

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 904 503**

51 Int. Cl.:

A23L 29/20 (2006.01)
A23L 33/21 (2006.01)
A23L 27/30 (2006.01)
A23L 29/244 (2006.01)
A23L 29/206 (2006.01)
C08B 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.02.2016** **PCT/EP2016/052487**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.08.2016** **WO16124732**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.02.2016** **E 16709976 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.12.2021** **EP 3253804**

54 Título: **Método para el cultivo de plantas plurienales pertenecientes a la tribu Cardueae y para la recuperación integrada de inulina, semillas y biomasa de dichas plantas**

30 Prioridad:

05.02.2015 IT UB20150001
05.02.2015 IT UB20150477

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.04.2022

73 Titular/es:

NOVAMONT S.P.A. (100.0%)
Via G. Fauser 8
28100 Novara, IT

72 Inventor/es:

BASTIOLI, CATIA y
CAPUZZI, LUIGI

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 904 503 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

Método para el cultivo de plantas plurienales pertenecientes a la tribu Cardueae y para la recuperación integrada de inulina, semillas y biomasa de dichas plantas

La presente invención se refiere a un método para el cultivo de plantas plurienales (también conocidas como "polianuales") pertenecientes a la tribu Cardueae y para la recuperación integrada de inulina, semillas y biomasa de dichas plantas.

En un primer aspecto, esta invención se refiere al cultivo de plantas plurienales pertenecientes a la tribu Cardueae que, debido al método de cultivo según la presente invención, permite obtener grandes cantidades de inulina con respecto tanto al peso total de las raíces como al peso total de la planta. Por lo tanto, dichas plantas parecen poder utilizarse para la recuperación integrada de diversas materias primas de alto valor añadido como, en particular, la inulina, el aceite y la biomasa. En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un método para la recuperación integrada de la inulina, la biomasa y las semillas y/o sus derivados, como el aceite y las harinas proteicas de dicha planta.

Los recursos de origen fósil han sido durante mucho tiempo la principal fuente de suministro de la industria moderna, ya que proporcionan materias primas para la producción, por ejemplo, de combustibles, productos químicos de diversa índole y energía. Sin embargo, con el agotamiento progresivo de los recursos de origen fósil, se ha iniciado una intensa actividad de investigación en todos los sectores industriales con miras a identificar medios alternativos de suministro a través de los cuales pueden sustituirse estas fuentes convencionales. Entre los diversos medios alternativos de suministro que se consideran adecuados en la actualidad para responder a esta necesidad se menciona cada vez más la posibilidad de utilizar recursos de origen renovable con los que sustituir los recursos de origen fósil. A diferencia de los recursos de origen fósil, los recursos de origen renovable tienen la ventaja de que, por sus características naturales y por efecto del cultivo humano, se renuevan a la escala de una vida humana y, por tanto, están disponibles casi infinitamente. Un ejemplo típico de recursos de origen renovable son los cultivos vegetales.

Si bien, en general, los cultivos vegetales se han identificado como posibles fuentes alternativas a partir de las cuales se pueden abastecer las actividades industriales, sigue siendo necesario identificar especies vegetales que sean adecuadas para generar sistemas de producción eficientes que tengan un bajo impacto medioambiental y que no eliminen recursos y tierras cultivables que, de otro modo, podrían utilizarse para satisfacer las necesidades primarias de la humanidad, por ejemplo, la alimentación.

Sobre la base de este requisito se ha descubierto ahora, sorprendentemente, que existe la posibilidad de hacer que las plantas plurienales pertenecientes a la tribu de las Cardueae generen eficazmente cantidades significativas de un amplio espectro de tipos de productos de extremo interés: inulina, biomasa, semillas y/o sus derivados, como aceite y harinas proteicas. Debido a su capacidad de crecer casi sin necesidad de tratamientos fertilizantes significativos, incluso en terrenos áridos y en condiciones climáticas poco favorables, estas plantas tienen además la ventaja de que pueden cultivarse sin retirar recursos y tierras cultivables que, de otro modo, podrían utilizarse para satisfacer las necesidades primarias de la humanidad.

La producción integrada, económica y de alto rendimiento de cantidades significativas de un amplio espectro de tipos de materias primas de extremo interés, como la inulina, la biomasa, las semillas y/o sus derivados, como el aceite y las harinas proteicas, ofrece también la posibilidad de diversificar y ampliar notablemente la gama de productos e intermedios químicos a los que se puede acceder a partir de un único recurso renovable, contribuyendo así a racionalizar el sistema de producción. La inulina es un polisacárido lineal compuesto principalmente por moléculas de D-fructosa que se mantiene, al igual que el almidón, como sustancia de reserva en las raíces de muchas especies vegetales, entre las que se incluyen las pertenecientes a la familia de las Asteraceae como, por ejemplo, la patata (*Helianthus tuberosus*), la achicoria (*Cichorium intibus*) y las plantas de la tribu Cardueae, en particular, las de la especie *Cynara cardunculus*.

Los métodos de cultivo de las plantas de la tribu Cardueae aparecen en RACCUIA ET AL: "Rendimiento de biomasa y aceite en grano en el genotipo de *Cynara cardunculus* L. cultivado en ambiente mediterráneo", y en FERNANDEZ J ET AL: "Aplicaciones industriales de *Cynara cardunculus* L. para usos energéticos y otros.

La inulina encuentra aplicaciones en muchos campos, por ejemplo, en la industria alimentaria como edulcorante o como sustituto de grasas y harinas, en la producción de etanol, en el sector médico, donde se utiliza, por ejemplo, en la medición de la función renal, en el tratamiento de alteraciones intestinales y como coadyuvante de vacunas. Dado su origen renovable y su disponibilidad potencialmente amplia, la inulina es una interesante materia prima de partida para la industria química, ya que se considera, en particular, una posible materia prima para la producción de HMF y de ácido 2,5-furandicarboxílico.

Hasta ahora, la inulina se ha obtenido principalmente de las raíces de achicoria, de las que se extrae al mezclar las raíces secas molidas con agua y, a continuación, filtrar y/o centrifugar la solución acuosa obtenida, que es rica en inulina.

- 5 El creciente interés que la industria química está demostrando por la inulina como posible materia prima exige identificar otras fuentes capaces de garantizar una mayor disponibilidad a un menor costo.

10 Los aceites vegetales son también en la actualidad una importante materia prima para la industria química, y basta con pensar en los numerosos productos de la industria química del petróleo, en particular, el biodiésel, los lubricantes y los productos intermedios para detergentes. Por ejemplo, el documento WO2008/138892 describe un proceso de escisión oxidativa que, a partir de aceites vegetales que contienen triglicéridos de ácidos grasos monoinsaturados, puede utilizarse para producir importantes productos intermedios para la preparación de poliésteres como, por ejemplo, los ácidos dicarboxílicos saturados, el ácido azelaico o el ácido brasílico. En el documento WO 2010/102806, aparece otro método para obtener inulina a partir de plantas.

15 Por último, la biomasa lignocelulósica, que es rica en polímeros de carbohidratos formados por azúcares C5-C6 (hemicelulosa y celulosa), es también una fuente renovable potencialmente importante de sacáridos fermentables que pueden utilizarse para obtener una multiplicidad de compuestos orgánicos que pueden emplearse para productos químicos intermedios, por ejemplo, bioetanol y 1,4 butanediol.

20 La presente invención se refiere en particular a un método para la producción de plantas plurienales pertenecientes a la tribu de las Cardueae, caracterizado porque comprende las siguientes etapas:

- 25 a) siembra de semillas de dichas plantas y ajuste de la densidad de cultivo a un mínimo de 4 plantas por metro cuadrado de suelo y preferentemente a un mínimo de 6 plantas por metro cuadrado;
b) control opcional del contenido de N del suelo en el que se han plantado dichas semillas;
c) recolección de al menos una porción de la parte subterránea y de al menos una porción de la parte aérea de las plantas obtenidas de la siembra en la etapa a) a partir del tercer año de cultivo, entre la fase fenológica de floración y la fase fenológica de senescencia de dichas plantas.

