosas se envían hacia una columna de destilación, que va a separar el agua y después hacia una columna de rectificación (que puede ser la misma que para el etanol obtenido de la fermentación de las hexosas), para proporcionar una mezcla etanol-agua en el azeótropo.

Para este esquema de procedimiento, la producción de etanol es de 14,6 t/h.

## ES 2 706 395 T3

El consumo de energía global del procedimiento es de 34,6 MW lo que corresponde a un consumo medio de 8,55 MJ/Kg de etanol producido.

### Ejemplo 2

5 El ejemplo 2 retoma las hipótesis del ejemplo 1 pero se diferencia por un reciclaje del flujo post-fermentación de las pentosas en dos puntos del procedimiento.

10 El primer reciclaje, correspondiente al 71% de este flujo, se envía antes de la hidrólisis enzimática; el resto se envía hacia la separación común de etanol post separación de los vinos. La cantidad exacta suplementaria de agua es nula a nivel de la hidrólisis enzimática.

15 La fracción de etanol recuperada al principio de la columna de las destilaciones de vinos se envía hacia una columna de rectificación para separar el agua del etanol (mezcla etanol-agua en el azeótropo).

Para este esquema de procedimiento, la producción de etanol es de 14,46 t/h.

20 El consumo de energía global del procedimiento es de 30,3 MW lo que corresponde a un consumo medio de 7,55 MJ/Kg de etanol producido.

Según la invención, este ejemplo que utiliza un esquema con reciclajes etanol permite una ganancia energética del 12% en relación con el ejemplo 1 (MJ/Kg de etanol producido).

### Ejemplo 3

25 El ejemplo 3 retoma las hipótesis del ejemplo 1 pero se diferencia por un reciclaje parcial del flujo post-fermentación de las pentosas antes de la hidrólisis enzimática. La parte del flujo no reciclado se utiliza para otras aplicaciones.

30 El reciclaje, correspondiente al 71% de este flujo, se envía antes de la hidrólisis enzimática. La cantidad exacta suplementaria de agua es nula a nivel de la hidrólisis enzimática.

La fracción de etanol recuperada al principio de la columna de destilaciones de vinos se envía hacia una columna de rectificación para separar el agua del etanol (mezcla etanol-agua en el azeótropo).

35 Para este esquema de procedimiento, la producción de etanol es de 13,11 t/h.

El consumo de energía global del procedimiento es de 27,1 MW lo que corresponde a un consumo medio de 7,46 MJ/Kg de etanol producido.

40 En esta configuración, la cantidad de equipos necesarios para el procedimiento se reduce a una columna de destilación.

45 Para este ejemplo, el esquema con reciclaje de etanol obtenido de la fermentación de las pentosas permite una ganancia en equipos y una ganancia energética de hasta el 13% en relación con el ejemplo 1 (MJ/Kg de etanol producido).

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Procedimiento de producción de etanol a partir de biomasa celulósica o lignocelulósica que comprende por lo menos
- 10 a) una etapa de pretratamiento termoquímico de un sustrato celulósico o lignocelulósico  
b) eventualmente una etapa de lavado del sustrato pretratado y ajuste de pH  
c) una etapa de hidrólisis enzimática del sustrato pretratado, eventualmente lavado, empleando enzimas celulolíticas y/o hemicelulolíticas que producen un hidrolizado y un residuo insoluble en agua;  
15 d) una etapa de fermentación etílica de las hexosas contenidas en el hidrolizado procedente de la etapa c) en etanol por un microorganismo alcoholígeno y la obtención de un vino etílico ex-hexosas;  
e) una etapa de extracción que comprende
- 20 e1) la separación y la purificación del etanol procedente de la etapa d)  
e2) la separación de una pasta sólida que contiene el residuo insoluble y la obtención de vinazas que contienen las pentosas no fermentadas;
- 25 f) una etapa de fermentación etílica de las pentosas contenidas en por lo menos las vinazas por un microorganismo que fermenta las pentosas y obtención de un vino etílico ex-pentosas en el que
- 30 - por lo menos una parte del vino etílico ex-pentosas obtenido en la etapa f) se recicla antes de por lo menos una de las etapas de hidrólisis enzimática y/o de fermentación alcohólica.
- 35 2. El procedimiento según la reivindicación 1 en el que las pentosas fermentadas de la etapa f) proceden a la vez de vinazas y de un flujo directamente extraído después de la etapa de pretratamiento cuando éste es ácido.
- 40 3. El procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores en el que la cepa utilizada en la etapa f) es una cepa del tipo *Pichia stiptis* o *Candida shehatae*.
- 45 4. El procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores en el que las etapas de hidrólisis enzimática y de fermentación etílica de las hexosas se realizan simultáneamente a una temperatura comprendida entre 30 y 45 °C, a un pH comprendido entre 4 y 6.
5. El procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores en el que la etapa de separación e2) de la pasta se realiza después de las etapas c) y/o d) y está eventualmente acoplada a un lavado de la pasta.
6. El procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores en el que las vinazas enviadas hacia la etapa de fermentación f) tienen una concentración en azúcares comprendida entre 30 y 90 g/L de azúcares o de productos fermentables.
7. El procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores en el que una parte del vino etílico ex-pentosas se envía después de la etapa de pretratamiento.
8. El procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 7 en el que solo una parte de las vinazas se envía hacia la etapa de fermentación etílica de las pentosas.

