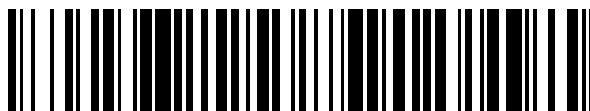


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 758 101**

51 Int. Cl.:

**C12P 19/02** (2006.01)

**C12P 19/04** (2006.01)

**C12P 19/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.08.2016 PCT/EP2016/069739**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.03.2017 WO17042018**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.08.2016 E 16754281 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 3347480**

54 Título: **Proceso autosuficiente para la producción de un hidrolizado de biomasa con un contenido reducido en sal**

30 Prioridad:

**11.09.2015 EP 15184895**

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

**04.05.2020**

73 Titular/es:

**CLARIANT INTERNATIONAL LTD (100.0%)  
Rothausstrasse 61  
4132 Muttenz, CH**

72 Inventor/es:

**ZAVREL, MICHAEL;  
DENNEWALD, DANIELLE;  
HOFFMANN, PHILIP y  
VERHUELSDONK, MARCUS**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 758 101 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**

Proceso autosuficiente para la producción de un hidrolizado de biomasa con un contenido reducido en sal

5 La presente invención se dirige a un proceso autosuficiente para la producción de un hidrolizado de biomasa con un contenido reducido en sal. También se describe el hidrolizado producido según el proceso de la invención y el uso del hidrolizado como medio de fermentación.

La biomasa que se origina de restos agrícolas, tales como bagazo de caña de azúcar, paja de trigo, paja de cebada y otros materiales que contienen sacáridos o polisacáridos y proteínas es una fuente valiosa no solo de sacáridos refinados, tales como azúcares monoméricos o diméricos, sino también de otros componentes, tales como aminoácidos, proteínas y minerales.

10 Existen diversos procesos conocidos en la técnica para separar componentes, tales como, en particular, azúcares de la remolacha azucarera y la caña de azúcar o cereales. Las disoluciones que se producen a partir de estos sustratos, denominadas “de primera generación”, son disoluciones de azúcares casi puras, y pueden usarse, por ejemplo, en procesos de fermentación convencionales sin más tratamientos y sin que afecten de modo importante a la eficacia del proceso. Sin embargo, un inconveniente con respecto al uso de estas sustancias es que la remolacha  
15 azucarera, la caña de azúcar y los cereales son productos alimentarios valiosos, y su uso en procesos, tales como la producción de biocombustibles y materias primas químicas, es muy controvertido.

Por contraste, las disoluciones que se originan de la hidrólisis de sustratos “de segunda generación” basados en residuos agrícolas, tales como bagazo de caña de azúcar, paja de trigo o paja de cebada, son mezclas complejas de  
20 proteínas, minerales y azúcares poliméricos. También contienen ácidos orgánicos, partículas coloreadas, productos de la degradación de la lignina y otras impurezas. Esto hace que estos hidrolizados de segunda generación no resulten adecuados para su posterior procesamiento, tal como, por ejemplo, la preparación de poli(ácido láctico) a partir del ácido láctico, debido a la inhibición de la fermentación y a una coloración no deseada. Los procesos existentes que implican a este tipo de hidrolizados también provocan que los tubos, conductos y membranas se ensucien mucho, lo cual conduce a una limpieza y sustitución frecuentes de las unidades del proceso.

25 Además, estos sustratos de segunda generación generalmente contienen grandes cantidades de lignina, y los azúcares poliméricos están muy polimerizados, lo cual hace que estos sustratos sean reacios y difíciles de convertir. Por tanto, estos sustratos requieren de una etapa de pretratamiento para que sean accesibles para la hidrólisis enzimática. En la técnica, se emplean habitualmente ácidos anorgánicos, tales como el ácido sulfúrico, lo cual aumenta muchísimo el coste del proceso, puesto que los ácidos no solo deben comprarse, sino que el tratamiento  
30 de las aguas residuales aumenta de precio.

Huyskens C. et al., Membrane capacitive deionization for biomass hydrolysate desalination, SEPARATION AND PURIFICATION TECHNOLOGY (2013), 118:33-39; Huyskens C. et al., Cost evaluation of largescale membrane capacitive deionization for biomass hydrolysate desalination, SEPARATION AND PURIFICATION TECHNOLOGY (2015), 146:294-300; documento WO2006/007691; documento WO 2011/027360; Nilvebrant N.-O. et al.,  
35 Detoxification of lignocellulose hydrolysates with ion-exchange resins, APPLIED BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY (2001), 91-93:35-49; y Mussatto S. I. et al., Alternatives for detoxification of diluted-acid lignocellulosic hydrolysates for use in fermentative processes: a review, BIORESOURCE TECHNOLOGY, ELSEVIER BV, GB (2004), 93:1-10 describen hidrolizados que se desalan mediante electrodiálisis por medio de una desionización capacitiva de membrana o por medio de cromatografía de intercambio iónico.

40 Sin embargo, con respecto a la producción de hidrolizados a escala industrial, una barrera clave no solo es la producción de un producto final de alta calidad, sino también los gastos económicos. Por tanto, sería muy importante conseguir un proceso eficaz con bajo consumo de energía y de material y con un impacto bajo sobre el entorno, así como con una capacidad de conversión de biomasa alta.

Por tanto, un objeto de la presente invención es proporcionar un proceso que cumpla estos criterios clave.

45 Ahora los inventores de la presente invención han descubierto, de forma sorprendente, que este objeto puede lograrse mediante un proceso que comprende las etapas de:

- a) proporcionar una biomasa;
- b) realizar un pretratamiento ácido de la biomasa;
- c) hidrolizar la biomasa para obtener un hidrolizado de biomasa;
- 50 d) realizar una separación de sólidos-líquidos del hidrolizado de biomasa para obtener una fase sólida y una fase líquida;
- e) desionizar la fase líquida mediante una electrodiálisis usando al menos una membrana bipolar;
- f) separar una fracción ácida y/o alcalina a partir de la fase líquida desionizada;

g) añadir al menos parte de la fracción ácida separada a la etapa b),  
 en el que las etapas a) hasta g) se repiten al menos una vez.

