



## TÍTULO DE PATENTE No. 372510

**Titular(es):** UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

**Domicilio:** Lascurain de Retana No. 5, Colonia Centro, 36000, Guanajuato, Guanajuato, MÉXICO

**Denominación:** PROCESO DE LAVADO DE MASA LIGNOCELULÓSICA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN.

**Clasificación:** CIP: C12P7/10; C12P7/08  
CPC: C12P7/10; C12P7/08

**Inventor(es):** HÉCTOR HERNÁNDEZ ESCOTO; KARLA YADIRA CERVANTES QUINTERO; JAVIER ULISES HERNÁNDEZ BELTRÁN; ARACELI JACOBO AZUARA

### SOLICITUD

**Número:**  
MX/a/2016/002079

**Fecha de Presentación:**  
16 de Febrero de 2016

**Hora:**  
15:01

**Vigencia:** Veinte años

**Fecha de Vencimiento:** 16 de febrero de 2036

**Fecha de Expedición:** 12 de febrero de 2020

La patente de referencia se otorga con fundamento en los artículos 1º, 2º fracción V, 6º fracción III, y 59 de la Ley de la Propiedad Industrial.

De conformidad con el artículo 23 de la Ley de la Propiedad Industrial, la presente patente tiene una vigencia de veinte años improrrogables, contada a partir de la fecha de presentación de la solicitud y estará sujeta al pago de la tarifa para mantener vigentes los derechos.

Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en lo dispuesto por los artículos 6º fracción III, 7º BIS 2 y 59 de la Ley de la Propiedad Industrial; artículos 1º, 3º fracción V inciso a), sub inciso ii), 4º y 12º fracciones I y III del Reglamento del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial; artículos 1º, 3º, 4º, 5º fracción V inciso a), sub inciso ii), 16 fracciones I y III y 30 del Estatuto Orgánico del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial; 1º, 3º y 5º inciso a) y antepenúltimo párrafo, del Acuerdo que delega facultades en los Directores Generales Adjuntos, Coordinador, Directores Divisionales, Titulares de las Oficinas Regionales, Subdirectores Divisionales, Coordinadores Departamentales y otros subalternos del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial.

El presente oficio se signa con firma electrónica avanzada (FIEL), con fundamento en los artículos 7 BIS 2 de la Ley de la Propiedad Industrial; 3o de su Reglamento, y 1 fracción III, 2 fracción V, 26 BIS y 26 TER del Acuerdo por el que se establecen los lineamientos para el uso del Portal de Pagos y Servicios Electrónicos (PASE) del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial, en los trámites que se indican.

### SUBDIRECTORA DIVISIONAL DE EXAMEN DE FONDO DE PATENTES ÁREAS BIOTECNOLÓGICA, FARMACÉUTICA Y QUÍMICA

#### EMELIA HERNÁNDEZ PRIEGO



Cadena Original:  
EMELIA HERNANDEZ PRIEGO|00001000000405397295|Servicio de Administración Tributaria|56||MX/2020/27072|MX/a/2016/002079|Título de patente normal|1027|RGZ|Pág(s) 1|OjcapAbZvzsAT1uogLSqbu41ml=

Sello Digital:  
JJfSLHoXv+HtHn4icqeiln9sFmzefQN1DTsgRDMCpR51eF2NFefX58WkaD+yPzUWTJjnh2quRjKVBZ0ytwBCjLRYcG glw/pQ9iZTne5jRcGzIzSGceWpbqTGLJWusoYVPDEgiO/Fi5v/AN6kBWb62mENUjpyZZZmbddy5jZlbeVe7DdNK8Z Z5+J6pKO/Lkd9XKnWZ+PICfZkaiutZhavJVAB3o7Zcpl/8MB8YEmp3Q/ptDxmG0xGUCInFSO1EN8PW1fjVc+y2g SCvsaZS8VpISs+rmZt2toSnkYi51IHACsY1tK9XsFuGmqgm/M2rH2W+mmPpS35VhHKcMMByQ==



MX/2020/27072

## **PROCESO DE LAVADO DE MASA LIGNOCELULÓSICA PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL DE SEGUNDA GENERACIÓN**

### **OBJETO DE LA INVENCION**

5

En un marco de producción de bioetanol de segunda generación, el objeto de la invención es el lavado rápido y de pérdida reducida de residuo agroindustrial pre-tratado por medio ácido o alcalino, para la adecuación rápida de pH en la etapa de hidrólisis enzimáticas y la potencial eliminación de inhibidores (p.ej. componentes ácidos o alcalinos y furfurales) del proceso de fermentación.