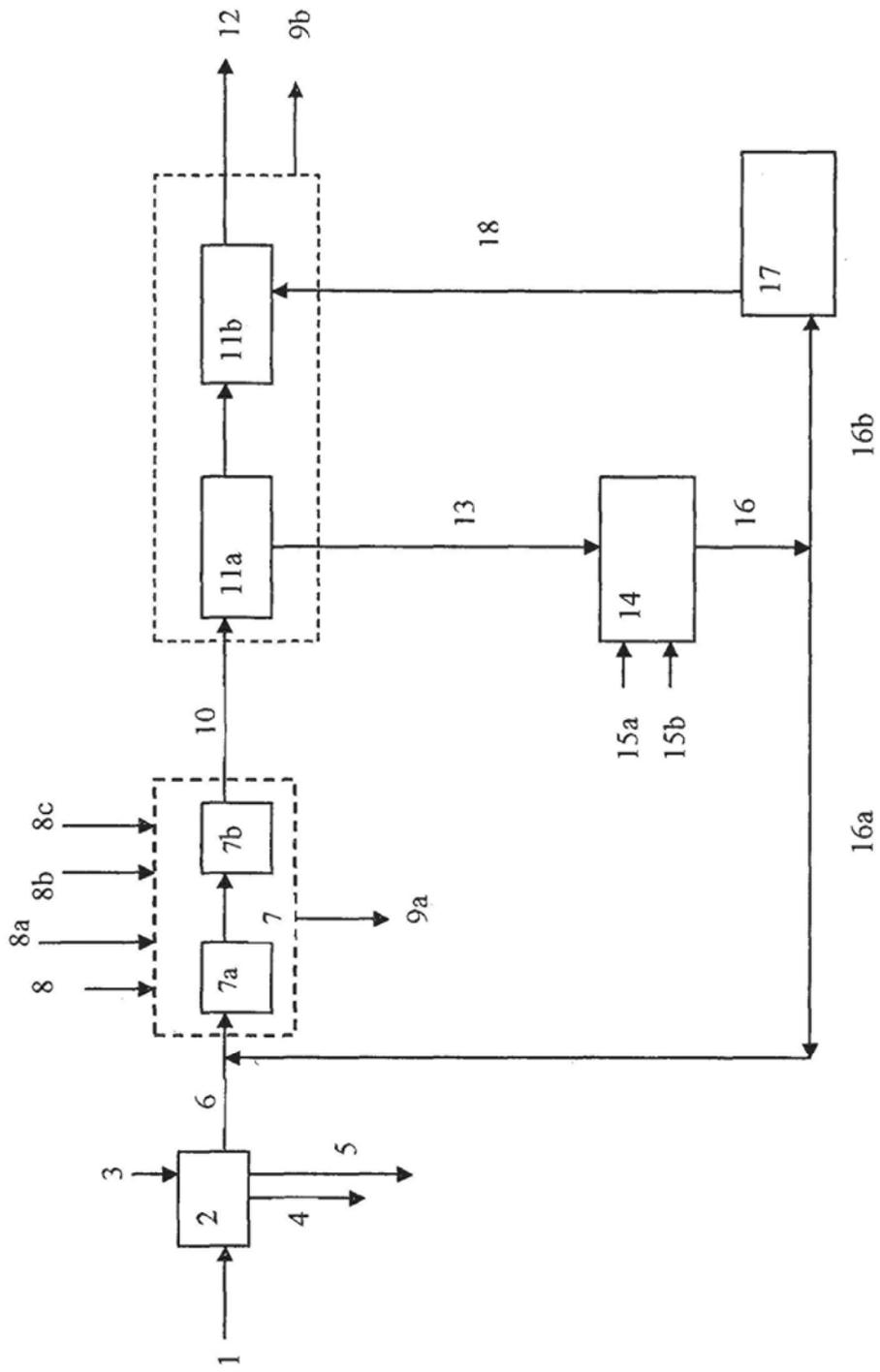


Figura 1