Este proceso no solo proporciona un hidrolizado de alta calidad desalado adecuado para aplicaciones refinadas, sino que también garantiza una descomposición eficaz de la biomasa con bajas inversiones en material, lo cual conduce a un proceso económicamente muy viable.

El término "biomasa", tal como se emplea en la presente invención, se refiere a cualquier tipo de biomasa conocida por los expertos en la técnica por ser adecuada para el proceso. Se prefiere en particular la biomasa de origen vegetal. En otra realización preferida, el contenido en materia seca inicial de la biomasa se selecciona del 10 al 100% en peso, más preferiblemente del 35 al 95% en peso, y en particular preferiblemente del 40 al 80% en peso. La expresión "materia seca" (m.s.) se refiere a la proporción de masa a biomasa determinada después de retirar el agua y otros compuestos volátiles del tejido fresco utilizando una balanza de IR. Por tanto, se prefiere en particular seleccionar una biomasa, en la cual su materia seca contiene al menos 25% en peso de sacáridos, tales como azúcares monoméricos, azúcares diméricos y oligosacáridos y/o polisacáridos, más preferiblemente al menos 40% en peso, en particular preferiblemente al menos 60% en peso, aún más preferiblemente al menos 80% en peso de sacáridos, tales como azúcares monoméricos, azúcares diméricos y oligosacáridos y/o polisacáridos. Además, cualquier mezcla de biomasa adecuada se incluye en el término "biomasa".

Una biomasa particularmente preferida es una "biomasa de lignocelulosa".

La expresión "biomasa de lignocelulosa" se refiere a un residuo, desecho y/o subproducto procedente de silvicultura y agricultura, de la industria de procesamiento de alimentos y de papel, y de desechos comunitarios. En particular, la expresión "biomasa de lignocelulosa", tal como se emplea en la presente invención, incluye paja de cereales y/o espelta (tal como trigo, centeno, cebada, avena), paja, tallos y/o mazorcas de maíz, hierbas, tales como *Sericea lespedeza*, pasto varilla (*Panicum virgatum*), pasto de Napier (*Miscanthus*; caña china), pasto de Sudán (*Sorghum sudanense*, *Sorghum drummondii*), *Arundo donax*, cortezas, madera, residuos madereros, trozos de madera y/o virutas, pulpa de fruta, paja de arroz, hojas de platanera, racimos de frutas vacíos y residuos de agave.

Otra biomasa adecuada para el proceso es el estiércol de establos, materiales herbáceos, posos de café y residuos procedentes de almazaras, tales como tortas comprimidas de lino y aguas residuales procedentes de molinos, materia prima para la fabricación de papel y aguas residuales procedentes de molinos de papel, papel de desechos, restos de frutas y verduras.

En una realización preferida del proceso de la presente invención, la biomasa se selecciona de biomasa que contiene celulosa, hemicelulosa y/o lignina.

En una realización preferida del proceso de la presente invención, la biomasa se selecciona de pulpa de remolacha azucarera, bagazo de caña de azúcar, paja de caña de azúcar, paja de trigo, madera y sus mezclas.

En otra realización particularmente preferida del proceso de la presente invención, la biomasa es una biomasa lignocelulósica procedente de residuos agrícolas, tales como paja de trigo, paja de cebada, paja de soja, bagazo de caña de azúcar, hojas y tallos de caña de azúcar, paja de caña de azúcar, paja de maíz, paja de cebada, tallos y sus mezclas.

La expresión "pretratamiento ácido", tal como se emplea en la presente invención, significa cualquier tipo de tratamiento conocido por los expertos en la técnica que implica el uso de un ácido o una combinación de ácidos. Dentro del alcance de la presente invención se incluye añadir cualquier tipo de ácido, tal como ácido sulfúrico, ácido acético, ácido fórmico, ácido láctico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido succínico, cloruro de hidrógeno o sus mezclas, aunque se prefiere añadir solo ácidos generados durante la desionización según la etapa e) del proceso. Una ventaja concreta del proceso de la presente invención es que no es necesario añadir uno o más ácidos externos al proceso, el proceso es autosuficiente con respecto al uso de ácidos. En el caso de un proceso continuo (repetición de las etapas del proceso a) hasta g) al menos una vez), no es necesario añadir un ácido externo a la primera etapa de pretratamiento b), puesto que los ácidos orgánicos que ya están presentes dentro de la biomasa son suficientes para iniciar el proceso. Por tanto, la expresión "pretratamiento ácido", tal como se emplea en la presente invención, también comprende un tratamiento que emplea uno o más ácidos que ya están presentes dentro de la biomasa.

El pretratamiento ácido se realiza preferiblemente en combinación con un tratamiento mecánico. También es posible que la biomasa proporcionada en la etapa a) del proceso ya haya sufrido un tratamiento mecánico.

La expresión "tratamiento mecánico" se refiere a cualquier tratamiento mecánico que conduce a la conminución de la biomasa. La conminución mecánica se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en un procesamiento mecánico, trituración, picado, aplastamiento, cortado, irradiación, molienda, tal como molienda en seco, molienda en húmedo y molienda con bolas vibratoria, y sus combinaciones.

Un tratamiento mecánico particularmente preferido según la presente invención es la explosión de vapor. La

“explosión de vapor”, según la presente invención, preferiblemente comprende un tratamiento hidrotérmico presurizado a una temperatura de 60 a 350 °C, preferiblemente de 80 a 300 °C, en particular preferiblemente de 100 a 250 °C, y lo más preferiblemente de 110 a 220 °C del material de biomasa. En una realización preferida de la presente invención, la presión se selecciona preferiblemente de 1 a 100 bares, preferiblemente de 2 a 50 bares, también preferiblemente de 3 a 25 bares, y lo más preferiblemente de 5 a 15 bares. Los tiempos de reacción durante la explosión de vapor se seleccionan de 10 s a 2 h, preferiblemente de 1 minuto a 1,5 horas, y lo más preferiblemente de 5 minutos a 1 hora para proporcionar una transformación eficaz de los componentes de la biomasa en preparación para la siguiente etapa de hidrólisis. En una realización preferida, el ácido se añade al proceso de explosión de vapor. La cantidad de ácido añadida se encuentra preferiblemente en el intervalo de 0,07 a 6,5 moles de iones H<sup>+</sup>, más preferiblemente de 0,13 a 3,3 moles de iones H<sup>+</sup>, y lo más preferiblemente de 0,33 a 1,3 moles de iones H<sup>+</sup> por kg de material seca de la biomasa.

