



TÍTULO DE PATENTE NO. 325040

Titular(es): CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO, A.C.

Domicilio: Av. Normalistas No. 800, Col. Colinas de la Normal, 44270, Guadalajara, Jalisco, MÉXICO

Denominación: PROCESO DE PRODUCCIÓN DE XILITOL A PARTIR DE HIDRÓLIZADOS LIGNOCELULÓSICOS MEDIANTE FERMENTACIONES SECUENCIADAS UTILIZANDO LEVADURAS DEL GÉNERO Candida.

Clasificación: Int.Cl.8: C12P7/10; C12P7/12

Inventor(es): JAVIER PLACIDO ARRIZON GAVIÑO; MARIA GUADALUPE AGUILAR USCANGA; JUAN CARLOS MATEOS DIAZ; GEORGINA CORAL SANDOVAL FABIAN

SOLICITUD

Número:	Fecha de presentación:	Hora:
MX/a/2007/014257	7 de enero de 2013	14:56

PRIORIDAD

País:	Fecha:	Número:
--------------	---------------	----------------

Vigencia: Veinte años

Fecha de Vencimiento: 7 de enero de 2033

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 fracciones III y 7º bis 2 de la Ley de la Propiedad Industrial (Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) 27/06/1991, reformada el 02/08/1994, 25/10/1996, 26/12/1997, 17/05/1999, 26/01/2004, 16/06/2005, 25/01/2006, 06/05/2009, 06/01/2010, 18/06/2010, 23/06/2010, 27/04/2012 y 09/04/2012); artículos 1º, 3º fracción V inciso a), sub inciso iii) 4º y 12º fracciones I y III del Reglamento del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 14/12/1999, reformado el 01/07/2002, 15/07/2004, 28/07/2004 y 7/09/2007); artículos 1º, 3º, 4º, 5º fracción V inciso a), sub inciso iii), 16 fracciones I y III y 30 del Estatuto Orgánico del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 27/12/1999, reformado el 10/10/2002, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007); 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. (D.O.F. 15/12/1999, reformado el 04/02/2000, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007).

Fecha de expedición: 13 de octubre de 2014

**SUBDIRECTOR DIVISIONAL DE EXAMEN DE FONDO DE PATENTES, ÁREAS
MECÁNICA, ELÉCTRICA Y DE REGISTROS DE DISEÑOS INDUSTRIALES Y
MODELOS DE UTILIDAD**

PEDRO DAVID FRAGOSO LÓPEZ



323040



- 1 -

"PROCESO DE PRODUCCIÓN DE XILITOL A PARTIR DE HIDRÓLIZADOS LIGNOCELULÓSICOS MEDIANTE FERMENTACIONES SECUENCIADAS

UTILIZANDO LEVADURAS DEL GÉNERO *Candida*"

5

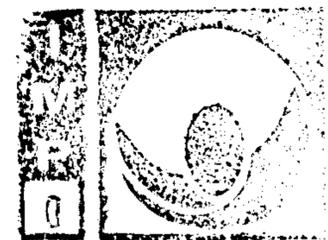
CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al uso de hidrolizados de materiales lignocelulósicos de
provenientes cualquier fuente vegetal, como por ejemplo residuos de la industria de la
caña, de la industria del tequila, de la industria cafetalera, de la industria de elaboración
de jugos de frutas, de la industria del procesamiento del maíz, así como de la industria
10 del procesamiento de la madera, los cuales pueden ser usados como fuentes de glucosa
y xilosa para la producción de etanol y xilitol, utilizando microorganismos tolerantes a
ácido acético, furfural y compuestos fenólicos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 Las tecnologías de aprovechamiento de los materiales lignocelulósicos para la
producción de metabolitos de interés comercial como etanol y xilitol, utilizan
primeramente una hidrólisis para romper los polímeros de celulosa y hemicelulosa
unidos a lignina en sus respectivos monosacáridos, esta hidrólisis puede ser química,
térmica o la combinación de ambas enzimática o la combinación de tratamientos
20 térmicos y enzimáticos (Lee 1997).

Una vez que se obtienen los hidrolizados, los azúcares libres como glucosa y xilosa, los
cuales son los principales componentes de la célula y la hemicelulosa
respectivamente, pueden ser transformados a etanol y xilitol por fermentación. Para este
fin se han utilizados diferentes materiales lignocelulósicos como madera, madera suave
25 de pino, madera dura de spruce y otros pinos, robles, eucalipto, maple, plantas y sus
constituyentes, residuos de trigo, avena, centeno, arroz, residuos de la industria de la



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

de pino, madera dura de spruce y otros pinos, robles, eucalipto, maple, plantas y sus
constituyentes, residuos de trigo, avena, centeno, arroz, residuos de la industria de la
caña de azúcar, cáscaras de nueces, cáscaras de almendras, residuos del
aprovechamiento del coco, residuos del aprovechamiento del algodón, residuos de la
5 industria papelera y papel (US 7109005 B2).

A pesar de que existe una gran diversidad de residuos agroindustriales los cuales se
pueden emplear como fuentes potenciales de azúcares para la producción de
metabolitos, uno de los principales obstáculos para la obtención de productos por
fermentación a partir de los hidrolizados de estos residuos es la presencia de inhibidores
10 de la fermentación, tales como ácido acético, furfural y compuestos fenólicos.

Por lo que en la mayoría de los trabajos realizados para obtención de etanol y xilitol a
partir de hidrolizados de materiales lignocelulósicos utilizan un proceso de detoxificación
(Santos et al, 2003; Gurgel et al, 1998; Sreenivas-Rao et al, 2005; Felipe et al, 1997;
Carvahlo et al, 2004, Carballo et al, 2005; Silva et al, 2005; Mussato and Roberto 2004,
15 De fevari et al 2004, Maciel de Mancilha and Karim 2003; parajo et al 1996), lo cual tiene
la desventaja de encarecer el proceso.

Debido a lo anterior, la utilización de microorganismos los cuales presenten tolerancia a
los compuestos tóxicos de los hidrolizados de materiales lignocelulósicos hace más
eficiente y rentable el proceso de obtención de xilitol y etanol.

20 En la patente US 7109005 B2 se refieren a la producción simultanea de etanol y xilitol en
un mismo proceso de fermentación en tres formas principales: (i) ya sea fermentando
glucosa y xilosa de manera simultanea, teniendo como desventaja la desviación
metabólica en la conversión de xilosa a xilitol por la preferencia de los microorganismos
de utilizar glucosa como fuente de carbono, independientemente de que la fermentación



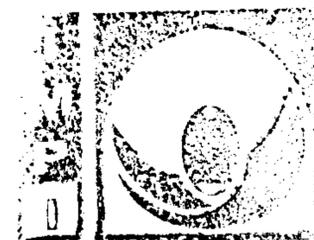
Industria
Azucarera
Mexicana

3

se realice con uno o más de dos tipos microorganismos, (ii) separando previamente la glucosa y la xilosa y su posterior fermentación, teniendo como desventaja el encarecimiento del proceso de producción de bioetanol y xilitol por el proceso de separación tanto de glucosa como de la xilosa, (iii) separando ambos azúcares y
5 convirtiendo glucosa a etanol por fermentación y la xilosa a xilitol por catálisis y por fermentación, una vez más con la desventaja del encarecimiento por el proceso de separación de glucosa y xilosa incrementándose aún más el costo del proceso en el caso de que la xilosa se convierta a xilitol por catálisis.

Ya sea por catálisis química la cual consiste en hidrogenar a altas presiones, lo cual
10 requiere que la xilosa tenga un alto grado de pureza para no desviar la reacción química, o ya sea por catálisis bioquímica, lo cual requiere utilizar co-factores demasiado caros como el NADH o NADPH además de la utilización de la enzima xilosa-reductasa la cual es poco comercializada, en el caso de utilizar reacciones enzimáticas acopladas se puede prescindir del uso de cofactores ya que estos se regeneran, sin embargo se
15 requiere la utilización de más enzimas, el proceso es difícil de controlar y se requiere una posterior purificación de otros metabolitos diferentes del xilitol, lo cual se traduce en incremento de costos en el proceso.