30 Las plantas plurienales que pueden obtenerse mediante el método según la presente invención permiten obtener mayores cantidades de inulina respecto al peso total de las raíces y al peso total de la planta. También son capaces de asegurar un contenido significativo de semillas oleaginosas con un alto contenido de ácidos grasos insaturados y biomasa lignocelulósica con un bajo contenido de lignina. Las plantas típicamente plurienales pertenecientes a la tribu Cardueae, que pueden obtenerse mediante el método de cultivo según la presente invención, tienen un contenido de semillas oleaginosas de al menos 5 % en peso y un contenido de biomasa lignocelulósica de hasta 60 % en peso con respecto al peso total de la parte aérea de dichas plantas, y un contenido de inulina de 25 al 60 % en peso con respecto al peso total de la parte subterránea, representando esta última al menos 35 % en peso del peso total de la planta. Por lo tanto, dichas plantas parecen poder utilizarse para la recuperación integrada de diversas materias primas de alto valor añadido como, en particular, la inulina, la biomasa, las semillas y/o sus derivados como el aceite y las harinas proteicas.

45 La presente invención se refiere, por tanto, también a un método para la obtención de inulina, biomasa y semillas y/o aceite y harina proteica a partir de plantas plurienales pertenecientes a la tribu Cardueae según la reivindicación 7, que comprende las siguientes etapas:

- d) recuperación de la inulina de la parte subterránea de dichas plantas cosechadas durante la etapa c);
e) separación de las semillas y de la biomasa aérea de la parte aérea de dichas plantas cosechadas durante la etapa c);
50 f) posible recuperación del aceite y la harina proteica de las semillas obtenidas durante la etapa e).

La presente invención se refiere al cultivo de plantas pertenecientes a la tribu Cardueae, preferentemente plantas pertenecientes a la especie *Cynara cardunculus*, con mayor preferencia, la subespecie *Cynara cardunculus* L. var. *altilis* (cardo cultivado). Estas plantas tienen la ventaja de que crecen, casi sin necesidad de tratamientos de fertilización significativos, incluso en terrenos áridos y en condiciones climáticas poco favorables. El método según la presente invención puede aplicarse en terrenos de tipo arcilloso, arenoso o limoso, y es importante evitar el agua estancada. En una realización preferida del método según esta invención, el suelo utilizado para la siembra de las plantas es de tipo arcilloso.

60 Antes de la etapa a) de la siembra, dicho suelo puede someterse preferentemente a una o más operaciones preliminares seleccionadas entre la labranza, la roturación, el desempedrado, el arado, la excavación, la perforación, el fresado, la escarda, el gradeo, la nivelación o la compactación, con el fin de preparar el lecho de siembra, lo cual puede repetirse, con preferencia, antes de cada ciclo de cultivo.

La etapa a) prevé la siembra de las semillas de dichas plantas en una densidad de cultivo de al menos 4 plantas por metro cuadrado de suelo y, preferentemente, de al menos 6 plantas por metro cuadrado y, con aún más preferencia, de al menos 8 plantas por metro cuadrado. Esta operación puede llevarse a cabo con cualquiera de los medios conocidos al efecto por los expertos en la técnica, utilizando con preferencia una máquina agrícola adecuada, denominada taladradora, que puede ser del tipo convencional o de precisión. Los expertos en la técnica estarán en condiciones de establecer la densidad de cultivo directamente en el campo durante la siembra o de determinarla mediante mediciones en el campo o a través de imágenes aéreas y/o por satélite y, si es necesario, actuar para ajustarla al valor deseado.

Sin atenerse a ninguna teoría específica, se plantea la hipótesis de que la siembra de semillas de plantas pertenecientes a la tribu Cardueae en una densidad de cultivo de al menos 4 plantas por metro cuadrado de terreno ayudará a lograr la maximización del rendimiento unitario de semillas, biomasa e inulina en el método de cultivo según esta invención.

Después de la etapa a) de la siembra en el método según esta invención, es posible ajustar de manera opcional el contenido de N del suelo en el que se han plantado dichas semillas a un contenido de N inferior a 200 kg/(ha.año) sobre la base tanto de la fertilidad del suelo como de la absorción de nutrientes por parte de los cultivos, con mayor preferencia, a menos de 50 kg/(ha.año) y, con aún más preferencia, a menos de 40 kg/(ha.año) (etapa b) del proceso según esta invención). Dicha etapa b) puede llevarse a cabo mediante cualquiera de los métodos conocidos a tal efecto por los expertos en la técnica, por ejemplo, al fertilizar el suelo con abonos nitrogenados adecuados como nitrato de amonio y sales de amonio, o al utilizar agentes secuestrantes de nitrógeno. Dicha etapa b) también puede llevarse a cabo mediante uno o varios ciclos de ajuste del contenido de N del suelo, que también pueden estar separados en el tiempo.

En cuanto a la etapa c) del método según la presente invención, esta prevé la recolección de al menos una parte de la parte aérea y de al menos una parte de la parte subterránea de las plantas obtenidas de la siembra en la etapa a) a partir del tercer año de cultivo, entre la fase fenológica de floración y la fase fenológica de senescencia de dichas plantas. La cosecha de al menos una porción de la parte subterránea y de al menos una porción de la parte aérea de las plantas obtenidas de la siembra en la etapa a) puede adelantarse al segundo año de cultivo, entre la fase fenológica de floración y la fase fenológica de senescencia de dichas plantas, pero con rendimientos anuales menores de todos los productos como inulina, semillas y biomasa.

Como es sabido, el ciclo vital de un organismo vivo, por ejemplo, de una planta, puede subdividirse en diferentes etapas (conocidas como fases fenológicas) identificadas por un estado morfológico, fisiológico, funcional y de comportamiento inducido por el cambio estacional de las condiciones ambientales, en particular, las climáticas. En agricultura, las escalas que identifican las diferentes fases fenológicas de las plantas son conocidas y ampliamente aplicadas desde hace tiempo. Las fases fenológicas consideradas en el método según esta invención son las de la escala BBCH, que utiliza una escala decimal para su descripción y codificación. Esta escala BBCH se ha utilizado para describir el ciclo vital de las plantas pertenecientes a la especie *Cynara cardunculus* en la publicación de Archontoulis S. V. et al. "Fases fenológicas de crecimiento de *Cynara cardunculus*: codificación y descripción según la escala BBCH", *Annals of Applied Biology* (2010) 253-270. En el método según esta invención se han identificado y determinado las fases fenológicas de las plantas pertenecientes a la tribu Cardueae según la subdivisión BBCH descrita en dicho artículo. Por lo tanto, en el sentido de esta invención, el ciclo de vida anual de las plantas pertenecientes a la tribu Cardueae debe considerarse subdividido en las siguientes fases fenológicas: fase 0: germinación (durante el primer año del ciclo de cultivo) o desarrollo de los brotes o capullos (segundo año o años posteriores); fase 1: desarrollo de las hojas; fase 2: formación de brotes laterales/macollamiento; fase 3: crecimiento de la roseta; fase 4: desarrollo de las partes vegetativas de la planta; fase 5: aparición de la inflorescencia; fase 6: floración; fase 7: formación de frutos y semillas; fase 8: maduración de los frutos y las semillas; fase 9: senescencia de la planta.

La etapa c) del proceso según la presente invención puede llevarse a cabo utilizando cualquiera de los medios conocidos por los expertos en la técnica, en función también del tipo de maquinaria que se pretenda utilizar. Por ejemplo, la etapa c) del proceso según la presente invención puede llevarse a cabo al cosechar primero al menos una porción de la parte aérea de las plantas y posteriormente cosechar al menos una parte de la parte subterránea de dichas plantas. Como alternativa, al menos una porción de la parte aérea de las plantas y al menos una porción de la parte subterránea de las plantas pueden cosecharse al mismo tiempo. Como es sabido, la parte subterránea de las plantas comprende el sistema radicular de la planta en el que se acumula la inulina.