La expresión “hidrólisis de la biomasa”, tal como se emplea en la presente invención, significa cualquier tipo de hidrólisis conocida por los expertos en la técnica por ser adecuada para el proceso de la invención. Según una realización particularmente preferida de la presente invención, la hidrólisis de la biomasa se realiza mediante hidrólisis enzimática.

Según una realización preferida del proceso de la presente invención, la hidrólisis enzimática se realiza poniendo en contacto la biomasa pretratada con una composición de enzimas que contiene al menos una enzima seleccionada de la clase de las hidrolasas.

La expresión “poner en contacto” (o el término “contacto”) comprende cualquier tipo de contacto de la biomasa con una composición de enzimas conocida por los expertos en la técnica por ser adecuada para el proceso de la invención. En una realización preferida, el “contacto” de la biomasa con la composición de enzimas se realiza añadiendo la composición de enzimas a la biomasa. Además, se prefiere en particular que a la adición de la composición de enzimas le siga un mezclado de la composición de enzimas y la biomasa, o que este mezclado se realice al mismo tiempo.

La expresión “composición de enzimas” se refiere a cualquier composición que comprende al menos una enzima seleccionada de la clase de las hidrolasas. Dicha al menos una enzima seleccionada de la clase de las hidrolasas se emplea en cantidades preferiblemente del 1 al 99,99% en peso (con relación al peso de la composición de enzimas), más preferiblemente del 5 al 99% en peso, preferiblemente en particular del 10 al 95% en peso, y lo más preferiblemente del 20 al 90% en peso, y puede contener además al menos una enzima seleccionada de la clase de las liasas. En ciertas realizaciones en las que la composición de enzimas contiene al menos una enzima seleccionada de la clase de las liasas, dicha al menos una enzima seleccionada de la clase de las hidrolasas se emplea en cantidades preferiblemente del 0,01 al 50% en peso (con relación al peso de la composición de enzimas), preferiblemente del 0,05 al 20% en peso, más preferiblemente del 0,08 al 5% en peso, y lo más preferiblemente del 0,1 al 1% en peso.

En una realización preferida, la composición de enzimas contiene celulasas, hemicelulasas y/o pectinasas.

En una realización particularmente preferida, la composición de enzimas contiene al menos una celobiohidrolasa (EC 3.2.1.-) y al menos una endo-,4-β-glucanasa (EC 3.2.1.4).

En una realización particularmente preferida, la composición de enzimas contiene al menos una celobiohidrolasa (EC 3.2.1.-), al menos una endo-,4-β-glucanasa (EC 3.2.1.4), al menos una β-glucosidasa (EC 3.2.1.4), al menos una glicósido hidrolasa 61 (GH61 y CBM33), al menos una endo-xilanasa (EC 3.2.1.8) y al menos una β-xilosidasa (EC 3.2.1.37).

En una realización particularmente preferida, la composición de enzimas definida anteriormente contiene además una o más enzimas seleccionadas de β-glucanasa (EC 3.2.1.-), acetilxilano esterasa (EC 3.1.1.72), acetilgalactano esterasa (3.1.1.6), α-arabinopiranosidasa (3.2.1.-), α-galactosidasa (EC 3.2.1.22), β-galactosidasa (EC 3.2.1.23), α-glucuronidasa (EC 3.2.1.139), β-manasa (EC 3.2.1.78), pectina metil esterasa (EC 3.1.1.11), pectina acetil esterasa (EC 3.1.1.-), ramnogalacturonasa (EC 3.2.1.-; GH28), ramnogalacturonano acetilesterasa (EC 3.1.1.86), ramnogalacturonano endoliasa (EC 4.2.2.23), ramnogalacturonano liasa (EC 4.2.2.-) y β-manosidasas (EC 3.2.1.25), poligalacturonasas (EC 3.2.1.15, 67, 82; GH28) y pectina/pectato liasas (EC 4.2.2.2, 6, 9, 10).

Los términos “celulasas”, “hemicelulasas” y “pectinasas” se refieren a cualquier mezcla de enzimas que están implicadas en la degradación hidrolítica (despolimerización) de la celulosa, hemicelulosa y/o pectina poliméricas para producir azúcares monoméricos. Tal como se emplea en la presente, los términos “celulasas”, “hemicelulasas” y “pectinasas” se refieren a mezclas naturales y no naturales que incluyen una pluralidad de enzimas, según son producidas por un organismo, por ejemplo, un hongo filamentosos. Las “celulasas”, “hemicelulasas” y “pectinasas” se derivan preferiblemente de hongos, tales como miembros de la subdivisión *Eumycota* y *Oomycota*, que incluyen, pero no se limitan a los siguientes géneros: *Aspergillus*, *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Beauveria*, *Cephalosporium*, *Ceriporiopsis*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Claviceps*, *Cochiobolus*, *Cryptococcus*, *Cyathus*, *Endothia*, *Endothia mucor*, *Fusarium*, *Gilocladium*, *Humicola*, *Magnaporthe*, *Myceliophthora*, *Myrothecium*, *Mucor*, *Neurospora*, *Phanerochaete*, *Podospora*, *Paecilomyces*, *Pyricularia*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Schizophyllum*, *Stagonospora*,

*Talaromyces*, *Trichoderma*, *Thermomyces*, *Thermoascus*, *Thielavia*, *Tolyposcladium*, *Trichophyton*, y *Trametes*. En una aplicación preferida, el hongo filamentoso es una especie de *Trichoderma*.

5 En una realización preferida de la composición de enzimas, las celulasas y/o pectinasas proceden de una fuente fúngica. En una realización particularmente preferida de la composición de enzimas, esta fuente fúngica es *Trichoderma reesei*.