En la patente US 7109005 se comenta que se puede o no realizar la fermentación sin necesidad de la detoxificación, en el caso de que no se requiera la detoxificación
20 comentan que se puede realizar mediante el empleo de "microorganismos especiales", sin embargo no se especifican que tipo de microorganismos en particular presentan esta característica de tolerancia a los compuestos tóxicos así como bajo que condiciones pueden realizar la fermentación en presencia de los inhibidores, por lo que el término "microorganismos especiales" resulta ambiguo y carente de suficiente información.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

4

En esta misma patente (US 7109005 B2) los ejemplos de producción de etanol y xilitol utilizan residuos lignocelulósicos muy parecidos, ya que la mayoría provienen de residuos de diferentes maderas o residuos de la elaboración de papel. Sin embargo, existen otros residuos agroindustriales como bagazo de caña, bagazo de agave y cascarilla de café, los cuales difieren en composición y pueden presentar diferentes tipos de inhibidores así como de niveles de concentración de los mismos, en los cuales no se ha evaluado la producción de etanol y xilitol bajo las condiciones descritas en la patente US 7109005 B2.

La presente patente se refiere a la obtención de bioetanol y xilitol por fermentaciones secuenciadas y no simultanea como el caso de la patente US 7109005, para esto primeramente se realiza la hidrólisis de los materiales lignocelulósicos. Una vez obtenidos los hidrólizados se les agrega nutrientes y se realiza la primer fermentación, la cual consiste en utilizar un levadura *Saccharomyces* tolerante a ácido acético, compuestos fenólicos y furfural, por lo que no se necesita un proceso de detoxificación, lo cual representa una ventaja tecnológica, durante esta etapa se consume glucosa produciendo etanol y se enriquece el medio con xilosa, con lo cual se evita el utilizar un proceso de separación de glucosa y xilosa así como las posibles desviaciones metabólicas ya que *Saccharomyces* no puede asimilar xilosa.

Una vez agotada la glucosa se separa el etanol y el mosto se fermenta por segunda vez con una levadura del genero *Candida* tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos, por lo que no es necesaria la detoxificación y esta levadura hace la conversión directa de xilosa a xilitol debido a que no hay desviaciones metabólicas causadas por glucosa. A continuación se describe con detalle la invención.

2013
2013-10-26



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

5

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los detalles característicos de esta invención, que se refieren a un proceso para producir etanol y xilitol a partir de hidrolizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas, así como las etapas del mismo y ejemplos de su aplicación sobre hidrolizados de bagazo de caña, bagazo de agave y cascarilla de café, se muestran claramente en la siguiente descripción y en las figuras que se acompañan.

La figura 1 es una grafica que representa de manera esquemática el proceso de producción de etanol y xilitol a partir de hidrolizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas.

La figura 2a es una gráfica donde se representa el consumo de glucosa de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos durante la producción de etanol.

La figura 2b es una gráfica donde se representa la producción de etanol con la cepa *Saccharomyces cerevisiae* tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos.

La figura 2c es una gráfica donde se representa el crecimiento celular de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos durante la producción de etanol.

La figura 2d es una gráfica donde se representa la producción de glicerol de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos durante la producción de etanol.

La figura 3a es una gráfica donde se representa el consumo de xilosa de la cepa *Candida* sp tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos durante la producción de xilitol.



6

La figura 3b es una gráfica donde se representa la producción de xilitol con la cepa *Candida* sp tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos.

La figura 3c es una gráfica donde se representa el crecimiento celular de la cepa *Candida* sp tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos durante la producción de xilitol.

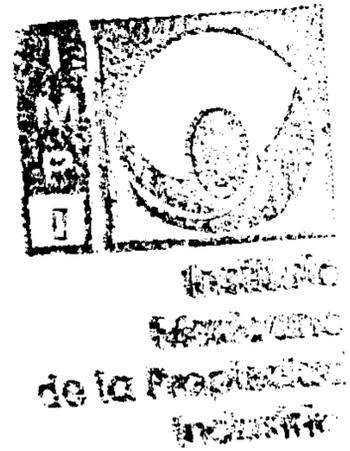
La figura 3d es una gráfica donde se representa la producción de glicerol de la cepa *Candida* sp tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos durante la producción de xilitol.

Para incrementar la eficiencia del pretratamiento térmico sobre los diferentes residuos lignocelulósicos es necesario que estos no estén contaminados con tierra o polvo, o que presenten degradación biológica.

El proceso para obtener bioetanol y xilitol a partir de la glucosa y xilosa contenida en los hidrolizados de materiales lignocelulósicos consta de 13 etapas, las cuales se describen a continuación.

15 Molienda:

La molienda se realiza con los molinos más comunes para este tipo de materiales y se aplica sobre cualquier material lignocelulósico como por ejemplo residuos de la industria de la caña, de la industria del tequila, de la industria cafetalera, de la industria de elaboración de jugos de frutas, de la industria del procesamiento del maíz, así como de la industria del procesamiento de la madera, hasta alcanzar un tamaño de partícula desde 0.05 hasta 2.5 mm de diámetro. La molienda se realiza para incrementar el área de transferencia de las partículas, con lo cual se favorece el efecto del pretratamiento térmico posterior sobre la estructura lignocelulósica. Al producto de esta etapa se le denominará **“material molido”**.

**Lavado:**

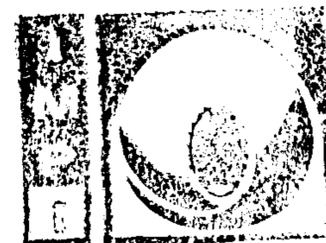
5 El “material molido” de la etapa anterior se lava mezclándolo con agua corriente y limpia en recipientes de cualquier material no oxidable y agitándolo manualmente, posteriormente el “material molido” se filtra con cualquier material filtrante no oxidable, una vez filtrado se vuelve a lavar hasta que el agua filtrada quede limpia. El lavado se realiza con la finalidad de remover todas las impurezas para evitar su interferencia en las posteriores reacciones enzimáticas. Al producto de esta etapa se le denominará **“material lavado”**.

Secado:

10 El “material lavado” se seca colocándolo en hornos rotatorios o de charolas o cualquier otro horno en un rango de temperatura que va de 40 hasta 70 °C hasta obtener un porcentaje de humedad de 0 a 20 %, con la finalidad de evitar su degradación por hongos. El producto de esta etapa se le denominará **“material secado”**.

15 Impregnación de ácido:

20 Al “material secado” se le adiciona ácido y se pueden emplear los ácidos HCl, HF, HNO₃, H₂SO₄, H₃PO₄, usando preferentemente H₂SO₄. El ácido se mezcla en recipientes no oxidables con la ayuda de agitadores convencionales o manualmente hasta homogenizar la mezcla del “material secado” con el ácido. La adición de ácido se realiza en un rango que va desde 0.5 hasta 6 gramos por cada 100 gramos de “material secado”. La finalidad de la adición de ácido es favorecer la separación de las cadenas de celulosa y hemicelulosa de la lignina durante el pretratamiento térmico. El producto de esta etapa se denominará **“material acondicionado”**.



Pretratamiento térmico:

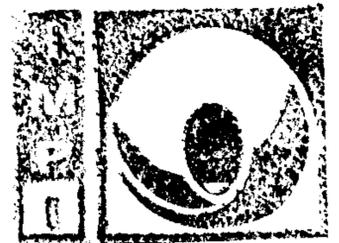
El "material acondicionado" se calienta con vapor a altas presiones en un rango de 100 a 250 ° C durante un lapso de 3 a 12 minutos y posteriormente se despresuriza en forma súbita (explosión de vapor). El objetivo del pretratamiento térmico es separar la celulosa y hemicelulosa, así como romper estos polímeros en cadenas más cortas, lo cual facilita el posterior ataque enzimático. El producto de esta etapa se denominará "**material pretratado**".