10

### **ANTECEDENTES**

La producción de materiales de desperdicio es una parte innegable de la sociedad humana, es por ello que se ha propuesto políticas de aprovechamiento de desechos sólidos para promover un mayor desarrollo sustentable. Se han generado ciertas directivas para reducir la generación de desechos y promover la recuperación de estos de acuerdo a la “Jerarquía del manejo de desechos” (Taherzadeh y Karim, 2008) el cual es un proceso empleado para proteger el medio ambiente al reducir, reusar, reciclar y recobrar energía de los de los desechos.

15

20

El bioetanol es uno de los combustibles renovables más importantes en términos de su valor en el mercado, el cual es un producto de biomasa conocida como “de primera, segunda y tercera generación” (Naik et al., 2010). En la actualidad, la investigación se está enfocando al etanol como producto de materiales conocidos como “de segunda generación”, que son principalmente biomasa compuesta por materia lignocelulósica; es decir, de celulosa, hemicelulosa, lignina, extractos y materiales inorgánicos. El atractivo de este tipo de biomasa es que se encuentra como desecho agroindustrial, implicando un menor costo en su obtención.

25

En la cadena de procesamiento del material lignocelulósico para producir etanol se tiene una primer etapa de pretratamiento, la cual tiene como propósito cambiar las propiedades la

30



lignina (romperla y/o eliminarla) para poder hacer aprovechable la celulosa y la hemicelulosa. Este pre-tratamiento puede llevarse a cabo por diferentes procesos; uno de los más utilizados consiste en la utilización de ácido sulfúrico, y otro se basa en la utilización de sosa y agua oxigenada (Taherzadeh y Karim, 2008). En cualquiera de los dos  
5 casos, la biomasa resultante queda impregnada con componentes ácidos o componentes alcalinos, respectivamente, que hacen que su pH (casi de cero en el primer caso, y de 10 para el segundo caso) sea un obstáculo para la aplicación directa de la biomasa en el siguiente paso de procesamiento para producir etanol. Este paso es conocido como de “hidrólisis enzimática”, en el cual, bajo la acción de un complejo enzimático, la celulosa y  
10 hemicelulosa es convertida a azúcares fermentables. Aún más, otra de las desventajas de dichos pre-tratamientos químicos corresponde a la formación de diferentes tipos de inhibidores como ácidos carboxílicos, furanos y compuestos fenólicos (Rajan y Carrier., 2014)

En la práctica de los estudios a nivel laboratorio de producción de etanol a partir de paja, se  
15 reporta que entre la etapa de pre-tratamiento y la hidrólisis enzimática se lleva a cabo un lavado de la paja (Troquero y Bolado, 2014; Rayan y Carrier, 2014). De forma precisa no se describe el procedimiento; sin embargo, en ellos se entiende la utilización de un recipiente en donde se mezcla la paja con agua. Este sistema implica el realizar múltiples repeticiones de mezclado de la paja con agua, lo cual conlleva a la utilización de una gran  
20 cantidad de agua y una alta actividad operativa por parte de los experimentadores, y más aún, se tiene una gran pérdida de paja ya que las partículas de menor tamaño se van entre lote y lote de lavado, aún con el uso de filtros.

25 Taherzadeh, M. J., Karimi, K., 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 9, 1621-1651.

Toquero, C., Bolado, S., 2014. Effect of four pretreatments on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation of wheat straw. Influence of inhibitors and washing. *Bioresource Technology*, 157, 68-76.

30 Rajan, K., Carrier, D. J., 2014. Effect of dilute acid pretreatment conditions and washing on the production of inhibitors and on recovery of sugars during wheat straw enzymatic hydrolysis. *Biomass and Bioenergy*, 62, 222-227.

Naik, S. N., Goud, V. V., Rout, P. K., Dalai, A. K., 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 578-597.

## PROBLEMA TÉCNICO A RESOLVER

5

Con la presente invención se reduce: el tiempo de lavado, la pérdida de biomasa y la actividad operativa al lavar la masa lignocelulósica pre-tratada (con agentes ácidos o alcalinos) que se usará posteriormente en la etapa de fermentación de la producción de bioetanol de segunda generación.