10 La expresión "mezcla de enzimas" preferiblemente se refiere a una mezcla de enzimas segregadas a partir de una o más fuentes microbianas. En algunas realizaciones, las enzimas para su uso en esta mezcla o mezclas de enzimas pueden prepararse a partir de una o más cepas naturales o modificadas de hongos filamentosos. Las cepas preferidas se listaron anteriormente. Puede lograrse la proporción deseada de componentes de enzimas dentro de la mezcla o mezclas finales alterando la cantidad relativa de enzima en la mezcla final, por ejemplo, suplementando una o más enzimas purificadas o parcialmente purificadas. En algunas realizaciones, la mezcla o mezclas finales pueden ser suplementadas con una o más actividades enzimáticas que no se expresan de modo endógeno, o que son expresadas a un nivel relativamente bajo por los hongos filamentosos, para mejorar la degradación del sustrato celulósico para producir azúcares fermentables. La enzima o enzimas suplementadas pueden añadirse como un suplemento a la mezcla o mezclas finales, y las enzimas pueden ser un componente de un caldo de fermentación completo separado, o pueden purificarse, o recuperarse y/o purificarse mínimamente.

15 El término "celulasa" se refiere a cualquier enzima capaz de hidrolizar polímeros de celulosa para producir oligómeros más cortos y/o glucosa. Las celulasas preferidas dentro de la composición de enzimas incluyen celobiohidrolasas (CBH) (EC 3.2.1.-), endo-1,4-β-glucanasas (EG) (EC 3.2.1.4.), β-glucosidasa (EC 3.2.1.4), celobiosa hidrolasa (EC 3.2.1.21), glicósido hidrolasa 61 (GH61 y CBM33), expansina, swollenina, loosinina y proteínas CIP (EC 3.1.1.-; CE15).

20 El término "hemicelulasa" se refiere a cualquier enzima capaz de degradar o apoyar la degradación de la hemicelulosa. Las hemicelulasas preferidas dentro de la composición de enzimas incluyen β-glucanasas (EC 3.2.1.-), endo-xilanasas (EC 3.2.1.8), β-xilosidasas (EC 3.2.1.37), acetilxilano esterasa (EC 3.1.1.72), acetilgalactano esterasa (3.1.1.6), acetil manano esterasa, feruloil esterasa (EC 3.1.1.73), glucuronoil esterasa (EC 3.1.1.-), α-L-arabinofuranosidasa (EC 3.2.1.55), α-arabinopiranosidasa (3.2.1.-), α-galactosidasa (EC 3.2.1.22), β-galactosidasa (EC 3.2.1.23), α-glucuronidasas (EC 3.2.1.139), β-manasa (EC 3.2.1.78), β-manosidasas (EC 3.2.1.25), manano 1,4-manobiosidasa (EC 3.2.1.100), arabinogalactano endo-beta-1,4-galactanasa (EC 3.2.1.89), endo-beta-1,3-galactanasa (EC 3.2.1.90), galactano endo-beta-1,3-galactanasa (EC 3.2.1.181, glucuronoarabinosilano endo-1,4-beta-xilanasas (EC 3.2.1.136), alfa-L-fucosidasa (EC 3.2.1.51), coniferina beta-glucosidasa (EC 3.2.1.126), xiloglucano hidrolasas (EC 3.2.1.150, 151, 155), xilano α-1,2-glucuronosidasa (EC 3.2.1.131), endo-xilogalacturonano hidrolasa (EC 3.2.1.-; GH28), α-amilasa (EC 3.2.1.1), glucano 1,4-α-glucosidasa (EC 3.2.1.3), galactano 1,3-galactosidasa (GH43), -1,4-endogalactanasa (EC 3.5.1.89; GH53), α-ramnosidasa (EC 3.2.1.40), β-ramnosidasa (EC 3.2.1.43), lignina peroxidasa (EC 1.11.1.14), Mn peroxidasa (EC 1.11.1.13), aril-alcohol oxidasa (EC 1.1.3.7), glioxal oxidasa (EC 1.1.3.), carbohidrato oxidasas (EC 1.1.3.4, 9, 10), lacasa (EC 1.10.3.2) y celobiosa deshidrogenasa (EC 1.1.99.18).

35 El término "pectinasa" se refiere a cualquier enzima capaz de degradar o apoyar la degradación de la pectina. Las pectinasas preferidas dentro de la composición de enzimas incluyen poligalacturonasas (EC 3.2.1.15, 67, 82; GH28), pectina/pectato liasas (EC 4.2.2.2, 6, 9, 10), pectina metil esterasa (EC 3.1.1.11), pectina acetil esterasa (EC 3.1.1.-), ramnogalacturonasa (EC 3.2.1.-; GH28), ramnogalacturonano acetilsterasa (EC 3.1.1.86), ramnogalacturonano endoliasa (EC 4.2.2.23), ramnogalacturonano liasa (EC 4.2.2.-), ramnogalacturonano galacturonohidrolasa (EC 3.2.1.-), xilogalacturonano hidrolasa (EC 3.2.1.-), pectina metilesterasa (EC 3.1.1.11), beta-arabinofuranosidasa (EC 3.2.1.55), beta-1,4-galactanasa (EC 3.2.1.89), beta-1,3-galactanasa (EC 3.2.1.90), beta-galactosidasa (EC 3.2.1.23), alfa-galactosidasa (EC 3.2.1.22), feruloil acetil esterasa (EC 3.1.1.-), alfa-fucosidasa (EC 3.2.1.51), beta-fucosidasa (EC 3.2.1.38), beta-apiosidasa (EC 3.2.1.-), alfa-ramnosidasa (EC 3.2.1.40), beta-ramnosidasa (EC 3.2.1.43), alfa-arabinopiranosidasa (EC 3.2.1.-), beta-glucuronidasa (EC 3.2.1.31), alfa-glucuronidasa (EC 3.2.1.139), beta-xilosidasa (EC 3.2.1.37) y alfa-xilosidasa (EC 3.2.1.x).

40 Las enzimas se clasifican según nomenclaturas que se basan en the International Union of Biochemistry and Molecular Biology's Enzyme Nomenclature and Classification (<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>) o en la base de datos Carbohydrate-Active EnZymes (<http://www.cazy.org/>).

45 El término "actividad" de una enzima se refiere a la actividad catalítica de la enzima bajo condiciones apropiadas en las cuales la enzima actúa como catalizador de proteínas y convierte sustratos poliméricos o artificiales específicos en productos oligoméricos o monoméricos específicos. En este contexto, la expresión "condiciones apropiadas" es muy conocida y los expertos en la técnica pueden aplicarla.