Preparación de la mezcla enzimática:

Se adicionan de 500 a 1500 ml de solución tampón (CH_3COOH 50 mM, pH de 4 a 6) por cada 100 gramos de "material pretratado" en recipientes no oxidables y se mezcla con la ayuda de agitadores convencionales, posteriormente a esta mezcla se le agregan 100 mililitros de solución tampón (CH_3COOH 50 mM, pH de 4 a 6) con un contenido de 1 a 10 gramos con una mezcla comercial de celulasas y hemicelulasas adecuada según la composición química del material lignocelulósico a hidrolizar. La finalidad de esta etapa es poner en contacto las enzimas con su sustrato. El producto de esta etapa se denominará "**mezcla hidrolítica**".

Hidrólisis enzimática:

La "mezcla hidrolítica" se incuba en un rango de temperatura que va desde 35 hasta 65 °C, con agitación constante en recipientes no oxidables con la ayuda de agitadores convencionales, de tal manera que la "mezcla hidrolítica" se encuentre homogénea, esta incubación se realiza durante un lapso que va de 100 a 450 horas. El objetivo de la etapa de hidrólisis enzimática es liberar los monosacáridos como glucosa, xilosa y arabinosa contenidos en la celulosa y



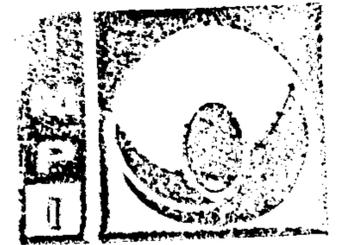
hemicelulosa del "material pretratado" de la etapa anterior, para su posterior transformación por fermentación en productos como etanol y xilitol. Al material resultante de esta hidrólisis se le denominará "**hidrolizado**".

Formulación del primer mosto:

- 5 El "hidrolizado" se ajusta por dilución a un rango de 30 a 60 g/l de glucosa y se le agregan nutrientes en función de la levadura a utilizar en la fermentación. Como fuente de nitrógeno se pueden emplear extracto de levadura, urea, $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$, $\text{K}(\text{NH}_3)_2\text{PO}_4$, $\text{K}_2\text{NH}_3\text{PO}_4$, $\text{Na}(\text{NH}_3)_2\text{PO}_4$, $\text{Na}_2\text{NH}_3\text{PO}_4$ ó $(\text{NH}_3)\text{NO}_3$, usando preferentemente urea, las fuentes de nitrógeno se agregan en un rango de 0.5 a
- 10 10 g/l. Como fuente de fosfato se puede emplear KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NaH_2PO_4 ó Na_2HPO_4 , usando preferentemente KH_2PO_4 o K_2HPO_4 , las fuentes de fosfato se agregan en un rango de 1 a 10 g/l. Como fuente de magnesio se emplea $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ó MgCl_2 en un rango de 0.015 a 0.35 g/l. Posteriormente el "hidrolizado" con nutrientes se ajusta a un pH en un rango que va de 4 a 6, el ajuste del pH
- 15 puede ser con los ácidos HCl , H_2SO_4 , H_3PO_4 , HNO_3 o con las bases KOH , NaOH , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaO según las condiciones de acidez o alcalinidad. La concentración a usar tanto de ácidos como de bases va de 0.1 a 4 N. La finalidad de ajustar solamente la concentración de glucosa en esta etapa con los nutrientes
- 20 añadidos es favorecer las condiciones de transformación de glucosa a etanol en la siguiente etapa, dejando disponible la xilosa para su posterior conversión a xilitol. El producto de esta etapa se denominará "**primer mosto**".

Primera fermentación:

El "primer mosto" se inocula preferentemente con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (JC-4) de la colección del Instituto Tecnológico de Veracruz,



10

caracterizada por ser tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos, ó con otras levaduras con similares características en un rango de 0.5 a 30×10^6 de células/ml. Una vez inoculada la levadura se realiza la fermentación en condiciones anaeróbicas en un rango de temperatura de 15 a 40 °C con una duración que puede ir de 8 horas a 72 horas. La razón de utilizar la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (JC-4) en la fermentación es porque es tolerante a compuestos tóxicos y solo consume la glucosa ya que no tiene la capacidad de asimilar xilosa. El producto de esta etapa se denominará **“primer mosto fermentado”**.

10 Separación de etanol:

El “primer mosto fermentado” se destila en un rango de 70 a 120 °C para la separación del etanol en destiladores convencionales. Este mismo proceso se puede aplicar en un rango de 40 a 85 °C con el uso de evaporadores convencionales con vacío. La separación del etanol del “mosto fermentado” se realiza para recuperar el primer producto del proceso, para enriquecer el medio con xilosa y para remover un inhibidor para las levaduras que convertirán posteriormente la xilosa a xilitol. El líquido remanente del “mosto fermentado” que ha sido destilado se le denominará **“primer mosto destilado”**.

Formulación del segundo mosto:

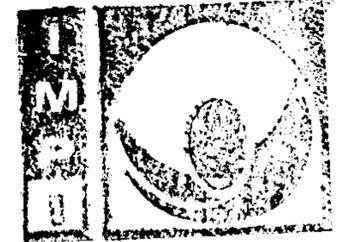
20 El “primer mosto destilado” se ajusta por dilución a un rango de 15 a 60 g/l de xilosa y se le agregan nutrientes en función de la levadura a utilizar en la fermentación. Como fuente de nitrógeno se pueden emplear extracto de levadura, urea, $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$, $\text{K}(\text{NH}_3)_2\text{PO}_4$, $\text{K}_2\text{NH}_3\text{PO}_4$, $\text{Na}(\text{NH}_3)_2\text{PO}_4$, $\text{Na}_2\text{NH}_3\text{PO}_4$ ó $(\text{NH}_3)\text{NO}_3$, usando preferentemente urea, las fuentes de nitrógeno se agregan en un rango



de 0.5 a 10 g/l. Como fuente de fosfato se puede emplear KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NaH_2PO_4 ó Na_2HPO_4 , usando preferentemente KH_2PO_4 o K_2HPO_4 , las fuentes de fosfato se agregan en un rango de 1 a 10 g/l. Como fuente de magnesio se emplea $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ó MgCl_2 en un rango de 0.015 a 0.35 g/l. Posteriormente el “hidrolizado” con nutrientes se ajusta a un pH en un rango que va de 4 a 6, el ajuste del pH puede ser con los ácidos HCl , H_2SO_4 , H_3PO_4 , HNO_3 o con las bases KOH , NaOH , $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaO según las condiciones de acidez o alcalinidad. La concentración a usar tanto de ácidos como de bases va de 0.1 a 4 N. La finalidad de ajustar solamente la concentración de xilosa en esta etapa con los nutrientes añadidos es favorecer las condiciones de transformación de xilosa a xilitol en la siguiente etapa. El producto de esta etapa se denominará “segundo mosto”.

Segunda fermentación:

El “segundo mosto” se inocula preferentemente con las levaduras *Candida* sp (IEC5) de la colección del Instituto Tecnológico de Veracruz, o con la levadura *Candida magnoliae* (OFF1) de la colección de CIATEJ, las cuales se caracterizan por ser tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos, ó con otras levaduras con similares características en un rango de 0.5 a 30 x 10⁶ de células/ml. Una vez inoculada la levadura se realiza la fermentación en condiciones de semianaerobiosis en reactores que pueden ir de 10 a 1000 litros con agitación realizada por agitadores de aspas en un rango de 100 a 1200 rpm con un flujo de aire u oxígeno estéril o no en un rango de 0.00001 a 10 m³/seg. La fermentación se realiza en un rango de temperatura que va de 15 a 40 °C con una duración que va de 24 a 240 horas. La razón de utilizar las levaduras



Candida sp (IEC5) O *Candida magnoliae* (OFF1) en la fermentación ~~es porque~~ ~~de la Propiedad~~ ~~Intelectual~~ son tolerantes a compuestos tóxicos y asimilan xilosa. El producto de esta etapa se denominará **“segundo mosto fermentado”**.

Separación del xilitol:

- 5 El “segundo mosto fermentado” se somete a filtración con membranas selectivas en equipos de filtración convencionales o se puede separarse por medio de cromatografía de líquidos preparativa en cromatografos industriales convencionales. La solución con xilitol después sometida a un proceso de cristalización con bajas temperaturas en cristalizadores convencionales. El
- 10 objetivo de esta etapa es recuperar el segundo producto del proceso.