Gracias al uso del método de cultivo según esta invención, dichas plantas desarrollan raíces particularmente extensas y grandes que pueden penetrar en el suelo hasta profundidades de más de incluso 2 metros, según el suelo y el clima en el que se cultivan. Además, las plantas acumulan la inulina principalmente en la parte central y superficial del sistema radicular, por lo que, en particular en el caso de las raíces extensas y grandes, resulta ventajoso cosechar sólo las citadas partes centrales y superficiales del sistema radicular, que corresponden en general a aproximadamente el 60 % en peso con respecto a su peso total.

En una realización preferida del proceso según esta invención, una porción del sistema radicular, 60 % en peso o más con respecto al peso total del sistema radicular, se cosecha en dicha etapa c).

5 Las plantas cultivadas por el método según esta invención son plurienales, por lo que, como resultado de sus características intrínsecas, están provistas de órganos vegetativos (también conocidos como yemas basales) que, al representar los primeros pasos de un nuevo eje de crecimiento, pueden dar lugar a nuevas plantas, siendo por tanto capaces de permanecer en el suelo durante varios años, en el presente caso durante tres o más años.

10 Se ha descubierto sorprendentemente que las condiciones específicas de cultivo identificadas en el método según la presente invención permiten obtener plantas de la tribu Cardueae con partes subterráneas que comprenden sistemas radiculares capaces de asegurar rendimientos unitarios de inulina (es decir, toneladas por hectárea de superficie cultivada) de entre 5 y 20 t/ha, y partes aéreas capaces de asegurar rendimientos unitarios de semillas de entre 1 y 4 t/ha y de biomasa seca de entre 10 y 25 t/ha, entre dos fases fenológicas específicas en el tercer año de cultivo y los siguientes.

15 Si bien los dos años anteriores de cultivo no proporcionan los rendimientos unitarios mencionados, pueden proporcionar semillas oleaginosas en cantidad significativa, típicamente 1,5 t/ha o más, y biomasa, típicamente en cantidades de 15 t/ha o más.

20 En una realización preferida del método según esta invención, durante el primer año de cultivo, después de la etapa a) y antes de la etapa b), o después de la etapa b) y antes de la etapa c), las partes aéreas de las plantas obtenidas de la siembra se cosechan entre las fases fenológicas de floración y senescencia de las plantas.

25 La parte sobre el suelo obtenida por los tratamientos aplicados durante el primer y segundo año de cultivo mencionados anteriormente se somete con preferencia a las operaciones descritas en las etapas e) y f) del proceso según esta invención, o se utiliza para otros fines diversos como, preferentemente, la recuperación de energía mediante combustión, la producción de biogás, la producción de alimentos para animales o la producción de compuestos orgánicos. En una realización preferida de esta invención, la parte sobre el suelo se envía a un proceso de pretratamiento alcalino para obtener una variedad de compuestos orgánicos como azúcares y ligninas, como los
30 descritos, por ejemplo, en la solicitud de patente italiana NO2012A000002 o en la solicitud de patente WO2013/139839.

Después de la etapa c) del proceso según esta invención es posible obtener biomasa y semillas oleaginosas de las partes aéreas de las plantas cosechadas y también inulina de las partes subterráneas de las plantas cosechadas.

35 La etapa d) del proceso según esta invención prevé la recuperación de la inulina de la parte subterránea cosechada durante la etapa c). Esta operación puede realizarse por cualquier medio adecuado para ello, por ejemplo, separándola por extracción de las raíces de la planta en agua caliente. En una realización preferida del proceso según esta invención, el método para obtener inulina a partir de las partes subterráneas de las plantas cosechadas durante la etapa c) comprende las siguientes etapas:

d-1) trituration de las raíces presentes en las partes subterráneas de las plantas cosechadas en la etapa c) con el fin de obtener cosetas que tengan un grosor máximo de 1 cm, con preferencia, de 0,5 cm o menos, y con mayor preferencia, entre 0,5 y 2 mm;

45 d-2) lixiviación, preferentemente mediante al menos un tratamiento de cavitación, de la inulina de dichas cosetas en presencia de una solución acuosa;

d-3) separación de una fase acuosa que contenga inulina y de una fase sólida que contenga cosetas gastadas procedentes de dicha etapa d-2);

50 d-4) purificación de dicha fase acuosa que contiene inulina.

Antes de pasar a la etapa d-1), las partes subterráneas de las plantas se someten ventajosamente a uno o más tratamientos preliminares que son adecuados para preparar las raíces para la trituration. En el momento de la cosecha y el transporte, las partes subterráneas que comprenden las raíces pueden estar contaminadas con cuerpos extraños que pueden ser de diferentes tipos, por ejemplo, residuos de biomasa, típicamente hojas, tallos o racimos adheridos a las raíces, piedras, tierra e incluso residuos ferrosos procedentes, por ejemplo, del equipo utilizado en la cosecha. Las raíces también pueden tener un contenido de humedad excesivo que, según los procedimientos operativos adoptados, puede repercutir en la posterior etapa de trituration d-1). Por lo tanto, el método de obtención de inulina comprende preferentemente una o más etapas preliminares antes de la etapa d-1), seleccionadas entre:

60 (i) despunte;
(ii) limpieza y cribado;
(iii) lavado;
(iv) secado.

Estas etapas preliminares pueden combinarse entre sí de diferentes maneras, también en función del método de recolección y transporte de las partes subterráneas que comprenden las raíces. Según un aspecto preferido de la presente invención, el método comprende una o varias de dichas etapas preliminares, preferentemente en el orden indicado con anterioridad. Dichas etapas pueden llevarse a cabo con diferentes equipos o con un único equipo o en diferentes partes de un mismo equipo. Para simplificar la descripción, en el resto de la solicitud se hará referencia a las operaciones referidas a los equipos capaces de llevar a cabo las etapas por separado, pero debe entenderse que esto también incluye la realización de las operaciones en un solo equipo o en diferentes partes del mismo equipo.

La etapa preliminar de despunte (i), en particular, tiene por objeto separar los residuos de biomasa, como las hojas, los tallos o los rabillos que aún están unidos a las raíces. Dicha etapa de despunte puede llevarse a cabo mediante el uso de equipos para la eliminación mecánica de los residuos, como cizallas.

La etapa de limpieza y cribado de las raíces (ii) se lleva a cabo por lo general al hacerlas pasar a través de cribas vibratorias, sistemas de aspiración o electromagnéticos, y permite realizar la operación de desverdizado (eliminación de otras plantas y de residuos de biomasa descargados junto con las raíces), de desempedrado (eliminación de piedras, guijarros y tierra) y de eliminación de residuos ferrosos procedentes, por ejemplo, del equipo utilizado en la cosecha.

La etapa de lavado (iii) permite eliminar las plantas, los residuos de biomasa, las piedras, los guijarros y la tierra, así como otros residuos que pueden no eliminarse completamente durante otros tratamientos, como la etapa de limpieza y cribado de las raíces (ii), a la que se asocia o sustituye de forma ventajosa. Con preferencia, dicha etapa de lavado se realiza con agua a temperaturas de 50 °C o inferiores, para minimizar la disolución y la consiguiente pérdida de inulina durante esta etapa. De forma ventajosa, el lavado puede llevarse a cabo al sumergir las raíces o hacerlas pasar por debajo de chorros de agua.

La etapa de secado (iv) permite controlar el contenido de agua de las raíces. Esto tiene por objeto, por una parte, limitar los fenómenos que degradan las raíces, ofreciendo así un posible período de almacenamiento más largo, y, por otra parte, contribuir al resultado satisfactorio de la etapa posterior (d-1); por ejemplo, un contenido de agua demasiado bajo puede dar lugar a una fragmentación excesiva de las cosetas, con la consiguiente formación de polvos.

La etapa de secado se lleva a cabo normalmente en equipos conocidos como secadores que pueden ser de tipo vertical u horizontal con cilindros giratorios. El secado se lleva a cabo al colocar las raíces en contacto con un flujo de gas caliente, generalmente aire, mantenido a un contenido de humedad inferior al punto de saturación a la temperatura de uso. Preferentemente, el secado se lleva a cabo al utilizar aire seco a temperaturas de 90 °C o inferiores, con preferencia a 80 °C o inferiores, y con mayor preferencia, a 50 °C o superiores.