55 En una realización preferida, la hidrólisis de la biomasa se realiza durante un tiempo suficiente para hidrolizar al menos 20% en peso, preferiblemente al menos 30% en peso, más preferiblemente al menos 50% en peso, y lo más preferiblemente al menos 60% en peso de la biomasa. En otra realización preferida, la hidrólisis de la biomasa se realiza durante un tiempo suficiente para hidrolizar del 10 al 100% en peso, preferiblemente del 20 al 90% en peso, aún más preferiblemente del 30 al 85,0% en peso, y lo más preferiblemente del 40 al 75% en peso de la celulosa de

la biomasa. El término "hidrolizar" significa la conversión hidrolítica de los componentes poliméricos insolubles de la biomasa en compuestos monoméricos, diméricos y/u oligoméricos solubles mediante procesos químicos, físicos y/o enzimáticos, tales como la hidrólisis.

5 En una realización particularmente preferida, la hidrólisis de la biomasa se realiza durante 1 minuto a 136 horas, más preferiblemente durante 30 minutos a 112 horas, en particular preferiblemente durante 1 hora a 100 horas, aún más preferiblemente durante 4 horas a 96 horas, y también en particular preferiblemente durante 12 horas a 85 horas.

10 En otra realización preferida, la hidrólisis de la biomasa se realiza hasta que el contenido en sólidos insolubles remanentes sea menor que 40% en peso, preferiblemente menor que 30% en peso, aún más preferiblemente menor que 20% en peso, y lo más preferiblemente menor que 15% en peso. En otra realización preferida, la hidrólisis de la biomasa se realiza hasta que el contenido en sólidos insolubles remanentes sea del 5 al 40% en peso, preferiblemente del 8 al 30% en peso, y lo más preferiblemente del 10 al 25% en peso.

15 En otra realización preferida, hidrólisis de la biomasa se realiza hasta que la biomasa se licúa en al menos 50%, preferiblemente en al menos 60%, y lo más preferiblemente en al menos 80%, siendo particularmente preferida una licuefacción del 60 al 90%.

La temperatura de reacción durante la hidrólisis se selecciona preferiblemente de 25 a 80 °C, más preferiblemente se selecciona de 30 a 75 °C, y en particular preferiblemente de 35 a 65 °C. En otra realización preferida, la hidrólisis de la biomasa se realiza durante 1 a 120 horas, preferiblemente durante 2 a 110 horas, más preferiblemente durante 3 a 100 horas, en la cual la temperatura se selecciona de 35 a 75 °C, o de 45 a 65 °C.

20 En otra realización preferida, el pH durante la hidrólisis se selecciona preferiblemente de 4 a 6,5, en particular preferiblemente de 4,5 a 5,5.

25 Los niveles de dosificación óptimos varían considerablemente dependiendo del sustrato y de las tecnologías de pretratamiento usadas. La composición de enzimas se añade preferiblemente a la biomasa en una cantidad del 0,01 al 24% en peso de material seca de la biomasa, más preferiblemente del 0,025 al 12% en peso de materia seca de la biomasa, en particular preferiblemente del 0,05 al 6% en peso de materia seca de la biomasa, y lo más preferiblemente del 0,1 al 3% en peso de materia seca de la biomasa. La concentración de enzimas (proteínas) total se determina mediante el método de Bradford con albúmina de suero bovina como patrón de referencia (Bradford, M., 1976).

30 La hidrólisis de la biomasa se realiza dentro de cualquier tipo de recipiente conocido por los expertos en la técnica por ser adecuado para el proceso de la invención, preferiblemente dentro de un reactor. Los reactores adecuados están dentro del conocimiento de los expertos en la técnica. Los recipientes/reactores preferibles incluyen, pero no se limitan a recipientes/reactores que comprenden un medio de agitación y/o un medio para bombear o recircular el contenido de biomasa dentro del reactor. Otros medios preferidos de reactores preferidos incluyen, pero no se limitan a medios para el control de la temperatura y/o pH y para la regulación de la temperatura y/o pH.

35 La expresión "hidrolizado de biomasa", tal como se emplea en la presente invención, significa un biopolímero despolimerizado que se ha despolimerizado mediante una reacción de hidrólisis. La reacción de hidrólisis significa la ruptura de los enlaces químicos mediante la adición de agua. Una forma para realizar la hidrólisis técnicamente es añadir enzimas hidrolasas a la biomasa.

40 En una realización preferida, el hidrolizado de biomasa comprende al menos 50% en peso de sacáridos en forma de azúcares monoméricos y diméricos, preferiblemente al menos 65% en peso, más preferiblemente al menos 75% en peso, también preferiblemente al menos 85% en peso, y lo más preferiblemente 99% en peso, con relación a la materia seca (m.s.) de la biomasa. En otra realización preferida, el hidrolizado de biomasa comprende aminoácidos, oligopéptidos, minerales, oligosacáridos y/o proteínas, así como ácidos orgánicos. El contenido en minerales es preferiblemente al menos 0,5% en peso de sales, preferiblemente al menos 1% en peso, más preferiblemente al menos 2% en peso, y lo más preferiblemente 3% en peso, con relación a la materia seca (m.s.) de la biomasa. El hidrolizado de biomasa puede comprender ácidos orgánicos, tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido galacturónico y ácido láctico. También puede comprender los siguientes productos de degradación: compuestos fenólicos, tales como 4-hidroxi-3-metoxifenilo y 4-hidroxi-3,5-dimetoxifenilo, ácido ferúlico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido levulínico, furfural, 5-hidroximetilfurfural, taninos y terpenos.

50 Según la etapa (d) del proceso, se separa una fase sólida y una fase líquida del hidrolizado de biomasa. La separación de la fase sólida y la fase líquida del hidrolizado de biomasa (en lo sucesivo, "fase líquida" o "fase sólida") puede realizarse por cualquier medio conocido por los expertos en la técnica por ser adecuado para el objetivo de la invención, y se realiza preferiblemente mediante filtración, centrifugación, decantación o compresión, por ejemplo, mediante una prensa de tornillo. Se prefiere una prensa de filtro, más preferiblemente una prensa de filtro de membrana. En una realización preferida, el tejido del filtro de la prensa de filtro tiene una permeabilidad del aire del tejido de 2 a 10 l/dm<sup>2</sup>/min. También pueden añadirse adyuvantes de la filtración, tales como tierra de diatomeas, diatomita o perlita, durante la filtración, preferiblemente en concentraciones del 0,1% en peso al 10% en peso, más preferiblemente entre 0,5% en peso al 5% en peso, y lo más preferiblemente entre 1% en peso y 3% en

peso.