Variantes del **“proceso de producción de etanol y xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas”**. Las siguientes variantes del proceso anteriormente referido pueden utilizarse para los microorganismos

15 empleados tanto en la producción de etanol como en la producción de xilitol.

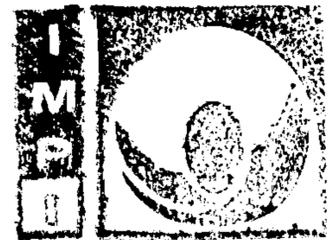
Molienda:

La molienda se realiza preferentemente con residuos de la industria de la caña, de la industria tequilera, de la industria cafetalera, de la industria de la elaboración de jugos de frutas, de la industria del procesamiento del maíz, así

20 como la industria del procesamiento de la madera, con un tamaño de partícula de 0.35 a 0.75 mm de diámetro.

Impregnación de ácido:

La impregnación de ácido se realiza preferentemente con H_2SO_4 en un rango de concentración de 1 a 3 gramos por cada 100 gramos de “material secado”.



Instituto
Mexicano
de la Presión
Arterial

Pretratamiento térmico:

El pretratamiento térmico se realiza con el “material secado” sin pasar por la etapa de impregnación de ácido.

5 Alternativamente el pretratamiento térmico se realiza preferentemente con el “material acondicionado” con un rango de temperatura de 150 a 190 °C por un lapso de 4 a 6 minutos con posterior despresurización súbita.

Preparación de la mezcla enzimática:

10 La mezcla enzimática se prepara preferentemente adicionando de 700 a 1100 ml de solución tampón (CH_3COOH 50 mM, pH 5) por cada 100 gramos de “material pretratado” y a esta mezcla se le agrega preferentemente 100 ml de una solución constituida por la adición de 2 a 6 gramos de la mezcla enzimática comercial Celluzyme en tampón (CH_3COOH 50 mM, pH 5).

Hidrólisis enzimática:

15 La hidrólisis enzimática se realiza poniendo a incubar la “mezcla hidrolítica” preferentemente de 45 a 55 °C durante un lapso de 250 a 350 horas.

Formulación del primer mosto:

20 La formulación del primer mosto se realiza preferentemente ajustando la glucosa del medio de 20 a 40 g/l y añadiendo urea de 2 a 4 g/l, KH_2PO_4 de 4 a 6 g/l, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ de 0.1 a 0.2 g/l y ajustando el pH de 4.5 a 5.5 con NaOH o HCl 1 N.

Primera fermentación:

La primera fermentación se realiza preferentemente inoculando la cepa *Saccharomyces cerevisiae* (JC-4) con una población de 4 a 10×10^6 células con un rango de temperatura de 25 a 35 °C.

Formulación del segundo mosto:

La formulación del segundo mosto se realiza preferentemente ajustando la glucosa del medio de 20 a 40 g/l y añadiendo extracto de levadura de 0.5 a 1.5 g/l, urea de 2 a 4 g/l, KH_2PO_4 de 4 a 6 g/l, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ de 0.1 a 0.2 g/l y ajustando el pH de 5 a 6 con NaOH o HCl 1 N.

Segunda fermentación:

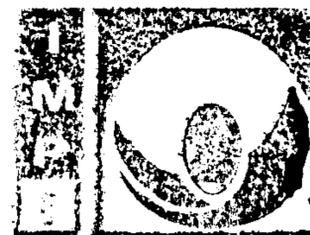
La segunda fermentación se realiza preferentemente inoculando la cepa *Candida* sp (IEC5) o la cepa *Candida magnoliae* (OFF1) con una población de 4 a 10×10^6 células con un rango de temperatura de 25 a 35 °C, con un flujo de aire de 0.1 a 1 m³/seg.

El proceso de producción de etanol y xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas presenta las siguientes ventajas:

- i) Contribuye a la disposición ecológica de residuos lignocelulósicos.
- ii) El empleo de levaduras tolerantes a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos reduce el costo de producción de etanol y xilitol en comparación con otros procesos biotecnológicos ya que no se necesita de un proceso de detoxificación.
- iii) El utilizar una fermentación previa para agotar la glucosa y enriquecer un mosto fermentable con xilosa para la producción de xilitol reduce costos al no utilizar un proceso industrial de separación de glucosa y xilosa.

EJEMPLOS DE APLICACIÓN DE LA INVENCION

Usar el **proceso de producción de etanol y xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas**, descrito en la presente

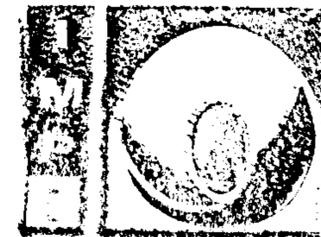


Instituto
Tecnológico
de Veracruz

15

invención, tiene un costo mucho menor a los otros métodos biotecnológicos ya que no emplea un proceso de detoxificación ni de separación de los azúcares.

5 Obtención de etanol en hidrólizados de bagazo de caña, bagazo de agave y cascarilla de café: Se obtuvieron primeramente mostos fermentables a partir de bagazo de caña, bagazo de agave y cascarilla de café de la siguiente manera, 500 gramos de cada residuo lignocelulósico fueron molidos y tamizados hasta obtener en promedio partículas de 0.55 mm de diámetro, posteriormente fueron lavados con agua corriente y secados en horno de charolas a 60 °C. Posteriormente se le agrego 2 g de ácido sulfúrico por cada 100 gramos de material molido, lavado y secado. Posteriormente se sometió a explosión con vapor (170 °C durante 5 minutos) el material pretratado fue después hidrolizado enzimáticamente de la siguiente manera: por cada gramo de residuo pretratado se adiciono 9 ml de solución tampón (CH₃COOH 50 mM, pH de 5) adicionándole 1 ml de solución enzimatica con 0.32 mg de Celluzyme/ ml de tampón (CH₃COOH 50 mM, pH de 5). La mezcla de material pretratado con enzimas se incubo a 50 °C por 348 horas a 200 rpm. Posteriormente el material hidrolizado se ajusto a 30 g/l de glucosa y se le agregaron los siguientes nutrientes urea (3 g/l), KH₂PO₄ (5 g/l), Mg(NO₃)₂·6H₂O (0.1538 g/l) y se ajusto a un pH de 5. Posteriormente se esterilizó y en este medio se realizó la fermentación inoculando 6 x 10⁶ de células/ml de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (JC-4) de la colección del Instituto Tecnológico de Veracruz, caracterizada por ser tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos. La fermentación se realizó a 30 °C durante 24 horas. En la figura 1 se puede observar como se consumió la glucosa, como se produjo etanol, como creció la levadura JC-4 y que tanto glicerol se produjo (un



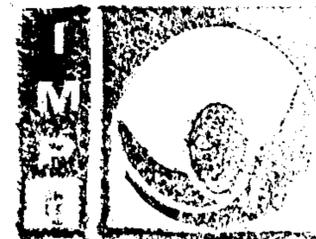
indicador de la desviación de glucosa hacia etanol), prácticamente la eficiencia fue mayor al 90 % en los tres hidrolizados.

Obtención de xilitol en hidrolizados de bagazo de caña, bagazo de agave y cascarilla de café: los mostos fermentados para la producción de etanol fueron destilados para eliminar el etanol y fueron ajustados hasta obtener una concentración de xilosa de 30 g/l, posteriormente se les agregaron los siguientes nutrientes: extracto de levadura (1 g/l), urea (3 g/l), KH_2PO_4 (5 g/l), $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.1538 g/l) y se ajustó a un pH de 5.5. Posteriormente se esterilizó y en este medio se realizó la fermentación inoculando 6×10^6 de células/ml de la levadura *Candida* sp (IEC5) de la colección del Instituto Tecnológico de Veracruz, caracterizada por ser tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos. La fermentación se realizó a 30 °C durante 96 horas a 100 rpm. En la figura 2 se puede observar como se consumió la xilosa, como se produjo xilitol, como creció la levadura IEC5 y que tanto glicerol se produjo (un indicador de la desviación de xilosa hacia xilitol). La eficiencia de producción fue mas alta en el hidrolizado de bagazo de caña, seguido del hidrolizado de bagazo de agave y la eficiencia mas baja se presento en cascarilla de café.