Las raíces con las que se alimenta la etapa d-1) del proceso según esta invención tienen ventajosamente un contenido de agua de 3 a 55 % en peso, con preferencia, de 15 a 50 % en peso, con mayor preferencia, de 20 a 40 %. Dicho contenido de agua se determina mediante métodos de análisis conocidos por los expertos en la técnica.

A continuación, las raíces se introducen en la etapa d-1) del procedimiento de la presente invención, que las tritura para producir cosetas de un grosor máximo de 1 cm, con preferencia de 0,5 cm o menos, y con mayor preferencia de entre 0,5 y 2 mm, para permitir la posterior etapa de lixiviación. En el sentido de la presente invención, se entiende por trituración cualquier tratamiento que subdivida y reduzca las raíces en cosetas más pequeñas, como, por ejemplo, cortar, picar, rebanar, cizallar, fragmentar, descascarar, moler o picar las raíces. Las cosetas obtenidas mediante la operación de trituración tienen una mayor superficie para la posterior etapa de lixiviación d-2), lo que aumenta la eficacia y la velocidad de extracción de la inulina de las raíces por la solución acuosa. En el sentido de la presente invención, el término cosetas significa porciones de raíces como, por ejemplo, partículas, virutas, trozos, fragmentos, copos o cosetas de cualquier forma que puedan obtenerse mediante una operación de trituración.

La etapa d-1) del procedimiento según la presente invención puede llevarse a cabo en cualquier equipo que sea adecuado para subdividir y reducir a trozos las raíces de las plantas pertenecientes a la tribu Cardueae, como es el caso de las herramientas de corte y las herramientas de impacto, por ejemplo las cortadoras comúnmente utilizadas para la remolacha azucarera, las máquinas cortadoras de raíces, los molinos de martillos, los molinos de rodillos, los molinos a cuchillas o los molinos aplastadores. La operación de trituración se lleva a cabo con preferencia a una temperatura de 90 °C o inferior, con mayor preferencia a 80 °C o inferior y con aún mayor preferencia a 70 °C o superior, a fin de limitar el estrés térmico y reducir cualquier fenómeno de degradación de la inulina en las raíces.

Con preferencia, al final de la etapa a) las cosetas se pasteurizan para desactivar las enzimas que degradan la inulina (por ejemplo, las inulinasas), a fin de evitar la degradación no deseada de la inulina antes de la lixiviación. Este tratamiento de pasteurización puede realizarse también antes de la etapa a), en las raíces antes de la trituración.

Después de la etapa d-1) el procedimiento según la presente invención prevé la etapa d-2) de lixiviación de la inulina de las cosetas en presencia de una solución acuosa. Dicha etapa d-2) puede llevarse a cabo mediante cualquier

tratamiento adecuado para este fin y en cualquier equipo adecuado para este fin, en adelante denominado de manera individual o colectiva "equipo", si no se detalla explícitamente lo contrario.

En una realización preferida de la presente invención, dicha etapa d-2) se lleva a cabo por medio de al menos un tratamiento de cavitación en presencia de una solución acuosa, en cualquier equipo adecuado para el propósito (conocido como "cavitadores"), por ejemplo, cavitadores hidrodinámicos, cavitadores ultrasónicos, así como cavitadores estáticos del tipo de lote o continuo, y del tipo de corriente paralela y contracorriente. Ejemplos típicos de cavitadores disponibles en el mercado adecuados para su uso en la etapa b) del proceso según esta invención son los cavitadores SPR (Reactor de potencia de ondas de choque) y Biopush. En una realización preferida de la presente invención, la etapa b) del proceso según esta invención se realiza mediante al menos un tratamiento de cavitación hidrodinámica. Como alternativa, la etapa d-2) puede llevarse a cabo mediante una extracción por ultrasonidos.

En otra realización preferida, dicha etapa d-2) se lleva a cabo utilizando uno o más "difusores", por ejemplo, reactores discontinuos o reactores continuos de remezcla, extractores sólido-líquido, tanto del tipo de corriente paralela como de contracorriente, que funcionan en ciclo continuo o discontinuo, y que pueden ser horizontales o verticales, o tanques de inmersión equipados con cintas transportadoras modulares. Ejemplos típicos de equipos disponibles en el mercado adecuados para su uso en la etapa b) del proceso según esta invención son los extractores de rotor horizontal "RT", los extractores de tornillo giratorios inclinados DDS y las torres giratorias verticales.

En una realización del proceso según la presente invención, la etapa d-2) se lleva a cabo también al combinar uno o más tratamientos de cavitación con uno o más tratamientos con difusores como se divulga en la presente solicitud.

Para maximizar el contacto estrecho entre las cosetas y la solución acuosa, dicha etapa d-2) se lleva a cabo de forma ventajosa en uno o más equipos, que también pueden estar dispuestos en grupos o en secuencias, en función de la configuración deseada del proceso. Por ejemplo, la etapa d-2) del proceso según esta invención puede llevarse a cabo utilizando un solo cavitador o dos o más cavitadores colocados en serie. Cuando no se describa explícitamente lo contrario, cuando se hace referencia en esta invención a un tratamiento realizado en un equipo, se pretende incluir configuraciones de proceso que comprenden dos o más equipos dispuestos en serie.

Cuando el proceso según esta invención se lleva a cabo en modo continuo, la etapa d-2) también puede llevarse a cabo utilizando dos o más cavitadores, con preferencia, dos o más cavitadores hidrodinámicos de los tipos descritos antes que pueden trabajar de forma simultánea o alternativa, en serie o en paralelo, lo que hace posible apagar uno de los difusores de los cavitadores sin interrumpir el proceso.

Dicha operación de lixiviación puede llevarse a cabo mediante la alimentación de las cosetas a temperatura ambiente, o bien, para favorecer la extracción de inulina, precalentándolas, preferentemente en agua, a temperaturas de 90 °C o inferiores, más preferentemente de 80 °C o inferiores, y aún más preferentemente de 30 °C o superiores, más preferentemente de 40 °C o superiores, y aún más preferentemente de 70 °C o superiores, antes de que entren en el equipo durante un tiempo que es preferentemente de 5 minutos o menos. Al abrir las células vegetales, el aumento de la temperatura permite favorecer el paso de la inulina a la fase líquida, lo que permite maximizar el rendimiento de la etapa d-2) y, al mismo tiempo, evitar un estrés excesivo de las cosetas, limitando así los fenómenos de degradación de la inulina. Con el mismo objeto de aumentar el rendimiento de la etapa de lixiviación d-2) en el proceso según esta invención la etapa se realiza preferentemente a temperaturas de 90 °C o inferiores, más preferentemente 80 °C o inferiores, y aún más preferentemente 30 °C o superiores, más preferentemente 40 °C o superiores, aún más preferentemente 70 °C o superiores. Cuando se lleva a cabo la etapa d-2) mediante uno o más difusores, la temperatura se mantiene preferentemente en el rango de 70 a 90 °C, mientras que los tratamientos de cavitación resultan ya eficaces incluso a temperaturas inferiores a 70 °C. En este caso, el control de la temperatura durante la etapa d-2) se realiza, por ejemplo, al precalentar la solución acuosa (que lixivia la inulina de las raíces) y/o al utilizar equipos provistos de sistemas de control de temperatura. El uso de temperaturas dentro de los rangos indicados antes durante la etapa d-2) del proceso según esta invención también tiene la ventaja adicional de reducir la viscosidad de la solución acuosa, ayudando así a facilitar el bombeo, y de aumentar la solubilidad de la inulina en la solución acuosa. Para aumentar el rendimiento de la lixiviación de las cosetas, antes de la etapa d-2) y después de la etapa de precalentamiento o durante la etapa d-2) también se pueden prensar a presiones preferentemente de 5 kg/cm² o menos, por ejemplo, mediante prensas de rodillos o calandrias.