Después de la separación de la fase sólida y la fase líquida se realiza la desionización de la fase líquida según la etapa (e) mediante electrodiálisis usando al menos una membrana bipolar. En la presente invención, una “electrodiálisis usando al menos una membrana bipolar” significa cualquier técnica que comprende el uso de tres tipos diferentes de membranas adecuadas para eliminar sales retirando iones, tales como, por ejemplo,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_3^{3-}$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{H}_2\text{O}$  disociada presente en la fase líquida. La electrodiálisis que emplea al menos una membrana bipolar preferiblemente comprende el uso de una membrana de intercambio catiónico, una membrana de intercambio aniónico y una capa catalítica intermedia, denominada “membrana bipolar”, para permitir la disociación del agua dentro de la fase líquida en protones y iones hidróxido. A través de la combinación de la eliminación selectiva de las sales mediante membranas de intercambio catiónico y aniónico con la disociación del agua simultánea en la capa catalítica intermedia, se forman las respectivas fracciones de ácidos y bases orgánicos o inorgánicos.

Cuando se usa la electrodiálisis que emplea al menos una membrana bipolar para la desionización, los iones retirados de la disolución preferiblemente se recuperan en un líquido denominado “concentrado”. A este respecto, resulta particularmente preferible añadir un líquido a un compartimento de la unidad de electrodiálisis antes de iniciar la desionización. En otra realización preferida, este líquido no se reemplaza después de detener la desionización de un volumen concreto, sino que el concentrado se reutiliza en desionizaciones repetidas a lo largo de al menos 2 ciclos, más preferiblemente al menos 4 ciclos, en particular preferiblemente 6 ciclos, y lo más preferiblemente 10 ciclos.

En una realización preferida, se emplea al menos una membrana de intercambio catiónico, al menos una membrana de intercambio aniónico y al menos una capa catalítica intermedia o membrana bipolar. En otra realización preferida, al menos dos conjuntos de estas membranas se disponen en serie, preferiblemente al menos 4 conjuntos, también preferiblemente al menos 6 conjuntos, y lo más preferiblemente al menos 10 conjuntos. En una realización particularmente preferida, las tres membranas o todos los conjuntos de membranas, según se definió anteriormente, se disponen dentro de un único dispositivo.

La desionización se realiza preferiblemente a una temperatura en el intervalo de 5 °C a 80 °C, más preferiblemente en el intervalo de 10 °C a 75 °C, y lo más preferiblemente en el intervalo de 15 °C a 70 °C. La disminución de la presión a través de la células de electrodiálisis es preferiblemente por debajo de 1 bar, más preferiblemente por debajo de 0,5 bares. En otra realización particularmente preferida, la desionización se realiza hasta que la conductividad de la disolución se reduce hasta al menos 10 mS/cm, más preferiblemente hasta al menos 6 mS/cm, en particular preferiblemente hasta al menos 4 mS/cm, y lo más preferiblemente hasta al menos 2 mS/cm.

En otra realización preferida, a la desionización mediante electrodiálisis que emplea al menos una membrana bipolar le sigue una desionización capacitiva. La desionización capacitiva se aplica preferiblemente en forma de la denominada “desionización capacitiva de membrana”, es decir, insertando una membrana de intercambio catiónico y una membrana de intercambio aniónico en la unidad de desionización capacitiva. Si a la electrodiálisis que emplea al menos una membrana bipolar le sigue una desionización capacitiva de membrana, la electrodiálisis se realiza preferiblemente hasta que la conductividad de la disolución se reduce hasta al menos 10 mS/cm, más preferiblemente hasta al menos 6 mS/cm, en particular preferiblemente hasta al menos 4 mS/cm, y lo más preferiblemente hasta al menos 2 mS/cm, antes de cambiar a la desionización capacitiva de membrana. La desionización capacitiva de membrana que sigue a la electrodiálisis entonces se emplea para disminuir aún más la conductividad de la disolución preferiblemente hasta al menos 8 mS/cm, más preferiblemente hasta al menos 6 mS/cm, en particular preferiblemente hasta al menos 4 mS/cm, y lo más preferiblemente hasta al menos 2 mS/cm.

En otra realización preferida, a la desionización mediante electrodiálisis que emplea al menos una membrana bipolar le sigue una cromatografía de intercambio iónico. Si a la electrodiálisis que emplea al menos una membrana bipolar le sigue una cromatografía de intercambio iónico, la electrodiálisis se realiza preferiblemente hasta que la conductividad de la disolución se reduce hasta al menos 10 mS/cm, más preferiblemente hasta al menos 6 mS/cm, en particular preferiblemente hasta al menos 4 mS/cm, y lo más preferiblemente hasta al menos 2 mS/cm, antes de cambiar a la desionización capacitiva de membrana. La cromatografía de intercambio iónico que sigue a la electrodiálisis entonces se emplea para disminuir aún más la conductividad de la disolución preferiblemente hasta al menos 8 mS/cm, más preferiblemente hasta al menos 6 mS/cm, en particular preferiblemente hasta al menos 4 mS/cm, y lo más preferiblemente hasta al menos 2 mS/cm.

En la presente invención, el “intercambio iónico” se define como un intercambio de iones entre una disolución que contiene al menos un ion y un material de intercambio iónico mineral o polimérico sólido, en el que un ion disuelto en la disolución se intercambia y se reemplaza a través del contacto con el material de intercambio iónico por un ion con la misma carga.

Según la etapa f) del proceso, la fracción ácida y alcalina se separan de la fase líquida desionizada. Por tanto, la etapa de desionización e) genera una fracción ácido, una fracción alcalina y una fase líquida desalada. La separación según la presente invención puede realizarse mediante cualquier método o medio conocido por los expertos en la técnica por ser adecuado para el proceso de la invención, y se realiza preferiblemente de una manera

continúa durante la etapa de desionización.