De acuerdo con el comportamiento observado se puede concluir que los microorganismos empleados producen etanol y xilitol con el proceso desarrollado y que los rendimientos en el caso del xilitol dependen del hidrólizado empleado.

DOCUMENTOS CITADOS

Lee, J. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. J Biotechnol 56, 1-24. (1997).



US 7109005 B2. Process for the simultaneous production of xylitol and ethanol. Sep 19 (2006).

Santos, J.C. *et al.* Xylitol production from sugarcane bagasse hydrolyzate in fluidized bed reactor. Effect of air flowrate. *Biotechnol Prog* 19, 1210-1215. (2003).

5 Gurgel, P.V. *et al.* Evaluation of sugarcane bagasse acid hydrolyzate treatments for xylitol production. *Braz J Chem Eng* 15, 1-6. (1998).

Sreenivas-Rao, T. *et al.* Xylitol production from corn fiber and sugarcane bagasse hydrolysates by *Candida tropicalis*. *Bioresource Tech* 97, 125-129. (2006)

Felipe, M.G.A. *et al.* Environmental parameters affecting xylitol production from
10 sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolyzate by *Candida guilliermondii*. *J Ind Microbiol Biotechnol* 18, 251-254. (1997).

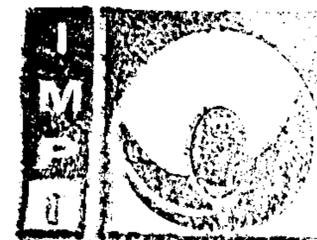
Carvalho, W. *et al.* A study on xylitol production from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate by Ca-alginate entrapped cells in a stirred tank reactor. *Process Biochem* 39, 2135-2141. (2004).

15 Carvalho, W. *et al.* Xylitol production from sugarcane bagasse hydrolysate metabolic behavior of *Candida guilliermondii* cells entrapped in Ca-alginate. *Biochem Eng J* 25, 25-31. (2005).

Silva, C.J.S.M. *et al.* Study of xylitol production by *Candida guilliermondii* on a bench bioreactor. *J Food Eng* 75(1): 115-119. (2006).

20 Mussatto, S.I. and Roberto I.C. Optimal experimental condition for hemicellulosic hydrolyzate treatment with activated charcoal for xylitol production. *Biotechnol prog* 20, 134-139. (2004).

De Faveri, D., Torre, P., Perego, P. and Converti, A. Statistical investigation on the effects of starting xylose concentration and oxygen mass flowrate on xylitol production



from rice straw hydrolysate by response surface methodology. *J Food Eng* 65, 383-389. (2004).

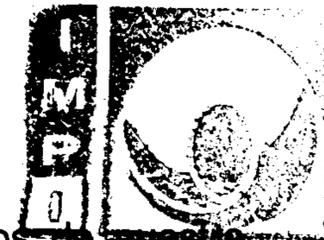
Maciel de Mancilha, I. and Karim, M.N. Evaluation of ion exchange resins for removal of inhibitory compounds from corn stover hydrolysate for xylitol fermentation. *Biotechnol Prog* 19, 1837-1841. (2003).

Parajó, J.C *et al* (1998) Biotechnological production of xylitol. Part 3: Operation in culture media made from lignocellulose hydrolysates. *Bioresour technol* 66, 25-40.

10

15

20



Después de haber descrito lo suficiente nuestra invención, consideramos de nuestra exclusiva propiedad lo contenido en las siguientes cláusulas:

1.- **"Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género *Candida*"**

que comprende las siguientes etapas:

- a) moler: moler el material lignocelulósico hasta alcanzar un tamaño de partícula de 0.05 – 2.5mm de diámetro, obteniéndose **"material molido"**;
- b) lavar: el "material molido" se lava mezclándolo con agua corriente y limpia en recipientes de cualquier materia no oxidable y agitándolo manualmente, se filtra con cualquier material filtrante no oxidable y se vuelve a lavar hasta que el agua filtrada quede limpia, obteniéndose **"material lavado"**;
- c) secar: el "material lavado" se seca a una temperatura de 40 – 70°C hasta obtener un porcentaje de humedad de 0-20%, obteniéndose **"material secado"**;
- d) impregnar de ácido: al "material secado" se le adiciona 0.5 – 6g de ácido, por cada 100g de material secado y se mezcla en recipientes no oxidables con la ayuda de agitadores convencionales o manualmente hasta homogenizar la mezcla del "material secado" con el ácido, obteniéndose **"material acondicionado"**;
- e) realizar pretratamiento térmico: el "material acondicionado" se calienta con vapor a altas presiones en un rango de 100 a 250 ° C durante un lapso de 3 a 12 minutos y posteriormente se despresuriza en forma súbita (explosión de vapor), obteniéndose **"material pretratado"**;

10

15

20

25



- f) preparar la mezcla enzimática: se adicionan de 500 a 1500 ml de solución tampón (CH_3COOH 50 mM, pH de 4 a 6) por cada 100 gramos de "material pretratado" en recipientes no oxidables y se mezcla con la ayuda de agitadores convencionales, posteriormente a esta mezcla se agregan 100 mililitros de solución tampón (CH_3COOH 50 mM, pH de 4 a 6) con un contenido de 1 a 10 gramos con una mezcla comercial de celulasas y hemicelulasas adecuada según la composición química del material lignocelulósico a hidrolizar, obteniéndose "mezcla hidrolítica";
- g) realizar hidrólisis enzimática: la "mezcla hidrolítica" se incuba a temperatura de 35 - 65°C, con agitación constante en recipientes no oxidables con la ayuda de agitadores convencionales, de tal manera que la "mezcla hidrolítica" se encuentre homogénea, esta incubación se realiza durante un lapso de 100 - 450 horas, obteniéndose "hidrolizado";
- h) formular el primer mosto: el "hidrolizado" se ajusta por dilución a un rango de 30 - 60 g/l de glucosa y se le agregan nutrientes en función de la levadura a utilizar en la fermentación:
- f) fuente de nitrógeno de 0.5 - 10g/l, que puede emplearse extracto de levadura, urea, $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$, $\text{K}(\text{NH}_3)_2\text{PO}_4$, $\text{K}_2\text{NH}_3\text{PO}_4$, $\text{Na}(\text{NH}_3)_2\text{PO}_4$, $\text{Na}_2\text{NH}_3\text{PO}_4$ ó $(\text{NH}_3)\text{NO}_3$, usando preferentemente urea;
 - f) fuente de fosfato de 1 - 10g/l, que puede emplearse KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NaH_2PO_4 ó Na_2HPO_4 , usando preferentemente KH_2PO_4 o K_2HPO_4 ;
 - f) fuente de magnesio de 0.015 - 0.35 g/l y se emplea $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ó MgCl_2 ;



el "hidrolizado" se ajusta a un pH de 4 – 6 usándose una concentración

ácidos y de bases que va de 0.1 – 4N, obteniéndose "primer mosto

i) realizar primera fermentación: el "primer mosto" se inocula preferentemente con una levadura *Saccharomyces cerevisiae* (JC-4) de la

5 colección del Instituto Tecnológico de Veracruz, caracterizada por ser tolerante a ácido acético, furfural y compuestos fenólicos o con otras levaduras con similares características en un rango de $0.5 - 30 \times 10^6$ de células/ml, una vez inoculada la levadura se realiza la fermentación en condiciones anaeróbicas en un rango de temperatura de 15 - 40 °C con una duración que puede ir de 8 -72 horas, obteniéndose "primer mosto fermentado";

10

j) separar etanol: el "primer mosto fermentado" se destila en un rango de 70 a 120 °C para la separación del etanol en destiladores convencionales obteniéndose "primer mosto destilado";

15

k) formular segundo mosto: el "primer mosto destilado" se ajusta por dilución a un rango de 15 a 60 g/l de xilosa y se le agregan nutrientes en función de la levadura:

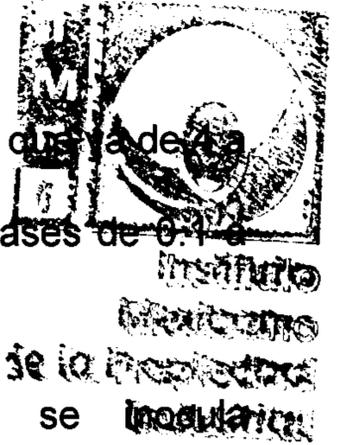
20

a. fuente de nitrógeno de 0.5 – 10g/l, que puede emplearse extracto de levadura, urea, $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$, $\text{K}(\text{NH}_3)_2\text{PO}_4$, $\text{K}_2\text{NH}_3\text{PO}_4$, $\text{Na}(\text{NH}_3)_2\text{PO}_4$, $\text{Na}_2\text{NH}_3\text{PO}_4$ ó $(\text{NH}_3)\text{NO}_3$, usando preferentemente urea;

b. fuente de fosfato de 1 – 10g/l, que puede emplearse KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NaH_2PO_4 ó Na_2HPO_4 , usando preferentemente KH_2PO_4 o K_2HPO_4 ;

25

c. fuente de magnesio de 0.015 – 0.35 g/l y se emplea $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ó MgCl_2 ;



el "hidrolizado" con nutrientes se ajusta a un pH en un rango que va de 4 a 6, usándose una concentración tanto de ácidos como de bases de 0.1 a 4N, obteniéndose "**segundo mosto**";

- 5 l) realizar segunda fermentación: El "segundo mosto" se inocula preferentemente con las levaduras Candida sp (IEC5) de la colección del Instituto Tecnológico de Veracruz, o con la levadura Candida magnoliae (OFF1) de la colección del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), las cuales se caracterizan por ser tolerantes a ácido acético, furfural y compuestos
- 10 fenólicos, ó con otras levaduras con similares características en un rango de 0.5 a 30×10^6 de células/ml, una vez inoculada la levadura se realiza la fermentación en condiciones de semianaerobiosis en reactores que pueden ir de 10 a 1000 litros con agitación realizada por agitadores de
- 15 aspas en un rango de 100 a 1200 rpm con un flujo de aire u oxígeno estéril o no en un rango de 0.00001 a 10 m³/seg, la fermentación se realiza en un rango de temperatura que va de 15 a 40 °C con una duración que va de 24 a 240 horas, obteniéndose "**segundo mosto fermentado**";

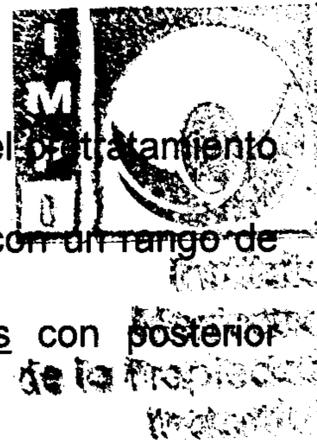
- 20 m) separar xilitol: el "segundo mosto fermentado" se somete a filtración con membranas selectivas en equipos de filtración convencionales o se puede separarse por medio de cromatografía de líquidos preparativa en cromatógrafos industriales convencionales, la solución con xilitol después es sometida a un proceso de cristalización con bajas temperaturas en cristalizadores convencionales, obteniéndose **xilitol**.

- 25 2. "**Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género**



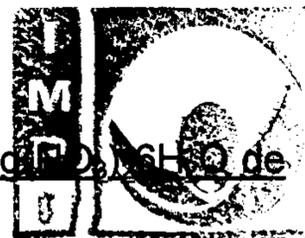
Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

- Candida** de acuerdo a reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa c) el ácido puede ser HCl, HF, HNO₃, H₂SO₄, H₃PO₄, H₂SO₄.
3. **“Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género**
- 5 **Candida** de acuerdo a reivindicación 1, caracterizado porque en la etapa j) se pueden usar evaporadores convencionales con vacío a una temperatura de 40 – 85°C.
4. **“Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género**
- 10 **Candida** de acuerdo a reivindicación 1 caracterizado porque la molienda se realiza preferentemente con residuos de la industria de la caña, de la industria tequilera, de la industria cafetalera, de la industria de la elaboración de jugos de frutas, de la industria del procesamiento del maíz, así como la industria del procesamiento de la madera, con un tamaño de partícula de 0.35 a 0.75 mm de diámetro.
- 15 5. **“Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género**
- Candida** de acuerdo a reivindicación 1 caracterizada porque la impregnación de ácido se realiza preferentemente con H₂SO₄ en un rango de concentración de 1 a 3 gramos por cada 100 gramos de “material seco”.
- 20 6. **“Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género**
- Candida** de acuerdo a reivindicación 1 caracterizado porque el pretratamiento térmico se realiza con el “material seco” sin pasar por la etapa de impregnación de ácido.
- 25 7. **“Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género**



Candida” de acuerdo a reivindicaciones 1 y 6 caracterizado porque el pretratamiento térmico se realiza preferentemente con el “material acondicionado” con un rango de temperatura de 150 a 190 °C por un lapso de 4 a 6 minutos con posterior despresurización súbita.

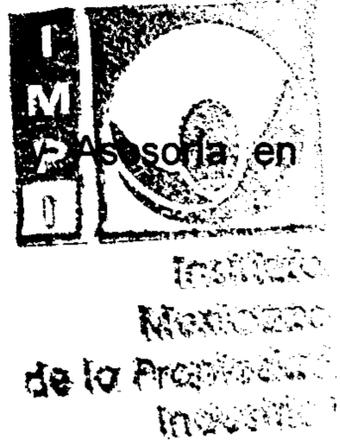
- 5 8. **“Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género *Candida*”** de acuerdo a reivindicaciones 1 y 6 caracterizado porque la mezcla enzimática se prepara preferentemente adicionando de 700 a 1100 ml de solución tampón (CH₃COOH 50 mM, pH 5) por cada 100 gramos de “material pretratado” y a
10 esta mezcla se le agrega preferentemente 100 ml de una solución constituida por la adición de 2 a 6 gramos de la mezcla enzimática comercial Celluzyme en tampón (CH₃COOH 50 mM, pH 5).
- 15 9. **“Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género *Candida*”** de acuerdo a reivindicaciones 1 y 6 caracterizado porque la hidrólisis enzimática se realiza con el material lignocelulósico sin pasar por la etapa de pretratamiento térmico.
- 20 10. **“Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género *Candida*”** de acuerdo a reivindicaciones 1, 6 y 9 caracterizado porque la hidrólisis enzimática se realiza poniendo a incubar la “mezcla hidrolítica” preferentemente de 45 a 55 °C durante un lapso de 250 a 350 horas
- 25 11. **“Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género *Candida*”** de acuerdo a reivindicaciones 1, 6 y 9 caracterizado porque la formulación del primer mosto se puede realizar preferentemente ajustando la glucosa del medio



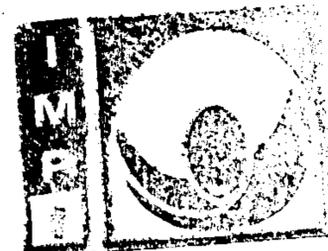
de 20 a 40 g/l y añadiendo urea de 2 a 4 g/l, KH_2PO_4 de 4 a 6 g/l, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ de 0.1 a 0.2 g/l y ajustando el pH de 4.5 a 5.5 con NaOH o HCl 1 N.

12. "Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género *Candida*" de acuerdo a reivindicaciones 1, 6 y 9 caracterizado porque la primera fermentación se realiza preferentemente inoculando la cepa *Saccharomyces cerevisiae* (JC-4) con una población de 4 a 10×10^6 células/ml con un rango de temperatura de 25 a 35 °C.
13. "Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género *Candida*" de acuerdo a reivindicaciones 1, 6 y 9 caracterizado porque la formulación del segundo mosto se realiza preferentemente ajustando la glucosa del medio de 20 a 40 g/l y añadiendo extracto de levadura de 0.5 a 1.5 g/l, urea de 2 a 4 g/l, KH_2PO_4 de 4 a 6 g/l, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ de 0.1 a 0.2 g/l y ajustando el pH de 5 a 6 con NaOH o HCl 1 N.
14. "Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género *Candida*" de acuerdo a reivindicaciones 1, 6 y 9 caracterizado porque la segunda fermentación se realiza preferentemente inoculando la cepa *Candida* sp (IEC5) o la cepa *Candida magnoliae* (OFF1) con una población de 4 a 10×10^6 células con un rango de temperatura de 25 a 35 °C, con un flujo de aire de 0.1 a 1 m³/seg.
15. "Proceso de producción de xilitol a partir de hidrólizados lignocelulósicos mediante fermentaciones secuenciadas utilizando levaduras del género *Candida*" de acuerdo a reivindicación 1 caracterizado porque se utilizan la cepa *Candida* sp (IEC5) de la colección del Instituto Tecnológico Veracruz, y la *Candida*

magnoliae (OFF1) de la colección del Centro de Investigación
Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ).