10

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

**Figura 1.** Se muestra de manera esquemática el proceso de lavado en el cual se empaqueta el residuo agroindustrial pre-tratado en una columna, por la parte inferior de la misma se suministra agua destilada con la ayuda de una bomba para lavar el material empacado, para finalmente colectar el agua residual en un contenedor y neutralizarla.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

20 La producción de bioetanol de segunda generación consiste de 4 etapas principales: el pre-tratamiento del material lignocelulósico (por ejemplo: paja de trigo, de sorgo o de maíz), la hidrólisis enzimática del mismo, la fermentación del hidrolizado y finalmente la obtención del producto puro. En la etapa del pre-tratamiento se utilizan principalmente un medio ácido o alcalino para romper la pared de lignina. En la de hidrólisis enzimática se aplica un  
25 complejo enzimático para convertir la celulosa y hemicelulosa en azúcares reductores. En el proceso de fermentación se convierten los azúcares reductores a alcohol. Para que el complejo enzimático, en la segunda etapa, muestre su mejor desempeño, el pH del medio debe de estar entre 4 y 6, y la paja resultante del pre-tratamiento tiene un pH muy bajo o  
30 lavar y/o ajustar el pH de la paja pre-tratada para poderla introducir a la segunda etapa. Por



otra parte, otros componentes secundarios se producen en la primera etapa de pre-tratamiento, como son los mismos ácidos o furfurales; estos componente son inhibidores de levaduras utilizadas en el proceso de fermentación; por lo tanto, también es conveniente retirar dichos componentes de la paja pre-tratada.

- 5 En la presente invención se protege el proceso de lavado de residuo agroindustrial pre-tratado por medio de una columna de cama empacada, a través de la cual se le hace pasar continuamente agua.

El proceso de lavado comienza cuándo el material agroindustrial pre-tratado, ya sea con ácido o álcali, se empaca en las 3 secciones/camas de una columna de acero inoxidable; una vez empacado, desde la parte inferior se inyecta agua continuamente por medio de una  
10 manguera; a través de una bomba se asegura un flujo constante desde la parte inferior hasta la parte superior de la columna donde se conecta otra manguera para recolectar el efluente del lavado en un recipiente. El efluente de lavado posteriormente se neutraliza.

- 15 La producción de bioetanol de segunda generación se describe en los siguientes pasos, partiendo del residuo agroindustrial pre-tratado

1. Empacado de la masa lignocelulósica pre-tratada en una columna de acero inoxidable con varias camas de empaque que evitan una caída de presión considerable, o lo que es lo mismo, un potencial taponamiento de la columna.

- 20 2. Lavado del material por bombeo de agua destilada desde la parte inferior de la columna hasta la parte superior de la misma a una velocidad de entre 50 y 100 mL/min, logrando el lavado en un tiempo entre 50 minutos y 2 hrs, empleando desde 2.5 y 12 L de agua destilada. Lavando desde 7.29 g de paja seca/ L de agua destilada hasta 8.77 g de paja  
25 seca/L de agua destilada. Todo esto es llevado a cabo en un rango de temperatura entre 20 y 30 °C.

3. Recolección del líquido del lavado en un recipiente

4. Neutralización del líquido de lavado.

5. Uso de masa lignocelulósica para hidrólisis enzimática

6. Uso del hidrolizado en una fermentación con una cepa de *Saccharomyces cerevisiae*.

- 30 7. Destilación del fermentado para obtención de etanol.



Con este proceso de lavado se logra obtener un material lignocelulósico pre-tratado con un pH de 4 en un intervalo de tiempo de 50 minutos a 2 horas, con una mínima pérdida de material lignocelulósico, además de que se están eliminando inhibidores de la fermentación, todo ello en conjunto favorece el proceso de producción de bioetanol disminuyendo el consumo de energía al llevarse a cabo de manera rápida, e incluso incrementando los rendimientos de producción.

Por otro lado con el material lignocelulósico pre-tratado lavado se realiza un rápido ajuste de pH antes de iniciar un proceso de hidrólisis enzimática en comparación con el ajuste de pH con masa lignocelulósica pre-tratada no lavada.