Además de no aportar más beneficios para el rendimiento del proceso, las temperaturas de lixiviación superiores a las indicadas anteriormente aumentarían su coste y podrían dar lugar a la formación de subproductos no deseados como consecuencia de los fenómenos de degradación de la inulina y otros componentes de las cosetas.

Al menos un tratamiento de cavitación en la etapa d-2) del proceso según la presente invención se realiza preferentemente a una presión en el rango de 1 a 35 bar, preferentemente de 1 a 18 bar.

Al menos un tratamiento de cavitación en la etapa d-2) del proceso según la presente invención se lleva a cabo preferentemente durante un tiempo inferior a 60 minutos, más preferentemente en el rango de 5 a 40 minutos.

En una realización preferida, la etapa d-2) del proceso según la presente invención se lleva a cabo mediante al menos un tratamiento de cavitación realizado a temperaturas en el rango de 30 a 90 °C preferentemente de 40 °C a 80 °C, aún más preferentemente de 70 a 80 °C, a presiones en el rango de 1 a 35 bar y preferentemente durante un tiempo inferior a 60 minutos, más preferentemente en el rango de 5 a 40 minutos.

En otra realización preferida, la etapa d-2) del proceso se lleva a cabo en un difusor continuo de contracorriente a temperaturas de 90 °C o inferiores, más preferentemente 80 °C o inferiores y aún más preferentemente 70 °C o superiores.

En cuanto a la solución acuosa que se utilizará en la etapa d-2) del proceso según esta invención, además de agua puede contener agentes desinfectantes (para inhibir la acción de cualquier bacteria que deterioraría la insulina), por ejemplo, peróxido de hidrógeno, dióxido de azufre, cloro activo, bisulfito de amonio, inhibidores de la fermentación, ácidos o bases para controlar el pH, sales inorgánicas para alterar la fuerza iónica de la solución, y tensioactivos para mejorar en lo posible la humectabilidad de las cosetas. En una realización preferida, la solución acuosa se caracteriza por tener un pH entre 5 y 9, preferiblemente entre 6 y 8.

En el proceso según esta invención la etapa d-2) se lleva a cabo preferentemente al utilizar hasta 15 partes en peso de una solución acuosa por parte de cosetas secas, más preferentemente de 12 a 2 partes en peso de solución acuosa por parte de cosetas secas, y más preferentemente de 10 a 3 partes en peso de solución acuosa por parte de cosetas secas.

En una realización particularmente preferida del proceso según esta invención, la etapa d-2) se lleva a cabo preferentemente tratando las cosetas con al menos un tratamiento de cavitación en un tratamiento de cavitación a temperaturas en el rango de 30 a 90 °C, preferentemente de 40 °C a 80 °C, aún más preferentemente de 70 a 80 °C, a presiones en el rango de 1 a 35 bar y preferentemente durante un tiempo inferior a 60 minutos, más preferentemente en el rango de 5 a 40 minutos, más preferentemente en un cavitador hidrodinámico utilizando hasta 15 partes en peso de solución acuosa por parte de cosetas secas, más preferentemente de 12 a 2 partes en peso de solución acuosa por parte de cosetas secas, y más preferentemente de 10 a 3 partes en peso de solución acuosa por parte de cosetas secas, obteniendo así un rendimiento de lixiviación de inulina con respecto a la inulina total presente en las raíces alimentadas al proceso que es superior al 90 % en peso, y preferentemente al 94 % en peso o más.

En otra realización particularmente preferida del proceso, la etapa d-2) se lleva a cabo preferentemente a temperaturas de 90 °C o inferiores, 80 °C o inferiores, aún más preferentemente 70 °C o superiores, más preferentemente en un difusor continuo a contracorriente utilizando hasta 15 partes en peso de solución acuosa por parte de cosetas, más preferentemente de 12 a 2 partes en peso de solución acuosa por parte de cosetas, y más preferentemente de 10 a 3 partes en peso de solución acuosa por parte de cosetas, obteniendo así un rendimiento de lixiviación de inulina con respecto a la inulina total presente en las raíces alimentadas al proceso que es superior al 90 % en peso, y preferentemente al 94 % en peso o más.

El rendimiento de la lixiviación de la inulina puede determinarse según cualquiera de los métodos conocidos por el experto en la técnica, por ejemplo, determinando el contenido de inulina en la fase acuosa obtenida al final de la etapa d-2).

Para determinar el contenido de inulina se utiliza preferentemente un cromatógrafo líquido de alta presión (HPLC) equipado con un detector de índice de refracción (RI). Por ejemplo, una muestra obtenida en la etapa d-2), se trata, por ejemplo, mediante filtración o cualquier otro tratamiento adecuado para obtener una fase acuosa y, a continuación, se concentra y se pesa. Una muestra de esta mezcla (1 mg) se disuelve en 0,9 ml de H₂SO₄ 0,005N y 0,1 mL de solución de DMSO, se filtra (diámetro del poro del filtro 0,20 µm) y se analiza por HPLC después de la calibración con un estándar de referencia.

Después de la etapa d-2) de lixiviación, el proceso según la presente invención prevé la etapa d-3) para separar la fase acuosa que contiene inulina de la fase sólida que contiene los cosetes gastados. En el sentido de esta invención, por fase sólida también se entiende suspensiones, lodos (conocidos como "barro") y cualquier fracción que tenga una densidad suficientemente alta para separarse de un sobrenadante.

La etapa d-3) del procedimiento según la presente invención puede llevarse a cabo según cualquier medio conocido por los expertos en la técnica para separar una fase sólida de una fase líquida, por ejemplo, mediante filtración, centrifugación, sedimentación, decantación, prensado, trituración o el uso de cualquier combinación de estos métodos. Dicha separación puede realizarse en un equipo distinto de aquel en el que se lleva a cabo la etapa d-2) o en el mismo equipo. Por ejemplo, cuando la etapa d-2) del proceso se lleva a cabo en un cavitador hidrodinámico, la separación de la fase acuosa que contiene inulina de la fase sólida que contiene las cosetas gastadas suele tener lugar al final del difusor, por ejemplo, utilizando un decantador centrífugo que descarga la fase sólida que se separa y permite que la fase acuosa fluya.

La fase acuosa separada durante la etapa d-3) del proceso según esta invención tiene un contenido de inulina que, en función, entre otras cosas, de la cantidad inicial de inulina en las raíces y de la cantidad de agua utilizada en la etapa de lixiviación, se sitúa típicamente entre 3 y 20 %, preferentemente hasta 18 % en peso, en condiciones ideales preferentemente entre 6 y 12 % en peso de inulina, mientras que la fase sólida que contiene las cosetas gastadas

tiene también un contenido de agua de 70 % o menos, preferentemente de 60 % en peso o menos.

Para evitar la precipitación de la inulina de las soluciones acuosas presentes durante las diversas etapas del proceso según esta invención, dichas soluciones acuosas se calientan ventajosamente y se mantienen a una temperatura igual o superior a la temperatura a la que la concentración de inulina presente es inferior a su solubilidad a dicha temperatura.

Para maximizar el rendimiento del proceso, la fase sólida separada durante la etapa d-3) se trata preferentemente para recuperar al menos parte del agua y la inulina presentes en ella. Puede someterse a una etapa de prensado mecánico, que se lleva a cabo de manera ventajosa mediante una o más prensas de diversos tipos, que son preferentemente continuas. Dicha operación puede realizarse al introducir la fase sólida a temperatura ambiente o para facilitar la recuperación del agua y la inulina, precalentando dicha fase sólida a temperaturas preferentemente de 90 °C o menos, más preferentemente de 80 °C o menos, y aún más preferentemente de 30 °C o más, más preferentemente de 40 °C o más, y aún más preferentemente de 70 °C o más. El aumento de la presión generado durante esta etapa puede dar lugar a un aumento de la temperatura interna. Por lo tanto, las prensas pueden estar provistas de sistemas de refrigeración que eviten un aumento excesivo de la temperatura, que podría tener un efecto adverso en la calidad de la inulina.