RESUMEN DE LA INVENCION



La invención se refiere al uso de diferentes materiales lignocelulósicos provenientes de diferentes industrias y actividades agrícolas, los cuales pueden ser convertidos a xilitol mediante el agotamiento de la glucosa convertida a etanol por fermentación, con un proceso más rentable que los procesos biotecnológicos actuales ya que emplea microorganismos tolerantes a compuestos tóxicos derivados de la hidrólisis de estos materiales por lo que no es necesario un proceso de detoxificación. Cabe señalar que el proceso se realiza con fermentaciones secuenciadas las cuales evitan desviaciones metabólicas causadas por la fermentación simultánea de glucosa y xilosa así como también evita el empleo de procesos de separación de azúcares, ya que en la primer fermentación se agota solo glucosa y se enriquece el medio con xilosa y en la segunda fermentación solo se consume la xilosa.

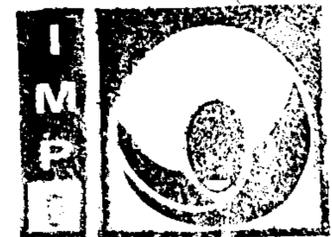
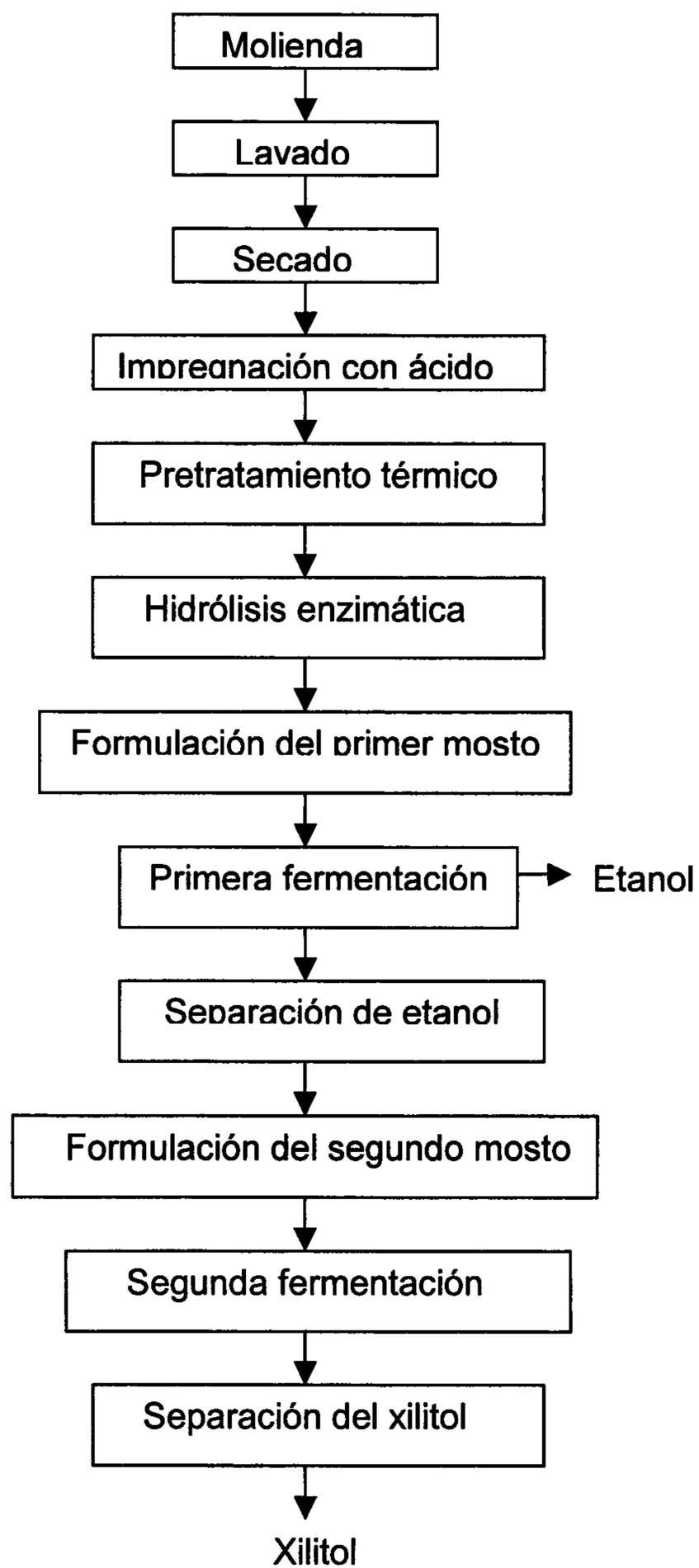
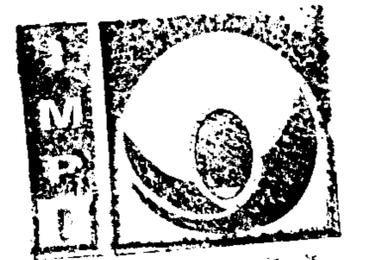