Posteriormente se probó la masa lignocelulósica no lavada y lavada (Paja de trigo) en una hidrólisis enzimática por un tiempo de 8 horas en un reactor de 2L de estos experimentos se observó que con la masa lignocelulósica no lavada se tiene un rendimiento de 42.73 g de glucosa/ g de celulosa o 51.60 g de glucosa/ g de holocelulosa, mientras que el rendimiento obtenido con la masa lignocelulósica lavada es de 56.62 g de glucosa/ g de celulosa o 59.21 g de glucosa/ g de holocelulosa, con estos resultados podemos observar la mejora del proceso reduciendo tiempo y pérdida e incrementando el rendimiento en la etapa de hidrólisis enzimática.

## EJEMPLOS

20

**Ejemplo 1.** Se empacaron 219 g de paja de trigo pre-tratada, con una humedad de 77.35 %, con un peso seco de 49.6 g repartidas en 3 camas de la columna, comenzando con un pH de 1.74 y concluyendo con un pH de 4.22; el proceso concluyó a las 2 horas, empleando un volumen de agua destilada de 6.8 L que se hizo pasar con un flujo de 60 mL/min.

25

**Ejemplo 2.** Se empacaron 225g de paja de trigo pre-tratada, con una humedad de 77.35 %, que corresponde a un peso seco de 50.96 g que se repartió en 3 compartimentos de la columna. El lavado comenzó con un pH de 1.55 y concluyó con un pH de 4.17 a los 50 minutos empleando un flujo de alrededor de 130 mL/min; se usaron 6.5 L de agua destilada.

30



**Ejemplo 3.** Se empacaron 213 g de paja húmeda pre-tratada con un peso seco aproximado de 48.24 g repartida en los 3 compartimentos de la columna. En un tiempo de 1 hora con 52 min se hizo el lavado de paja comenzando con un pH de 1.67 y concluyó con un pH de 4.09, empleando 5.5 L de agua destilada a un flujo de alrededor de 55 mL/min.

**Ejemplo 4.** Se empacaron 213 g de paja pre - tratada, con una humedad de 77.35%, que corresponde a un peso de 48.24 g de paja seca, repartida en 3 compartimentos de la columna. El lavado se hizo con un volumen total de 5.6 L de agua destilada en un tiempo de 1 hora 40 minutos, comenzando con un pH de 1.70 y finalizando con un pH de 4.03 con un flujo entre 60 mL/min y 70mL /min.

**Ejemplo 5.** Para comprobar la efectividad del lavado se llevaron a cabo dos hidrólisis al 5% w/v de paja no lavada y otra de paja lavada del mismo lote en un reactor de 2 L.

**Paja pre-tratada lavada:** Una vez que la paja pre-tratada con ácido fue lavada en la columna se midió su humedad siendo de 86.45 %, se pesó la cantidad correspondiente al 5% w/v y se añadieron 1362 mL de agua destilada en un reactor de tanque agitado de 2L; cuando la suspensión de sustrato se mantuvo a una temperatura de 45 °C y un pH de 4.34 constantes se añadió el 1.5 % v/v de enzima Ctec2-Novozyme®, y se mantuvo la reacción durante 8 horas tomando muestra periódicamente. Al finalizar se realizó la medición de glucosa en el equipo YSI2700 y se calculó el rendimiento resultando lo siguiente 56.62 g de glucosa/ g de celulosa o 59.21 g de glucosa/ g de holocelulosa.

**Paja pre-tratada no lavada:** Se midió humedad de 84.55 % a la paja no lavada pre-tratada con ácido, se pesó lo correspondiente al 5% w/v y se midió un volumen de agua de 1452.75 mL. El pH de la suspensión se ajustó con el mismo volumen en un vaso de 2 L empleando agitación mecánica ajustando el pH con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 % v/v, una vez que se llevó a un pH 4.34 la suspensión completa se vertió en el reactor de 2 L, una vez que la temperatura (45 °C) y el pH (4.34) se mantuvieron constantes se añadió 1.5 % v/v de enzima Ctec2-Novozyme®, la reacción se mantuvo durante 8 horas tomando muestras periódicamente al finalizar se realizó la medición de glucosa en el equipo YSI2700 y se calculó el rendimiento

7

resultando lo siguiente 42.73 g de glucosa/g de celulosa o 51.60 g de glucosa/g de holocelulosa.