En una realización preferida, al final de dicha etapa de prensado la fase sólida de la que se ha recuperado al menos una parte del agua y de la inulina tiene un contenido de agua del 50 % o menos, más preferentemente del 40 % en peso o menos.

Para aumentar el rendimiento de la lixiviación de la inulina a partir de las cosetas, la etapa d-2) y la etapa d-3) del proceso según la presente invención se llevan a cabo preferentemente más de una vez, reciclando al menos de forma parcial el resultado de un primer tratamiento de lixiviación a al menos un segundo tratamiento de lixiviación, preferentemente llevado a cabo en el mismo equipo en el que se ha realizado el primer tratamiento de lixiviación, opcionalmente sometiéndolo a una separación intermedia de la fase acuosa que contiene inulina de la fase sólida que contiene las cosetas gastadas y, de manera ventajosa, añadiendo nueva solución acuosa para restablecer, durante el segundo tratamiento de lixiviación, la cantidad seleccionada de partes en peso de solución acuosa por parte de cosetas secas. Una parte de la fase sólida obtenida al final de la etapa d-3) del proceso según la presente invención se recicla preferentemente a la etapa d-2) para ser sometida de nuevo a un tratamiento de lixiviación, mezclándose de forma ventajosa con una corriente de cosetas en fresco.

En tal configuración, por ejemplo, el primer tratamiento de lixiviación puede realizarse combinando también tratamientos de cavitación con tratamientos de lixiviación por medio de difusores.

La fase sólida obtenida al final de la etapa d-3) del proceso según la presente invención, que puede haber sido sometida o no a la operación de prensado descrita anteriormente, puede utilizarse entonces para diversos fines, por ejemplo, preferentemente la recuperación de energía mediante combustión, la producción de biogás, la producción de alimentos para animales o la producción de compuestos orgánicos. En una realización preferida de esta invención, dicha fase sólida se envía a un proceso de pretratamiento para obtener una multiplicidad de compuestos orgánicos como azúcares y ligninas. Las tecnologías pueden ser tecnologías de explosión de vapor con o sin pretratamientos de lavado en entornos ácidos, básicos o neutros, como los descritos en las solicitudes de patente WO 2010/113129, WO 2012/042497 y WO 2012/042545, o procesos en un entorno alcalino como los descritos en las etapas b) a d) de la solicitud de patente italiana NO2012A000002 o la solicitud de patente WO2013/139839. La fase líquida separada de la fase sólida por la operación de prensado obtenida al final de la etapa d-3) también contiene inulina disuelta y, preferentemente, se une a la fase acuosa separada de la etapa d-3) para la posterior etapa d-4) del proceso según esta invención.

En la etapa d-4) del método de obtención de inulina según la presente invención, la fase acuosa que contiene inulina se somete a uno o varios tratamientos de purificación. Según el uso final previsto para la inulina, dichos tratamientos de purificación se seleccionan preferentemente del grupo que comprende: la concentración por evaporación de una parte del agua presente, el tratamiento de carbonatación, el tratamiento con una solución acuosa de Ca(OH)_2 (clarificación) preferentemente seguido de carbonatación, la cristalización, la centrifugación, la filtración, la microfiltración, la nanofiltración, la ultrafiltración, la liofilización, la ósmosis, la decantación, el refinado o cualquier técnica adecuada para separar un sólido de un líquido, y sus combinaciones. Estos tratamientos de purificación pueden combinarse entre sí de diversas maneras que también dependen de la calidad de la inulina y de la forma en que se desee obtenerla para usos posteriores. Según un aspecto preferido de la presente invención, el proceso comprende uno o varios de dichos tratamientos de purificación, más preferentemente seleccionados del grupo que comprende la concentración por evaporación de parte del agua, la filtración, la microfiltración, la nanofiltración, la ultrafiltración y la ósmosis.

- En cuanto a la concentración por evaporación de agua, esta se realiza preferentemente en condiciones tales que no se degrade y/o hidrolice la inulina presente. En una realización preferida, dicha concentración se lleva a cabo por evaporación de múltiples pasos, que puede ser en corriente paralela o en contracorriente, con un número de etapas igual a 3 o más, preferentemente entre 4 y 6. Con preferencia, los tratamientos de evaporación en varias etapas se realizan en corriente paralela, para limitar la formación de subproductos.
- En cuanto al tratamiento con una solución acuosa de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, también conocido como clarificación, tiene por objeto eliminar las sustancias extrañas (no azúcares) antes de las siguientes etapas de elaboración. En dicho tratamiento, la fase acuosa se mezcla con la solución acuosa de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (también conocida como lechada de cal), lo que puede provocar la descomposición de las bases nitrogenadas presentes con la consiguiente liberación de NH_3 gaseoso y también la precipitación, normalmente en forma coloidal, de muchas impurezas como aniones sulfato, fosfato, citrato u oxalato, que precipitan como sus correspondientes sales de calcio, y sustancias orgánicas como proteínas, saponinas y pectinas. Con preferencia, cuando se lleva a cabo, la clarificación se realiza a un pH de 10 o más, más preferentemente a un pH de 10 a 11,5, y a temperaturas de 90 °C o menos, más preferentemente de 80 °C o menos, y aún más preferentemente de 30 °C o más, más preferentemente de 40 °C o más, y aún más preferentemente de 70 °C o más. En una realización preferida de la presente invención, dicho tratamiento se realiza utilizando hidróxido de calcio al 0,2 % para el material extraído o al 0,4 % de óxido de calcio equivalente para el zumo prensado.
- Al finalizar el tratamiento de clarificación, se obtiene un lodo que comprende precipitados y coloides y una fase acuosa que contiene inulina, que se separa posteriormente, preferentemente por filtración. Para facilitar la filtración después de la clarificación, se realiza preferentemente un tratamiento de carbonatación mediante la inyección de un gas rico en CO_2 , preferentemente por burbujeo, que provoca la precipitación de la lechada de cal (formando $\text{CaCO}_{3(s)}$) que a su vez espesa el lodo. Dicha etapa de carbonatación se lleva a cabo de forma que se mantenga el pH en valores bajos, preferentemente 9 o superiores. Una vez realizada la carbonatación, la fase sólida se separa de la fase líquida que contiene la inulina. Esta separación puede realizarse utilizando cualquiera de los medios conocidos por los expertos en la técnica para separar una fase sólida de una fase líquida, por ejemplo, mediante filtración, centrifugación, sedimentación, decantación o utilizando cualquier combinación de estos métodos.
- Los subproductos obtenidos durante dichos tratamientos de purificación, por ejemplo, la fase sólida separada durante la clarificación, pueden tratarse de nuevo para recuperar la inulina que aún esté presente en ellos, preferentemente reciclándolos en etapas adecuadas de este proceso, o pueden utilizarse a su vez para recuperar otros componentes o como productos secundarios del proceso.
- En una realización preferida, al final del proceso según esta invención la inulina está en forma de una solución acuosa saturada obtenida por al menos un tratamiento de evaporación de parte del agua presente en la fase acuosa al final de la etapa d-3) del proceso. De este modo, la inulina puede utilizarse directamente como materia prima para reacciones posteriores de síntesis de monómeros y productos químicos intermedios de valor añadido como, por ejemplo, el HMF, el ácido 2,5- furandicarboxílico, tal como está o convertido en fructosa mediante hidrólisis química o enzimática. Como alternativa, y según la necesidad de almacenamiento y uso posterior, la inulina puede recuperarse por precipitación, normalmente reduciendo la temperatura y separando luego el sólido de los licores madre según cualquiera de los métodos conocidos a tal efecto por los expertos en la técnica.
- Según el uso final de la inulina obtenida por el proceso según la presente invención, puede realizarse un tratamiento adicional de purificación y fraccionamiento.
- En efecto, la inulina resultante puede tratarse con resinas intercambiadoras de cationes y aniones para desmineralizarla y decolorarla, eliminando así los metabolitos secundarios. El fraccionamiento cromatográfico por exclusión de tamaño generalmente produce dos fracciones: fructooligosacáridos de cadena corta con mono y disacáridos, y una fracción de alta densidad. El fraccionamiento también puede realizarse mediante precipitación a baja temperatura o con etanol de la fracción de alto peso molecular o mediante ultra y nanofiltración. El jarabe clarificado puede entonces concentrarse aún más en un aparato adecuado, por ejemplo, a 90 °C y de 600 a 50 mbar, y la inulina puede entonces precipitarse de nuevo al utilizar un 10 %vol de etanol respecto a la solución extraída.
- En cuanto a la obtención de biomasa y semillas de las partes aéreas, la etapa e) prevé la separación de las semillas y de la biomasa aérea. Esta etapa se realiza preferentemente de forma mecánica, más preferentemente al mismo tiempo que se cosechan las partes aéreas.
- A continuación, las semillas obtenidas en la etapa e) del proceso según esta invención se procesan para la extracción de aceite (etapa f) de este proceso, que puede utilizarse para diversos fines. Dicha extracción puede realizarse mecánicamente con el uso de disolventes químicos (por ejemplo, hexano, benceno, tolueno), a ser posible, en presencia de enzimas, y puede ir seguida de un refinado posterior mediante tratamientos físicos, químicos o enzimáticos.