Dependiendo del contenido en sal de la fase líquida, la fracción ácida puede contener uno o más ácidos, tales como, por ejemplo, HCl, ácido fórmico, ácido acético, ácido láctico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido cítrico y ácido succínico. La fracción alcalina puede contener uno o más compuestos alcalinos, tales como, por ejemplo, NaOH, KOH, Mg(OH)<sub>2</sub> y Ca(OH)<sub>2</sub>. En una realización preferida, la fracción alcalina tiene un pH de 9 a 14, más preferiblemente de 12 a 13. En otra realización preferida, la fracción ácida tiene un pH de 1 a 5, más preferiblemente de 2 a 4.

Según la etapa g) del proceso, al menos parte de la fracción ácida separada se añade a la etapa b) del proceso. Por tanto, se prefiere añadir del 5 al 99% en peso del ácido separado a la etapa b) del proceso, preferiblemente del 10 al 98% en peso, también preferiblemente del 15 al 97% en peso, y lo más preferiblemente del 30 al 96% en peso. En una realización particularmente preferida de la presente invención, la fracción ácido separada completa se añade a la etapa b) del proceso.

Añadiendo al menos parte de la fracción ácida a la etapa b) del proceso, el pretratamiento ácido de la biomasa puede realizarse sin que sea necesario usar y comprar más materia prima. Esto conduce no solo a una reducción en las compras y los costes logísticos, sino también a una reducción de los costes de eliminación. El ácido sulfúrico, que normalmente se emplea en estos procesos debido a su disponibilidad en grandes cantidades a bajo coste de adquisición, requiere una gestión de residuos profunda y costosa.

En otra realización preferida del proceso de la presente invención, al menos parte de la fracción alcalina separada se añade a la etapa c) del proceso. En una realización particularmente preferida, la fracción alcalina separada se añade a la etapa c) hasta que la biomasa alcanza un pH en el intervalo de 4,5 a 5,5, y lo más preferido es un pH de 5. La utilización de la fracción alcalina separada en la etapa c) del proceso de la invención conduce a una mayor reducción en los costes.

Otra aplicación de la fracción alcalina separada es su utilización para limpiar in situ (IIS) de uno o más de los dispositivos usados en el proceso.

En una realización preferida del proceso, la temperatura del hidrolizado de biomasa se ajusta antes de someter el hidrolizado de biomasa a la separación de sólidos-líquidos según la etapa d). Por tanto, la temperatura se selecciona preferiblemente del intervalo de 50 a 95 °C, preferiblemente de 60 a 90 °C, más preferiblemente de 65 a 85 °C. El ajuste se realizará mediante cualquier medio conocido por los expertos en la técnica por ser adecuado para el proceso. En una realización particularmente preferida, se añade al menos un ácido al hidrolizado de biomasa con la temperatura ajustada. En el alcance de la presente invención se incluye añadir al menos un ácido orgánico y/o al menos un ácido inorgánico, en el que dicho al menos un ácido se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en ácido acético, ácido fórmico, ácido láctico, ácido galacturónico, ácido cítrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido clorhídrico, ácido nítrico y sus mezclas. En otra realización preferida de la presente invención, una parte de la fracción ácida separada según la etapa f) del proceso se añade al hidrolizado de biomasa. En una realización preferida, dicho al menos un ácido se selecciona de ácidos con un valor de pKa por debajo de 5,0, preferiblemente de ácidos con un valor de pKa por debajo de 3,5. En otra realización preferida, dicho al menos un ácido se añade al hidrolizado de biomasa hasta que se alcanza un pH de 1,5 a 4,5, preferiblemente de 2,0 a 4,0, y lo más preferiblemente de 2,5 a 3,5.

Las etapas a) hasta g), según se definieron anteriormente, se repiten al menos una vez. Por tanto, se prefiere repetir las etapas a) hasta g) de 2 a 100000 veces, preferiblemente de 10 a 70000 veces, más preferiblemente de 15 a 50000 veces, y lo más preferiblemente de 17 a 10000 veces. En una realización particularmente preferida del proceso de la presente invención, el proceso se realiza como un proceso continuo. En el alcance de la presente invención se incluye que se realice una etapa de limpieza de un recipiente y/o cualquier otra parte del sistema en cualquier momento entre o después de las etapas a) hasta g). La limpieza puede realizarse mediante cualquier medio conocido por los expertos en la técnica como adecuado para el objetivo de la invención y también puede incluir el intercambio de una o más partes del sistema. En otra realización preferida, las etapas a) hasta g) se realizan al menos parcialmente de modo simultáneo.

La realización de las etapas a) hasta g) del proceso conduce a una composición que se denomina un "hidrolizado desalado" o "hidrolizado purificado" dentro del alcance de la presente solicitud.

Se describe un hidrolizado desalado preparado según el proceso según se define en la presente. El contenido en sales del hidrolizado desalado es preferiblemente como máximo 80%, preferiblemente como máximo 60%, más preferiblemente como máximo 40%, más preferiblemente como máximo 20%, y lo más preferiblemente como máximo 10% con relación al contenido en sales después de la hidrólisis del sustrato.

La presente invención se refiere además al uso del hidrolizado desalado preparado según el proceso de la invención como medio de fermentación.

Los compuestos orgánicos valiosos que surgen de la fermentación bacteriana del hidrolizado desalado comprenden, pero no se limitan a ácidos orgánicos (tales como ácido acético, ácido láctico, ácido succínico, ácido itacónico, ácido



5 fumárico, ácido propiónico, y ácido glucurónico), aminoácidos (tales como ácido glutámico, leucina, lisina, treonina, ácido aspártico, fenilalanina, cisteína), caprolactamas (tales como alfa-amino-caprolactama), antibióticos (tales como bleomicina, virginiamicina, lincomicina, monensina, blasticidina, tetraciclina), vitaminas (tales como vitamina B2, B12 y C), enzimas, nucleótidos/nucleósidos (tales como NADH, ATP, AMPc, FAD, coenzima A), biogás, biopolímeros (tales como polihidroxibutirato, poliamidas/fibroínas), proteínas, polisacáridos (tales como xantano, dextrano), aminoglucanos (tales como ácido hialurónico), así como disolventes orgánicos y biocombustibles (tales como acetona, etanol, butanol, propanol).