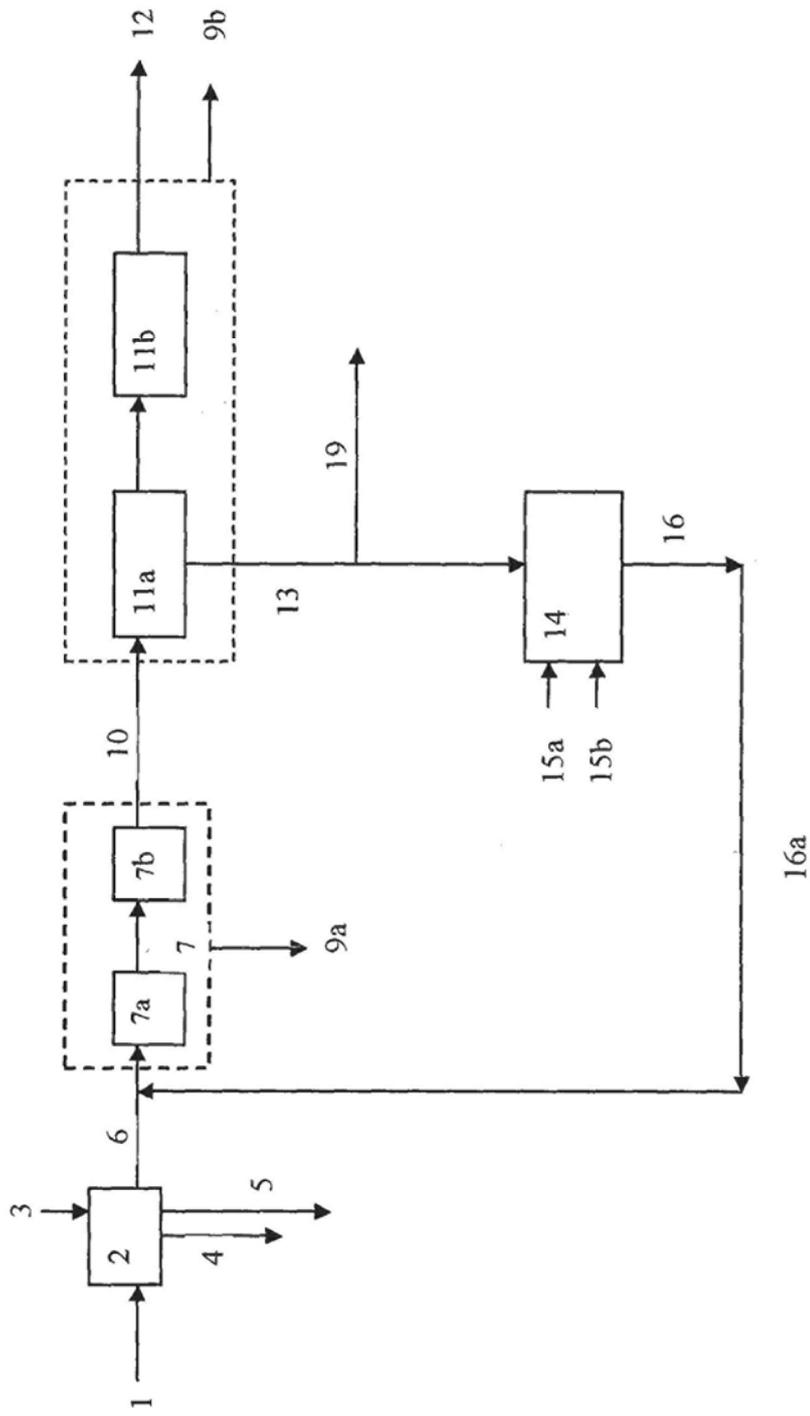


Figura 2