En un aspecto preferido, el aceite obtenido en la etapa f) del proceso puede utilizarse para producir biocombustibles y para la producción de productos químicos intermedios, como los ácidos carboxílicos y sus derivados. La harina proteica que se obtiene preferentemente durante la etapa f) del proceso según esta invención puede utilizarse en la producción de alimentos para animales. En una realización preferida de esta invención, el aceite extraído durante la etapa f) del proceso se somete a un proceso de hidrogenación como, por ejemplo, los descritos en las solicitudes de patentes italianas NO2013A000005 o MI2014A002204.

Según una realización preferida, el aceite obtenido se somete a tratamientos químicos y/o de fermentación (directamente o después de un tratamiento de hidrogenación selectiva para maximizar el contenido de ácidos grasos monoinsaturados) para la recuperación de derivados que comprenden ácidos carboxílicos monofuncionales o bifuncionales. Con preferencia, el aceite se somete a procesos de escisión oxidativa continuos o por lotes, como los descritos en las solicitudes de patente WO 2008/138892 y WO 2011/080296. Una alternativa comprende someter el aceite y uno de sus derivados (ácido o éster metílico) a procesos de omegaoxidación mediante una ruta de fermentación, posiblemente seguida de reacciones de hidrogenación.

En ambos casos, los derivados bifuncionales obtenidos pueden utilizarse como monómeros para la síntesis de polímeros.

Dentro del alcance de esta invención también es posible prever que las semillas se cosechen junto con la biomasa, sin separarlas, y que toda la parte aérea de la planta se utilice como combustible; como alternativa, que las semillas se cosechen por separado y se utilicen directamente para la alimentación animal en pequeñas cantidades, teniendo en cuenta su escasa digestibilidad.

La biomasa obtenida en la etapa e) de este proceso puede utilizarse entonces para diversos fines, por ejemplo, con preferencia, la recuperación de energía mediante combustión, la producción de biogás, la producción de alimentos para animales o la producción de compuestos orgánicos. En una realización preferida de esta invención, la biomasa se somete a un proceso de pretratamiento para la obtención de diversos compuestos orgánicos, como azúcares y ligninas. Las tecnologías pueden ser de explosión de vapor con o sin pretratamientos de lavado en ambientes ácidos, básicos o neutros, como por ejemplo los descritos en las solicitudes de patente WO 2010/113129, WO 2012/042497 y WO 2012/042545 o procesos en ambientes alcalinos como, por ejemplo, los descritos en las etapas b) a d) de la solicitud de patente italiana NO2012A000002 o la solicitud de patente WO2013/139839.

La invención se describe ahora con algunos ejemplos que deben entenderse como puramente ilustrativos, y no exhaustivos, de esta.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1. Evaluación del efecto de la fase fenológica y del año de cultivo sobre la biomasa, la raíz y el rendimiento de inulina en *Cynara cardunculus* L. cultivada en ambiente mediterráneo

Materiales y métodos

Experimentos de cultivo en campo abierto

En nuestro estudio se consideró un genotipo de cardo cultivado (*Cynara cardunculus* L. var. *altilis* DC) denominado Trinaseed. Los campos experimentales se sembraron a partir de octubre de 2010. Las evaluaciones agronómicas se llevaron a cabo en la temporada agrícola 2014-2015 en la Estación Experimental de Campo de Matrica en Porto Torres, Sassari-Italia. El material vegetal se dispuso en un diseño experimental de parcelas con tres repeticiones representadas por 3 parcelas de 60 m² cada una. La densidad de siembra fue de 8 plantas m², con una distancia inter e intrafila de 0,75 y 0,17 m, respectivamente. La operación de siembra se realizó con una sembradora convencional. Los experimentos de campo se llevaron a cabo con bajos insumos químicos. Las necesidades de agua de los cultivos se satisfacían con la lluvia. En el primer año, las plantas se fertilizaron con N a 36 kg ha⁻¹. En el segundo, tercer y cuarto año, las tasas de fertilización se calcularon en función de la fertilidad del suelo y de la absorción de nutrientes por parte de los cultivos.

Producción de biomasa, raíces e inulina

Con el objetivo de determinar la cinética de acumulación de biomasa aérea y radicular durante el ciclo de crecimiento de las plantas, se recogió toda la biomasa aérea y radicular de 9 plantas (3 plantas por 3 parcelas) por cada año de cultivo en las diferentes fases fenológicas de BBCH identificadas por Archontoulis et al. 2010 (Archontoulis S.V. et al. 2010 "Fases fenológicas de crecimiento de *Cynara cardunculus*: codificación y descripción según la escala BBCH" *Annals of Applied Biology* 2010; 253-270), de la siguiente manera:

Fase 51: Comienzo de la elongación del tallo; brotes principales de la inflorescencia visibles entre las hojas recién formadas (apenas detectables). Todavía no hay ramificación;

Fase 60: 600 Primeros pétalos de la flor visibles en la inflorescencia del tallo principal;
Fase 69: Fin de la floración de la inflorescencia del tallo de orden n.

En la fase de maduración completa de las semillas (correspondiente a la fase 89 de BBCH: La mayoría de las cabezas están abiertas, tienen color marrón amarillento, están secas y senescentes. Semillas totalmente maduras; dispersión evidente), se cosechó la biomasa aérea, la raíz y los aquenios considerando los mismos protocolos operativos utilizados para los muestreos mencionados. Además, para verificar la raíz y la producción de inulina después de la operación de cosecha del cultivo en la fase 89 de BBCH, se recogió también la biomasa hipogea completa de 9 plantas por cada año de cultivo en la fase 99 de BBCH (Planta muerta y seca, humedad alrededor del 10 %. Hojas nuevas de la brotación visibles (= etapa 10))

Para cada una de las fases de BBCH analizadas, se recogió la parte aérea de las plantas y las raíces en los experimentos de campo abierto y se pesó inmediatamente para determinar el peso en fresco. Para evaluar el contenido de humedad, una cantidad (10 g tres veces repetida) de material vegetal homogeneizado se secó en el horno a 105 °C hasta que el nivel de humedad fue constante (24 horas) para determinar el contenido de materia seca (MS) y el peso seco de las muestras mencionadas. Se recogió una muestra representativa de cada una de las raíces mencionadas para determinar la cinética del contenido de inulina durante el periodo de crecimiento. En la Tabla 1, se informa la biomasa, la semilla, la raíz y el rendimiento de inulina para el segundo, tercer y cuarto año.