10 Los compuestos orgánicos valiosos que surgen de la fermentación por levaduras del hidrolizado desalado comprenden, pero no se limitan a disolventes orgánicos (por ejemplo, etanol, propanol), nucleótidos (por ejemplo, ARN), biotensioactivos (por ejemplo, lípidos de soforosa), enzimas y biopolímeros (por ejemplo, espidroínas).

Los compuestos orgánicos valiosos que surgen de la fermentación fúngica del hidrolizado desalado comprenden ácidos orgánicos (tales como ácido cítrico, ácido fumárico, ácido itacónico), antibióticos (tales como penicilina, cefalosporina), enzimas, y polisacáridos (tales como quitina).

15 En otra realización de este proceso, el compuesto orgánico se selecciona de alcoholes, ácidos orgánicos, biopolímeros, antibióticos, aminoácidos, caprolactamas, polisacáridos, disolventes orgánicos, biocombustibles, aminoglucanos, nucleótidos/nucleósidos, vitaminas, biotensioactivos, enzimas y sus mezclas.

### Ejemplo y figura

La presente invención se describirá a continuación mediante el siguiente ejemplo y figura. El ejemplo y la figura solo tienen fines ilustrativos y no deben entenderse como limitantes de la invención.

20 La figura 1 muestra la cantidad relativa de glucosa recuperada durante la hidrólisis enzimática de la biomasa cuando la biomasa se pretrata sin la adición de un ácido (columna izquierda) y cuando la biomasa se pretrata con la adición de un ácido (proceso de la invención) (columna derecha) cuando se realiza el proceso de la presente invención según el ejemplo 1.

25 Paja de cereales con un contenido en materia seca del 45% en peso se pretrató mediante explosión de vapor (220 °C). Después de la explosión de vapor, la paja de cereales pretratada de este modo ("sustrato") se introdujo en un tanque agitado (Labfors, Infors AG, Suiza). Se añadió una composición de enzimas que contenía 91,3% en peso de Celluclast® (celulasa de *Trichoderma reesei* ATCC 26921, C2730 Sigma) y 8,7% en peso de glucosidasa (49291 Sigma) al sustrato a una proporción de enzima a sólidos del 0,5% en peso para hidrolizar el sustrato para obtener una suspensión. La hidrólisis se realizó a 50 °C, pH 5,0, durante 72 horas mientras se agitaba a 50 rpm. Después de la hidrólisis, la suspensión se calentó hasta 70 °C durante 1 h mientras se agitaba a 200 rpm, y después el pH se ajustó a 2,5 usando H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 M. La suspensión tratada de este modo después se filtró usando una prensa de filtro con un tejido de filtro que tenía una permeabilidad del aire del tejido de 5 l/dm<sup>2</sup>/min a una presión constante de 3 bares para obtener una fase líquida y una fase sólida. La fase líquida después se desionizó usando una electrodiálisis con membranas bipolares (ED64004, PCCell) con un apilamiento de membranas compuesto de 10 membranas bipolares (PCCell), 10 membranas de intercambio aniónico (PC 200D, PCCell) y 9 membranas de intercambio catiónico (PC SK, PCCell). La electrodiálisis se realizó a 32 °C durante 2 h y con una velocidad de la bomba de 50 l/h para el diluido y el concentrado. Después de 2 h, la conductividad disminuyó en 83%, conduciendo a un hidrolizado desalado. De modo simultáneo, se produjeron 7,1 g/l de una fracción ácido con un pH de 2 durante la electrodiálisis. Esta fracción puede usarse para el pretratamiento ácido de la biomasa, reduciendo así significativamente los costes de material y los desechos. Cubre la cantidad de ácido necesaria para el pretratamiento ácido de la misma cantidad de biomasa inicialmente usada en 160%.

40 El uso de un ácido en el pretratamiento de la biomasa es muy ventajoso, puesto que permite recuperar 13% más de glucosa de la biomasa durante la hidrólisis enzimática en comparación con el pretratamiento sin la adición del ácido. Los resultados se muestran en la figura 1.

45

**REIVINDICACIONES**

- 1.- Un proceso para la producción de un hidrolizado de biomasa desalado, que comprende las etapas de:
- a) proporcionar una biomasa;
  - 5 b) realizar un pretratamiento ácido de la biomasa;
  - c) hidrolizar la biomasa para obtener un hidrolizado de biomasa;
  - d) realizar una separación de sólidos-líquidos del hidrolizado de biomasa para obtener una fase sólida y una fase líquida;
  - e) desionizar la fase líquida mediante una electrodiálisis usando al menos una membrana bipolar;
  - 10 f) separar una fracción ácida y una fracción alcalina a partir de la fase líquida desionizada;
  - g) añadir al menos parte de la fracción ácida separada a la etapa b),
- en el que las etapas a) hasta g) se repiten al menos una vez.
- 2.- Un proceso según la reivindicación 1, en el que el pretratamiento se realiza mediante explosión de vapor.
- 3.- Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que toda la fracción ácida separada se añade a la etapa b).
- 15 4.- Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la hidrólisis de la biomasa se realiza mediante hidrólisis enzimática.
- 5.- Un proceso según la reivindicación 4, en el que al menos parte de la fracción alcalina separada se añade a la etapa c).
- 20 6.- Un proceso según la reivindicación 5, en el que al menos parte de la fracción alcalina separada se añade a la etapa c) hasta que la biomasa alcanza un pH en el intervalo de 4,5 a 5,5.
- 7.- Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la temperatura del hidrolizado de biomasa se ajusta a una temperatura seleccionada del intervalo de 50 a 95 °C.
- 25 8.- Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que al menos parte de la fracción ácida separada se añade al hidrolizado de biomasa hasta que el pH de la fase líquida separada se ajusta a un pH seleccionado del intervalo de pH 1,5 a 4,5.
- 9.- Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la biomasa es una biomasa de lignocelulosa.
- 30 10.- Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que a la electrodiálisis que emplea al menos una membrana bipolar le sigue una desionización capacitiva de membrana o una cromatografía de intercambio iónico.

Figura 1