5

## REIVINDICACIONES

1. Proceso de lavado de masa lignocelulósica pre-tratada en columna de cama empacada para la producción de bioetanol de segunda generación, caracterizado por los siguientes pasos:
  - a. Empacado de masa lignocélulosica pretratada en una columna de cama empacada de varias secciones.
  - b. Bombeo de agua destilada desde la parte inferior de la columna con un flujo entre 50 y 100 mL/min, en un tiempo de 50 minutos a 2 horas a temperatura entre 20 y 30°C.
  - c. Recolección y neutralización del efluente de lavado.
  - d. Transferencia directa de masa lignocelulósica pre-tratada lavada al equipo donde se llevará a cabo la hidrólisis enzimática.
2. El proceso descrito en la reivindicación 1, en donde el pH final del afluyente es entre 4 y 4.2
3. El proceso de lavado de masa lignocelulósica pre-tratada de acuerdo a la reivindicación 1 en donde la masa lignocelulósica es paja de trigo.

**RESUMEN**

Se desea patentar el proceso de lavado de cualquier masa lignocelulósica pre-tratada a través de una columna de cama empacada de acero inoxidable a temperatura ambiente, haciendo pasar el agua destilada desde la parte inferior hasta la parte superior de la columna con una velocidad de flujo que va desde 50 mL/min hasta 100 mL/min dependiendo de la acidez o alcalinidad de la misma con volúmenes de agua que van 5.0 – 7.0 L para llevar el pH del residuo desde 4.0 hasta 4.2, en un tiempo de 50 minutos hasta 120 minutos.

FIGURAS

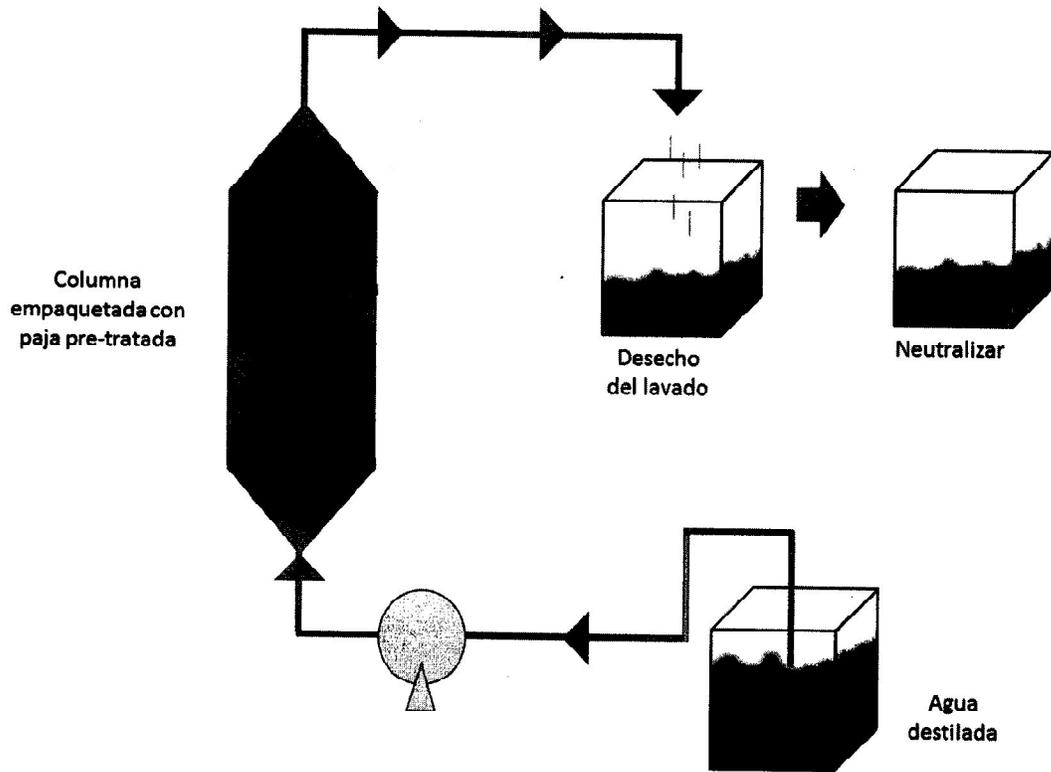


Figura 1