TABLA 1

Año de cultivo	Fase fenológica de BBCH	Rendimiento de biomasa aérea seca (t/ha MS)	Rendimiento de semillas (t/ha MS)	Rendimiento de la raíz (t/ha MS)	Rendimiento de inulina (t/ha MS)
2	51	11,63	-	4,66	1,75
	60	23,91	-	10,52	3,22
	69	22,44	-	10,27	3,45
	89	13,46	1,34	9,25	4,91
	99	-	-	9,39	5,44
3	51	13,08	-	14,51	6,35
	60	11,47	-	18,06	6,10
	69	12,22	-	22,41	7,04
	89	12,01	1,42	17,64	8,32
	99	-	-	15,12	8,95
4	51	13,76	-	15,71	6,84
	60	13,31	-	23,62	7,22
	69	13,60	-	28,64	11,36
	89	10,13	1,40	21,59	11,46
	99	-	-	19,28	10,82

EJEMPLO 2. Evaluación del efecto de la densidad de siembra (4 y 8 plantas por metro cuadrado) y de la fase fenológica sobre la biomasa, la raíz y el rendimiento de inulina en *Cynara cardunculus* L. cultivada en ambiente mediterráneo

Materiales y métodos

Experimentos de cultivo en campo abierto

En nuestro estudio se consideró un genotipo de cardo cultivado (*Cynara cardunculus* L. var. *altilis* DC) denominado Trinaseed en un cuarto año de cultivo. Los ensayos se realizaron en la temporada de cultivo 2014/2015 en la Estación Experimental de Campo de Matrica en Porto Torres, Sassari- Italia. Los campos experimentales se sembraron en octubre de 2010. El material vegetal se dispuso en un diseño experimental de parcelas divididas con tres repeticiones representadas por 3 parcelas de 60 m² cada una. La densidad de siembra fue de 4 y 8 plantas m², con una distancia entre hileras de 0,75 m y 0,34 m y 0,17 m como distancias intrahileras, respectivamente. La operación de siembra se realizó con una sembradora convencional. Los experimentos de campo se llevaron a cabo con bajos insumos

químicos. Las necesidades de agua de los cultivos se satisfacían con la lluvia. En el primer año, las plantas se fertilizaron con N a 36 kg ha⁻¹. A partir del segundo año de cultivo, las tasas de fertilización se calcularon en función de la fertilidad del suelo y de la absorción de nutrientes por parte de los cultivos.

5 Producción de biomasa, raíces e inulina

Para cada una de las dos densidades de siembra (8 y 4 plantas por metro cuadrado), se recogió toda la biomasa aérea y las raíces de 9 plantas (3 plantas por 3 parcelas) en las diferentes fases fenológicas de BBCH identificadas por Archontoulis et al. 2010, de la siguiente manera:

Fase 51: Comienzo de la elongación del tallo; brotes principales de la inflorescencia visibles entre las hojas recién formadas (apenas detectables). Todavía no hay ramificaciones;

Fase 60: 600 Primeros pétalos de la flor visibles en la inflorescencia del tallo principal;

Fase 69: Fin de la floración de la inflorescencia del tallo de orden n.

En la etapa de maduración completa de las semillas (fase 89 de BBCH: La mayoría de las cabezas están abiertas, tienen un color marrón amarillento, están secas y senescentes. Semillas completamente maduras; dispersión evidente según Archontoulis et al., 2010), se cosechó la biomasa aérea, la raíz y los aquenios considerando los mismos protocolos operativos utilizados para los muestreos mencionados.

Además, para verificar la raíz y la producción de inulina después de la operación de cosecha del cultivo en la fase 89 de BBCH, se recogió también la biomasa hipogea completa de 9 plantas por año de cultivo en la fase 99 de BBCH (Planta muerta y seca, humedad alrededor del 10 %. Hojas nuevas de la brotación visibles = etapa 10 según Archontoulis et al. 2010).

En cada momento de muestreo, la parte aérea de las plantas y las raíces cosechadas se pesaron inmediatamente para determinar el peso en fresco. Para evaluar el contenido de humedad, una cantidad (10 g tres veces repetida) de material vegetal homogeneizado se secó en el horno a 105 °C hasta que el nivel de humedad fue constante (24 horas) para determinar el contenido de materia seca (MS) y el peso seco de las muestras mencionadas.

Se recogió una muestra representativa de cada una de las raíces mencionadas para determinar la cinética del contenido de inulina durante el periodo de crecimiento.

RESULTADOS

Fase fenológica de BBCH	Densidad de siembra (plantas por metro cuadrado)	Rendimiento de biomasa aérea seca (t/ha MS)	Rendimiento de semillas (t/ha MS)	Rendimiento de la raíz (t/ha MS)	Rendimiento de inulina (t/ha MS)
51	8	13,76	-	15,71	6,84
51	4	6,77	-	9,23	4,20
60	8	13,31	-	23,62	7,23
60	4	8,64	-	15,03	5,06
69	8	13,60	-	28,64	11,36
69	4	9,94	-	17,81	7,70
89	8	10,13	1,40	21,59	12,32
89	4	8,38	1,10	15,03	8,24
99	8	-	-	19,28	10,82
99	4	-	-	14,64	8,17

REIVINDICACIONES

1. Método para el cultivo de plantas poliédricas pertenecientes a la tribu de las Cardueae, caracterizado por el hecho de comprender las siguientes etapas:
5
a) siembra de las semillas de dichas plantas y ajuste de la densidad de cultivo a un mínimo de 4 plantas por metro cuadrado de suelo;
b) ajuste opcional del contenido de N en el suelo sobre el que se plantaron dichas semillas a un contenido de N inferior a 50 Kg/(ha * año);
10 c) recolección de al menos una porción de la parte subterránea y de al menos una porción de la parte aérea de las plantas criadas a partir de la siembra del paso a) a partir del tercer año de cultivo, entre la fase fenológica de floración y la fase fenológica de senescencia de dichas plantas.
2. Método según la reivindicación 1, que comprende, después de la etapa a) y antes de la etapa b) o después de la etapa b) y antes de la etapa c), la etapa de recolección en el primer año de cultivo de al menos una porción de la parte aérea de las plantas criadas a partir de la siembra de la etapa a), entre la fase fenológica de inducción floral y la fase fenológica de senescencia de dichas plantas.
15
3. Método según cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 2, que comprende, después de la etapa a) y antes de la etapa b) o después de la etapa b) y antes de la etapa c), la etapa de recolección en el segundo año de cultivo de al menos una porción de la parte aérea de las plantas criadas a partir de la siembra de la etapa a), entre la fase fenológica de floración y la fase fenológica de senescencia de dichas plantas.
20
4. Método según cualquiera de las reivindicaciones de 2 a 3, que comprende la etapa de separación de las semillas de la biomasa de dicha parte aérea.
25
5. Método según la reivindicación 4, que comprende la etapa de extracción del aceite de dichas semillas.
6. Uso del método según la reivindicación 1, para la obtención de inulina, semillas y biomasa a partir de las porciones recolectadas de las plantas poliédricas pertenecientes a la tribu Cardueae.
30
7. Método para la obtención de inulina, semillas y biomasa a partir de porciones recolectadas de plantas poliédricas pertenecientes a la tribu Cardueae que comprende cultivar las plantas mediante el método según la reivindicación 1, y que además comprende las siguientes etapas:
35
d) recuperación de la inulina de la parte subterránea de dichas plantas recolectadas en la etapa c) según la reivindicación 1;
e) separación de las semillas y la biomasa de la parte aérea de dichas plantas recogidas en la etapa c) según la reivindicación 1.
40
8. Método según la reivindicación 7, que comprende la siguiente etapa:
f) obtención del aceite y de la harina proteica a partir de dichas semillas obtenidas en la etapa e).
9. Método según una cualquiera de las reivindicaciones de 7 a 8, en el que dicha etapa d) comprende las siguientes etapas:
45
d-1) trituración de las raíces contenidas en la parte subterránea de las plantas recogidas en la etapa c) para obtener cosetas de un grosor máximo de 1 cm;
50 d-2) lixiviación de la inulina de dichas cosetas con una solución acuosa;
d-3) separación de la etapa d-2) de una fase acuosa, que contiene la inulina, y de una fase sólida, que contiene las cosetas agotadas;
d-4) purificación de dicha fase acuosa que contiene inulina.
10. Método según la reivindicación 9, en el que dicha etapa d-2) se lleva a cabo mediante al menos un tratamiento de cavitación.
55