Figura 1

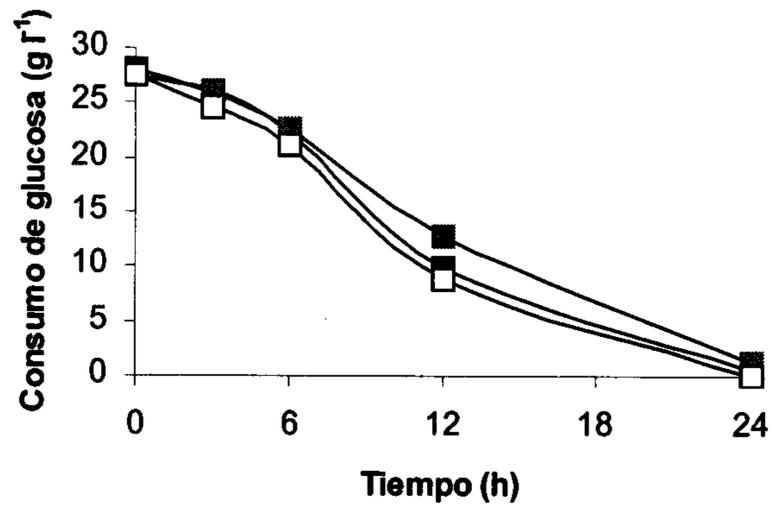




Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

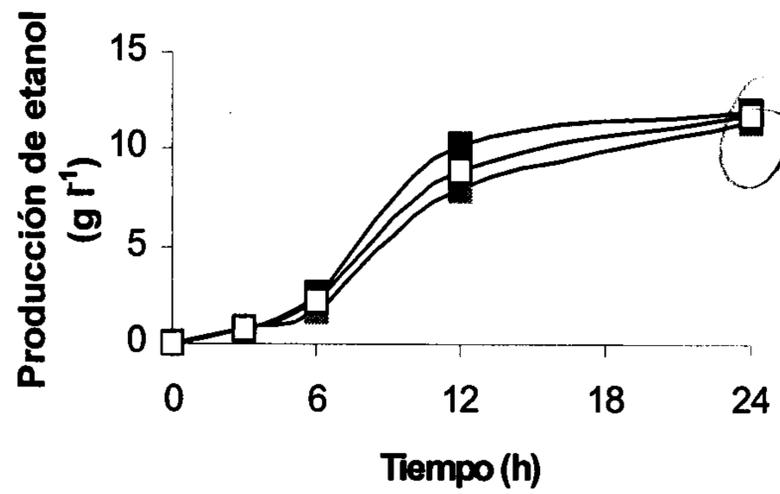
2/3

Figura 2a



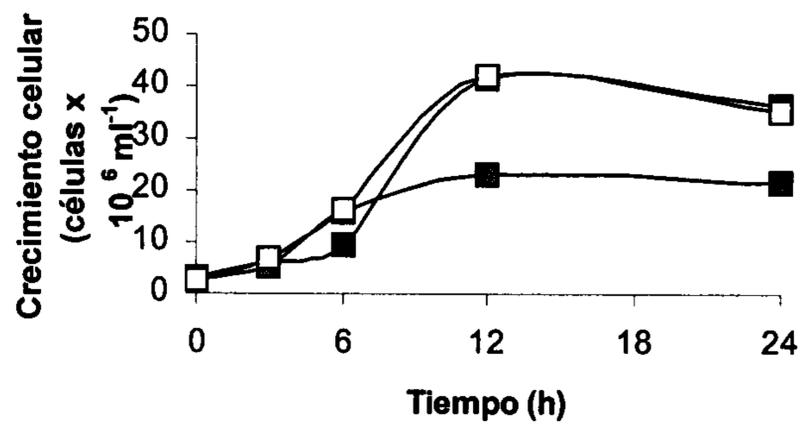
- Bagazo de Caña
- Bagazo de Agave
- Cascarilla de Café

Figura 2b



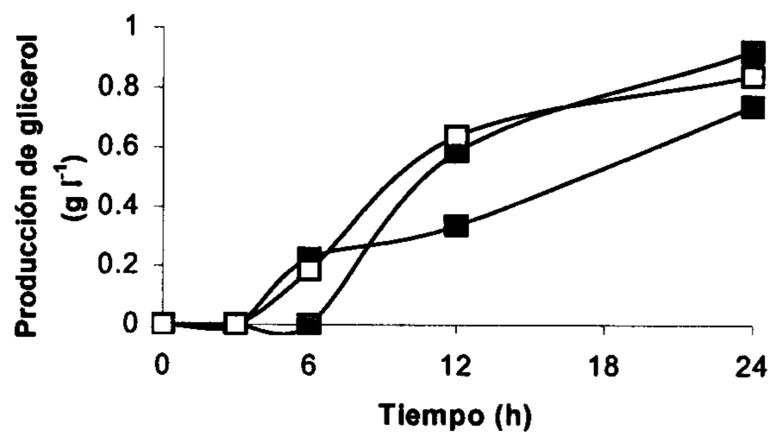
- Bagazo de Caña
- Bagazo de Agave
- Cascarilla de Café

Figura 2c

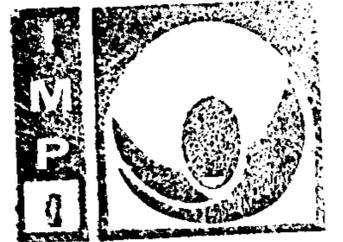


- Bagazo de Caña
- Bagazo de Agave
- Cascarilla de Café

Figura 2d



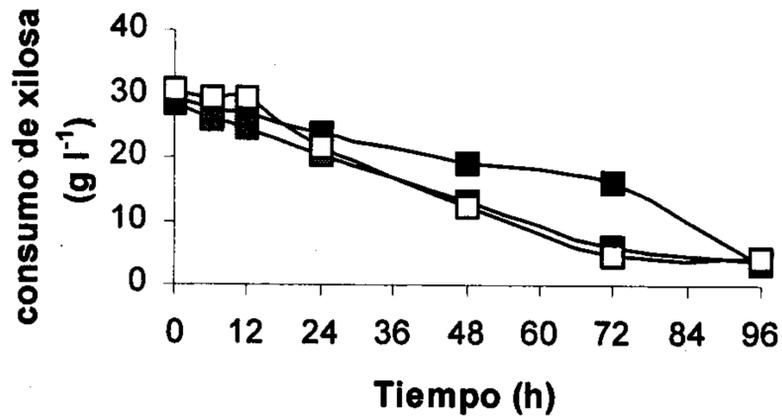
- Bagazo de Caña
- Bagazo de Agave
- Cascarilla de Café



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

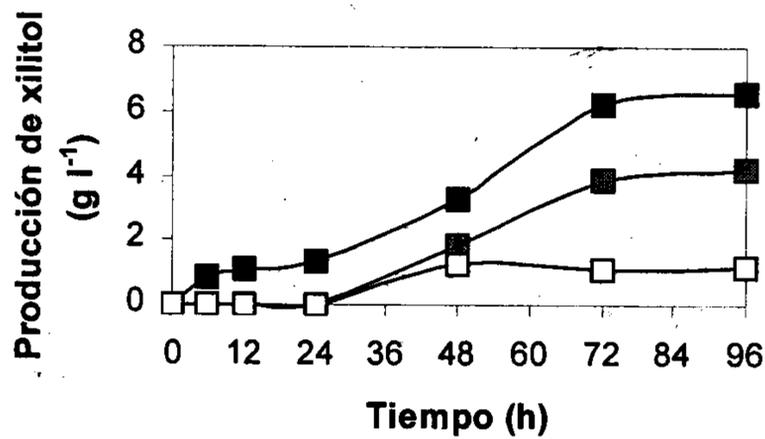
3/3

Figura 3a



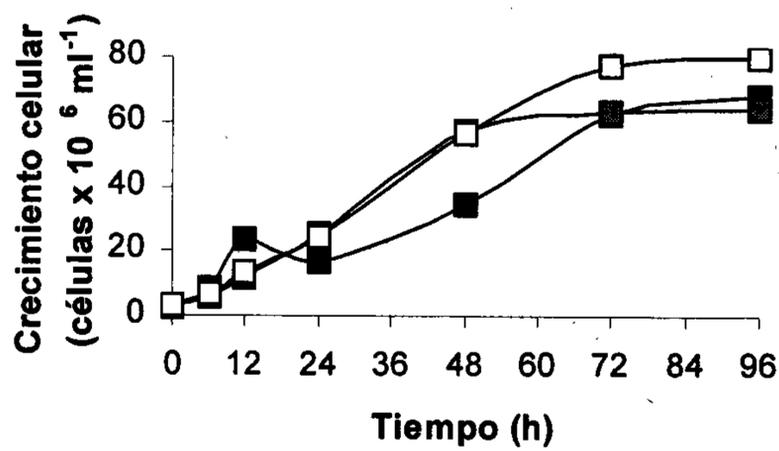
- Bagazo de Caña
- Bagazo de Agave
- Cascarilla de Café

Figura 3b



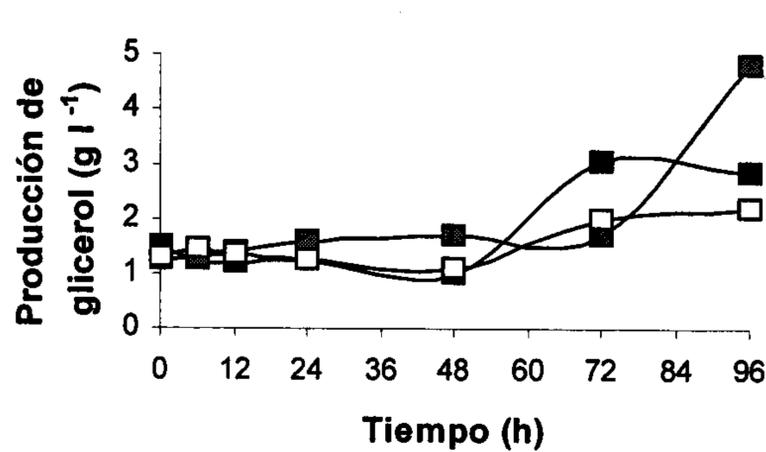
- Bagazo de Caña
- Bagazo de Agave
- Cascarilla de Café

Figura 3c



- Bagazo de Caña
- Bagazo de Agave
- Cascarilla de Café

Figura 3d



- Bagazo de Caña
- Bagazo de Agave
- Cascarilla de Café